

International Journal of Biological and Natural Sciences

Acceptance date: 22/01/2025

ESTABLECIMIENTO Y MANTENCIÓN IN VITRO Y EX VITRO DE UN BANCO DE GERMOPLASMA DE BIZNAGAS NATIVAS DE LA ZONA CENTRO NORTE DE SINALOA

Norma Alicia Macias Rodriguez

TecNM/Instituto Tecnológico de Sinaloa de
Leyva

Jesús Lucina Romero Romero

IPN/Ciidir Sinaloa

Urfile Victoria Peláez Estrada

TecNM/Instituto Tecnológico de Tláhuac

Isaac Santiago Martinez

TecNM/Instituto Tecnológico de Pinotepa

María Guadalupe Medina Ortiz

TecNM/Instituto Tecnológico de
Comitancillo

All content in this magazine is
licensed under a Creative Com-
mons Attribution License. Attri-
bution-Non-Commercial-Non-
Derivatives 4.0 International (CC
BY-NC-ND 4.0).



Resumen: Las cactáceas (familia *Cactaceae*), son plantas endémicas del continente americano, distribuidas principalmente en las zonas áridas y semiáridas. México se ubica como el país que alberga la mayor cantidad de especies de esta familia. Las cactáceas comúnmente llamadas “cactus”, integran una gran diversidad de plantas, entre las que destacan las biznagas. Este grupo de plantas habitan en diversos ecosistemas, en zonas de alta presión atmosférica con corrientes de aire seco. Por su importancia alimenticia, forrajera, medicinal, cosmética y ornamental, a su amplia diversidad desde el punto de vista fisiológico, morfológico, ecológico y taxonómico, y al hecho de que muchas de sus especies son raras y enfrentan problemas de conservación. Debido a su lento crecimiento, pérdida del hábitat por cambios de uso de suelo distintos al forestal, endemismo. Las hace ser depredadas por coleccionistas o extraídas para su comercialización, se ha convertido en un grupo sensible a la extinción, por lo anterior la investigación biológica de este grupo vegetal se ha dirigido a su aprovechamiento racional en un modelo ejemplar para la investigación científica. Consideramos de gran importancia llevar a cabo el presente proyecto de investigación, que permita realizar la conservación y propagación de estas especies, la propuesta actual es el establecimiento y mantención *in vitro* y *ex vitro* de un banco de germoplasma de especies de biznagas en peligro de extinción de la zona centro norte de Sinaloa. La finalidad es establecer protocolos de viabilidad, germinación, establecimiento y masificación de plantas de biznagas nativas obtenidas por la colecta en la región centro norte de Sinaloa. Un total de 62 muestras se obtuvieron en 4 muestreos realizados en el mes de junio y julio del 2023; representados por 26 localidades diferentes representadas por una localidad de Salvador Alvarado, 6 de Sinaloa, 2 de Ahome, 2 de Angostura y 15 de Guasave. Los frutos obte-

nidos, se les aplico tratamiento de estratificación química y física obteniéndose resultados positivos a lo esperado. Este proyecto, da la pauta como lo manifiestan diferentes grupos de trabajo, que a través del tiempo aportemos investigación dirigida a conocer la capacidad germinativa principalmente en especies endémicas y silvestres mexicanas como del grupo de las cactáceas. Además, que se pueda extrapolar a otras especies amenazadas o en riesgo de extinción.

Palabras-clave: *Cactaceae*, cactus, germoplasma, biznaga, tratamientos, germinación, *in vitro*, *ex vitro*.

INTRODUCCIÓN

México es uno de los centros de evolución de las cactáceas con un total de 660 especies, de las cuales el 78% son endémicas de nuestro país (Ortega-Baes y Godinez-Alvarez, 2006).

El grupo de plantas integradas dentro de la familia *Cactaceae*; comúnmente llamadas “cactus” representados por los nopales, biznagas, pitayas, garambullos, etc; se distinguen junto con los mezquites, los ébanos, las gobernadoras, las yucas, las guapillas, los magueyes y otras especies típicas de los ecosistemas xerofitos,

Por su importancia alimenticia, forrajera, medicinal, cosmética y ornamental, a su amplia diversidad desde el punto de vista fisiológico, morfológico, ecológico y taxonómico, y al hecho de que muchas de sus especies son raras y enfrentan problemas de conservación, la investigación biológica de este grupo vegetal se ha dirigido a su aprovechamiento racional en un modelo ejemplar para la investigación científica (Becerra, 2000).

La principal amenaza que existe sobre la familia es sobre su hábitat natural de distribución y por lo tanto sobre las especies, por acciones meramente antropocéntricas, como la ampliación de la frontera agropecuaria, desarrollos urbanos o vías de comunicación mal planificados y los cambios irracionales de

uso de suelo en las zonas áridas y semiáridas de México (Alanís-Flores y Velazco-Macías, 2008). Muchas especies de la familia están amenazadas, además de la perturbación de sus hábitats naturales de distribución.

Las zonas desérticas y semidesérticas mexicanas presentes en los estados de Sonora y Chihuahua, las Selvas Bajas Caducifolias y la zona de depresión del Balsas contienen una gran diversidad de cactáceas y las zonas con mayor diversidad en el centro de México son el Valle de Tehuacán-Cuicatlán y la Barranca de Metztitlán, grupos similares se han encontrado en Puebla, Hidalgo, Querétaro, San Luis Potosí, Zacatecas, Durango. Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas, noreste de Guanajuato. Lamentablemente 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, son afectadas por el disturbio del medio ambiente en su hábitat. Estas plantas se han convertido en un grupo sensible a la extinción (Jiménez Sierra *et al.*, 2007), presenta su máxima diversidad e importancia en el territorio mexicano con alrededor de 670 especies, de las cuales cerca del 80% son endémicas (Talonía *et al.*, 2014). De acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010 (Diario Oficial de la Federación, 2010) algunas de las especies por mencionar algunas, que se encuentran en peligro de extinción son: *Echinocereus schmollii*, *Mammillaria albiflora* y *Ferocactus histrix*; otras especies pueden considerarse amenazadas

Varios autores han realizado diferentes estudios sobre cactáceas, destacan para la zona de estudio, del desierto chihuahuense, bajo el sistema de tejidos vegetales *in vitro* (Gómez-Hinostrosa y Hernández, 2000). determinaron que el 82% son endémicas, 6% tienen una distribución restringida y 19% están en peligro de extinción, observaron como 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 su hábitat. Casillas-Álvarez *et al* 2018, en su investigación compara la germinación de cinco poblaciones de Sinaloa, México, para determinar; si existe un patrón asociado con la germinación precoz de las semillas, dada la variación entre frutos, individuos y poblaciones de la especie *Stenocereus thurberi* (Cactaceae), concluyendo que existe un patrón de germinación asociado con viviparidad en *S. thurberi*. Gómez-Serrano *et al*, 2021; estudio la germinación *in vitro* y *ex vitro* además de evaluar los efectos de los reguladores de crecimiento vegetal en respuesta al crecimiento de *E. platyacanthus* bajo condiciones controladas, reportando se alcanzó el 70% de germinación después de los 28 días. Manzo-Rodríguez *et al.*, 2022, menciona que existen pocos estudios acerca de métodos para evaluar la viabilidad y germinación de semillas de cactáceas, información necesaria para planear la conservación y preservación en su hábitat o sobrevivencia por periodos largos en condiciones ambientales desfavorables o de almacenamiento.

OBJETIVO

OBJETIVO GENERAL

Establecer y mantener un banco de germoplasma *in vitro* y *ex vitro* de especies de biznaga nativas de la zona centro norte de Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

DELIMITACIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO

El área de estudio, fue la zona centro norte del estado de Sinaloa, delimitada por los municipios de Ahome, Guasave, Angostura, Salvador Alvarado, Sinaloa, (Fig. 1).

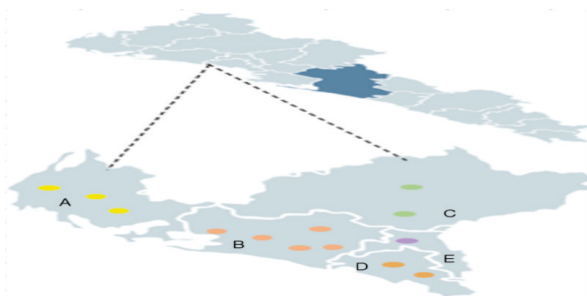


Figura 1. Área de estudio. Región centro norte del estado de Sinaloa. A: municipio de Ahome, B: municipio de Guasave, C: municipio de Sinaloa, D: municipio de Angostura, E: municipio Salvador Alvarado.

LOCALIZACIÓN DE BIZNAGA REGIONAL Y COLECTA DE FRUTOS

Con el propósito de identificar puntos de localización de diversidad de cactáceas, con atención a especies de biznaga regional, se realizaron recorridos por los diferentes municipios para la toma de muestras de fruto; considerando área urbana, rural, valle, sierra. Iniciando por el municipio de Salvador Alvarado ($25^{\circ}49'603''\text{N}$, $108^{\circ}15'972''\text{W}$ a 20 MSNM); y dirigiéndonos hacia la sierra madre occidental, como parte del municipio de Sinaloa; la localidad Tescalama, Sinaloa ($25^{\circ}43'040''\text{N}$, $108^{\circ}00'135''\text{W}$ a 241 MSNM). Continuando al municipio de Mocorito ($25^{\circ}49'605''\text{N}$, $108^{\circ}15'976''\text{W}$ a 210 MSNM), siguiendo el recorrido hacia la costa al municipio de Angostura, localidad playa colorada ($25^{\circ}17'534''\text{N}$, $108^{\circ}19'452''\text{W}$ a 5 MSNM). Se continuo en diversos puntos del municipio de Guasave; localidad de San Pedro ($25^{\circ}33'194''\text{N}$, $108^{\circ}26'086''\text{W}$ 20 MSNM), siguiendo en perpendicular a la costa, localidad San José de la Brecha ($25^{\circ}20'492''\text{N}$, $108^{\circ}26'466''\text{W}$, 14 MSNM); al margen izquierda del río Sinaloa, por localidad del Amole ($25^{\circ}23'210''\text{N}$, $108^{\circ}26'287''\text{W}$ a 15 MSNM); se continuo hacia la costa al campo pesquero boca del río ($25^{\circ}17'113''\text{N}$, $108^{\circ}29'765''$ a 3 MSNM) y playa las glorias ($25^{\circ}17'661''\text{N}$, $108^{\circ}31'155''\text{W}$ a 11 MSNM). El sector de la

sierra madre occidental correspondiente al municipio de Sinaloa, localidad de Maripa ($25^{\circ}52'421''\text{N}$, $108^{\circ}08'378''\text{W}$ a 85 MSNM), localidad de Cabrera de Bones ($25^{\circ}50'030''\text{N}$, $108^{\circ}18'555''\text{W}$ a 74 MSNM) y localidad el Palotal ($25^{\circ}45'864''\text{N}$, $108^{\circ}28'858''\text{W}$ a 42 MSNM).y por último en la localidad de Lázaro Cárdenas, Ahome al margen de la bahía de Ohuira ($25^{\circ}36'230''\text{N}$, $108^{\circ}58'033''$ a 6 MSNM). Se realizaron registros de datos, toma de fotografías y colecta de planta de biznaga en los puntos de fácil acceso, para caracterizar morfológicamente e identificar el grupo de biznaga presente en el área de estudio.

EXTRACCIÓN DE SEMILLAS DEL FRUTO

La extracción de semilla se realizó manualmente, eliminando pulpa propia del fruto, lavado con agua potable y secado de la semilla en papel secante; posteriormente se realizó el conteo de semillas por fruto y se mantuvieron en cajas Petri selladas y aseguradas a temperatura hasta los 20°C .

VIABILIDAD DE SEMILLAS DE BIZNAGA

Se determinó viabilidad mediante dos metodologías: 1) Primer método es por flotación, que consistió en colocar sumergir las semillas en un frasco de vidrio provistos de agua destilada por 24 hrs a temperatura ambiente; las semillas consideradas como viables fueron las que lograron hidratarse y asentarse en el fondo de frasco. 2) El segundo método consistió en el uso de tetrazolio al 1%.

GERMINACIÓN DE LA SEMILLA

En la búsqueda del mejor protocolo de germinación de semilla, se realizaron tratamientos químicos y físicos. Un tratamiento químico se basó por escarificación en el uso de ácido sulfúrico (H_2SO_4) al 96% con dos periodos de incubación (10 y 20 minutos), finalizado el tiempo de incubación se lavaron de 3 a 4 veces con agua destilada estéril y se colocaron en una placa Petri con papel estéril húmedo. Otro de los tratamientos químicos se llevó acabo utilizando ácido giberélico (GA_3) a una concentración de 500 ppm. y se incubaron por 24 hrs a temperatura ambiente, se inocularon en una placa Petri con papel estéril húmedo. El tratamiento físico, fue por escarificación mecánica utilizando una lija. Para ello, semillas por muestra pasaron por lija, haciendo fricción con la finalidad de adelgazar su testa, y de igual manera se colocaron en una placa Petri con papel estéril húmedo. Todos los tratamientos se mantuvieron a $25^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$ durante 15 días registrando porcentajes de germinación por tratamiento. El tratamiento control consistirá de semillas sometidas a imbibición en agua destilada. Se considerará como germinación la observación de radícula. Finalmente se determinará el índice de Germinación de Scott (González y Orozco, 1996; Álvarez et al., 2004) mediante la ecuación:

$$IG = \frac{\sum(n_t t_t)}{N}$$

donde nt: número de semillas germinadas al día t, tt : días transcurridos desde el inicio del experimento hasta el día t, y N: número total de semillas germinadas.

ESTABLECIMIENTO DE BANCO DE GERMOPLASMA *IN VITRO* Y *EX VITRO* DE BIZNAGAS NATIVAS

Para el establecimiento *in vitro* se partió utilizando embriones obtenidos en el protocolo de germinación. Los embriones se desinfectaron utilizando un anti fúngico comercial 1% durante 15 minutos, hipoclorito de sodio al 10%, etanol al 70% por 60 segundos y agua destilada estéril. Los embriones esterilizados fueron cultivados en frascos provistos con medio Murashige y Skoog (MS), y se sometieron a una evaluación de diferentes concentraciones con (a): GA_3 (3mg/L) y (b): GA_3 (5mg/L). El medio control y los dos medios (a) y (b) contenían agar al 0.8% y sacarosa (30 g·L⁻¹) y se llevaron a pH 5.7 ± 1 . Los frascos se incubaron en un cuarto de crecimiento con una temperatura de $23 \pm 2^{\circ}C$, y un fotoperiodo de 16 h, provisto por lámparas fluorescentes “cool-white”, con una intensidad lumínica de 58 μ mol-2s⁻¹. Para el establecimiento *ex vitro*, los embriones se colocaron en una mezcla de sustrato estéril, el cual consistió en peat most y perlita (1:1) al interior de mini invernaderos para su aclimatación y crecimiento.

RESULTADOS Y DISCUSION

LOCALIZACIÓN DE BIZNAGA NATIVA Y COLECTA DE FRUTOS

Un total de 62 muestras se obtuvieron en 4 muestreos realizados en el mes de junio y julio del 2023, cada muestra representada de 1 a 5 frutos de tamaño variable. Se realizó un recorrido de aproximadamente 600 km considerando en línea recta, representados por 26 localidades diferentes representadas por una localidad de Salvador Alvarado, 6 de Sinaloa, 2 de Ahome, 2 de Angostura y 15 de Guasave; y el municipio de Mocorito, una localidad sin presencia de biznaga nativa, descartando su seguimiento en el presente trabajo.(Dato no registrado)

En la tabla 1, que a continuación se muestra; se registraron lugares de muestreo representativos de donde se seleccionaron frutos, como parte del reconocimiento general del fruto y cantidad de semillas. Como lo muestra la última columna, lado derecho de la tabla, el número menor de semillas es de 890, fruto obtenido del lugar el Llano municipio de Sinaloa y los frutos con número máximo de semillas son de municipio de Ahome con 3176, seguido de 2530 y 2400. La fig.2, muestra plantas madres representantes de los 5 lugares de muestreo, así como la toma de los datos para el registro de las características del fruto

Las especies de biznaga nativas, se georeferenciaron su lugar de ubicación, registraron características del lugar de colecta, encontrándose en espacios de traspatio, áreas cercanas a la sierra madre occidental, a la playa y bahía, área urbana como ejemplares de ornato o jardín, y orillas de camino o calle. A cada planta seleccionada se le tomó fotografía, se midió altura, grosor y se contó el número de costillas. Como se puede observar en la fig. 2, se muestran especímenes de biznaga en su hábitat, de los municipios de Salvador Alvarado, Ahome, Sinaloa, Guasave, Angostura; considerándose planta madre de acuerdo a las que se obtuvieron frutos colectados.

A los frutos colectados se les registró peso con balanza electrónica, y se midió su diámetro ecuatorial y medida polar utilizando un vernier, determinando un promedio en peso y mediciones por muestras colectadas en cada uno de los puntos, como lo muestra la fig. 3.

VIABILIDAD DE SEMILLA DE BIZNAGA

La viabilidad denota el potencial que tiene una semilla para germinar, la cual está ligada al éxito o fracaso reproductivo de las poblaciones y de esta manera es una de las primeras variables a evaluar cuando se trabaja con semillas.

Para la determinación de viabilidad de las semillas de las diversas especies de biznagas colectadas, se partió por realizar de forma manual la extracción y contabilización de las semillas de todos los frutos colectados. Seguido, se determinó viabilidad mediante dos metodologías, que de manera indirecta determinaron el potencial de germinación de las semillas. La prueba de flotación, que consistió en colocar sumergir las semillas en un frasco de vidrio provistos de agua destilada por 24hrs a temperatura ambiente; las semillas consideradas como viables fueron las que lograron hidratarse y asentarse en el fondo de frasco. El segundo método consistió en el uso de cloruro de tetrazolio al 1%. El método de flotación es un procedimiento utilizado con el propósito de obtener una alta probabilidad de viabilidad, ya que este procedimiento lo consideran importante utilizarlo en frutos con una elevada cantidad de semilla, como es el fruto de la biznaga. El uso del tetrazolio al 1%; se revisaron numerosos artículos en los cuales se aplicó la prueba de tetrazolio para identificar las condiciones más utilizadas, A partir de esto, se evaluaron primero condiciones de acuerdo al tiempo de la semilla sin testa, expuesta al cloruro de tetrazolio por 3, 12, y 24 hrs. La que nos otorgó el resultado esperado fue a las 24 hrs. Se presentó una relación entre el resultado esperado con la prueba de flotación y las expuestas al cloruro de tetrazolio. En el grupo de semillas se pudo observar variaciones en la intensidad de tinción, según Dias y Alves 2008, comenta que las variaciones en color son indicaciones de declinación en la actividad deshidrogenasa probablemente por la condición fisiológica o metabólica de cada especie.

En la figura 4, se muestra que a las 24 hrs de mantener semillas en agua, se observó por arriba del 50% que sedimentaron, considerando una menor cantidad de semillas para seguimiento de este proyecto, así mismo se

PUNTOS DE MUESTREO Y COLECTA DE ESPECIMENES						
FECHA DE MUESTREO	LUGAR DE MUESTREO	MUNICIPIO	CARACTERISTICAS DEL FRUTOS			
			PESO (g)	DE (mm)	DP (mm)	N° SEMILLAS
09/06/2023	Diacochito/carret a la Cienega de Casal	Salvador Alvarado	28.15	35.1	50.2	1744
			24	28.1	31.5	1625
	El Limón/Carret a la Cienega	Sinaloa	18.04	34.4	51.4	1448
			12.51	36.9	50.2	1376
	El Llano	Angostura	11.7	35.9	5	890
04/07/2023	Periferico/Gasoliner en Canal a carret a topolobampo	Ahome	21.53	36.2	39.6	3176
			42.92	39.2	39.8	2400
			35.3	35.8	32	2530
	San Pedro/Carret a Guasavito	Guasave	48.3	32	29	1968
			17.93	29	38.8	1240
12/06/2023	San Jose de la Brecha	Guasave	18.84	33.4	27.3	2000

Tabla 1. Tabla de registro de muestreos realizado. Fecha y lugar de muestreo, municipio y registro de características del fruto.



Figura 2. Especímenes de biznaga en su hábitat. Planta madre de colecta de fruto en los municipios de la región centro norte del estado de Sinaloa

muestra la reacción química del tetrazolio con el embrión de la semilla, que nos refleja mayor probabilidad de poder germinar.

La viabilidad denota el potencial que tiene una semilla para germinar, (Sawma y Mohler 2002); y según Da Silva *et al*, 2012, la semilla de una especie particular puede requerir variaciones en las condiciones para tener resultados precisos. La viabilidad de las semillas se determina en función del patrón de tinción del embrión y la intensidad de la coloración (Ruiz, 2009); en este contexto Pereira *et al* 2017, señalan que el exceso del tiempo de contacto con la solución puede resaltar en una coloración incluso las semillas no son viables. En contexto pudimos constatar ya que semillas viables de acuerdo a la prueba de cloruro de tetrazolio no mostraron germinación a los 15 días del primer tratamiento. La viabilidad determina la posibilidad de una semilla de germinar y desde un punto de vista sustentable, es imposible obtener plantas de interés comercial, si no se parte de una semilla de calidad; un cultivo puede resultar de una calidad inferior a la semilla sembrada, pero nunca mejor que ella Manzo-Rodriguez *et al*, 2022.

Los resultados permitieron determinar el método más confiable para evaluar la viabilidad en las diferentes semillas, aportar información sobre sus requerimientos germinativos y considerar la necesidad de evaluar el uso de los métodos alternativos como estratificación química y física que permitan aumentar los porcentajes de germinación en algunas de las especies.

GERMINACIÓN DE SEMILLAS DE BIZNAGA NATIVAS EN LA REGIÓN CENTRO NORTE DEL ESTADO DE SINALOA

La semilla es la etapa más importante en el ciclo de vida de las plantas superiores para su supervivencia, la latencia y la germinación son mecanismos naturales que aseguran esta permanencia en las poblaciones y a menudo le ayudan a sobrevivir largos periodos con condiciones desfavorables, el embrión está protegido por una o varias capas de otros tejidos (Vozzo, 2010).

Diferentes grupos de investigación han usado tratamientos mediante escarificación mecánica, química (uso de ácido sulfúrico), aplicación de reguladores de crecimiento. Como parte de nuestro establecimiento de protocolos que permitan determinar la germinación de semillas de biznaga nativa en la región centro norte; otra alternativa es el uso los tratamientos antes mencionados.

Los resultados obtenidos muestran que los 4 tratamientos son pertinentes para seguimiento en el protocolo de germinación; las líneas seleccionadas corresponden a las M1, M2, M8, M12, M14, M15, y M16. De acuerdo con los datos representados en la tabla 2 y fig. 5, el tratamiento con ácido sulfúrico en 10 minutos a los 15 días observo germinación de semilla en 7 muestras de 11 y con 20 minutos 8 muestras de las 11 tratadas, la aplicación de tratamiento con ácido giberélico (GA_3), la germinación se obtuvo para 3 muestras de las 11 tratadas y el tratamiento de estratificación mecánica aumento una muestra respecto al uso de GA_3 , lo que demuestra que en los 4 tratamientos fueron factibles de observar la germinación de la semilla, a los 15 días de seguimiento, observándose resultados de presencia de fotosíntesis cercano a los 10 días de los 15 días como tiempo a prueba. Gómez-Serrano *et al*, 2021; evaluó los efectos de los reguladores de crecimiento vegetal en respuesta al cre-

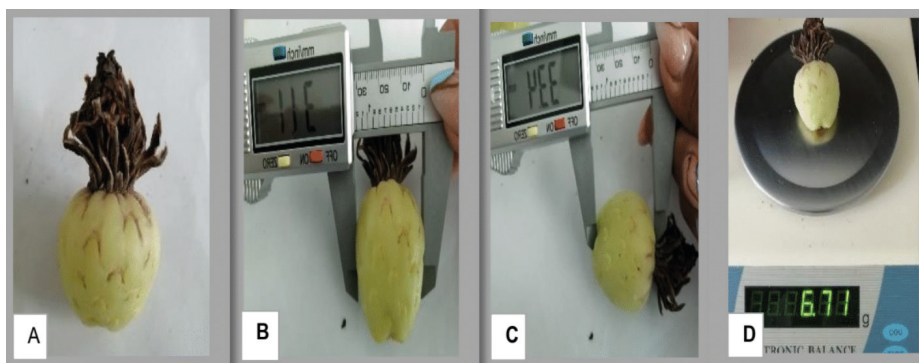


Figura 3. Determinación de características morfológicas del fruto de biznaga nativa de la región centro norte del estado de Sinaloa. A: fruto entero, B: medición de diámetro ecuatorial del fruto, C: medición de la distancia polar, D: peso de fruto.

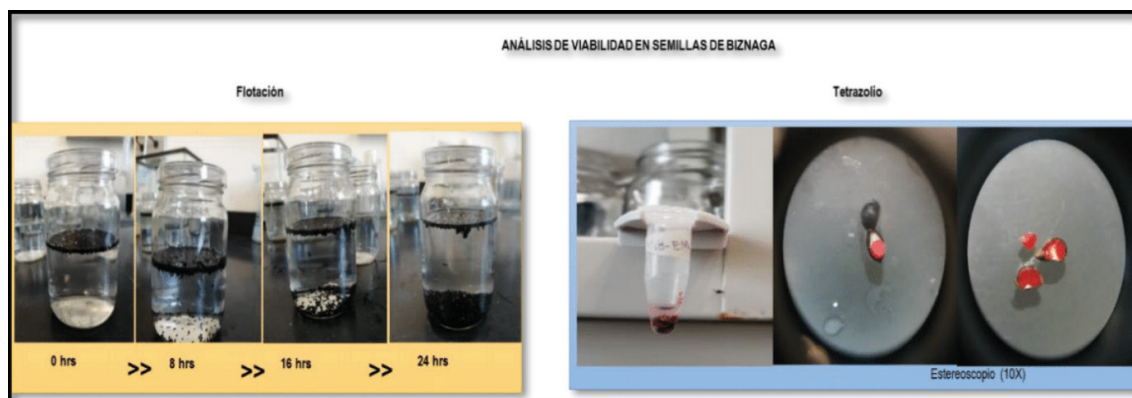


Figura 4. Resultados de viabilidad de la semilla de biznaga. Por flotación, durante 24 horas. Semillas viables son las observadas en el fondo del envase y por prueba al tetrazolio al 1%. Embrión de semilla de color rosado, lo cual demuestra la viabilidad.

Líneas	TRATAMIENTOS											
	Ac. Sulfúrico (10')			Ac. Sulfúrico "20"			GA ₃ (500ppm, ON)			Estratificación Mecánica		
	Nº Semilla Tratada	Nº Semilla Germinada	GERM. (%)	Nº Semilla Tratada	Nº Semilla Germinada	GERM. (%)	Nº Semilla Tratada	Nº Semilla Germinada	GERM. (%)	Nº Semilla Tratada	Nº Semilla Germinada	GERM. (%)
M1	100	100	100	100	100	100	100	30	30	100	12	12
M2	100	30	30	100	50	50	100	39	39	100	3	3
M3	100	1	1	100	0	0	100	10	10	100	9	9
M8	100	22	22	100	18	18	100	0	0	100	0	0
M11	100	0	0	100	1	1	100	0	0	100	0	0
M12	100	0	0	100	1	1	100	0	0	100	0	0
M14	100	14	14	100	20	20	100	0	0	100	0	0
M15	100	33	33	100	31	31	100	0	0	100	0	0
M16	100	13	13	100	27	27	100	0	0	100	3	3
M20	100		0	100		0	100		0	100		0
M22	100		0	100		0	100		0	100		0

Tabla 2. Resultados de los tratamientos aplicados a muestras. Líneas de estudio M1, M2, M3, M8, M11, M12, M15, M16, M20, M22 sometidas al tratamiento con ac sulfúrico (10' y 20'), GA₃ y Estratificación mecánica.

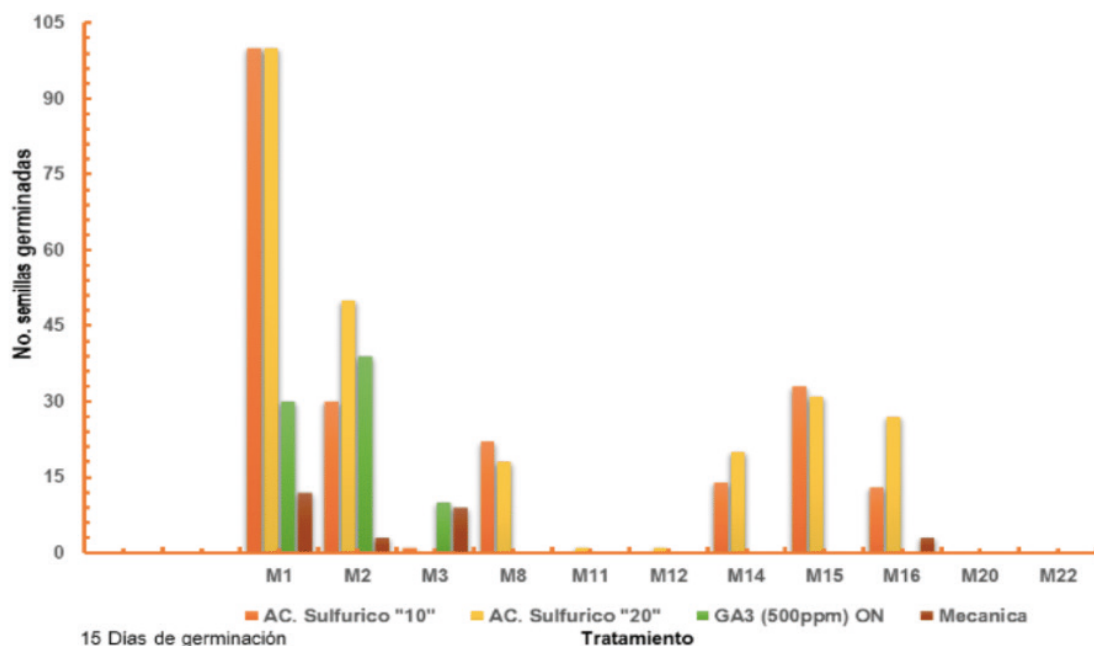


Figura 5. Cantidad de semillas germinadas, de acuerdo a los tratamientos químicos y físico aplicados a las semillas de fruto de biznaga. Eje de las X: tratamientos aplicados a diferentes muestras: M1, M2, M3, M8, M11, M12, M14, M15, M16, M20, M22. Eje Y: Numero de semilla germinada al tiempo de 15 días.

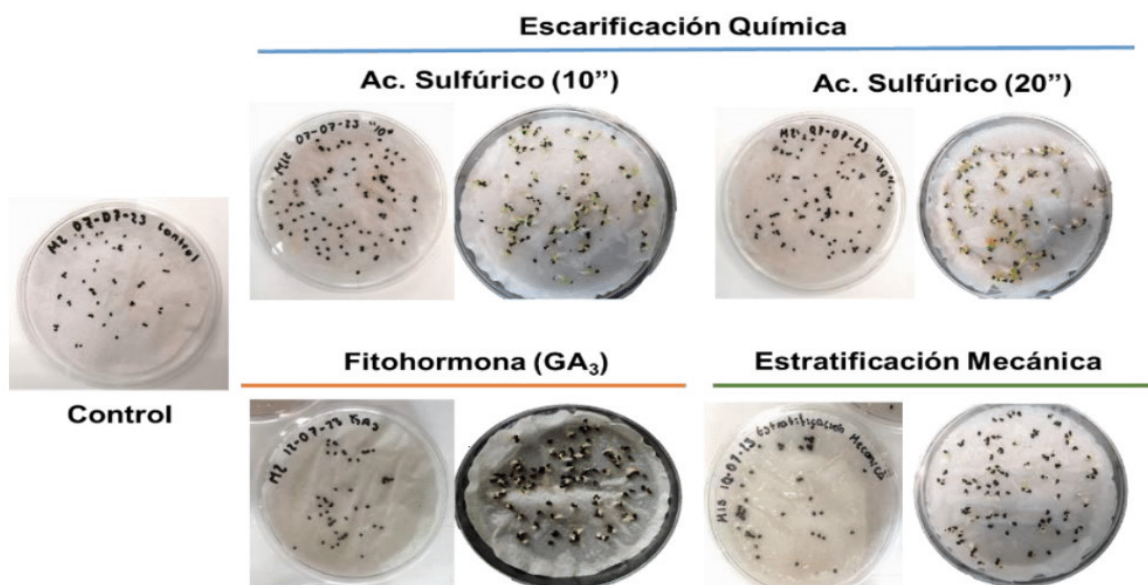


Figura 6. Optimización de la germinación de semillas de fruto de biznaga nativa de la región centro norte del estado de Sinaloa. Seguimiento a partir de los tratamientos utilizados: escarificación química, con ácido sulfúrico a los 10 y 20 minutos, uso de fitohormona GA_3 y estratificación mecánica; comparando con el control con agua destilada estéril.

a. Germoplasma *in vitro*



b. Germoplasma *ex vitro*

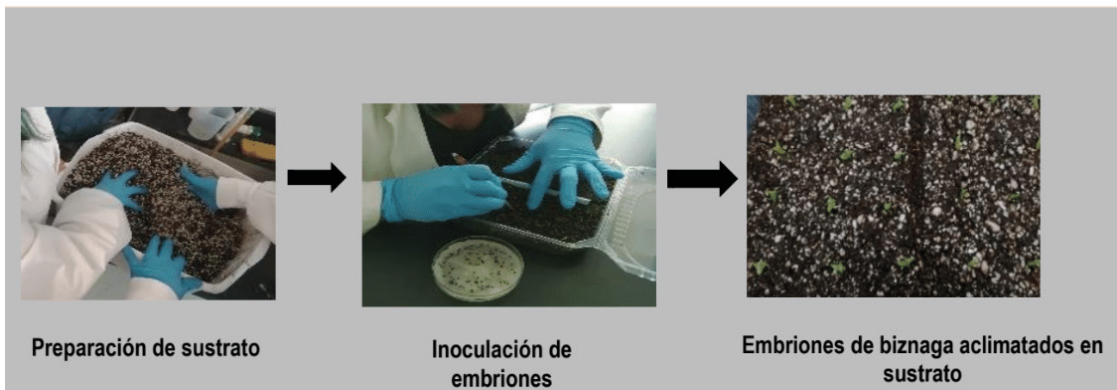


Figura 7. Establecimiento de banco de germoplasma *in vitro* y *ex vitro* de biznagas nativas de la región centro norte del estado de Sinaloa. (a): germoplasma *in vitro*; se observa de izquierda a derecha el seguimiento: esterilización del embrión seleccionado a partir del germinado, inoculación en medio de cultivo, establecimiento y desarrollo *in vitro*; (b): germoplasma *ex vitro*; se observa de izquierda a derecha el seguimiento: preparación de sustrato estéril, inoculación de embrión seleccionado a partir del germinado, embriones de biznaga aclimatados en sustrato.

cimiento de *E. platyacanthus* bajo condiciones controladas, reportando se alcanzó el 70% de germinación después de los 28 días.

Posterior a los tiempos de cada tratamiento, las semillas se enjuagaron con agua destilada, para la inducción de la germinación las semillas se colocaron en una caja Petri con papel filtro estéril húmedo, y se mantuvieron por 15 días fig. 6; registrando porcentajes de germinación por tratamiento durante 15 días del protocolo. Los resultados se observaron en los 4 tratamientos al día 15. El resultado observado, a partir de las pruebas de viabilidad y

tratamientos que se sometieron las semillas en este estudio, coinciden con los Manzo-Rodríguez,2022; que estrategias alternativas proporcionan información necesaria para planear la conservación y preservación de las cactáceas en su hábitat o sobrevivencia por periodos largos en condiciones desfavorables, y estimar su desempeño en condiciones de campo. La germinación en laboratorio constituye un primer indicio de la calidad de las semillas, necesario mencionar en muchos casos los resultados difieren de los que se hacen en condiciones de campo.

ESTABLECIMIENTO DE BANCO DE GERMOPLASMA *IN VITRO* Y *EX VITRO* DE BIZNAGAS NATIVAS

Para el establecimiento del banco de germoplasma *in vitro* y *ex vitro* observados en la fig. 7. Los resultados obtenidos de las muestras con presencia de germinación a partir de estar expuestas a los tratamientos de escarificación química, fitohormona y estratificación mecánica; se puso en marcha el establecimiento *in vitro* y *ex vitro*, según la metodología descrita en el presente proyecto.

Datos actuales para ambos establecimiento y desarrollo *in vitro* y *ex vitro*, en condiciones de laboratorio se observan en 8 de las líneas de estudio; crecimiento de aproximadamente un rango 17 – 32 mm de altura, se observan estructuras propias del desarrollo de las cactáceas como presencia de cuerpo alargado globular y protuberancias espinosas. La germinación *in vitro* y *ex vitro* se logró observar a los 30 días después de la siembra. (datos no publicados). Gómez-Serrano *et al*, 2021; estudio la germinación *in vitro* y *ex vitro* además de evaluar los efectos de los reguladores de crecimiento vegetal en respuesta al crecimiento de *E. platyacanthus* bajo condiciones controladas, reportando se alcanzó el 70% de germinación después de los 28 días.

El sustrato para la germinación *ex vitro*, ha sido adecuado, ya que no se ha observado daño ni se ha detenido el crecimiento de plántulas y el porcentaje de semillas trasplantadas es del 70%. Se continuará con el trasplante a sustrato individual y exponerlas a condiciones de vivero y se pueda lograr insertar algunas en macetas para su masificación.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos han permitido dar alcance al establecimiento y mantención *in vitro* y *ex vitro* de germoplasmas. El lento crecimiento de las cactáceas demuestra la sensibilidad de permanencia en el hábitat natural. Con este tipo de proyectos aportamos procedimientos, técnicas de viabilidad, germinación y lograr la masificación de este grupo de plantas endémicas de nuestro país y que actualmente se encuentran bajas en su población lo que conlleva a estar en peligro de extinción.

Este proyecto, da la pauta como lo manifiestan diferentes grupos de trabajo, que a través del tiempo aportemos investigación dirigida a conocer la capacidad germinativa principalmente en especies endémicas y silvestres mexicanas como del grupo de las cactáceas. Además, que se pueda extrapolar a otras especies amenazadas o en riesgo de extinción.

REFERENCIAS

1. Alanís F. G. J. y Velazco M.C. G. 2008. Importancia de las cactáceas como recurso natural en el noreste de México. Ciencia UANL, Vol.11 (1): 5-11.
2. Becerra, R. 2000. Las Cactaceas, plantas amenazadas por su belleza y biodiversidad, 6: 2-5.
3. Casillas-Alvarez, P., Ryes-Olivas, A., Sánchez- Soto, B. H., García-Moya, E., Lugo-García, G. A., Soto- Hernández, R.M. 2018. Germinación diferencial asociada con vi vi paridad facultativa en *Stenocereus thurberi* (Cactaceae); correlaciones climáticas en poblaciones marginales de Sinaloa, México. Acta Botánica Mexicana 23: 51-66
4. Da Silva CB, Barbosa RM, Vieira RD, 2012. Evaluating Sunn Hemp (*Crotalaria juncea*) Seed viability Using the Tetrazolium Test. Seed Technol 34(2):263-272. Doi 10.13140/RG.2.2.2422.8883.
5. Gómez-Hinostrosa, C.; Hernández-M. H. 2000. Diversity, geographical distribution and conservation of Cactaceae in the Mier and Noriega region, México. Biodiversity and Conservation. 9: 403 - 418

6. Gómez-Serrano, G., Martínez, J., Arreguin-Sánchez, M. L., García-Ochoa, F. 2021. Germinación y crecimiento de *Echinocactus platyacanthus* LINK&OTTO (CACATECEAE)
7. Jiménez-Sierra, C., Mandujano, M.C., Eguiarte, L. E. 2007. Are populations of the Candy bar! cactus (*Echinocactus platyacanthus*) in the desert of Tehuacan, Mexico at risk? Population projection matrix and life table response analysis. *Biological Conservation*
8. Manzo-Rodríguez, S. M., González-Rosas, H., García-de los Santos, G., García-Moya, E., Espinosa-Hernández, V., Corona-Torres, T., Robledo-Paz, A. 2022. Viabilidad y germinación de semillas de cuatro especies amenazadas de cactáceas. *Caldasia* 44(2):209-220.
9. Ortega-Baez, P., Godínez-Álvarez, H. 2006. Global diversity and conservation priorities in the Cactaceae. *Biodiversity and Conservation*, 15: 817-827.
10. Pereira E, Torres J, Almeida J, Ramayane R. 2017. Tetrazolium test for the viability of gherkin seeds. *Rev. Ciencia Agronomica* 48(1): 118-124. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.33>
11. Ruiz MA, 2009. El análisis del tetrazolio en el control de calidad de semillas. Caso de estudio: cebadilla chaqueña. Publicación técnica no. 77. EEAINTA Anguil.
12. Sawma J T, Mohler CL., 2002. Evaluating seed viability by an Unimbibed Seed Crush Test in comparison with the tetrazolium Test 1. *Weed Technol.* 16(4): 781-786. Doi:10.1614/0890-037X(2002).
13. Talonia, C. M., Téllez - Valdez, O. Murguía- Romero, M. 2014. Las cactáceas del Valle de Tehuacan-Cuicatlan, Mexico; estimación de la calidad del muestreo. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(2), 436-444. <https://doi.org/10.7550/rmb.31390>.
14. Vozzo JA. 2010. Tropical tree seed manual 2002. Washington DC: USDA Forest Service, Agriculture Handbook 721.