



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**Cultivo *in vitro* de *Strombocactus disciformis* ssp.
esperanzae, cactácea endémica de México**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO HORTÍCOLA**

P R E S E N T A:

DUNIA MARTÍNEZ ALCARAZ

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. María Andrade Rodríguez



Cuernavaca, Morelos, 21 de enero del 2021

Cultivo *in vitro* de *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae*, cactácea endémica de México

Tesis realizada por **Dunia Martínez Alcaraz** bajo la dirección del Comité Revisor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO HORTÍCOLA

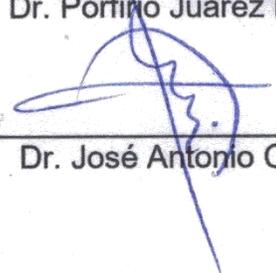
COMITÉ REVISOR

Director de tesis: Maria Andrade Rguez.
Dra. María Andrade Rodríguez

Revisor: 
Dr. Oscar Gabriel Villegas Torres

Revisor: 
Dr. Héctor Sotelo Nava

Revisor: 
Dr. Porfirio Juárez López

Revisor: 
Dr. José Antonio Chávez García

Cuernavaca, Morelos a 21 de enero del 2021

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, en especial a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, por mi formación académica en licenciatura.

Agradezco profundamente a mi familia, a mis padres por su amor, apoyo y orientación para mi crecimiento personal.

A la Dra. María Andrade Rodríguez por brindarme su paciencia, conocimiento, amistad, apoyo académico y personal.

A los profesores de la Facultad de Ciencias Agropecuarias por contribuir a mi formación profesional.

Al Sr. Antonio Díaz Flores, por proporcionarme las semillas para llevar a cabo la tesis.

Al Dr. José Antonio Chávez García por ofrecer su ayuda respecto a correcciones de protocolo.

A cada uno de mis sinodales por su enriquecimiento de mi tesis y observaciones realizadas, sobre todo al Dr. Oscar Gabriel Villegas Torres por su revisión a detalle de mi tesis.

A Daniel Campos Hernández por su amistad y motivación.

A Kevin Andrade por su orientación y presión para poder concluir la tesis.

DEDICATORIAS

A Dios por darme la vida y la oportunidad de realizar estos logros.

Agradezco profundamente a mis padres: Cristina Alcaraz Marín y Ulises Martínez Hernández, por su amor y por el esfuerzo que hicieron para brindarme esta gran herramienta que es la educación.

A Ivan Martínez Alcaraz mí hermano, la persona más especial, noble, mi mayor motivación, prioridad y reto en esta vida.

A Anel Martínez Alcaraz mi hermana, por su apoyo y por darnos a esa niña tan increíble que nos trajo felicidad y risas al hogar.

A Nancy Martínez Hernández por apoyarme y reanimarme.

A Erika Martínez Hernández por alegrarme en todo momento con su gran sentido del humor.

A Karen Martínez Hernández por sus consejos que me ayudaron a aventurarme y crear experiencias positivas.

A Fernando Alcaraz Vázquez por su cariño brindado.

Y a todos mis demás familiares que de alguna manera forman parte de mi vida, le dan alegría y sentido a este tipo de logros.

ÍNDICE GENERAL

| | Página |
|--|--------|
| ÍNDICE GENERAL | i |
| ÍNDICE DE CUADROS | ii |
| ÍNDICE DE FIGURAS | iii |
| SUMMARY | v |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| Objetivo general | 5 |
| Objetivos específicos..... | 5 |
| Hipótesis..... | 6 |
| 2. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 7 |
| 2.1 Material vegetal..... | 7 |
| 2.2 Establecimiento del cultivo aséptico..... | 8 |
| 2.3 Crecimiento de plántulas..... | 9 |
| Análisis de datos | 10 |
| 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 11 |
| 3.1. Establecimiento de cultivo aséptico | 11 |
| 3.2. Crecimiento de plántulas..... | 14 |
| 4. CONCLUSIONES | 24 |
| 5. LITERATURA CITADA | 25 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | Página |
|--|--------|
| Cuadro 1. Tratamientos de desinfección de semillas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> . 9 | |
| Cuadro 2. Análisis de varianza (cuadrados medios) de variables de germinación de semillas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> 11 | 11 |
| Cuadro 3. Comparación de medias de inicio de germinación y días a germinación total en semillas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> , por efecto de tratamiento de desinfestación. 13 | 13 |
| Cuadro 4. Análisis de varianza (cuadrados medios) de variables de crecimiento de plantas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> , por efecto de la concentración de sacarosa y carbón activado. 15 | 15 |
| Cuadro 5. Comparación de medias de variables de crecimiento de plantas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> , por efecto de la concentración de sacarosa. 16 | 16 |
| Cuadro 6. Comparación de medias de variables de crecimiento de plantas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> , por efecto de la concentración de carbón activado. 18 | 18 |
| Cuadro 7. Longitud de tallo y raíz de plantas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> por efecto de la concentración de sacarosa en combinación con carbón activado. 21 | 21 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Página |
|---|--------|
| Figura 1. Planta de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> | 4 |
| Figura 2. Semillas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> , observadas a 4x. | 7 |
| Figura 3. Germinación de semillas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> por efecto del tratamiento de desinfestación: T1: Etanol + Cloro 10 %, T2: Etanol + Cloro 10 % + Ridomil® gold, T3: Etanol + Cloro 10 % + NPsAg, T4: Etanol + Cloro 10 % + Ridomil® gold + NPsAg, T5: Etanol + Cloro 12.5 %, T6: Etanol + Cloro 12.5 % + Ridomil® gold, T7: Et + Cloro 12.5 % + NPsAg, T8: Etanol + Cloro 12.5 % + Ridomil® gold + NPsAg. DMS= 9.24 | 14 |
| Figura 4. Crecimiento en diámetro de tallo de plántulas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> por efecto de la concentración de carbón activado..... | 17 |
| Figura 5. Diámetro de tallo de plantas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> por efecto de la concentración de sacarosa (Sac) en combinación con carbón activado (c.a.). | 20 |
| Figura 6. Crecimiento de plantas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> en seis medios de cultivo. | 20 |
| Figura 7. Número de raíces en plantas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> por efecto de la concentración de sacarosa (Sac) en combinación con carbón activado (c.a.). | 22 |
| Figura 8. Hiperhidratación en plantas de <i>S. disciformis</i> ssp. <i>esperanzae</i> por efecto de la concentración del carbón activado (c.a.). | 23 |

RESUMEN

Strombocactus disciformis ssp. *esperanzae* es una cactácea endémica de México en estatus de riesgo y con un crecimiento lento, por lo que se planteó como objetivo establecer un protocolo para el cultivo *in vitro* de esta especie, considerando el establecimiento del cultivo aséptico y crecimiento de plántulas. Se usó el medio MS suplementado con 100 mg L⁻¹ myoinositol, tiamina HCl 0.5 mg L⁻¹, sacarosa 4 %. La desinfección se llevó a cabo con cuatro desinfectantes, etanol 70 %, cloro al 10 ó 12.5 %, con o sin metalaxil-M (300 µL L⁻¹) y con o sin nanopartículas de plata (NPsAg, 50 µL L⁻¹), se tuvieron ocho tratamientos; se evaluó asepsia, inicio de germinación y porcentaje de germinación. Para el crecimiento de las plántulas se usó el medio MS (1962) con 3, 4, 5 y 6 % de sacarosa, en combinación con 0, 0.1, 0.2 y 0.3 % de carbón activado (c.a.). Los datos obtenidos de los dos experimentos se estudiaron mediante análisis de varianza y se hicieron pruebas de comparación de medias de tratamientos (Duncan, P ≤ 0.05). La asepsia de las semillas fue de 100 % en los ocho tratamientos evaluados, por lo que cualquiera de los tratamientos de desinfección fue bueno para el establecimiento del cultivo *in vitro*. Cabe señalar que, en el tratamiento ocho (que consistió en aplicación de etanol al 70 % + cloro al 12.5 % + Ridomil Gold® + Nano partículas de plata), las semillas germinaron en menor tiempo (19.5 días) y en mayor porcentaje (95 %), en comparación con los demás tratamientos. El medio de cultivo más adecuado para el crecimiento de las plantas fue donde se usó 5 % de sacarosa y 0.2 % de carbón activado, ya que se obtuvo un buen crecimiento, las plantas mostraron un crecimiento proporcional entre diámetro (3.34 mm) y longitud (7.19 mm) teniendo una forma similar a la de las plantas que crecen en condiciones naturales y que además hubo poca hiperhidratación de plantas (4.76 %). En conclusión: se pudo establecer el cultivo aséptico *in vitro* de semillas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* con cualquiera de los tratamientos desinfectantes; el crecimiento de las plantas *in vitro* fue mejor con el uso de 5 % de sacarosa en el medio de cultivo en combinación con 0.2 o 0.3 % de carbón activado, porque las plantas tuvieron 3 mm de diámetro, 6 a 7 mm de altura, 4 a 6 raíces con 3 a 4 mm de longitud de raíz.

Palabras clave: cultivo aséptico, crecimiento de plántulas, germinación de semillas

SUMMARY

Strombocactus disciformis ssp. *esperanzae* is an endemic cactus in México in risk status and with slow growth, so the objective was to establish a protocol for the culture *in vitro* of this species, considering the establishment of aseptic cultivation and seedling growth. MS medium supplemented with 100 mg L⁻¹ myoinositol, thiamine HCl 0.5 mg L⁻¹, sucrose 4% was used. Disinfection was carried out with four disinfectants, 70% ethanol, 10 or 12.5% chlorine, with or without metalaxyl-M (300 µL L⁻¹) and with or without silver nanoparticles (AgNPs, 50 µL L⁻¹), eight treatments were established; asepsis, start of germination and percentage of germination were evaluated. For the growth of the seedlings, the MS medium (1962) with 3, 4, 5 and 6 % sucrose were used, in combination with 0, 0.1, 0.2 and 0.3 % of activated charcoal (c.a.). The data obtained from the two experiments were studied by analysis of variance and test of comparison of means of treatment were made (Duncan, $P \leq 0.05$). The asepsis of the seeds was 100 % in the eight treatments evaluated, so any of the disinfection treatments was good for the establishment of the *in vitro* culture. It should be noted that, in treatment eight (which consisted of applying 70 % ethanol + 12.5 % chlorine + Ridomil Gold® + Nano silver particles), the seeds germinated in a shorter time (19.5 days) and in a higher percentage (95 %), compared to the other treatments. The most suitable culture medium for plant growth was where 5 % sucrose and 0.2 % activated charcoal were used, since good growth was obtained, the plants showed proportional growth between diameter (3.34 mm) and length (7.19 mm) having a shape like that of plants that grow under natural conditions and that there was also little hyperhydration of plants (4.76 %). In conclusion: it was possible to establish the aseptic *in vitro* culture of seeds of *S. disciformis* ssp. *esperanzae* with any of the disinfectant treatments; the growth of the plants *in vitro* was better with the use 5 % sucrose in the culture medium in combination with 0.2 or 0.3 % activated charcoal, 6 to 7 mm in height, 4 to 6 roots with 3 to 4 mm root length.

Key words: aseptic culture, seedling growth, seed germination

1. INTRODUCCIÓN

Las cactáceas son una familia de plantas nativas del continente americano, el mayor número de géneros y especies están establecidas en las zonas áridas y semi-áridas (Bravo-Hollis y Sánchez Mejorada, 1978). México cuenta con 52 géneros y 850 especies, aproximadamente; de esta diversidad, 18 géneros y 715 especies son endémicas, convirtiéndolo en el país con mayor diversidad a nivel mundial (Becerra, 2000).

Las características peculiares de las cactáceas como formas diversas y caprichosas, aspecto fiero, variedad de color de espinas y hermosas flores (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991) han cautivado a botánicos, especialistas y coleccionistas de todo el mundo (Becerra, 2000).

El uso de las plantas de esta familia por el hombre es del 57 %, con especies para la horticultura ornamental, 154 especies para consumo humano y 64 especies para la medicina (Goettsch *et al.*, 2015), también usadas para cercas vivas. Desde el punto de vista ecológico, son importantes para el funcionamiento de ecosistemas, sirven como fuente de alimento, refugio y hábitat de muchos organismos (SEMARNAT, 2016) como protección de suelos, evitando la erosión eólica y pluvial, así como fuente proveedora de materia orgánica (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991).

En cuanto a los grupos taxonómicos más vulnerables, las cactáceas ocupan el quinto lugar con un 31 % de especies amenazadas. Los factores del proceso de amenaza incluyen el comercio hortícola y la extracción por coleccionistas (47 %), la producción de ganado (31 %) y la agricultura (24 %) (Goettsch *et al.*, 2015). El comercio de las cactáceas frecuentemente es ilegal, Goettsch *et al.* (2015) encontraron que el 86 % de los ejemplares son extraídos de poblaciones silvestres y los principales demandantes son coleccionistas europeos y asiáticos (Lema-Ruminska y Kulus, 2014).

Ante la situación de amenaza de extinción de las plantas, la micropropagación es una excelente herramienta para la protección, conservación y producción comercial (Lema-Ruminska y Kulus, 2014). Se ha comprobado que el desarrollo de plantas *in vitro* puede

acelerar el proceso de crecimiento en algunas plantas en comparación con el cultivo convencional. Para iniciar un cultivo *in vitro*, el proceso de desinfección de los explantes es un aspecto fundamental, en el caso de cactáceas generalmente se usan las semillas; ya establecidas las plantas *in vitro*. Los componentes del medio de cultivo que afectan el crecimiento de las plantas son la sacarosa, el carbón activado y la composición de macro y micronutrientes, principalmente.

Para la desinfección de las semillas de cactáceas se han usado varios procedimientos en los que se incluye el uso de detergente, etanol e hipoclorito de sodio en varias concentraciones, caso reportado por De la Rosa-Carrillo *et al.* (2012) donde se desinfectaron semillas de 14 especies, así como subespecies de *Turbinicarpus*. El uso de agentes químicos permite lograr la asepsia, pero afectan en menor o mayor grado la capacidad de germinación de las semillas, afectando la viabilidad de semillas como lo fue en *Trichocentrum jonesianum* (Lallana y García, 2013). Una vez lograda la asepsia de los explantes, se deben definir las condiciones para tener un crecimiento rápido, así como los reguladores requeridos para la multiplicación, procurando tener plantas normales, similares a las que se producen por métodos convencionales.

En el cultivo *in vitro* de cactáceas con frecuencia ocurre un problema fisiológico conocido como hiperhidratación, que ocasiona distorsión en el crecimiento que conduce a la pérdida de plantas; para evitar o reducir la ocurrencia de esta fisiopatía, se requiere obtener un potencial osmótico más negativo en el medio de cultivo y con ello evitar la vitrificación. Al respecto, Cárdenas y Villegas (2002) comprobaron que a mayor cantidad de sacarosa el potencial osmótico es más negativo; además, funciona como fuente de carbono que influye de manera positiva en el crecimiento. Sumaryono *et al.* (2012) observaron que cuando se usa sacarosa en concentración de 30 g L⁻¹ mejora la altura, número de hojas, peso fresco de biomasa, diámetro de tallo y porcentaje de enraizamiento en *Metroxylon sagu* Rottb. De igual modo, Kumar y Yoeup (2009) evaluaron diferentes concentraciones de sacarosa en el cultivo de *Alocasia amazonica* y observaron que la sacarosa tuvo efecto positivo en el contenido de almidón, número de estomas, potencial de agua y tamaño de estomas.

El uso de carbón activado en medios de cultivo puede promover el desarrollo y crecimiento de tejidos *in vitro* mediante la proporción de un ambiente oscuro (Pan y van Staden, 1998); también favorece el crecimiento, por lo que se ha usado para promover el crecimiento de plantas *in vitro*, mejora la altura de las plántulas, número de raíces, longitud de raíz y supervivencia (Moraes y Faria 2005). Se observó que influye de manera positiva en el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum*, caso reportado por Pedroza-Manrique (2009).

En esta investigación el objeto de estudio fue *Strombocactus* Britton et Rose misma que se describe como un género endémico, cuyo nombre significa “cacto en forma de trompo” (Bravo-Hollis y Sánchez-Mejorada, 1991), se localiza en el desierto chihuahuense, en el estado de Querétaro, al extremo oriental de Guanajuato y occidental de Hidalgo (Arias y Sánchez-Martínez, 2010). Actualmente se reconocen dos subespecies, con base a longitud de las espinas y flores, así como el color del perianto: *Strombocactus disciformis* subs. *disciformis* y *S. disciformis* subs. *esperanzae* (Glass y Arias, 1996). De esta manera este género está protegido por el apéndice 1 de la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES, 2019) en el que se encuentran las especies con mayor peligro; y dentro de la categoría de riesgo como amenazada en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010). Sin embargo, Camacho *et al.* (2018) consideran a la especie como en peligro de extinción.

Strombocactus disciformis subs. *esperanzae* tiene su origen y hábitat en Xichu, Sierra Gorda, Guanajuato, México (Encyclopedia of living forms, 2019). Estos ejemplares se establecen en laderas de origen calcáreo con pendientes pronunciadas, desprovistos de vegetación que necesitan condiciones específicas para su supervivencia y crecimiento (Álvarez *et al.* 2004). Tiene varios sinónimos: *Strombocactus disciformis* subs. *esperanzae* Glass & S. Arias, *Ariocarpus pulcherrimus* (Halda) Halda, *Pediocactus pulcherrimus* (Halda) Halda, *Strombocactus disciformis* var. *esperanzae* (Glass & S.Arias) Don Pedro y Ríha, *Strombocactus pulcherrimus* Halda. Es un geófito raro, generalmente solitario. Sus tallos son de cuerpo aplanado o esférico de hasta 3 cm de altura, 8 cm de diámetro, la corona está ligeramente deprimida y fieltada; el

color es azul verdoso con tinte grisáceo, se compone de tubérculos romboides e imbricados duros, dispuestos en espiral, de 1 a 1.8 cm de altura, los tubérculos están aplanados y casi truncados en la parte superior y algo córneos o aquillados en la parte inferior (Figura 1). La raíz es napiforme fuerte (como nabos). Posee de 4 a 5 espinas por areola, erectas, gris oscuro en las puntas, gris pálido en la base y de 1.2 a 2 cm de largo. Las flores surgen en la corona, miden aproximadamente 3.5 cm de largo y ancho, color magenta brillante (Figura 1) (Encyclopedia of living forms, 2019); las flores inician su emergencia a finales de diciembre, maduran en 30 días y posterior a la polinización, principalmente por las morfoespecies del orden *Hymenoptera*, los frutos maduran a los 15 a 20 días aproximadamente (Álvarez *et al.* 2004).

Las plántulas al principio son muy pequeñas, tardan uno o dos años en alcanzar 1 mm de diámetro; una vez que han alcanzado los 4 años o más, son relativamente fáciles de cultivar (Encyclopedia of living forms, 2019). Las semillas no presentan dormancia, por lo que la germinación de semillas de las especies de este género es alta, 97.08 % para *S. disciformis* ssp. *disciformis*, 92.08 % para *S. disciformis* ssp. *esperanzae* y 96.67 % para *S. disciformis* ssp. *corregidora*; la germinación inicia entre los 5.27 a 5.31 días; la emergencia de 29 a 32 % (Camacho-Velázquez *et al.*, 2018).



Figura 1. Planta de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*.

Foto: Cactus Art.

Verdi, un vivero dedicado a la reproducción de cactáceas y suculentas (SEMARNAT-COM-048-08-MOR) vende en \$ 360.00 cada planta de *Strombocactus disciformis* subs *esperanzae* en maceta de 3" (Verdi, 2019).

Se ha observado que *S. disciformis* ssp. *esperanzae* cultivado en condiciones de invernadero tiene un crecimiento muy lento en relación con otras cactáceas, después de la germinación apenas si crece 1 mm en el transcurso de un año; incluso injertado, su tasa de crecimiento no aumenta significativamente (Díaz, 2017, com. personal), por lo que es una especie susceptible a sufrir una reducción en estado silvestre. Con la finalidad de generar conocimientos que permitan aumentar el crecimiento de esta especie de cactácea, la presente investigación tiene como propósito generar una alternativa al cultivo convencional, para hacer la germinación y crecimiento *in vitro* de *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae*.

Objetivo general

Establecer un protocolo para la multiplicación *in vitro* de *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae*, considerando el establecimiento del cultivo aséptico y crecimiento de plántulas.

Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de desinfectantes en el establecimiento de cultivo aséptico de semillas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*.
2. Evaluar el efecto de la concentración de sacarosa y de carbón activado en el crecimiento de plántulas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*.

Hipótesis

1. El tratamiento con mayor cantidad de desinfectantes y de hipoclorito de sodio dará mayor porcentaje de semillas asépticas.
2. La mayor concentración de sacarosa y carbón activado generará mayor crecimiento de plántulas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* y menor hiperhidratación.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó durante enero de 2018 a enero de 2019, en el Laboratorio de propagación vegetal, ubicado en el Campo experimental de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Campus Chamilpa.

2.1 Material vegetal

Se usaron semillas de *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae*, adquiridas en el vivero “El secreto de la montaña”, ubicado en la Colonia la Unión en Temixco, Morelos, mismas que fueron cosechadas en abril del 2017. Las semillas son muy pequeñas, de 0.4 a 0.5 x 0.2 a 0.3 mm de longitud y diámetro ecuatorial, testa con células convexas, microrrelieve reticulado, estrofiolo presente (Figura 2).



Figura 2. Semillas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, observadas a 4x.

2.2 Establecimiento del cultivo aséptico

El medio de cultivo utilizado fue el de Murashige y Skoog (1962) suplementado con 100 mg L⁻¹ myo-inositol, tiamina HCl 0.5 mg L⁻¹, sacarosa 4 %. El pH se ajustó a 5.7 con NaOH y HCl y posteriormente se agregó 0.8 % de agar Merck®. El medio fue dosificado en frascos de 100 mL de capacidad, dispensando 15 mL por frasco y se esterilizó en autoclave a 121 °C a 1.4 kg/cm² durante 18 min.

Se contaron las semillas para hacer ocho grupos de 42 y poder hacer la desinfección, misma que se realizó de acuerdo con los tratamientos que se muestran en el cuadro 1. El fungicida Ridomil gold® 480SL se aplicó en dosis de 300 µL L⁻¹ durante 5 minutos, el etanol al 70 % durante 1 min, el cloro comercial con 40 mg de jabón durante 4 minutos y las nano partículas de plata (NPsAg) formuladas como Argovit™ se aplicaron a dosis de 50 µLL⁻¹ durante 15 minutos (NPsAg). Después de la aplicación de cada uno de los tratamientos desinfectantes, se realizaron tres enjuagues con agua destilada estéril. En el caso de los tratamientos en los cuales se usaron los cuatro agentes desinfectantes, se aplicaron en el orden siguiente: etanol, cloro, Ridomil gold y al final las NPsAg. El mismo orden de aplicación se siguió de acuerdo con el tratamiento (Cuadro 1).

Después de la desinfección, se colocaron 10 semillas por frasco, se establecieron cuatro repeticiones por tratamiento en el medio de cultivo anteriormente mencionado. Después de la siembra, los frascos con las semillas se colocaron en incubación durante 60 días a 26 ± 2 °C, con fotoperiodo de 16 horas luz, 8 horas de oscuridad, en la intensidad luminosa de 32 µE m⁻²s⁻¹.

Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro repeticiones; la unidad experimental fue un frasco con 10 semillas.

Cuadro 1. Tratamientos de desinfección de semillas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*.

| Tratamiento | Agente desinfectante | | | |
|---------------------------|----------------------|-------------------------|--|----------------------------------|
| | Etanol 70 % | Cloro comercial 10 % | Ridomil gold 300 $\mu\text{L L}^{-1}$ | NPsAg 50 $\mu\text{L L}^{-1}$ |
| 1 | Sí | Sí | No | No |
| 2 | Sí | Sí | Sí | No |
| 3 | Sí | Sí | No | Sí |
| 4 | Sí | Sí | Sí | Sí |
| Cloro comercial 12.5 % | | | | |
| 5 | Sí | Sí | No | No |
| 6 | Sí | Sí | Sí | No |
| 7 | Sí | Sí | No | Sí |
| 8 | Sí | Sí | Sí | Sí |

Variables de estudio

Se evaluó la asepsia de las semillas después de siete días del establecimiento, se observó a presencia o ausencia de contaminantes en las semillas o medio de cultivo. Se registró también los días requeridos para el inicio de la germinación, días a germinación total y porcentaje de germinación.

Análisis de datos

Los datos obtenidos se estudiaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y se realizaron pruebas de comparación de medias entre tratamientos con la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$). Se usó el paquete estadístico SAS 9.0 (SAS, 2002).

2.3 Crecimiento de plántulas

Para promover el crecimiento de las plántulas, se usó el medio de cultivo Murashige y Skoog (1962) el cual fue suplementado con cuatro concentraciones de sacarosa (4, 5 y 6 %) en combinación con cuatro concentraciones de carbón activado (c. a.) (0, 0.1,

0.2 y 0.3 %). El pH del medio de cultivo se ajustó a 5.7 y posteriormente se agregó 0.8 % de agar Merck®. El medio fue dispensado en alícuotas de 15 mL en frascos de 60 mL de capacidad y posteriormente se esterilizó en autoclave a 121 °C por 18 min a 1.4 kg/cm² durante 18 min.

Para establecer el experimento, se tomaron plántulas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, de 1 mm de altura, germinadas *in vitro*, y se colocaron ocho por frasco de cultivo. Dado el lento crecimiento de las plantas de esta especie, los frascos de cultivo se colocaron en incubación durante 120 días a 26 ± 2 °C, con fotoperiodo de 16 horas luz, 8 horas de oscuridad e intensidad luminosa de 32 μE m⁻²s⁻¹.

Diseño experimental

Se usó un arreglo factorial de tratamientos, sacarosa (4, 5 y 6 %), carbón activado (0, 0.1, 0.2 y 0.3 %) lo que resultó 12 tratamientos que fueron evaluados en un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento, la unidad experimental fue un frasco con ocho plántulas.

Variables de estudio

Después de 120 días en incubación, se evaluó la longitud y diámetro de planta, número y longitud de raíces; la medición se realizó con hoja milimétrica colocada bajo una caja Petri estéril. Se consideró también la hiperhidratación (%), debido a la presencia de tal característica en varios tratamientos.

Análisis de datos

Los datos obtenidos se estudiaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y se realizaron pruebas de comparación de medias entre tratamientos con la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$). Se usó el paquete estadístico SAS 9.0 (SAS, 2002).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Establecimiento de cultivo aséptico

La asepsia de semillas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* fue de 100 % en todos los tratamientos de desinfección, razón por la cual no se presenta análisis de varianza para esta variable, lo anterior indica que cualquiera de las ocho formas de desinfectar las semillas es adecuada para poder establecer el cultivo aséptico de esta especie. Sin embargo, los tratamientos de desinfección sí afectaron de manera significativa ($P \leq 0.05$) el inicio de germinación y el porcentaje de germinación de las semillas (Cuadro 2). Quiala *et al.* (2009) usaron hipoclorito de sodio al 1 y 2 % y obtuvieron asepsia en el 100 % de las semillas de *Pilosocereus robinii* al usar el desinfectante al 2 % durante 20 min, en tanto que con 1 % tuvieron sólo 38.4 % de semillas asépticas.

Cuadro 2. Análisis de varianza (cuadrados medios) de variables de germinación de semillas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*.

| Factor de variación | G. L. | Inicio de germinación (Días) | Días a germinación total | Germinación (%) |
|---------------------|-------|------------------------------|--------------------------|-----------------|
| Tratamientos | 7 | 31.99 * | 17.6 ns | 107.14 * |
| Error | 24 | 25.59 | 40.1 | 52.08 |
| C. V. (%) | | 20.94 | 12.1 | 8.01 |

C.V. (%): Coeficiente de variación, ns: Efecto no significativo, *: Efecto significativo ($P \leq 0.05$).

Existen diferentes técnicas de desinfección dependiendo el tipo de semilla (Medel-Narváez *et al.*, 2001); sin embargo, las técnicas descritas para la desinfección de semillas de cactáceas, presentan concentraciones más elevadas o con mayor tiempo de los desinfectantes como el uso de hipoclorito de sodio al 100 %, etanol al 70 %

durante 3 min (Villavicencio *et al.*, 2009); etanol al 100 % durante 20 segundos, hipoclorito de sodio al 10 % durante 25 min (Garza *et al.*, 2010); e hipoclorito de sodio al 15 % durante 25 min (De la Rosa-Carrillo *et al.*, 2012); por lo que no se consideraron aptas para las semillas de *S. esperanzae* que presentan una testa muy delgada y frágil.

El inicio de la germinación de las semillas ocurrió a partir de los 19 días después de la siembra en el tratamiento 8, donde éstas fueron desinfectadas con etanol 70 % + cloro al 12.5 % + Ridomil gold® 480SL + nano partículas de plata; en contraste, cuando se usó etanol al 70 % + cloro al 10 % + Ridomil gold® 480SL (tratamiento 2), la germinación inició 9 días después que las del tratamiento 8. En los tratamientos 1, 3, 4, 5, 6 y 7 el inicio de germinación fue estadísticamente similar, misma que ocurrió entre los 21 a 26 días. Se pudo observar que al usar la mayor cantidad de desinfectantes el inicio de germinación fue más temprano (Cuadro 3). Al respecto, Camacho-Velázquez *et al.* (2018), observaron que la germinación de semillas de *Strombocactus* inicia entre los 5.27 a 5.31 días, aunque la emergencia que observaron fue solo de 29 a 32 %. Caso similar fue también reportado por Álvarez *et al.* (2004) en donde se presenta la emergencia al cuarto día. En comparación con esas investigaciones, las semillas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* iniciaron su germinación en 14 días más, lo cual puede deberse a que en esta investigación se usaron agentes desinfectantes que de alguna forma afectaron a los embriones y por eso se necesitó más tiempo para iniciar este proceso.

Con relación al tiempo requerido para que germinara el mayor número de semillas, este varió de 49.5 a 55.5 días, sin diferencias estadísticas entre tratamientos (Cuadro 3).

El porcentaje de germinación fue mayor en los tratamientos 1, 6 y 8, que tuvieron 95 % de emergencia de *vitro* plántulas, en tanto que, el valor más bajo (80 %) se obtuvo con el tratamiento 4 donde las semillas fueron desinfectadas con etanol al 70 % + cloro al 10 % + Ridomil Gold + nano partículas de plata (Figura 3). Se observó que esta variable no estuvo asociada a la concentración de cloro, dado que con 10 y 12.5 % del desinfectante se tuvo 95 % de germinación total; tampoco hubo asociación con el uso de Ridomil Gold y nano partículas de plata (NPsAg) pues con o sin estos agentes desinfectantes, se obtuvo la mayor germinación. Estos resultados concuerdan con lo reportado por

Cuadro 3. Comparación de medias de inicio de germinación y días a germinación total en semillas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, por efecto de tratamiento de desinfección.

| Tratamiento de desinfección | Inicio de germinación (días) | Días a germinación total |
|------------------------------------|---------------------------------|-----------------------------|
| T1: Et + Cloro 10 % | 25.25 ab | 54.25 a |
| T2: Et + Cloro 10 % + Rg | 28.25 a | 52.50 a |
| T3: Et + Cloro 10 % + NPsAg | 26.50 ab | 49.50 a |
| T4: Et + Cloro 10 % + Rg + NPsAg | 24.00 ab | 52.25 a |
| T5: Et + Cloro 12.5 % | 25.00 ab | 55.50 a |
| T6: Et + Cloro 12.5 % + Rg | 21.00 ab | 50.00 a |
| T7: Et + Cloro 12.5 % + NPsAg | 23.75 ab | 50.25 a |
| T8: Et + Cloro 12.5 % + Rg + NPsAg | 19.50 b | 52.25 a |
| DMS (P ≤ 0.05) | 7.38 | 9.24 |

Rg: Ridomil® gold, Et: etanol, NPsAg: nano partículas de plata. DMS: Diferencia mínima significativa. Medias con letras iguales en una columna son estadísticamente iguales (Duncan, P ≤ 0.05).

Camacho-Velázquez *et al.* (2018) quienes obtuvieron 92.08 % de semillas germinadas en *S. disciformis* ssp. *esperanzae* al germinarlas en sustrato. Sin embargo, Álvarez *et al.* (2004) describen que la germinación de *S. disciformis* varió de 25 a 82 %, variación que pudo deberse a que usó cloro comercial al 30 % durante 5 min, el cual pudo afectar la viabilidad de las semillas; al respecto, Álvarez-Pardo *et al.* (2006) y Billard *et al.* (2014), también reportaron el efecto negativo de los desinfectantes en los tejidos del embrión de las semillas.

Al relacionar los resultados observados en inicio de germinación y porcentaje de germinación total (Cuadro 3), el mejor tratamiento de desinfección fue el T8 donde se usó etanol al 70 %, cloro comercial al 12.5 %, Ridomil® gold (50 µLL⁻¹) y nano partículas de plata; una segunda opción de desinfección para las semillas de esta especie es la del tratamiento 6 en donde se usó etanol al 70 %, cloro comercial al 12.5 % y Ridomil® gold (Figura 3).

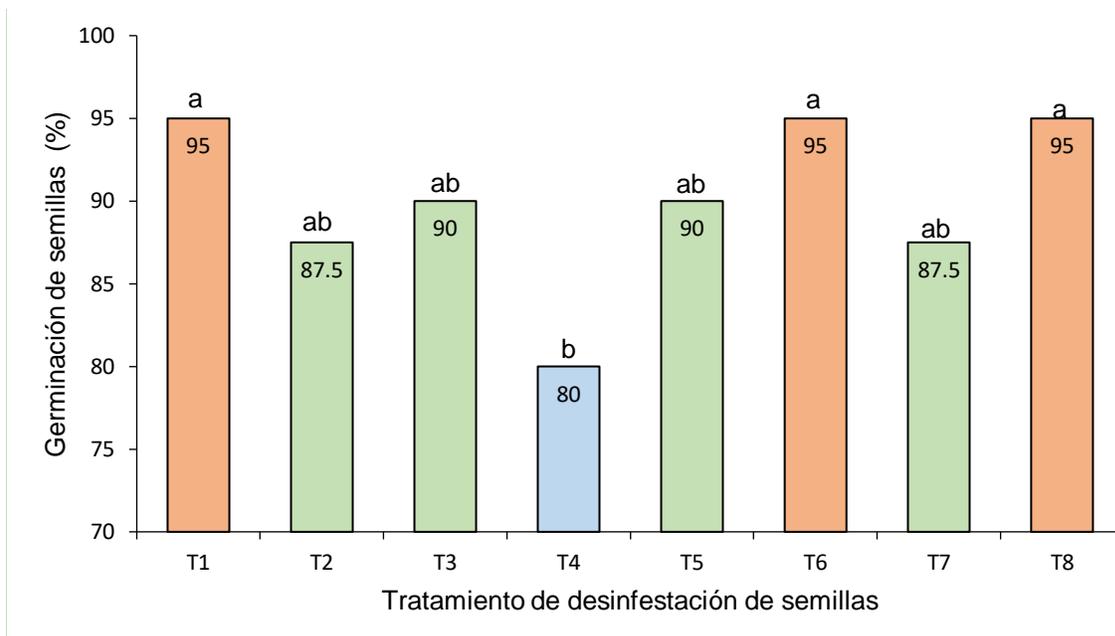


Figura 3. Germinación de semillas *de S. disciformis ssp. esperanzae* por efecto del tratamiento de desinfección: T1: Etanol + Cloro 10 %, T2: Etanol + Cloro 10 % + Ridomil® gold, T3: Etanol + Cloro 10 % + NPsAg, T4: Etanol + Cloro 10 % + Ridomil® gold + NPsAg, T5: Etanol + Cloro 12.5 %, T6: Etanol + Cloro 12.5 % + Ridomil® gold, T7: Et + Cloro 12.5 % + NPsAg, T8: Etanol + Cloro 12.5 % + Ridomil® gold + NPsAg. DMS= 9.24

3.2. Crecimiento de plántulas

El crecimiento de las plantas *in vitro* puede ser afectado por la cantidad de macro y micronutrientes, contenido de sacarosa y carbón activado entre otros. El análisis de varianza de los datos indicó que la concentración de sacarosa usada en el medio de cultivo tuvo efecto significativo en la longitud y diámetro de tallo. En contraste, la cantidad de carbón activado aplicada al medio de cultivo afectó significativamente la longitud de la raíz y de manera altamente significativa a las otras variables estudiadas. Por otra parte, la interacción de los niveles de sacarosa con los de carbón activado no tuvo efecto significativo en el crecimiento de las plántulas de *Strombocactus* (Cuadro 4).

Cuadro 4. Análisis de varianza (cuadrados medios) de variables de crecimiento de plantas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, por efecto de la concentración de sacarosa y carbón activado.

| Factor de variación | G. L. | Longitud de tallo (mm) | Diámetro de tallo (mm) | Raíces por planta (Núm.) | Longitud de raíz (mm) |
|---------------------|-------|------------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------|
| Tratamientos | 12 | 0.116 ** | 0.028 ** | 11.136 ** | 0.021 ns |
| Sacarosa | 3 | 0.094 * | 0.006 * | 2.786 ns | 0.017 ns |
| Carbón activado | 3 | 0.313 ** | 0.089 ** | 28.825 ** | 0.042 * |
| Sac * c.a. | 6 | 0.028ns | 0.002ns | 4.885 ns | 0.008 ns |
| Error | 23 | 0.026 | 0.003 | 3.082 | 0.012 |
| C. V. (%) | | 37.346 | 23.597 | 46.70 | 39.31 |

C.V. (%): Coeficiente de variación, R²: Coeficiente de determinación, ns: Efecto no significativo ($P \leq 0.05$), *: Efecto significativo ($P \leq 0.05$), **: Efecto altamente significativo ($P \leq 0.01$).

Como ya se indicó, la concentración de sacarosa no mostró relevancia en cuanto al número de raíces por planta y longitud de raíz, en tanto que el crecimiento en longitud y diámetro aumentó ligeramente al incrementar la cantidad de sacarosa en el medio de cultivo, siendo mayor al usarla del 4 al 5 %, concentraciones que son mayores al 3 % que habitualmente se usa en el medio MS (Cuadro 5). Debido a que la sacarosa es fuente de energía y esqueletos de carbono y determina el crecimiento potencial de las plantas (Finkelstein y Gibson, 2002), se esperaba que al aumentar su concentración se promoviera el crecimiento general de las plantas de *Strombocactus*; sin embargo, sólo hubo aumento en el diámetro de las plántulas. Al respecto, Lema-Ruminska *et al.* (2013) reportaron que la concentración de sacarosa tuvo efecto favorable en el número de embriones somáticos y producción de callo en la cactácea *Capiapoa tenuissima* Ritt. forma *monstruosa*.

Cuadro 5. Comparación de medias de variables de crecimiento de plantas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, por efecto de la concentración de sacarosa.

| Sacarosa (%) | Longitud de tallo (cm) | Diámetro de tallo (cm) | Raíces por planta (Núm.) | Longitud de raíz (cm) |
|--------------|------------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------|
| 3 | 0.200 b | 0.131 b | 1.7 a | 0.200 a |
| 4 | 0.498 a | 0.254 a | 3.8 a | 0.336 a |
| 5 | 0.481 a | 0.262 a | 4.2 a | 0.299 a |
| 6 | 0.375 ab | 0.277 a | 3.3 a | 0.326 a |

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$).

También Cisneros y Tel-Zur (2010) evaluaron el efecto de 0, 0.09 (30.8 g L⁻¹), 0.17 (58.1 g L⁻¹) y 0.26 M (88.99 g L⁻¹) de sacarosa en el rescate de embriones de cruza interespecíficas de *Hylocereus* y observaron mejor respuesta al usar 0.17 M (58.1 g L⁻¹). Por su parte, Bhau y Wakhlu (2015) evaluaron el efecto de la concentración de tres fuentes de carbono en concentraciones de 0, 3, 6, 9 y 12 % en el crecimiento de brotes de *Coryphantha elephantidens* cultivados en medio MS con 6.6 µM de BAP y observaron que el peso de materia seca de los brotes aumentó, conforme se incrementó la sacarosa en el medio de cultivo, y obtuvieron el mejor resultado con 9 % de sacarosa.

De igual modo, Cortés-Olmos *et al.* (2018) estudiaron el efecto de la sacarosa (1.5, 3.0 y 4.5 %) en el crecimiento de plantas de *Lophophora williamsii* y observaron que las plantas tuvieron mejor crecimiento cuando se usó 3.0 % o menos sacarosa, pues con mayor cantidad se presentó efecto deletéreo en el crecimiento.

De acuerdo con los resultados obtenidos y los reportes citados, la sacarosa puede favorecer el crecimiento de las plantas, pero esto dependerá de la especie de planta, el medio de cultivo y la concentración de agar.

Como se observó anteriormente en el cuadro 4, el carbón activado tuvo efecto altamente significativo ($P \leq 0.01$) en el diámetro y longitud de tallo, así como en el número de raíces por planta; en tanto que, en la longitud de raíz el efecto fue significativo ($P \leq 0.05$).

El crecimiento en diámetro de tallo aumentó conforme se incrementó la concentración de carbón activado, las plántulas tuvieron un aumento de 63.88 % en su diámetro al crecer en medio con 0.3 % de c.a., comparadas con aquellas que se cultivaron en medio sin este componente (Figura 4). De igual modo, se pueden ver diferencias entre usar 0.1 y 0.2 % en comparación con 0.3 %. De manera similar, Lajayer *et al.* (2011) estudiaron el efecto de este elemento del medio de cultivo en la

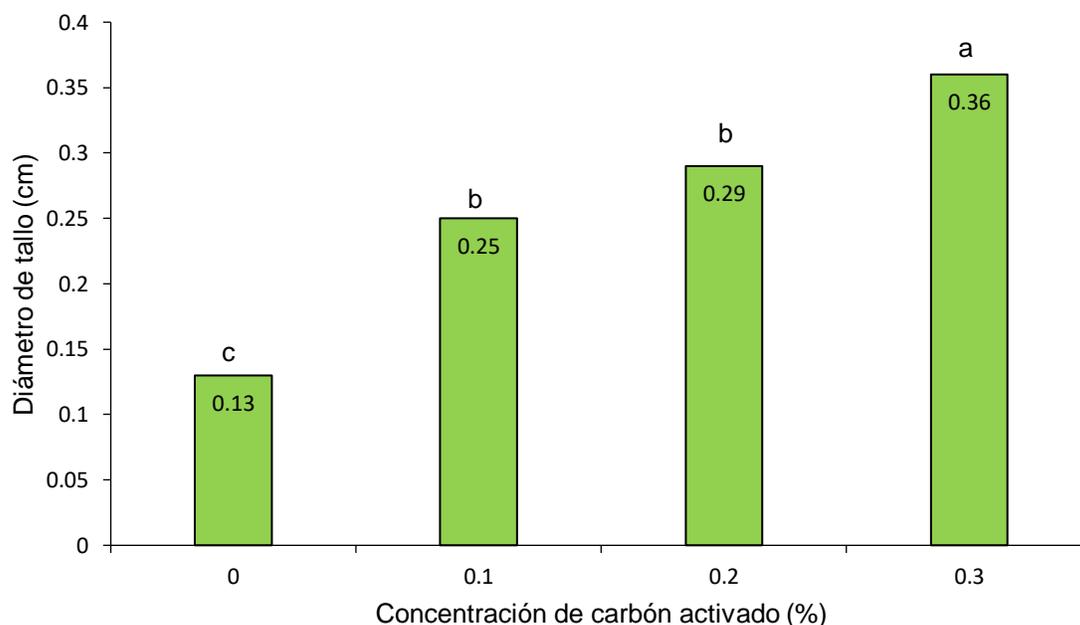


Figura 4. Crecimiento en diámetro de tallo de plántulas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* por efecto de la concentración de carbón activado.

microtuberización de papa y reportan que hubo incrementó en el tamaño del microtubérculo cuando usaron 1.0 % de c.a., en tanto que la concentración más baja (0.1 %) incrementó el crecimiento de los brotes. Como se observa, el efecto benéfico del c.a. varía en función de la especie; de igual modo la cantidad requerida es variable desde 0.1 hasta 3.0 g L⁻¹.

Con respecto a la longitud de tallo, se observó que cualquiera de las concentraciones agregadas al medio de cultivo favoreció el crecimiento, ya que éste tuvo un incremento de tres veces la longitud de plantas en comparación con aquellas cultivadas en medio sin c.a.; sin embargo, no hubo diferencia estadística entre usar 0.1, 0.2 o 0.3 % (Cuadro 6).

Cuadro 6. Comparación de medias de variables de crecimiento de plantas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*, por efecto de la concentración de carbón activado.

| Carbón activado (%) - gL ⁻¹ | Longitud de tallo (cm) | Raíces por planta (Núm.) | Longitud de raíz (cm) |
|---|---------------------------|-----------------------------|--------------------------|
| 0.0 – 0.0 | 0.18 b | 1.45 c | 0.20 b |
| 0.1 – 1.0 | 0.48 a | 3.70 b | 0.29 ab |
| 0.2 – 2.0 | 0.60 a | 4.69 ab | 0.30 ab |
| 0.3 – 3.0 | 0.57 a | 5.65 a | 0.36 a |

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$).

Con estos resultados, se confirma que el uso de carbón vegetal promueve el crecimiento *in vitro* al adsorber sustancias inhibitoras de crecimiento como lo describe Pan y van Staden (1998). Al respecto, Thomas (2008) indica que el carbón activado se utiliza *in vitro* para promover el crecimiento celular y desarrollo, esto debido a que adsorbe compuestos inhibidores presentes en el medio de cultivo y disminuye considerablemente los metabolitos tóxicos, exudación de fenoles y acumulación de exudados cafés. Aunque no es muy claro su efecto, algunos investigadores indican también que el c.a. puede liberar gradualmente los compuestos del medio de cultivo

adsorbidos tales como nutrientes y reguladores del crecimiento, haciéndolos disponibles para las plantas.

Como se puede observar, el número de raíces por planta fue mayor conforme aumentó la cantidad de carbón activado en el medio de cultivo, de tal modo que al usar 0.3 % se tuvieron 4 raíces más por planta en comparación de aquellas cultivadas en medio sin c.a. También el crecimiento de las raíces fue favorecido por este componente del medio ya que se tuvieron raíces un poco más largas, las plantas del medio de cultivo con 0.3 % crecieron 0.16 cm más que cuando no hubo c.a. en el medio de cultivo; se podría decir que la diferencia es muy pequeña, pero para estas plantas que tienen un crecimiento muy lento, la diferencia es importante.

Estos resultados coinciden con lo reportado por varios investigadores, Di Lonardo *et al.* (2013) evaluaron el uso de 0.5 y 1.5 g L⁻¹ de carbón activado y biocarbón (BC) en el cultivo *in vitro* de dos clones de *Populus alba* L. y observaron que ambos compuestos incrementaron la biomasa seca y número de raíces por brote. También, Shin *et al.* (2011) estudiaron el efecto de 0.0, 0.01 y 0.1 g L⁻¹ de carbón activado en la germinación de semillas de híbridos de *Calanthe* y observaron que el incremento de c.a. aumentó el número de semillas germinadas en el híbrido “Hyesung x Jeongmong”, por lo que la mejor concentración fue 0.1 g L⁻¹. Como se describe, el carbón activado tiene efectos benéficos en diferentes parámetros del crecimiento de las plantas *in vitro*.

Con respecto al análisis del crecimiento de las plantas en los trece tratamientos, se observó que el diámetro del tallo de las plantas fue un poco mayor cuando éstas se cultivaron en los tratamientos donde se usó más de 3 % de sacarosa en el medio de cultivo; de igual modo, fue evidente el aumento del diámetro de los tallos conforme se incrementó la concentración de carbón activado en el medio, ya que éstas tuvieron un crecimiento significativamente mayor (50 % o más) cuando se usó de 0.1 a 0.3 % de este componente orgánico. Cualquiera de las concentraciones de sacarosa mayores a 3 % en combinación con 0.2 ó 0.3 % de carbón activado generaron mayor crecimiento (Figuras 5 y 6).

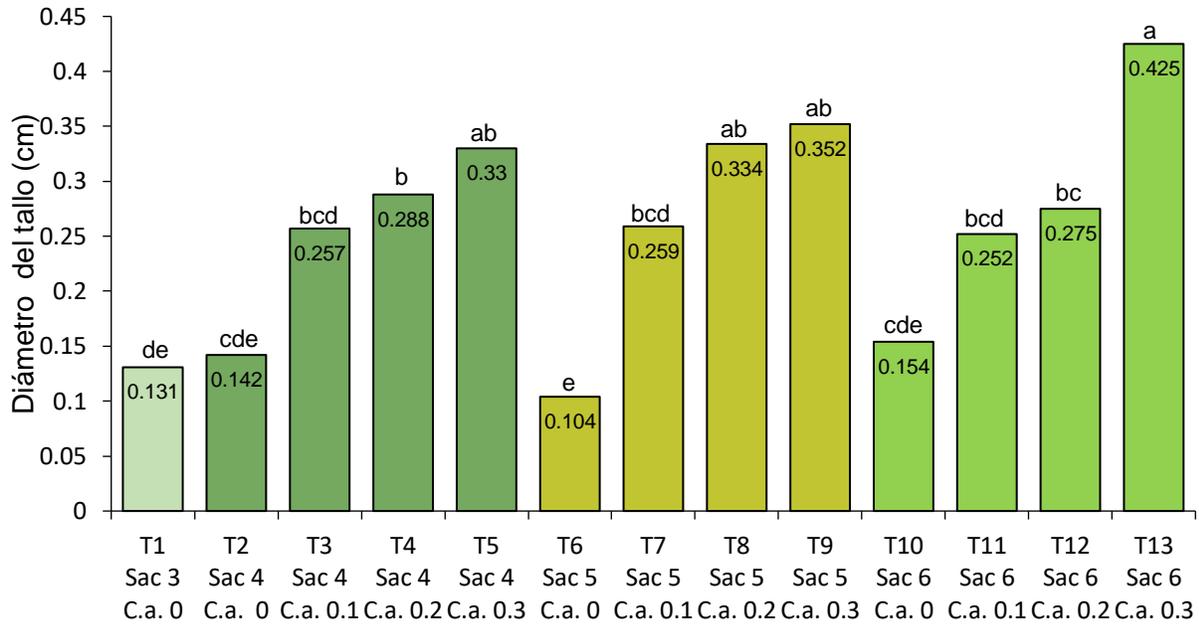


Figura 5. Diámetro de tallo de plantas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* por efecto de la concentración de sacarosa (Sac) en combinación con carbón activado (c.a.).

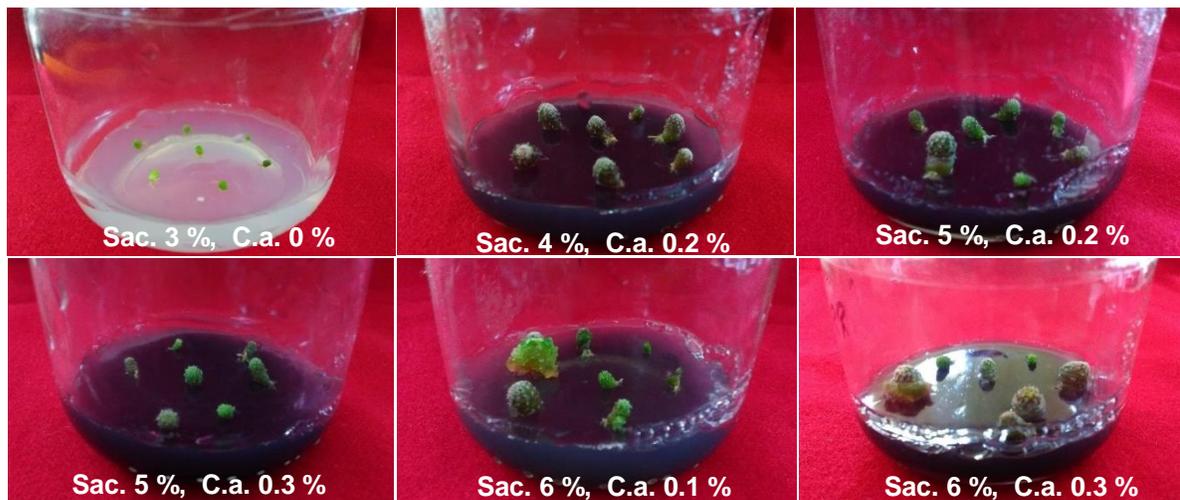


Figura 6. Crecimiento de plantas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* en seis medios de cultivo.

También se pudo observar que las plantas tuvieron un ligero aumento en el crecimiento en longitud de tallo y raíz cuando fueron cultivadas en los tratamientos donde el medio de cultivo tuvo mayor cantidad de sacarosa (4 y 5 %) en comparación con la utilizada comúnmente en cultivo *in vitro* (3 %), en combinación con el uso de carbón activado en cualquiera de las dosis utilizadas (0.1, 0.2 y 0.3 %); sin embargo, con la cantidad máxima de sacarosa usada (6 %), los resultados fueron menores que con 5 % (Cuadro 7).

Cuadro 7. Longitud de tallo y raíz de plantas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* por efecto de la concentración de sacarosa en combinación con carbón activado.

| Tratamiento | Sacarosa (%) | Carbón activado (%) | Longitud de tallo (cm) | Longitud de raíz (cm) |
|-------------|--------------|---------------------|------------------------|-----------------------|
| 1 | 3 | 0.0 | 0.200 b | 0.200 ab |
| 2 | 4 | 0.0 | 0.188 b | 0.295 ab |
| 3 | 4 | 0.1 | 0.540 ab | 0.394 ab |
| 4 | 4 | 0.2 | 0.660 a | 0.340 ab |
| 5 | 4 | 0.3 | 0.605 a | 0.321 ab |
| 6 | 5 | 0.0 | 0.171 b | 0.138 b |
| 7 | 5 | 0.1 | 0.439 ab | 0.315 ab |
| 8 | 5 | 0.2 | 0.719 a | 0.311 ab |
| 9 | 5 | 0.3 | 0.605 a | 0.430 a |
| 10 | 6 | 0.0 | 0.178 b | 0.169 b |
| 11 | 6 | 0.1 | 0.360 ab | 0.216 ab |
| 12 | 6 | 0.2 | 0.466 ab | 0.221 ab |
| 13 | 6 | 0.3 | 0.496 ab | 0.332 ab |

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Duncan ($P \leq 0.05$).

Los resultados muestran que usar 5 y 6 % de sacarosa en el medio de cultivo en combinación con 0.3 % de carbón activado generaron la mayor producción de raíces en las plantas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae*. En tanto que, donde no se aplicó carbón activado, el número de raíces disminuyó significativamente (Figura 7), independientemente de la cantidad de sacarosa.

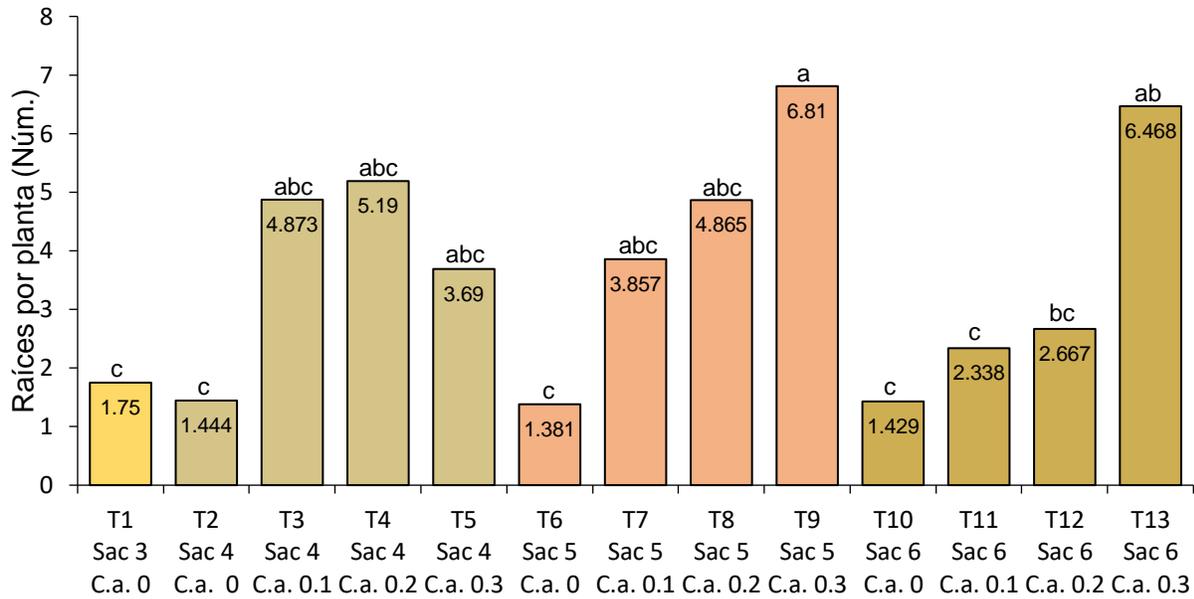


Figura 7. Número de raíces en plantas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* por efecto de la concentración de sacarosa (Sac) en combinación con carbón activado (c.a.).

Estos dos componentes del medio de cultivo fueron estudiados también por Abdulwahed (2013) quien evaluó el efecto del c.a. (0, 0.5, 0.75, 1.0 y 1.25 gL⁻¹) y de la sacarosa (2.0, 3.5, 5.0, 6.5 y 8 %) en la multiplicación de brotes de palma datilera y reporta que el uso de 0.75 g L⁻¹ de c.a. aumentó la multiplicación de brotes, tasa de crecimiento, número de raíces y su longitud; el uso de 6.5 % de sacarosa incrementó la multiplicación de brotes, longitud de brote, y número de raíces; de igual modo indica que la interacción del carbón activado y la sacarosa tuvo efecto significativo, el uso de 0.5 g L⁻¹ de c. a. y 6.5 % de sacarosa originaron el mayor número y longitud de brotes.

Aunque el uso del carbón activado fue benéfico para aumentar el crecimiento de las plantas de esta especie, se presentó un efecto indeseable ya que en todos los tratamientos con carbón activado se presentó vitrificación, las plantas cultivadas en el medio con 4 % de sacarosa y 0.1 % de carbón activado presentaron mayor hiperhidratación, seguidas por las que fueron cultivadas con 6 % de sacarosa (Figura 8).

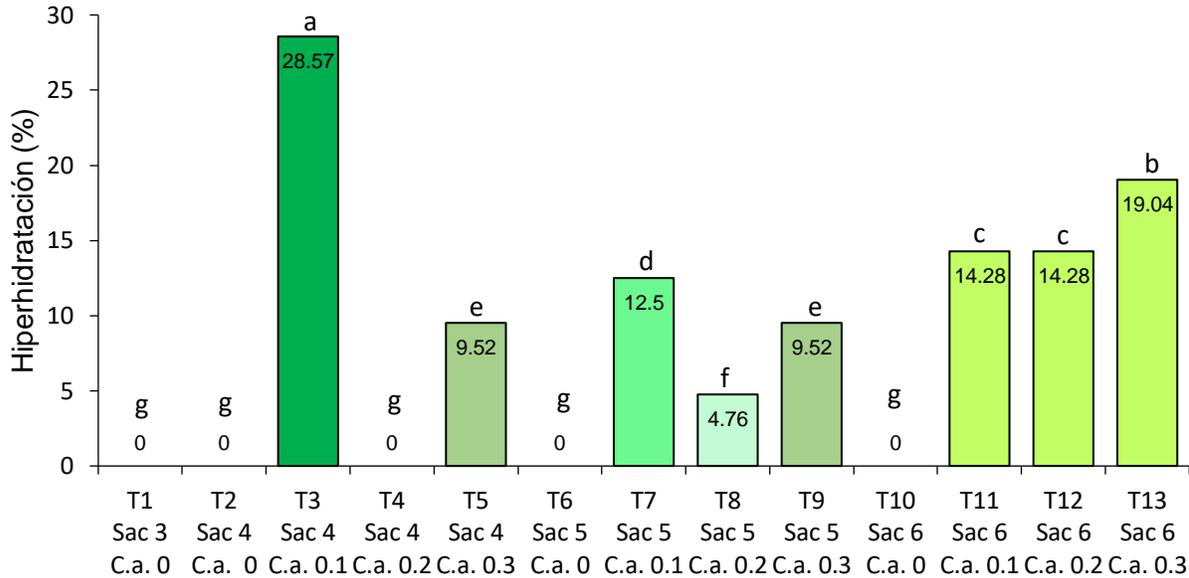


Figura 8. Hiperhidratación en plantas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* por efecto de la concentración del carbón activado (c.a.).

De acuerdo con Ziv (1991), la vitrificación puede ser causada por alta humedad, exceso de carbohidratos y minerales, altos niveles de reguladores del crecimiento o baja intensidad de luz. En esta investigación, la hiperhidratación pudo deberse a que la presencia de c.a. en el medio favoreció la absorción de agua en exceso, por la porosidad que propician las partículas de c.a., aunado al alto contenido de sacarosa (6%).

García *et al.* (2011) señalan que la hiperhidratación es un problema que se presenta frecuentemente en la multiplicación *in vitro* de cactáceas, lo que va a dificultar la multiplicación y aclimatación de las plantas; en varios casos se pierde por completo la morfología de la planta y en su lugar se forma una masa callosa.

González *et al.* (2011) reportaron en *Eucalyptus globulus* que al agregar mayor contenido de sacarosa el porcentaje de hiperhidratación aumentaba caso contrario a lo reportado por Cárdenas y Villegas (2002) en donde indican que la sacarosa hace el potencial osmótico más negativo y se reduce la hiperhidratación.

4. CONCLUSIONES

No hubo asociación de la asepsia de las semillas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* con el uso de Ridomil Gold® 480SL y nano partículas de plata (NPsAg) pues con o sin estos agentes desinfectantes, se obtuvo asepsia completa y la mayor germinación.

El mejor tratamiento de desinfección de semillas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* fue la aplicación de etanol al 70 % + cloro al 12.5 % + Ridomil Gold® + nano partículas de plata con en el cual se obtuvo la mayor asepsia, las semillas germinaron en menor tiempo y en mayor porcentaje.

El medio de cultivo más adecuado para el crecimiento de las plantas de *S. disciformis* ssp. *esperanzae* fue aquel en el que se usó 5 % de sacarosa y 0.2 % de carbón activado, ya que se obtuvo un buen crecimiento, las plantas mostraron un crecimiento proporcional entre diámetro y longitud teniendo una forma similar a la de las plantas que crecen en condiciones naturales y además hubo poca hiperhidratación de plantas.

El protocolo de germinación de semillas y crecimiento de plántulas contribuye a poder efectuar una producción de plantas en menor tiempo comparado a lo que se tiene en condiciones de vivero y del hábitat de esta especie.

5. LITERATURA CITADA

- Abdulwahed, M.S. 2013. Identification of the effect of different levels of activated charcoal and sucrose on multiplication shoots of date palm *Phoenix dactylifera* L. C.v. sufedy in vitro. *Journal of Horticulture and Forestry* 5: 139-145. DOI: 10.5897/JHF2013.0299
- Álvarez, R.; Godínez-Álvarez, H.; Guzmán, U.; Dávila, P. 2004. Aspectos ecológicos de dos cactáceas mexicanas amenazadas: implicaciones para su conservación. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 75: 7-16. DOI: 10.17129/BOTSCI.1690
- Alvarez-Pardo, V.M.; Ferreira A. G.; Nunes, V. F. 2006. Seed disinfestation methods for in vitro cultivation of epiphyte orchids from Southern Brazil. *Horticultura Brasileira* 24: 217-220. DOI.ORG/10.1590/S0102-05362006000200019
- Arias S.; E. Sánchez-Martínez. 2010. Una especie nueva de *Strombocactus* (Cactaceae) del río Moctezuma, Querétaro, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 81: 619-624. DOI: 10.7550/RMB.21504
- Becerra, R. 2000. Las cactáceas. CONABIO. *Biodiversistas* 32: 1-2.
- Bhau, B.S.; A. K. Wakhlu. 2015. A highly efficient in vitro propagation protocol for elephant tusk cactus: *Coryphantha elephantidens* (Lem.) Lem. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 13: 215-219. DOI.ORG/10.1016/J.JGEB.2015.07.003
- Billard, C. E.; C. A. Dalzotto; V. H. Lallana. 2014. Desinfección y siembra asimbiótica de semillas de dos especies y una variedad de orquídeas del género *Oncidium*. *Polibotánica* 38: 145-157.
- Bravo-Hollis H.; H. Sánchez-Mejorada R. 1978. Las cactáceas de México, Vol. I. Universidad Autónoma de México. México. 743 p.
- Bravo-Hollis H.; H. Sánchez-Mejorada R. 1991. Las cactáceas de México, Vol. II. Universidad Autónoma de México. México. 404-643 p.

- Camacho-Velázquez A.; S. Arias, F. García-Campusano; E. Sánchez-Martínez; S. Vázquez-Santana. 2018. Seed development and germination of *Strombocactus* species (Cactaceae): A comparative morphological and anatomical study. *Flora* 242: 89-101.
- Cárdenas L. M. A.; A. Villegas M. 2002. Potencial osmótico del medio de cultivo con diferentes componentes para la propagación *in vitro*. *Revista Fitotecnia mexicana* 25: 213-217.
- Cisneros A.; N. Tel-Zur. 2010. Embryo rescue and plant regeneration following interespecific crosses in the genus *Hylocereus* (Cactaceae). *Euphytica* 174: 74-81. DOI: 10.1007/s10681-010-0135-x
- Convention on International Trade in Endangered Species of Wild and Flora. 2019. Appendices. [En línea]. Disponible en <https://www.cites.org/eng/app/appendices.php> (Consultado el día 3 de mayo de 2020).
- Cortés-Olmos C.; G. Gurrea-Ysasi; J. Prohens; A. Rodríguez-Burruezo; A. Fita. 2018. *In vitro* germination and growth protocols of the ornamental *Lophophora williamsii* (Lem.) Coult. as a tool for protecting endangered wild populations. *Scientia Horticulturae* 237: 120-127. doi.org/10.1016/j.scienta.2018.03.064
- De la Rosa C. M. de L.; M. S. Domínguez-Rosales.; M. E. Pérez-Reyes; E. Pérez-Molphe-Balch. 2012. Cultivo y propagación *in vitro* de cactáceas amenazadas del género *Turbinicarpus*. *Interciencia* 37: 114-120.
- Dencso I. 1987. Factors influencing vitrification of carnation and conifers. *Acta Horticulturae* 212: 167-176.
- Di Lonardo, S.; F.P. Vaccari; S. Baronti; M. Capuana; L. Bacci; F. Sabatini; M. Lambardi; F. Miglietta. 2013. Biochar successfully replaces activated charcoal for *in vitro* culture of two white poplar clones reducing ethylene concentration. *Plant Growth Regulators* 69: 43-50. doi:10.1007/s10725-012-9745-8

- Encyclopedia of living forms. 2019. "*Strombocactus disciformis* subs. *esperanzae*" Text available under a CC-BY-SA Creative Commons Attribution License. Disponible en www.iliflora.com 14 Nov. 2005. (Consultado el día 22 de Octubre de 2019).
- Finkelstein, R. R.; S. I. Gibson 2002. ABA and sugar interactions regulating development: cross-talk or voices in a crowd? *Current Opinion in Plant Biology* 5: 26-32.
- García O. H.T.; A. Benavides M.; L. Escobedo B; J.A. Villareal Q.; E. Cornejo O. 2011. Hyperhydricity control of *in vitro* shoots of *Turbinicarpus valdezianus* (Möller) GL & F. *Phyton* 80: 175-179.
- Garza P. R. A.; M. J. Verde S.; A. Oranday C.; C. Rivas M.; J Treviño N.; R. Rodríguez G.; E. Morales R. 2010. Cultivo *in vitro* de especies de zonas áridas con potencial de aprovechamiento. *Zonas Áridas* 14: 208.
- Glass, C.; S. Arias. 1996. A new subspecies of *Strombocactus* from the Sierra Gorda in the Northeastern portion of the state of Guanajuato, Mexico. *British Cactus and Succulent Journal* 14: 198-204.
- Goettsch B.; C. Hilton-Taylor; G. Cruz-Piñón; J. P. Duffy. 2015. High proportion of cactus species threatened with extinction. *Nature Plants* 1: 1-5. DOI.ORG/10.1016/J.SCIENTIA.2018.03.064
- González R.; D. Ríos; F. Avilés; M. Sánchez-Olate. 2011. Multiplicación *in vitro* de *Eucalyptus globulus* mediante sistema de inmersión temporal. *Bosque* 32: 147-154. <https://dx.doi.org/10.1016/j.jgeb.2015.07.003>
- Kumar T. R.; P. Kee-Yoeup. 2009. *In vitro* sucrose concentration affects growth and acclimatization of *Alocasia amazónica* plantlets. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 96: 307-315.
- Lajayer, H.M.; Esmailpour, B.; Chamani, E. 2011. Hinokitol and activated charcoal influence the microtuberization and growth of potato (*Solanum tuberosum* cv. Agria) plantlets *in vitro*. *Australian Journal of Crop Science* 5: 1481-1485.

- Lallana V. H.; L. F. García. 2013. Efecto de pretratamientos en la prueba de viabilidad de semillas de *Trichocentrum* (Orchidiaceae). *Investigación Agraria* 15: 129-132.
- Lema-Ruminska J.; K. Goncerzewicz; M. Gabriel. 2013. Influence of abscisic acid and sucrose on somatic embryogenesis in cactus *Copiapoa tenuissima* Ritt. forma monstruosa. *The Scientific World Journal*, Article ID 513985, 7 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/513985>
- Lema-Ruminska J.; D. Kulus. 2014. Micropropagation of cacti a review. *Haseltonia* 19: 46-63.
- Medel-Narvaez A.; A. Flores-Hernández; S. Armendáris-Eravez; E. Santamaría-César. 2001. Técnicas de desinfestación y siembra *in vitro* de embriones maduros de falso peyote (*Ariocarpus fissuratus* var. *fissuratus* (Eng.) Shuman), (Cactaceae). *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas* 2: 55-58.
- Moraes L.; R. Tadeu F.; F. L. Cuquel. 2005. Activated charcoal for *in vitro* propagation of brazilian orchids. *Acta Horticulturae* 683: 384-385.
- Murashige T.; F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum* 15: 473-496.
- Pan M. J.; J. van Staden. 1998. The use of charcoal *in vitro* culture – A review. *Plant Growth Regulation* 26: 156-160.
- Pedroza-Manrique, J. A. 2009. Efecto del carbón activado, ácido indolacético (AIA) y bencil amino purino (BAP) en el desarrollo de protocormos de *Epidendrum elongatum* Jacq. bajo condiciones *in vitro*. *Revista Colombiana de Biotecnología* 11: 17-32.
- Quiala, E.; J. Matos; Montalvo G.; Feria M.; Chávez M.; Capote A.; Pérez N.; Barbón R.; Kowalski B. 2009. *In vitro* propagation of *Pilosocereus robinii* (Lemaire) Byles et Rowley, endemic and endangered cactus. *Journal of the Professional Association for Cactus Development* 11: 18-25.

- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2016. Cactáceas, riqueza natural de México. Disponible en <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/cactaceas-riqueza-natural-de-mexico?idiom=es> (Consultado el día 17 de febrero de 2018).
- Shin Y.K.; M. A. Baque; Elghamedi S.; Lee E.J.; Paek K.Y. 2011. Effects of activated charcoal, plant growth regulators and ultrasonic pre-treatments on *in vitro* germination and protocorm formation of *Calanthe* hybrids. *Australian Journal of Crop Science* 5: 582-588.
- Sumaryono; W. Muslihatin; D. Ratnadewi. 2012. Effect of carbohydrate source on growth and performance of *in vitro* sago palm (*Metroxylon sagu* Rottb.) plantlets. *Hayati Journal of Biosciences* 19: 88-92. DOI.ORG/10.4308/HJB.19.2.88
- Thomas, T. D. 2008. The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology Advances* 26: 618-631. DOI: 10.1016/J.BIOTECHADV.2008.08.003
- Verdi. 2019. *Strombocactus disciformis esperanzae* 3". <https://verdi.mx/producto/strombocactus-disciformis-esperanzae-3/#>. (Consultado el día 22 de octubre de 2019).
- Villavicencio G. E.; A. Cano P.; A. Juárez S. 2009. Micropropagación y producción de plantas del Bonete o Birrete de obispo, cactácea ornamental amenazada de extinción del desierto chihuahuense. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de investigación regional del noreste. No. 39. Saltillo, Coahuila, México. 42 p.
- Von Arnold S. 1982. Factors influencing formation, development and rooting of adventitious shoots from embryos of *Picea abies* L. Karst. *Plant Science Letters* 27: 275-287.
- Ziv, M. 1991. Vitrification: morphological and physiological disorders of *in vitro* plants. pp. 45- 69. *In*: Debergh P.C. and R.H. Zimmerman (eds). *Micropropagation: technology and application*. *Kluwer Academic, Dordrecht*.



Cuernavaca, Morelos, 14 de octubre del 2020

MTRA. CLAUDIA GILES SÁMANO
JEFATURA DEL PE IAH E IH
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

En respuesta al oficio con fecha 29 de septiembre del 2020, donde se me nombra miembro del jurado calificador del trabajo de tesis denominado: **Cultivo *in vitro* de *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae*, cactácea endémica de México.**

Que presenta la **C. DUNIA MARTÍNEZ ALCARAZ**, pasante de la carrera de Ingeniería Hortícola, bajo la dirección de la **DRA. MARÍA ANDRADE RODRÍGUEZ.**, le comunico que el documento lo considero **APROBADO.**

Sin más por el momento, agradezco de antemano su valiosa colaboración y aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
Por una humanidad culta

Se adiciona página con la e-firma UAEM
Del PITC de la Facultad de Ciencias Agropecuarias

DRA. MARÍA ANDRADE RODRÍGUEZ

C.i.p. – Archivo.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MARIA ANDRADE RODRIGUEZ | Fecha:2020-12-02 20:18:05 | Firmante

W92RRQB2kf9E0aOvk2lq7JFvVb8mC2Uclv26hCzQe7Yu0at34hO/OrkVB1eT4kyWnQ3UUHzP83YViJycnxB9mOfpwqs7x9RDwUEkCbOxre9ylYsLa1iUYyfA7m8O8c7a2xHT4W/s9awqnkQG47Y0B+1x7IThx2Mt3YYBfr+tpYN9NXqXZQ2idaUSWSEyDMKbSikwF0VhHBkD7syEMICxft8BtsUyJS2wQiwHhbfJwbPPXIYe0ZE29upTg7PmOVqvtffN2K7v2G7XQt u5/ZBNTQu06oiNY937o1RtFvns/YfeJQMMEAP+/7gXClyGye10BYi38865mCH+EWKccZw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



TGJjA2

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/k7B6wVxNK3EjNFmBDeQf1COpaHSdbYSm>





Cuernavaca, Morelos, 14 de octubre del 2020

MTRA. CLAUDIA GILES SÁMANO
JEFATURA DEL PE IAH E IH
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

En respuesta al oficio con fecha 29 de septiembre del 2020, donde se me nombra miembro del jurado calificador del trabajo de tesis denominado: **Cultivo *in vitro* de *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae*, cactácea endémica de México.**

Que presenta la **C. DUNIA MARTÍNEZ ALCARAZ**, pasante de la carrera de Ingeniería Hortícola, bajo la dirección de la **DRA. MARÍA ANDRADE RODRÍGUEZ.**, le comunico que el documento lo considero **APROBADO.**

Sin más por el momento, agradezco de antemano su valiosa colaboración y aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
Por una humanidad culta

Se adiciona página con la e-firma UAEM
Del PITC de la Facultad de Ciencias Agropecuarias

DR. OSCAR GABRIEL VILLEGAS TORRES

C.i.p. – Archivo.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

OSCAR GABRIEL VILLEGAS TORRES | Fecha:2020-12-03 12:28:17 | Firmante

FX8nODtBOASpt4PG1CfHcskylBqXA5qo7lcfiGEA3D+w/31SH1euAuqXccEIRjJGiv1S7G2KbKqbs/7rFhPuUNNLrYDvCP8xNptEZibaMxQRHpTcUOQrdeQI4VgQcL4pixXUukT
C/7S93mxtkvZ0i0Olv+Sc8glnqJ04aHYNvZCQ4HibzlluWfBPzGIlxERwZZiu1jp/3DXzofepqRDASc9RpWNVzKNsqV4KYTBc5oE09+G7SPoQvTUDg5SHKS0dikULov459fURT4i8t
+wtOrfAXsR2vByiw/qWoE0Spmwz9DaP2YxLrEr1lzXn8r0TJptYRte+kGrYtpb1fIQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[RrvUes](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/m6NmgWtVJY4R6hXmpZDMDQVWI1qUmRyj>





Cuernavaca, Morelos, 14 de octubre del 2020

MTRA. CLAUDIA GILES SÁMANO
JEFATURA DEL PE IAH E IH
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

En respuesta al oficio con fecha 29 de septiembre del 2020, donde se me nombra miembro del jurado calificador del trabajo de tesis denominado: **Cultivo *in vitro* de *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae*, cactácea endémica de México.**

Que presenta la **C. DUNIA MARTÍNEZ ALCARAZ**, pasante de la carrera de Ingeniería Hortícola, bajo la dirección de la **DRA. MARÍA ANDRADE RODRÍGUEZ.**, le comunico que el documento lo considero **APROBADO.**

Sin más por el momento, agradezco de antemano su valiosa colaboración y aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
Por una humanidad culta

Se adiciona página con la e-firma UAEM
Del PITC de la Facultad de Ciencias Agropecuarias

DR. PORFIRIO JUÁREZ LÓPEZ

C.i.p. – Archivo.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

PORFIRIO JUAREZ LOPEZ | Fecha:2020-12-02 21:53:27 | Firmante

jSpVKUUroN5UCMcJAaMMoUdOoi/2xV44JF/xRUHGy3Mb5WH6KoTQ5xFOoBAP9BxQHqap+rQfAkD3RJaYkr2+CwHuE2w1GHm7wUK/UuNuhg+oPqpNCbVn4yWghkjtW2g0yW8UtdMFJY92OPickD+eT9iQE7+Oqunzc7UMc/UbC5/pC1x8Lzn9LQy3oiB4leC6semv0kSjZyUnTO7+4WNSUyK7GiSBHHMPOXBsXfj19FN0AsYO9M9S48MHODHfs2QMZZJ+OC7Ci5iDkSEoS5RdTsJRnCD7G4S/3XAlv8KHp6Mm4WiRKukiUYZqdhw8NtlIJ1ffz9IKIRSPd97X8A==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[ze7XDO](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/jH3DM9tEy3RwI4IChmbNXt5job4CD9v0>





Cuernavaca, Morelos, 14 de octubre del 2020

MTRA. CLAUDIA GILES SÁMANO
JEFATURA DEL PE IAH E IH
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

En respuesta al oficio con fecha 29 de septiembre del 2020, donde se me nombra miembro del jurado calificador del trabajo de tesis denominado: **Cultivo *in vitro* de *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae*, cactácea endémica de México.**

Que presenta la **C. DUNIA MARTÍNEZ ALCARAZ**, pasante de la carrera de Ingeniería Hortícola, bajo la dirección de la **DRA. MARÍA ANDRADE RODRÍGUEZ.**, le comunico que el documento lo considero **APROBADO.**

Sin más por el momento, agradezco de antemano su valiosa colaboración y aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
Por una humanidad culta

Se adiciona página con la e-firma UAEM
Del PITC de la Facultad de Ciencias Agropecuarias

DR. HÉCTOR SOTELO NAVA

C.i.p. – Archivo.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

HECTOR SOTELO NAVA | Fecha:2020-12-02 21:22:53 | Firmante

s76wiZjbZUWF45ng2rgDj9lvfdqDMSorgOoDmjs2l27LZGd11Tvz1P+QWQQUXmhNo5s0+/zvlhsGn7vHpuHfOI5X51BMtHpeYkHBYsbLitDH++D6d7M2yoZmQD29HZ7e3YuW8KQTHkU+CL//fcpxCOQvAj6T+n7EFGI/YDA4gBITiUqLsDUIfDCzxP4HrW9bF5R3OcALPjzpUnn48sBcKgd/sdHg7GpfzYulBEIW+QBzyYh98btLYqFSMcUGqDbXzAj/UNa8BuBV0xHFeEhlXvhQZAxAiF/mmK2VTxieBxu3iUOhXdQCLmtetpZFiOGdZWc+pY30uBEYcuOV3UhXRA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[oz2dmX](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/mzhfx3tLCJZSfmJZQt9oUfNJJQqO6FDII>





Cuernavaca, Morelos, 14 de octubre del 2020

MTRA. CLAUDIA GILES SÁMANO
JEFATURA DEL PE IAH E IH
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
P R E S E N T E.

En respuesta al oficio con fecha 29 de septiembre del 2020, donde se me nombra miembro del jurado calificador del trabajo de tesis denominado **Cultivo *in vitro* de *Strombocactus disciformis* ssp. *esperanzae*, cactácea endémica de México.**

Que presenta la **C. DUNIA MARTÍNEZ ALCARAZ**, pasante de la carrera de Ingeniería Hortícola, bajo la dirección de la **DRA. MARÍA ANDRADE RODRÍGUEZ.**, le comunico que el documento lo considero **APROBADO.**

Sin más por el momento, agradezco de antemano su valiosa colaboración y aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente
Por una humanidad culta

Se adiciona página con la e-firma UAEM
Del PTP de la Facultad de Ciencias Agropecuarias

DR. JOSÉ ANTONIO CHÁVEZ GARCÍA

C.i.p. – Archivo.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

JOSE ANTONIO CHAVEZ GARCIA | Fecha:2020-12-02 20:19:39 | Firmante

y4RJPghZBqQ65Niiks2qCj74QHvw6oDvXP1+HMVRAWkF4el1jAGpLsdQF3ldb0MBBKzbnEYbwisPm15EYHrjgMWYSvYSADSJxff/kTWxx8oBHn+AFTvY3goXFGzBwO6afJEVx
eoBhr4pMfAQ1wt9j6jS8RmxjU8heEnodiUuv+ZB96D10+4VUGPMwaxZB0ncShYe9MD30bBBVMiN9UuZy+gLFLYrYV6dRy5PxCQz4M8q/d/bfwOBRUBsoli+7Ae3MYWrDPkvG/
cBWidS9BFbmmqXqr2znSHSVeJvJgR/eBRpeXyNJo/6h6sma8CfMHnzt9QomZ8NAiLZnsdsv2zoAw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[owHesK](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/NFYaIOUya32011wqskheToh0z0cCvJRR>

