

Propagación y conservación *in vitro* de siete especies de cactáceas del noreste del estado de Guanajuato

In vitro propagation and conservation of seven northeast cacti species of the State of Guanajuato

Rafael Ramírez Malagón*, Eduardo Salazar Solís*^o

RESUMEN

Se desarrollaron protocolos para la propagación *in vitro* de siete especies de cactus presentes en municipios del noreste del estado de Guanajuato: *Mammillaria geminispina*, *M. magnimamm*, *M. marcosii*, *M. mercadensi*, *M. petterssonii*, *Coryphanta radians* y *Ferocactus latispinus*. Se observó que la presencia en el medio de cultivo de la citocinina cinetina es esencial para la multiplicación de seis de las especies, ya que las máximas respuestas se presentaron en las mayores concentraciones de citocinina, 6 mg/l y 10 mg/l de ese regulador de crecimiento, siendo notorio que tres especies de *Mammillaria*: *M. geminispina*, *M. magnimamma* y *M. marcosii* indujeron sus respuestas en las máximas concentraciones de los dos reguladores de crecimiento empleados, ácido indolacético (AIA) = 4 mg/l y cinetina 10 mg/l con promedios de 6.0, 6.0 y 9.2 brotes por explante, respectivamente. Sin embargo, se presentó una excepción, y ésta fue la respuesta de *Ferocactus latispinus*, la cual en presencia de AIA = 4 mg/l y en ausencia de cinetina indujo 4.8 brotes por explante, mostrando la variabilidad en respuestas a los reguladores de crecimiento en especies diferentes de la familia *Cactaceae*.

ABSTRACT

Protocols were developed for *in vitro* propagation of these seven cacti species distributed in northeast municipalities of the State of Guanajuato: *Mammillaria geminispina*, *M. magnimamm*, *M. marcosii*, *M. mercadensi*, *M. petterssonii*, *Coryphanta radians* and *Ferocactus latispinus*. Presence of kinetin one cytokinin, was essential for propagation of six species. The higher responses were obtained at mayor concentrations of the two grow regulators used; ácido indolacético (IAA, for its acronym in english) = 4 mg/l and kinetin 10 mg/l, with average of 6.0, 6.0 and 9.2 sprouts per explant. Distinctively, *Ferocactus latispinus* produced 4.8 sprouts per explant, at the doses of IAA = 4 mg/l, in absence of kinetin, these results show variability in response to grow regulators, of different species of cacti family.

INTRODUCCIÓN

Las cactáceas son plantas importantes, desde el punto de vista ecológico y evolutivo, por su capacidad para crecer y desarrollarse en condiciones desfavorables, como la escasa precipitación pluvial, suelos relativamente pobres, pedregosos y/o salinos y temperaturas extremas. Desde el punto de vista comercial, son especies apreciadas por sus frutos, como verdura, forraje o plantas ornamentales. La biodiversidad de las cactáceas es trascendente porque cuenta con un extenso conjunto de adaptaciones peculiares para hacer frente a la escasez de agua, permitiendo desarrollarse plantas perennes siempre verdes, a pesar de las extremas condiciones de sequía de su medio ambiente. De esta familia se considera que existen entre 1500 y 2000 especies (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes, 2000). Lamentablemente, estas especies son muy vulnerables debido a su lento crecimiento, a su endemismo, lo que las hace ser depredadas por los coleccionistas o ser extraídas de sus lugares de origen para comercialización, asimismo, son afectadas por el disturbio del medio ambiente que se está haciendo en sus hábitats. En el noreste del estado de Guanajuato existe un importante número de especies

Recibido: 1 de agosto de 2016
Aceptado: 1 de noviembre de 2016

Palabras clave:

Cactaceae; *in vitro*; conservación; biodiversidad.

Keywords:

Cactaceae; *in vitro*; conservation; biodiversity.

Cómo citar:

Ramírez Malagón, R., & Salazar Solís, E. (2016). Propagación y conservación *in vitro* de siete especies de cactáceas del noreste del estado de Guanajuato. *Acta Universitaria*, 26(NE-2), 78-82. doi: 10.15174/au.2016.1540

* Departamento de Agronomía, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato. Ex Hacienda el Copal km. 9 carretera Irapuato-Silao, Irapuato, Guanajuato, México. C.P. 36500. Correo electrónico: eduardo-salazar1@hotmail.com

^o Autor de correspondencia.

de cactáceas, entre las que se pueden enlistar las siguientes: *Ariocarpus kotschoubeyanus*, *Astrophytum ornatum*, *Coryphantha radians*, *Echinocactus grusonii*, *Echinocactus platyacanthus*, *Echinocereus pectinatus*, *Echinocereus schmollii*, *Ferocactus histrix*, *Ferocactus latispinus*, *Mammillaria albiflora*, *M. crinita*, *M. densispina*, *M. geminispina*, *M. fittkau*, *M. hahniana*, *M. magnimamma*, *M. marcosii*, *M. matildae*, *M. mercadensis* (*stylothele*), *M. muehlenpfordtii*, *M. perbella*, *M. petterssonii*, *M. polythele*, *M. rhodantha*, *M. schiedeana*, *M. schwarzii*, *M. candida*, *Stenocactus phyllacanthus*, *Stenocactus platyacanthus*, *Echinocactus platyacanthus*. De estas especies, varias se encuentran en peligro de extinción: *Echinocereus schmollii*, *Mammillaria albiflora* y *Ferocactus histrix*. Las restantes no se encuentran dentro de la lista de especies en peligro de extinción, pero todas ellas pueden considerarse amenazadas (NOM-059-SEMARNAT-2010) (Diario Oficial de la Federación, 2010). Es por esta razón que deben llevarse a cabo trabajos para la propagación y conservación de estas especies, y una de las técnicas actuales para la propagación de especies diferentes es la del cultivo *in vitro* de plantas, por lo que se presentan en este trabajo los resultados de los estudios de siete diferentes especies de cactáceas.

Antecedentes

Varios autores han realizado diferentes estudios sobre cactáceas, destacan para la zona de estudio del desierto chihuahuense bajo el sistema de cultivo de tejidos vegetales *in vitro* (Gómez-Hinostrosa & Hernández, 2000). En el desierto de Chihuahua, México, localizaron 54 especies de cactus; determinaron que el 82% son endémicas, 6% tienen una distribución restringida y 19% están en peligro de extinción; observaron cómo el disturbio ecológico crece y se acerca cada día a los hábitats de especies aparentemente no amenazadas. Para ello, proponen la conservación de todas las especies de cactáceas, amenazadas o no, así como la conservación de sus hábitats. García & Cruz (1999) mencionan que los principales factores que disminuyen la tasa de supervivencia de las especies son: a) la destrucción de su hábitat natural, b) la depredación criminal e inconsciente, con fines de lucro, y c) la falta de una legislación eficiente para su protección. Bowers (2000) estudió la germinación de semillas de *Ferocactus wislizeni*, un cactus perenne del desierto de Sonora, encontrando que las semillas de esa especie pierden la viabilidad durante el periodo de almacenamiento; requieren luz para germinar y solo un 2% de las semillas logran sobrevivir

después de la dispersión. Y más aún, ese 2% que logra germinar se ve afectado por condiciones medioambientales y por el ataque de roedores, hormigas y otros depredadores, lo que hace disminuir el número de individuos sobrevivientes, de ahí la importancia de utilizar alternativas de conservación, como las propuestas en este trabajo. Por otra parte, Pierson y Turner (1998) señalan que aún en medios ambientes protegidos la multiplicación de las cactáceas en general es lenta; así, sus estudios con el cactus "saguaro" (*Carnegiea gigantea*) mostró que a pesar de haber cercado y protegido un predio de 700 ha, donde crecían plantas de esta especie en el estado de Arizona, solo lograron duplicar su número, después de 85 años de protección. Malda, Backhaus y Martin (1999) señalan que las especies raras de cactus generalmente presentan una capacidad reproductiva limitada y tasas de crecimiento muy lentos, por ello recomiendan su propagación *in vitro*. Con sus estudios lograron una multiplicación masiva de plantas de *Coryphantha minima* y *Obregonia denegri*, dos especies en peligro de extinción. Vyskot (1984) propagó *in vitro* *Astrophytum myriostigma*, *Mammillaria carmenae*, *Mammillaria hahniana* y *Trichocereus spachianus*, aplicando bajas concentraciones de auxinas y citocininas (0.5 mg/l – 5 mg/l de bencilamino purina (BAP) y/o ácido indolacético [AIA]). Rubluo (1997) hace una revisión del cultivo *in vitro* de especies del género *Mammillaria*, atendiendo aspectos botánicos, distribución de especies, propagación convencional y la necesidad de conservación de esas especies por este método. Pérez-Molphe *et al.* (1998) reportan una serie de combinaciones de reguladores de crecimiento para el cultivo de 21 diferentes especies de cactus. Elias-Rocha, Santos-Díaz y Arredondo-Gómez (1998) reportan la micropropagación de *Mammillaria candida*, utilizando epicotilos de plántulas cultivados en medio MS con 5 mg/l de cinetina, sola o combinada con 0.01 mg/l de ácido naftalenacético (ANA). Bhau (1999) regeneró *Coryphantha elephantidens* a partir de callos producidos de explantes de 10 mm, cultivados en un medio que contenía 9 µM de 2, 4-D, 4.6 µM de cinetina y 7% de sacarosa, induciendo de esta forma la máxima diferenciación de brotes. A pesar de los reportes sobre cultivo *in vitro* de cactáceas, el número de especies cultivadas *in vitro*, aún faltan muchas por establecer por este sistema, mientras que según la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 existen centenares de especies cactáceas amenazadas o en peligro de extinción. Debido a ello, el objetivo del presente trabajo fue contribuir a generar nuevos protocolos confiables para propagar *in vitro* varias especies cactáceas mexicanas por medio de multiplicación axilar de brotes.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material vegetativo para el presente trabajo se obtuvo de plantas donadas por distintas personas de Juanica, del municipio de Tierra Blanca, y Milpillars, del municipio de Victoria, Guanajuato. Para el establecimiento aséptico inicial *in vitro* de los explantes de las diferentes especies se utilizó el medio de cultivo reportado por Pérez-Molphe *et al.* (1998), el cual tiene como objetivo uniformar los tejidos. Los fragmentos de plantas elegidos fueron lavados profusamente con agua corriente durante 2 h, y a continuación se hizo la primera desinfección consistente en la aplicación de una solución de etanol al 70% durante 60 s; se eliminó el etanol y la segunda desinfección se hizo con hipoclorito de sodio comercial al 20% (v/v) adicionado de 0.1% de Tween 20, durante 20 min; se eliminó la solución desinfectante y se dio un tercer tratamiento a base de 2 g por litro de Benomyl durante 30 min. Se eliminó la suspensión de Benomyl y se dio un último tratamiento con hipoclorito de sodio comercial al 20% + 0.1% de Tween 20, durante 10 min. Una vez terminados estos tratamientos desinfectantes se dieron cinco enjuagues con agua destilada estéril. Después de enjuagados los fragmentos, se realizó la disección de parte del tejido, que adquirió un color blanquecino debido a los tratamientos con hipoclorito, y cada fragmento se dividió en explantes de aproximadamente 4 cm³ los cuales fueron establecidos en frascos de 120 ml que contenían 20 ml de medio Murashige y Skoog (MS), adicionado de 1 mg/l de AIA más 1 mg /l de cinetina con 3% de sacarosa y el pH se ajustó a 5.7 – 5.8 antes de la adición de 8 g/l de agar (Sigma). Los frascos que contenían los explantes se colocaron en una cámara de crecimiento a 25 °C ± 2 °C y un fotoperiodo de 16 h, bajo una radiación de 15 μmol m⁻² s⁻¹, proporcionada por lámparas fluorescentes tipo luz de día. El tiempo de propagación para la multiplicación de los explantes, antes de la iniciación de los experimentos factoriales, fue de 6 a 12 meses, dependiendo de la especie, y su respuesta de multiplicación al tratamiento con los reguladores de crecimiento. Los reguladores de crecimiento empleados fueron ácido indol, 3 acético; a razón de 0 mg/l, 1 mg/l, 2 mg/l y 4 mg/l, en combinación con 0 mg/l, 1 mg/l, 3 mg/l, 6 mg/l y 10 mg/l de cinetina, con lo cual cada factorial quedó conformado por 20 tratamientos. Los explantes fueron cultivados *in vitro* durante 90 días, después de los cuales se llevaron a cabo evaluaciones para determinar el rendimiento en número de brotes por explante original. Con los datos obtenidos, utilizando el programa de *Stat Graphics*, se llevaron a cabo los análisis de

varianza, y a continuación la separación de medias por medio de la prueba de rango múltiple DMS ($\alpha = 0.5$). Las especies para las que se desarrollaron protocolos para su propagación *in vitro* fueron: *Mammillaria geminispina* (figura 1a), *Mammillaria magnimamm* (figura 1b), *Mammillaria marcosii* (figura 1c), *Mammillaria mercadensi* (figura 1d), *Mammillaria petterssonii* (figura 1e), *Coryphantha radians* (figura 1f) y *Ferocactus latispinus* (figura 1g).



Figura 1. Plantas adultas de siete cactáceas del noreste del estado de Guanajuato. Fuente: Colección de cactáceas de la Universidad de Guanajuato.

Tabla 1.

Respuestas de *Mammillaria geminispina*, *M. magnimamma*, *M. marcosii*, *M. mercadensis*, *M. petterssonii*, *Coryphanta radians* y *Ferocactus latispinus* a la aplicación de AIA/cinetina en diferentes concentraciones.

Reguladores de crecimiento mg l ⁻¹	Número promedio de brotes por explante						
	<i>Mammillaria geminispina</i>	<i>Mammillaria magnimamma</i>	<i>Mammillaria marcosii</i>	<i>Mammillaria mercadensis</i>	<i>Mammillaria petterssonii</i>	<i>Coryphanta radians</i>	<i>Ferocactus latispinus</i>
1.- 0 - 0	0.2 f	1.0 f	1.0 e	1.0 e	1.1 c	0.6 d	1.5 ef
2.- 0 - 1	1.6 efg	1.6 ef	1.4 e	1.1 e	1.8 bc	0.7 d	1.0 f
3.- 0 - 3	1.8 defg	1.8 def	1.4 e	1.2 e	2.0 bc	1.9 bcd	2.9 cdef
4.- 0 - 6	2.4 cdefg	2.4 cdef	4.0 cde	2.9 cd	2.3 b	3.1abcd	3.1 cdef
5.- 0 - 10	5.0 ab	5.0 ab	4.0 cde	3.4 bc	3.8 a	5.2 a	4.0 cdef
6.- 1 - 0	1.0 f	1.0 f	1.0 e	2.0 cd	2.2 bc	0.5 d	1.2 ef
7.- 1 - 1	1.2 f	1.2 f	2.0 cde	1.0 e	1.5 bc	0.9 cd	1.6 ef
8.- 1 - 3	3.4 bcde	3.2 bcde	2.0 cde	1.1 e	1.4 bc	4.0 ab	5.8 abc
9.- 1 - 6	3.8 bc	3.8 bc	5.0 bc	2.1 cd	1.6 bc	4.0 ab	7.3 ab
10.- 1 - 10	2.8 cdefg	1.4 ef	7.2 ab	3.3 bc	1.5 bc	4.1 ab	7.7 a
11.- 2 - 0	1.0 f	1.0f	1.0 e	1.0 e	1.4 bc	1.3 cd	1.2 ef
12.- 2 - 1	1.6 efg	1.6 ef	1.6 de	1.1 e	1.7 bc	1.7 bcd	2.2 def
13.- 2 - 3	1.4 fg	1.4 ef	2.0 cde	1.1 e	1.4 bc	3.5 abc	3.5 cdef
14.- 2 - 6	3.2 bcdef	3.2 bcde	4.8 bc	7.6 a	2.0 bc	3.5 abc	7.2 ab
15.- 2 - 10	3.6 bcd	3.6 bcd	4.6 bcd	5.0 b	1.4 bc	2.8abcd	5.8 abc
16.- 4 - 0	1.0 f	1.0 f	1.0 e	1.0 e	1.5 bc	1.2 cd	4.8 abcd
17.- 4 - 1	1.0 f	1.0 f	2.0 cde	1.0 e	1.9 bc	0.7 d	3.6 cdef
18.- 4 - 3	2.0 cdefg	1.8 def	2.2 cde	1.2 e	1.3 c	2.8abcd	4.3 bcde
19.- 4 - 6	2.8 cdefg	2.8 cdef	2.8 cde	1.9 cd	2.0 bc	1.7bcd	7.5 a
20.- 4 - 10	6.0 a	6.0 a	9.2 a	3.2 bc	1.7 bc	0.9 cd	5.7 abc

Datos con la misma letra son estadísticamente iguales.

Fuente: Laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la Universidad de Guanajuato.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las respuestas de los diferentes materiales biológicos variaron en función de las especies y de la concentración y combinación de los reguladores de crecimiento empleados. En la tabla 1 se observa cómo la ausencia de reguladores de crecimiento no indujo la multiplicación de brotes en las siete especies bajo ensayo, lo que implica que estas especies para ser propagadas *in vitro* requieren al menos AIA, o al menos cinetina para su propagación. En la tabla 1 se observa que la presencia en el medio de cultivo de la citocinina cinetina es esencial para la multiplicación de seis de las especies, ya que las máximas respuestas se presentaron en las mayores concentraciones de citocinina de 6 mg/l y 10 mg/l de ese regulador de crecimiento (tabla 1), siendo notorio que tres especies de *Mammillaria*: *M. geminispina*, *M. magnimamma* y *M. marcosii* indujeron sus respuestas en las máximas concentraciones

de los dos reguladores de crecimiento, AIA = 4 mg/l y cinetina 10 mg/l con promedios de 6.0, 6.0 y 9.2 brotes por explante, respectivamente. Por otra parte, seis de las especies bajo estudio: *M. geminispina*, *M. magnimamma*, *M. marcosii*, *M. mercadensis*, *M. petterssonii* y *Coryphanta radians* no proliferaron en ausencia de cinetina (tabla 1). Sin embargo, se presentó una excepción, y esta fue la respuesta de *Ferocactus latispinus*, la cual en presencia de AIA = 4 mg/l y cinetina 0 mg/l, o sea en ausencia de cinetina indujo 4.8 brotes por explante (tabla 1), lo que muestra la variabilidad en respuestas a los reguladores de crecimiento en especies diferentes de la familia Cactaceae. Anteriormente, Rubluo (1997) habían reportado que, en ausencia de citocinina, la especie *M. haageana san-angelensis* con sólo NAA, en concentraciones de 2 mg/l, 4 mg/l y 6 mg/l, indujo respuestas de 12.5, 14.4 y 18.7 brotes por explante, respectivamente, respuesta que coincide no en los promedios de brotes obtenidos, pero sí

en cuanto a la respuesta presentada por *Ferocactus latispinus* en el presente estudio. La auxina AIA, por su parte, muestra una interacción positiva con las citoquininas; sin embargo, solamente en combinación con cinetina en dosis de 6 mg/l y 10 mg/l presentan promedios importantes de multiplicación, lo cual coincide con lo reportado por Elias-Rocha *et al.* (1998) y Vizkot (1984), quienes obtuvieron las mayores respuestas para *Mammillaria candida*, *Astrophytum myriostigma*, *Mammillaria carmenae*, *Mammillaria hahniana*, y *Trichocereus spachianus*, con 5 mg/l de cinetina, sugiere con ello que las diferencias genéticas entre las especies inducen las diferencias en respuesta. Para llevar a cabo una multiplicación *in vitro* se requiere que cada especie rinda un promedio mínimo de 5 brotes por explante; no obstante, en el presente trabajo la especie *Mammillaria petterssonii* rindió un máximo de 3.8 brotes por explante, indicando que se requieren estudios con otros reguladores de crecimiento para mejorar la respuesta.

CONCLUSIÓN

Los resultados del presente trabajo muestran que es posible utilizar las técnicas de cultivo de tejidos vegetales *in vitro* para contribuir a conservar las especies de cactáceas amenazadas o en peligro de extinción originarias del noreste del estado de Guanajuato. Estas técnicas constituyen una alternativa para conservar la diversidad de las especies de los géneros propagados. Los resultados muestran también que se requieren estudios específicos para cada especie, ya que diferentes concentraciones y combinaciones de reguladores de crecimiento inducen respuestas diferentes entre las especies, por más que haya algunos acercamientos entre ellas. Se requiere continuar con la investigación relativa a la micropropagación de cactáceas e iniciar su propagación masiva, para repoblar áreas y para atender la demanda de estas especies, a través de la integración de unidades de manejo ambiental (UMAS), para disminuir el estado de amenaza constante en que sobreviven.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a la Universidad de Guanajuato por el apoyo para desarrollar el presente trabajo, en particular

a los doctores José Luis Lucio Martínez y Mauro Napsuciale Mendivil, por su interés en la publicación de este número especial de *Acta Universitaria*.

REFERENCIAS

- Bhau, B. S. (1999). Regeneration of *Coryphantha elephantidens* (Lem.) (Cactaceae) from root explants. *Scientia Horticulturae*, 81(3), 337-344.
- Bowers, J. E. (2000). Does *Ferocactus wislizeni* (Cactaceae) have a between year seed bank? *Journal of Arid Environments*, 45(3), 197-205.
- Diario Oficial de la Federación (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SE-MARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y criterios para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo.
- Eliás-Rocha, M. A., Santos-Díaz, M. S., & Arredondo-Gómez, A. (1998). Propagation of *Mammillaria candida* (Cactaceae) by tissue culture techniques. *Halsetonia*, (6), 96-101.
- García de la Cruz, R. F., & Cruz Alvarado, L. F. (6-10 de septiembre de 1999). Método alternativo para la conservación de brotes de *Mammillaria candida*, cactácea en peligro de extinción. *Memoria del VIII Congreso Nacional y VI Internacional sobre conocimiento y aprovechamiento del nopal* (pp. 126-127). Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.
- Gómez-Hinostrosa, C., & Hernández, H. M. (2000). Diversity, geographical distribution, and conservation of cactaceae in the Mier y Noriega Region, México. *Biodiversity and Conservation*, 9(3), 403-418.
- Malda, G., Backhaus, R. A., & Martin, C. (1999). Alterations in growth and cras-sulean acid metabolism (CAM) activity of *in vitro* cultured cactus. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 58(1), 1-9.
- Pérez-Molphe, B. E., Pérez Reyes, M. E., Villalobos Amados, E., Meza Rangel, E., Morones Ruiz, L. R., & Lizalde Viramontes, H. J. (1998). Micropropagation of 21 species of Mexican cacti by axillary proliferation. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 34(2), 131-135.
- Pierson, E. A., & Turner, R. M. (1998). An 85-year study of saguaro (*Carnegiea gigantea*) demography. *Ecology*, 79(8), 2676-2693.
- Rojas-Aréchiga, M., & Vázquez-Yanes, C. (2000). Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments*, 44(1), 85-104.
- Rubluo, A. (1997). Micropropagation of *Mammillaria* species (Cactaceae). In *Biotechnology and Forestry*, 40, High-Tech and Micropropagation VI. Edited by Bajaj, Y. P. S. (pp. 193-205). Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag.
- Vyskot, B. (1984). Clonal propagation of cacti through axillary buds *in vitro*. *Journal of Horticultural Science*, 59(3), 449-452.