PROPAGACIÓN *IN VITRO* DE ESPECIES DE *ECHINOCEREUS*, *ESCONTRIA*, *MAMMILLARIA*, *MELOCACTUS* Y *POLASKIA* (CACTACEAE)

JOSÉ LUIS RETES-PRUNEDA, MARÍA DE LOURDES VALADEZ-AGUILAR, MARTHA
EVELIA PÉREZ-REYES Y EUGENIO PÉREZ-MOLPHE-BALCH¹

Departamento de Química, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes,
Av. Universidad 940, Aguascalientes, 20100, Ags., México.

¹ Autor para la correspondencia; correo-e: eperezmb@correo.uaa.mx;
tel: (449)910-84-20; fax: (449)910-84-01

Resumen: Se desarrollaron sistemas para la propagación *in vitro* a través de la activación de areolas para *Echinocereus knipelianus*, *Echinocereus schmollii*, *Mammillaria carmenae*, *M. carmenae* fo. *rubrisprina*, *M. herrerae*, *M. theresae*, *Melocactus curvispinus*, *Escontria chiotilla* y *Polaskia chichipe*. Como fuente de explantes se usaron plántulas germinadas *in vitro*. Se logró la formación de brotes múltiples a partir de las areolas en medio basal MS con 3% de sacarosa, 10 g L⁻¹ de agar y 6-bencilaminopurina (BA) o 6-(, -dimetilalilamino)purina (2iP). Las eficiencias más altas fluctuaron entre 6.0 brotes por explante en *M. carmenae* fo. *rubrisprina*, hasta 13.5 brotes por explante en *Echinocereus schmollii*. El enraizamiento de los brotes generados *in vitro* se logró en medio basal MS, o en medio MS basal complementado con ácido indolacético, ácido indolbutírico o carbón activado. Finalmente, 49-98% de estas plántulas sobrevivieron en suelo.

Palabras clave: activación de areolas, cactáceas, citocininas, cultivo *in vitro*, plantas amenazadas.

Abstract: *In vitro* propagation systems by means of areole activation were developed for *Echinocereus knippelianus*, *Echinocereus schmollii*, *Mammillaria carmenae*, *M. carmenae* fo. *rubrisprina*, *M. herrerae*, *M. theresae*, *Melocactus curvispinus*, *Escontria chiotilla* and *Polaskia chichipe*. *In vitro* germinated seedlings were used as source of explants. Multiple shoot formation from areoles was achieved on MS basal medium supplemented with 3% sucrose, 10 g L⁻¹ agar and 6-benzylaminopurine (BA) or 6-(, -dimethylallylamino)purine (2iP). Efficiencies ranged from 6.0 shoots per explant in *M. carmenae* fo. *rubrisprina* to 13.5 shoots per explant in *Echinocereus schmollii*. Rooting of the *in vitro* generated shoots was achieved in MS basal medium, or MS basal medium supplemented with indoleacetic acid, indolebutyric acid or activated charcoal. Finally, 49-98% of these plants survived.

Key words: areole activation, cacti, cytokinins, *in vitro* culture, threatened species.

México cuenta con alrededor de 660 especies de cactáceas distribuidas a lo largo de todo su territorio, 78% de las cuales (517) son endémicas (Ortega-Baes y Godínez-Álvarez, 2006). Estas plantas son de especial interés, ya que han sido usadas tradicionalmente como fuente de alimentos, forrajes, materiales para la construcción y medicamentos, y cada vez cobran más importancia como ornamentales (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991). Desafortunadamente, hoy en día 217 especies de cactáceas mexicanas se consideran amenazadas y algunas están en

peligro inminente de extinción (SEMARNAT, 2002). Esto se debe al efecto adverso de las actividades humanas, entre las que destacan la sobreexplotación de las poblaciones silvestres, la destrucción de su hábitat y el saqueo provocado por la colecta ilegal de ejemplares para su venta. Por otro lado, los cactus poseen características ecológicas como sus distribuciones geográficas restringidas, ciclos de vida largos y tasas de crecimiento reducidas, que los hacen especialmente sensibles a las perturbaciones ambientales (Hernández y Godínez-A., 1994). Además, sus tasas de reproducción son

también muy bajas, ya que muchas especies no se reproducen vegetativamente, y la producción de semillas es escasa debido a fenómenos como la autoincompatibilidad. Por su parte, las plántulas son muy susceptibles a las pudriciones causadas por hongos, a la depredación y a los factores ambientales adversos, lo que hace que sólo una proporción muy baja llegue al estado adulto. Esto ocasiona que el reclutamiento de nuevos individuos en las poblaciones sea mínimo. Por ejemplo, se reporta que sólo 0.001% de las semillas producidas en una población de *Carnegiea gigantea* sobrevivieron a la depredación (Steenbergh y Lowe, 1969), mientras que en una población de *Ferocactus acanthodes* sólo se reclutaron 30 nuevos individuos por ha en un período de 18 años (Jordan y Nobel, 1981).

La aplicación de métodos biotecnológicos, como la multiplicación *in vitro*, puede contribuir a aliviar esta situación al hacer posible la propagación rápida y masiva de las cactáceas. Se sabe además que estas condiciones de cultivo en medios artificiales aceleran significativamente el crecimiento de estas plantas, confiriendo así una ventaja adicional a esta metodología (Malda et al., 1999). Sin embargo, también se ha encontrado que cada especie responde de manera diferente a las condiciones y a los reguladores del crecimiento usados en el cultivo *in vitro*, por lo que es necesario trabajar con cada una de ellas para encontrar el protocolo más adecuado y conocer su eficiencia de propagación bajo estos sistemas (Hubstenberger et al., 1992). Uno de los métodos más usados para la propagación *in vitro* de cactáceas es la generación de brotes a través de la activación de areolas, estructuras que contienen las yemas axilares. Este método resulta muy adecuado para la conservación de las características genotípicas de las especies, ya que no genera variación somaclonal, como sí lo pueden hacer los métodos indirectos de regeneración, cuya primera etapa es la producción de tejido calloso (Machado y Prioli, 1996). La activación de areolas se logra mediante la adición de citocininas al medio de cultivo, siendo las más usadas la 6-bencilaminopurina o benciladenina (BA), la 6-(, -dimetilalilamino)purina o 2-isopenteniladenina (2iP) y la furfurilaminopurina o cinetina (Hubstenberger et al., 1992).

A pesar del gran número de especies mexicanas de cactáceas de importancia ecológica, o con un uso potencial interesante, sólo se han establecido protocolos para la multiplicación *in vitro* de una fracción muy pequeña de ellas. Algunos ejemplos de estos sistemas son los reportados para *Mammillaria san-angelensis* (Martínez-Vázquez y Rubluo, 1989), *Aztekium ritteri* (Rodríguez-Garay y Rubluo, 1992), *Mammillaria candida* (Elias-Rocha et al., 1998), *Coryphantha minima* y *Obregonia denegrii* (Malda et al., 1999), *Turbinicarpus laui* (Mata-Rosas et al., 2001), *Pelecyphora aselliformis* y *P. strobiliformis* (Pérez-Molphe-Balch y Dávila-Figueroa, 2002), *Carnegiea gigantea*, *Pachycereus pringlei* y *Stenocereus thurberi* (Pérez-

Molphe-Balch et al., 2002), *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Moebius-Goldammer et al., 2003) y otras ocho especies y subespecies de *Turbinicarpus* (Dávila-Figueroa et al., 2005). En este trabajo se reportan métodos eficientes para la propagación *in vitro* de las cactáceas *Echinocereus knippelianus* Liebm., *Echinocereus schmollii* (Weing.) N.P.Taylor, *Mammillaria carmenae* Castañeda, *M. carmenae* fo. *rubrisprina*, *M. herrerae* Werdermann, *M. theresae* Cutak, *Melocactus curvispinus* Pfeiff., *Escontria chiotilla* (F.A.C.Weber) Rose y *Polaskia chichipe* (Rol.-Goss.) Backeb. Las seis primeras están catalogadas como amenazadas o en peligro de extinción de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana (SEMARNAT, 2002), mientras que las dos últimas son de interés debido a la producción de frutos muy apreciados por los pobladores de las regiones que habitan, lo que las hace candidatas para una explotación más intensiva.

Materiales y métodos

El material vegetal que se utilizó en este trabajo fueron plántulas obtenidas *in vitro* de las especies *Echinocereus knippelianus*, *Echinocereus schmollii*, *Escontria chiotilla*, *Mammillaria carmenae*, *M. carmenae* fo. *rubrisprina*, *M. herrerae*, *M. theresae*, *Melocactus curvispinus* y *Polaskia chichipe*. Estas plántulas se generaron a partir de la germinación de semillas en condiciones axénicas. Para esto, las semillas se lavaron cinco veces con agua corriente con 0.1% de Extran (Merck), luego se colocaron por 1 min en etanol al 70% y finalmente se desinfectaron por 25 min en blanqueador comercial (Cloralex) al 15% (v/v). Después de la desinfección, las semillas se llevaron a la campana de flujo laminar donde se enjuagaron cuatro veces con agua destilada estéril y se inocularon en condiciones asépticas en frascos con 30 mL de medio MS (Murashige y Skoog, 1962) al 50%, pH 5.7 y solidificado con 1% de agar. Los frascos de cultivo se sellaron con película autoadherible de PVC (Vitafilm) y fueron incubados bajo condiciones controladas. Cuando las plántulas alcanzaron 6–10 mm de altura (3–6 meses, dependiendo de la especie) se utilizaron como fuente de explantes para los experimentos de proliferación *in vitro* a través de la activación de areolas. Para esto, se eliminó su parte basal y se cortó su porción apical. El tejido restante se cortó transversalmente para formar rebanadas de aproximadamente 4 mm de grueso. Tanto los ápices como los segmentos transversales fueron inoculados en medio MS, 3% de sacarosa, adicionado con tres concentraciones de BA (0.5, 1.0 y 2.0 mg L⁻¹) y tres de 2-isopenteniladenina (2iP) (1.0, 3.0 y 5.0 mg L⁻¹), pH 5.7, 1% de agar. El testigo usado fue medio basal (MS sin citocininas). Se inocularon de 15 a 30 explantes por tratamiento, dependiendo de la disponibilidad de material de cada especie. Todos los cultivos fueron incubados bajo luz continua (54 mol m⁻² s⁻¹) a 25 ± 2°C. Los experimentos completos se

realizaron al menos dos veces. Para las réplicas se utilizó material vegetal generado en los experimentos previos. Los resultados se registraron a los 45-60 días de incubación, dependiendo de la tasa de crecimiento de cada especie. La respuesta evaluada fue el número de brotes generados por explante en los diferentes tratamientos. Con el fin de analizar el efecto de los tratamientos probados, los datos se analizaron mediante ANDEVA y la comparación entre las medias se hizo mediante la prueba de Tukey Kramer ($\alpha = 0.05$). Para el enraizamiento, los brotes generados en los tratamientos antes descritos se individualizaron y transfirieron a medio MS basal con cuatro tratamientos diseñados para estimular el enraizamiento de los brotes: (a) MS basal; (b) MS con 2 g L⁻¹ de carbón activado; (c) MS con 0.5 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico (AIB); y (d) medio MS con 0.5 mg L⁻¹ ácido indolacético (AIA). Estos tratamientos se mantuvieron por 30-45 días hasta que se formó un sistema radical vigoroso; entonces se realizó el proceso de adaptación a suelo. Para esto, se aflojó un poco la tapa del recipiente y así se dejó por siete días, después se retiraron las plantas del medio de cultivo, el cual se eliminó por completo de la raíz con ayuda de agua corriente, y se sembraron en macetas con una mezcla de tierra comercial para macetas y arena (1:1) previamente humedecida. Las macetas se colocaron en bolsas de plástico; una vez cerradas se mantuvieron en una cámara bioclimática a $26 \pm 2^\circ\text{C}$ y un fotoperíodo de 16 h luz, 8 h de oscuridad. A los dos o tres días se comenzó a abrir la bolsa, la cual se retiró por completo a los 15 días. Las macetas se mantuvieron por 30 días más en la cámara bioclimática y luego se llevaron al invernadero, en donde se determinó la tasa de supervivencia a los 90 días. Se consideró como sobrevivientes sólo a aquellas plantas que habían reiniciado su crecimiento ya en suelo.

Resultados y discusión

El método utilizado para la desinfección de las semillas fue satisfactorio, ya que el porcentaje de contaminación en todas las especies fue inferior a 15%. En cuanto a la tasa de germinación, ésta fue variable entre las especies estudiadas, observándose un intervalo desde 43% en *Echinocereus*

schmollii, hasta 98% en *Polaskia chichipe*. Para la mayoría de las especies se obtuvieron plántulas de 6 a 10 mm con una morfología normal a los tres meses de iniciado el cultivo. Sólo en el caso de las pertenecientes al género *Mammillaria* se requirió del doble de tiempo para que las plántulas alcanzaran esta talla. Además, 20% de las plántulas obtenidas en este género mostraron una morfología anormal, hiperhidratándose y generando tejido calloso. Estas plántulas no fueron utilizadas para los experimentos subsiguientes.

Las plántulas axénicas obtenidas *in vitro* se utilizaron como fuente de explantes para los experimentos de propagación a través de la activación de areolas. En éstos, se generaron brotes en todas las especies tanto con BA, como con 2iP (cuadro 1; figura 1). Sin embargo, la eficiencia varió entre los tratamientos y entre las especies. En ninguna especie se observó la aparición de brotes en el medio testigo (sin citocininas). Algunos de los ápices cultivados en este medio crecieron y generaron raíces. La mejor respuesta se obtuvo en *Echinocereus schmollii*, en donde el tratamiento con 2 mg L⁻¹ de BA generó un promedio de 13.5 brotes por explante. El resto de las especies generaron entre 6.0 y 11.8 brotes por explante en sus mejores tratamientos. Usando sistemas de regeneración similares en otras cactáceas se han reportado eficiencias de 14 brotes por explante en *Mediocactus coccineus* (Infante, 1992), 13.7 y 12.8 brotes por explante en *Pelecophora aselliformis* y *P. strobiliformis*, respectivamente (Pérez-Molphe-Balch y Dávila-Figueroa, 2002) y 13.8 brotes por explante en *Opuntia ficus-indica* (García-Saucedo *et al.*, 2005).

Las especies *Echinocereus knippelianus*, *Echinocereus schmollii*, *Mammillaria carmenae*, *M. herrerae*, *Escontria chiotilla* y *Polaskia chichipe* respondieron significativamente mejor a los tratamientos con BA, mientras que *M. theresae* y *Melocactus curvispinus* lo hicieron a los tratamientos con 2iP. Sólo en *M. carmenae* fo. *rubrisprina* no hubo diferencias significativas entre tratamientos con BA y 2iP, siendo ambas citocininas igualmente eficientes para generar brotes. Cabe mencionar que estas dos citocininas son las más empleadas para la propagación de cactáceas a través de la activación de areolas (Hubstenberger *et al.*,

Cuadro 1. Generación de brotes a través de la activación de areolas en explantes de nueve cactáceas tratados con dos citocininas. Resultados a los 45-60 días de iniciados los cultivos.

Especie	BA mg L ⁻¹	2iP mg L ⁻¹	Brotes por explante (media $\pm$ EE)*
<i>Echinocereus knippelianus</i>	—	—	0.0 $\pm$ 0.00 e
	0.5	—	3.6 $\pm$ 0.31 c
	1.0	—	5.5 $\pm$ 0.44 b
	2.0	—	8.9 $\pm$ 0.35 a
	—	1.0	1.8 $\pm$ 0.11 d
	—	3.0	3.0 $\pm$ 0.16 c
	—	5.0	3.5 $\pm$ 0.18 c

Cuadro 1. Continuación

Especie	BA mg L ⁻¹	2iP mg L ⁻¹	Brotes por explante (media ± EE)*
<i>Echinocereus schmollii</i>	—	—	0.0 ± 0.00 g
	0.5	—	2.8 ± 0.16 f
	1.0	—	9.3 ± 0.36 b
	2.0	—	13.5 ± 0.60 a
	—	1.0	4.2 ± 0.22 e
	—	3.0	6.2 ± 0.30 d
<i>Escontria chiotilla</i>	—	5.0	7.8 ± 0.38 c
	—	—	0.0 ± 0.00 e
	0.5	—	1.2 ± 0.20 d
	1.0	—	3.8 ± 0.66 b
	2.0	—	7.6 ± 0.84 a
	—	1.0	0.0 ± 0.00 e
<i>Mammillaria carmenae</i>	—	3.0	1.7 ± 0.27 cd
	—	5.0	2.1 ± 0.34 c
	—	—	0.0 ± 0.00 c
	0.5	—	6.2 ± 0.50 ab
	1.0	—	6.4 ± 0.71 ab
	2.0	—	7.7 ± 0.92 a
<i>Mammillaria carmenae</i> fo. <i>rubrisprina</i>	—	1.0	5.4 ± 0.42 b
	—	3.0	5.6 ± 0.56 b
	—	5.0	5.5 ± 0.34 b
	—	—	0.0 ± 0.00 c
	0.5	—	4.4 ± 0.57 b
	1.0	—	6.0 ± 0.52 a
<i>Mammillaria herrerae</i>	2.0	—	5.4 ± 0.63 ab
	—	1.0	5.0 ± 0.51 ab
	—	3.0	4.9 ± 0.28 ab
	—	5.0	5.7 ± 0.34 a
	—	—	0.0 ± 0.00 e
	0.5	—	8.1 ± 0.85 a
<i>Mammillaria theresae</i>	1.0	—	4.6 ± 0.23 bc
	2.0	—	5.8 ± 0.56 b
	—	1.0	3.2 ± 0.26 d
	—	3.0	3.6 ± 0.42 d
	—	5.0	4.0 ± 0.68 cd
	—	—	0.0 ± 0.00 d
<i>Melocactus curvispinus</i>	0.5	—	2.4 ± 0.42 c
	1.0	—	3.5 ± 0.51 bc
	2.0	—	4.2 ± 0.44 b
	—	1.0	5.0 ± 0.86 b
	—	3.0	8.0 ± 0.77 a
	—	5.0	8.2 ± 0.64 a
<i>Polaskia chichipe</i>	—	—	0.0 ± 0.00 d
	0.5	—	3.4 ± 0.37 c
	1.0	—	6.4 ± 0.46 b
	2.0	—	6.1 ± 0.50 b
	—	1.0	5.2 ± 0.50 b
	—	3.0	10.4 ± 0.47 a
<i>Polaskia chichipe</i>	—	5.0	11.8 ± 0.57 a
	—	—	0.0 ± 0.00 e
	0.5	—	1.5 ± 0.23 d
	1.0	—	11.5 ± 0.80 a
	2.0	—	7.6 ± 0.77 b
	—	1.0	1.3 ± 0.13 d
<i>Polaskia chichipe</i>	—	3.0	3.9 ± 0.67 c
	—	5.0	5.1 ± 0.78 c

* Este valor se obtuvo dividiendo el número total de brotes generados en el tratamiento entre el número total de explantes sometidos al mismo. Las medias con diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey-Kramer (= 0.05).

Figura 1. Generación de brotes a través de la activación de areolas en secciones de tallo cultivadas en medio MS. **a.** *Echinocereus sch - mollii* con 2 mg L⁻¹ de BA. **b.** *Escontria chiotilla* con 2 mg L⁻¹ de BA. **c.** *Melocactus curvispinus* con 5 mg L⁻¹ de 2iP. **d.** *Polaskia chichi - pe* con 1 mg L⁻¹ de BA. **e.** *Mammillaria herrerae* con 0.5 mg L⁻¹ de BA. **f.** *M. carmenae* con 2 mg L⁻¹ de BA. Barra = 10 mm en todos los casos.

1992). La multiplicación *in vitro* de cactáceas también se ha alcanzado a través de otras vías de propagación, como la organogénesis, en *Turbinicarpus laui* (Mata-Rosas *et al.*, 2001), *Selenicereus megalanthus* (Pelah *et al.*, 2002), *Pelecypora aselliformis* (Santos-Díaz *et al.*, 2003) y *Mamillaria albicoma* (Wyka *et al.*, 2006). Si bien la eficiencia de estos sistemas es similar o superior a la obtenida a través de la activación de areolas, éstos requieren combinaciones y niveles más altos de reguladores del crecimiento, y además se genera tejido calloso como paso intermedio en el proceso de regeneración. Éstos son factores que pueden favorecer la variación somaclonal (Oliveira *et al.*, 1995), por lo que no son los ideales para la conservación del acervo genético intacto de los materiales silvestres que se están propagando. En este trabajo sólo se observó la generación de tejido calloso en algunos explantes cultiva-

dos en las concentraciones más altas de las citocininas probadas (2 mg L⁻¹ de BA y 5 mg L⁻¹ de 2iP). Sin embargo, aun en estos casos los brotes se generaron a partir de las areolas y no del tejido calloso, por lo que el riesgo de generar variación somaclonal es mínimo. En general, se observó la aparición de un solo brote por areola, por lo que la eficiencia de los tratamientos se relaciona directamente con la proporción de areolas dentro de un explante que son estimuladas a brotar por la citocinina.

El enraizamiento *in vitro* de los brotes ocurrió con eficiencias de entre 54.8 y 100% (cuadro 2; figura 2). En cinco especies la mayor eficiencia se observó en el medio con AIB, mientras que dos respondieron mejor en medio con carbón activado, una con AIA y una en medio basal sin auxinas ni carbón activado. Estos resultados coinciden con reportes en *Pelecypora aselliformis* y *P. strobiliformis*

Figura 2. Brotes de seis especies de cactáceas enraizados *in vitro*: **a.** *Echinocereus knippelianus* con 0.5 mg L⁻¹ de AIB. **b.** *Echinocereus schmollii* con 2 g L⁻¹ de carbón activado. **c.** *Mamillaria theresae* con 0.5 mg L⁻¹ de AIB. **d.** *Mamillaria carmenae* MS basal. **e.** *Polaskia chichipe* con 0.5 mg L⁻¹ de AIB. **f.** *Melocactus curvispinus* con 0.5 mg L⁻¹ de AIB. Barra = 10 mm en todos los casos.

Cuadro 2. Eficiencia de enraizamiento *in vitro* y supervivencia en suelo.

Especie	Mejor tratamiento	Eficiencia de enraizamiento (%)*	Supervivencia en suelo (%)
<i>Echinocereus knippelianus</i>	0.5 mg L ⁻¹ AIB	100	90
<i>Echinocereus schmollii</i>	2 g L ⁻¹ CA	72.2	70
<i>Escontria chiotilla</i>	2 g L ⁻¹ CA	100	81
<i>Mammillaria carmenae</i>	MS	66.0	92
<i>Mammillaria carmenae</i> f. <i>rubrisprina</i>	0.5 mg L ⁻¹ AIA	67.2	98
<i>Mammillaria herrerae</i>	0.5 mg L ⁻¹ AIB	59.0	49
<i>Mammillaria theresae</i>	0.5 mg L ⁻¹ AIB	54.8	93
<i>Melocactus curvispinus</i>	0.5 mg L ⁻¹ AIB	93.7	75
<i>Polaskia chichipe</i>	0.5 mg L ⁻¹ AIB	100	88

* Sólo se muestra el tratamiento más eficiente en cuanto al porcentaje de enraizamiento que generó. CA = Carbón activado, MS = Medio MS basal.

(Pérez-Molphe-Balch y Dávila-Figueroa, 2002) y en *Opuntia* (García-Saucedo *et al.*, 2005), cuyo enraizamiento *in vitro* ocurrió en tratamientos con las auxinas mencionadas. Los porcentajes de supervivencia en suelo de las plantas generadas *in vitro* fueron satisfactorios en la mayoría de los casos (entre 70 y 98%). Sólo la especie *M. hererae* mostró un porcentaje menor (49%). En este caso podrían probarse otros sustratos para el desarrollo de las plantas, ya que seguramente la mezcla utilizada no fue la más adecuada.

Los métodos de propagación expuestos en este trabajo son más eficientes que cualquiera de los métodos convencionales disponibles para estas especies. Estos sistemas basados en el cultivo *in vitro* tienen el potencial de generar miles de nuevas plantas en menos de un año partiendo de sólo un fragmento de tejido. En el caso de las especies amenazadas, las plantas generadas *in vitro* pueden ser utilizadas o comercializadas, disminuyendo así la presión sobre las poblaciones silvestres. En las especies con potencial económico, productoras de frutas, los métodos biotecnológicos pueden ser la base para iniciar programas de mejoramiento y explotación más intensiva de las mismas. Por otro lado, el disponer de metodologías que permiten mantener y propagar *in vitro* tejidos de estas especies puede facilitar la realización de estudios en áreas como la fitoquímica, la biología celular y la molecular, sin que se haga necesaria para ello la recolección de material silvestre.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes por el apoyo financiero brindado al proyecto. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca para estudios de Maestría otorgada a J.L. Retes-Pruneda.

Literatura citada

- Bravo-Hollis H. y Sánchez-Mejorada H. 1991. *Las Cactáceas de México, Vol. III*. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.
- Dávila-Figueroa C., de la Rosa-Carrillo M.L. y Pérez-Molphe-Balch E. 2005. *In vitro* propagation of eight species or subspecies of *Turbinicapus* (Cactaceae). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* **41**:540-545.
- De Fatima M., Machado P.S. y Prioli A.J. 1996. Micropropagation of *Cereus peruvianus* Mill. (Cactaceae) by areole activation. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* **32**:199-203.
- De Oliveira S.A., da Silva-Machado M.F.P., Prioli A.J. y Aparecida-Mangolin C. 1995. *In vitro* propagation of *Cereus peruvianus* Mill. (Cactaceae). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* **31**:47-50.
- Elias-Rocha M.A., Santos-Días M.S. y Arredondo-Gómez A. 1998. Propagation of *Mammillaria candida* (Cactaceae) by tissue culture technique. *Haseltonia* **6**:96-101.
- García-Saucedo P.A., Valdez-Morales M., Valverde M.E., Cruz-Hernández A. y Paredes-López, O. 2005. Plant regeneration of three *Opuntia* genotypes used as human food. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **80**:215-219.
- Hernández H.M. y Godínez A. H. 1994. Contribución al conocimiento de las cactáceas mexicanas amenazadas. *Acta Botanica Mexicana* **26**:33-52.
- Hubstenberger J.F., Clayton P.W. y Phillips G.C. 1992. Micropropagation of cacti (Cactaceae). En: Bajaj Y.P.S. Ed. *Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 20. High-Tech and Micropropagation IV*. pp. 49-68, Springer-Verlag, Berlín y Heidelberg.
- Infante R. 1992. *In vitro* axillary shoot proliferation and somatic embryogenesis of yellow pitaya *Mediocractus coccineus* (Salm-Dyck). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **31**:155-159.
- Jordan P.W. y Nobel P.S. 1981. Seedling establishment of *Ferocactus acanthodes* in relation to drought. *Ecology* **62**:901-906.
- Malda G., Suzán H. y Backhaus R. 1999. *In vitro* culture as a potential method for the conservation of endangered plants

- possessing crassulacean acid metabolism. *Scientia Horticulturae* **81**:71-87.
- Martínez-Vázquez O. y Rublío A. 1989. *In vitro* mass propagation of the near-extinct *Mammillaria san-angelensis* Sánchez-Mejorada. *The Journal of Horticultural Science* **64**:99-105.
- Mata-Rosas M., Monroy de la Rosa M.A., Moebius-Goldammer K. y Chávez-Ávila V.M. 2001. Micropropagation of *Turbinicarpus laui* Glass et Foster, an endemic and endangered species. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* **37**:400-404.
- Moebius-Goldammer K.G., Mata-Rosas M. y Chávez-Ávila V.M. 2003. Organogenesis and somatic embryogenesis in *Ariocarpus kotschoubeyanus* (Lem.) K. Schum. (Cactaceae), an endemic and endangered Mexican species. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* **39**:388-393.
- Murashige T. y Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* **15**:473-479.
- Ortega-Baes P. y Godínez-Álvarez H. 2006. Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity and Conservation* **15**:817-827.
- Pelah D., Kaushik R.A., Mizrahi Y. y Sitrit Y. 2002. Organogenesis in the vine cactus *Selenicereus megalanthus* using thidiazuron. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **71**:81-84.
- Pérez-Molphe-Balch E. y Dávila-Figueroa C.A. 2002. *In vitro* propagation of *Pelecyphora aselliformis* Ehrenberg and *P. strobiliformis* Werdermann (Cactaceae). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* **38**:73-78.
- Pérez-Molphe-Balch E., Pérez-Reyes M.E., Dávila-Figueroa C.A. y Villalobos-Amador E. 2002. *In vitro* propagation of three species of columnar cacti from the Sonoran Desert. *HortScience* **37**:693-696.
- Rodríguez-Garay B. y Rublío A. 1992. *In vitro* morphogenetic responses of the endangered cactus *Aztekium ritteri* (Boedeker). *Cactus and Succulent Journal (U.S.)* **64**:116-119.
- Santos-Díaz M.D.S., Méndez-Ontiveros R., Arredondo-Gómez A. y Santos-Díaz M.D.L. 2003. *In vitro* organogenesis of *Pelecyphora aselliformis* Erhenberg (Cactaceae). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* **39**:480-484.
- SEMARNAT [Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales]. 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. 2a Sección, 6 de marzo de 2002.
- Steenbergh W.F. y Lowe C.H. 1969. Critical factors during the first years of life of the saguaro (*Cereus giganteus*) in the Saguaro National Monument, Arizona. *Ecology* **50**:825-834.
- Wyka T., Hamerska M. y Wróblewska M. 2006. Organogenesis of vegetative shoots from *in vitro* cultured flower buds of *Mammillaria albicoma* (Cactaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* **87**:27-32.

Recibido: 22 de agosto de 2007

Aceptado: 23 de octubre de 2007