



# UNIVERSIDAD ABIERTA Y A DISTANCIA DE MÉXICO



DIVISIÓN DE CIENCIAS DE LA SALUD,  
BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

## PROPAGACIÓN DE MIMOSA BIUNCIFERA CON APOYO DE LA BIOTECNOLOGÍA PARA PROYECTOS DE RESTAURACIÓN DE SUELOS.

PROYECTO TERMINAL QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA PRESENTA:

**JOSE FIDEL RANGEL GUTIERREZ**

**ASESOR: DIANA ELINOS CALDERON**  
DRA. EN CIENCIAS BIOMEDICAS

**ASESOR EXTERNO: ISRAEL MATA FERNANDEZ**  
BIOLOGO  
M. EN C. AGROPECUARIAS EN PROCESO DE  
TITULACION



## Tabla de contenido

Resumen.....	3
Justificación.....	3
Marco Teórico.....	4
Antecedentes.....	5
Descripción de la especie <i>Mimosa biuncifera</i> .....	6
Germinación.....	8
Hipótesis.....	10
Objetivos.....	11
Objetivo General.....	11
Objetivos particulares.....	11
Metodología.....	11
<b>Recolección de semilla</b> .....	11
<b>Preparación de muestra</b> .....	12
<b>Germinación con agentes químicos</b> .....	12
<b>Trasplante</b> .....	13
Resultados.....	15
Viabilidad de la escarificación química de semillas de <i>Mimosa aculeaticarpa</i> var. <i>Biuncifera</i> , pudiendo ser con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 98% o algún compuesto a base de nitrógeno.....	15
Germinación por inmersión en H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 98%.....	16
Germinación por inmersión en base nitrógeno.....	17
Ventajas y desventajas de los métodos empleados.....	21
Protocolo de propagación a partir de células somáticas, a base de escarificación química. ...	22
Propagación de 70,000 individuos a partir de semillas recolectadas en la zona hasta la aparición de la plántula, colocarla en vivero y mantenerla ahí hasta su utilización en actividades de forestación.....	23
Análisis de los resultados.....	23
Conclusiones.....	26
Referencias.....	27

## Índice de figuras.

Figura 1. Mimosa biuncífera o Mimosa aculeaticarpa var. Biunficera (Garabatillo, 2018; Gatuño, 2018).....	7
Figura 2. a) Vista exterior del germinador rústico con focos; b) Vista interior del germinador rústico con focos; c) Vista de la plántula en el germinador rústico, y d) Vista del germinador rústico dentro de la estructura para control de la temperatura. ....	13
Figura 3. Metodología general de trabajo, por pasos. Fuente: Elaboración propia con el programa Edrawsoft 2015 V7.9 .....	14
Figura 4. a) Retiro de semilla de la planta, y b) acercamiento a la semilla. ....	15
Figura 5. Plántulas de Mimosa biuncifera a los 15 días de tratamiento con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 98%. a) Con dos estípulas puberulentas y pinnas pares; b) Peciolo con 8 foliolos; c) Acercamiento plantas de 1 a 2 meses. ....	16
Figura 6. Plántulas de 3 meses: a) germinadas en charolas de germinación, con ramas jóvenes de 8 foliolos; b) acercamiento. ....	17
Figura 7. Charolas germinadoras donde se colocaron 4,400 semillas .....	17
Figura 8. Plántula con ramas jóvenes de 8 foliolos. ....	18
Figura 9. Plántula con ramas jóvenes de 8 foliolos y algunas con sólo dos estípulas puberulentas y pinnas pares. ....	18
Figura 10. Plántula con tallas entre 1.5 a 2 cm, crecimiento entre 15 a 20 días con dos estípulas puberulentas y pinnas pares, y algunas ramas jóvenes de 8 foliolos. ....	18
Figura 11. Polígonos de frecuencias de tallas en Mimosa biuncifera, tratada por escarificación química.....	20
Figura 12. a) Diferencia de tallas entra las plantas que sobrevivieron la germinación con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 98% en octubre del 2018, y las germinadas con base nitrógeno del 12 de enero del 2019; b) Gráfica de crecimiento de la planta germinada con H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 98% de octubre del 2018 a mayo del 2019.....	21
Figura 13. Vista transversal de una pistola de semillas. Se lanzan las semillas contra la pared rellena con arena a una velocidad de 30 m/s Tomado de M. Poulsen and Stubsgaard (2000).....	25

## Índice de Tablas.

Tabla 1. Resultados de laboratorio para la germinación de Mimosa biuncíferarecolectada en lomeríos erosionados de Naucalpan, Estado de México (González-Kladiano & Camacho-Morfín, 1994). ....	8
Tabla 2. Resultados para la germinación de Mimosa biuncífera en 2 lotes de escarificación. ....	16
Tabla 3. Frecuencias de tallas en Mimosa biuncifera, tratada por escarificación química. 19	
Tabla 4. Resultados de laboratorio para la germinación de diversas especies utilizando la escarificación mecánica con pistola de semillas (M. Poulsen and Stubsgaard, 2000).....	25

# PROPAGACIÓN DE *Mimosa biuncifera* CON APOYO DE LA BIOECNOLOGÍA PARA PROYECTOS DE RESTAURACIÓN DE SUELOS

## Resumen.

Para dar cumplimiento a la autorización de impacto ambiental para la construcción de la Autopista Atlacomulco Atizapán, la Secretaría de Medioambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), ha requerido a la empresa dueña de la concesión se lleve a cabo el rescate de un arbusto conocido como uña de gato (*Mimosa biuncifera*), que además de tener un valor económico, cultural y en ocasiones medicinal, es característico del matorral xerófilo donde permite formar islas de fertilidad para diversas especies de cactáceas, lo que lo hace importante en proyectos de restauración ecológica. Sin embargo, la biología de esta planta no es conocida a profundidad, por lo que su rescate por propagación es un reto muy importante, considerando, además, que son 70,000 individuos los que deben ser rescatados y son el alimento primario de varias especies de brúquidos, que disminuyen su potencial de germinación a partir de semillas. Bajo estas condiciones, la biotecnología puede proporcionar alternativas viables de solución a tan compleja tarea, ya que ha demostrado en los últimos años su capacidad para la conservación y propagación del genoma vegetal, tales como la propagación asexual a través de esquejes, por semillas y en última instancia, a través de micropopagación.

## Justificación.

El objetivo del Procedimiento de Evaluación de Impacto Ambiental en México es para establecer *“las condiciones a que se sujetará la realización de obras y actividades que puedan causar desequilibrio ecológico o rebasar los límites y condiciones establecidos en las disposiciones aplicables para proteger el ambiente y preservar y restaurar los ecosistemas...”*, entre otras, la Ley General de Vida Silvestre, que regula *“...la conservación y aprovechamiento sustentable de la vida silvestre y su hábitat...”* mediante *“...prácticas planificadas de manejo de poblaciones de especies silvestres en vida libre, que se realizan en áreas delimitadas dentro de su ámbito de distribución natural, dirigidas expresamente a garantizar la conservación de sus hábitats así como a incrementar sus tasas de sobrevivencia, de manera tal que se asegure la permanencia de la población bajo manejo...”*.

Para el desarrollo del proyecto de construcción de la Autopista Atlacomulco-Atizapán, se identificó en la Manifestación de Impacto Ambiental y su Estudio Técnico Justificativo para cambio de Uso del Suelo, la presencia de una

especie vegetal conocida como uña de gato (*Mimosa biuncifera*), que es un arbusto con valor económico, cultural y en ocasiones medicinal, característico del matorral xerófilo que permite formar islas de fertilidad para diversas especies de cactáceas, lo que la hace importante en proyectos de restauración ecológica (P. Pavón, Ballato-Santos & Pérez-Pérez, 2011; Kane & Rose, 2007).

Como condición para desarrollar el proyecto, se requirió a la empresa constructora llevar a cabo el rescate y reubicación de 75,000 individuos en 27 hectáreas, ya sea recolectándola en campo o propagándola por esqueje, semilla o micropropagación. Sin embargo, debido a la gran cantidad de plantas que se requieren y el escaso conocimiento sobre su biología reproductiva, se requiere definir un procedimiento *in vitro* para su reproducción y propagación.

#### Marco Teórico.

Un explante es “...una parte de un tejido o de un órgano que se aísla del resto de la planta con fines de cultivo...” (Roca and Mroginski, 1993, p132), tales como un tejido (hojas, tallos, raíces, pétalos), un órgano (semillas, anteras, ovarios, botones forales, hojas y raíces completas) o células individuales como los protoplastos, todos ellos integrados por células somáticas, y es utilizado para la propagación vegetativa de tipo asexual para dar origen a una nueva planta. Por otra parte, a través de la fertilización se lleva a cabo la propagación sexual, en la que se involucra la fusión de dos gametos de sexo opuesto o cepas resultantes en la formación de un cigoto; a partir de esta célula-cigoto simple se origina un cuerpo multi-celular y multi-órganos de un organismo como una planta floral (Ecured, 2018).

Los procesos metabólicos primarios en cultivos celulares de plantas muestran las mismas características que las células vegetales organizadas en condiciones naturales, por lo que la disponibilidad de diferentes técnicas *in vitro* permite llevar a cabo la modificación y mejoramiento de plantas, libres de virus, propagación clonal y el almacenamiento del germoplasma. Mediante cultivos de células vegetales, se han realizado estudios de Organogénesis y micropropagación, así como en la producción de alimentos transgénicos (Calva-Calva and Pérez-Vargas, 2005), aunque también pueden incluirse como una herramienta de la biología básica de las plantas para lograr una agricultura sostenible y estable medioambientalmente.

Por lo tanto, es importante retomar las características metabólicas de la especie que nos ocupa, para poder entender sus requerimientos nutrimentales y medioambientales, y poder establecer los parámetros de diseño del protocolo de trabajo.

En primer lugar, es importante mencionar que se ha reportado que las plántulas de las especies del género *Mimosa* germinan y se desarrollan en



campo durante la época de lluvias, preferentemente en sitios expuestos a la luz. La nodulación bacteriana y la formación de micorrizas permiten el establecimiento de plántulas en sitios perturbados, sobre suelos infértiles. El enriquecimiento del suelo con fósforo y el nitrógeno reducen su capacidad de interacción con hongos micorrizógenos, lo que puede reducir la sobrevivencia de algunas especies de *Mimosa*. En específico *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (Benth), tiene un fruto en forma de vaina de color café, cuyas semillas son atacadas por brúquidos (Ramírez-Serrano, Romero-Gómez & Romero-Nápoles, 2013), condición que reduce el número de semillas que pueden germinar. Experimentalmente, cuando se escarifican las semillas de manera mecánica bajo sombra, a 30°C, humedad promedio del 50% y en suelo enriquecido con nitrógeno, se obtiene un porcentaje de germinación cercano al 80%, donde a los 3.5 días de iniciada la germinación, el 50% de las semillas ya lo hicieron.

#### Antecedentes.

Los ecosistemas áridos y semiáridos se caracterizan por la escasez de agua, principal factor que limita los procesos biológicos (Chimal-Sánchez, 2015), así como por las temperaturas extremas y suelos con baja fertilidad. Para sobrevivir, las plantas como las cactáceas, gramíneas y las leguminosas del género *Mimosa*, han desarrollado estrategias como el asociarse simbióticamente con hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) a nivel de la raíz, para:

- ~ Mejorar su estatus nutrimental a través de la asimilación de fósforo (ión fosfato,  $PO_4^{-3}$ ), Nitrógeno (N), cobre (Cu), zinc (Zn), manganeso (Mn), hierro (Fe), potasio (K) y calcio (Ca);
- ~ Prevenir la asimilación excesiva de iones cloro (Cl) y sodio (Na) en suelos sódico-salinos;
- ~ Tolerancia al estrés hídrico;
- ~ Mayor resistencia a organismos patógenos;
- ~ Mayor resistencia a condiciones desfavorables como pH extremo y alta salinidad.

A cambio, las plantas hospederas destinan entre el 4% y el 20% del carbono (C) fijado por fotosíntesis para mantener la micorriza arbuscular (MA), debido a que son simbioses obligados y no pueden obtener este recurso por una ruta diferente.

En el suelo, los hongos extienden su micelio en una red que permite formar agregados estables para la estabilización del suelo, mejorando las condiciones de aeración e infiltración de agua, el establecimiento de comunidades microbianas que promueven el reciclaje de nutrientes, la solubilización del  $PO_4^{-3}$ , el crecimiento vegetal y la inhibición de fitopatógenos, con lo que se reduce la pérdida de suelo por erosión, se presenta un impacto diferencial en la estructura de la comunidad vegetal, la diversidad florística, la productividad primaria de los ecosistemas y la colonización de nuevos hospederos.



Sin embargo, la restauración de un suelo perturbado es más complicada que aquel que presenta vegetación nativa, ya que estos últimos tienen mayor riqueza y diversidad de HMA con implicaciones críticas para la conservación de los ecosistemas naturales y la restauración de aquellos transformados en agroecosistemas y con menor diversidad de HMA.

Las regiones áridas y semiáridas de México representan cerca del 60% del territorio, en la que se encuentra un 43.9% de las especies de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) de los géneros *Glomeraceae*, *Gigasporaceae*, *Acaulosporaceae* y *Glomus*. Algunas especies vegetales arbustivas del matorral xerófilo como *Mimosa biuncifera*, se han considerado especies clave en estos ecosistemas porque mejoran la fertilidad del suelo y las condiciones microambientales al formar islas de recursos (IR), donde se presentan condiciones microclimáticas y edáficas que favorecen la disponibilidad de recursos, el establecimiento de otros organismos como las cactáceas, herbáceas, y microorganismos y su sobrevivencia (Chimal-Sánchez, 2015).

En la IR existe una importante cantidad de esporas de HMA en comparación con áreas sin vegetación, lo que representa una gran riqueza de especies de HMA. La relación entre plantas formadoras de IR con su comunidad de HMA, representa un sistema (planta-IR-HMA) clave para la recuperación de la vegetación y de los procesos ecosistémicos bajo condiciones de desertificación.

Por lo anterior, y considerando que sitios con vegetación nativa de *Mimosa* tienen la mayor riqueza y diversidad de HMA, así como las mejores condiciones de pH, Conductividad Eléctrica, temperatura, humedad y minerales como materia orgánica, Nitrógeno total, Nitritos, amonio y fosfatos, es de esperarse que durante la época de lluvias o al final de ésta, sea el mejor momento para recolectar individuos susceptibles de ser estudiados.

#### Descripción de la especie *Mimosa biuncifera*.

También aceptada como *Mimosa aculeaticarpa* var. *biunficera* por el by SEINet, ITIS (Integrated Taxonomic Information System), USDA PLANTS (United States Department of Agriculture PLANTS Database) y Tropicos.org (Garabatillo, 2018; Gatuño, 2018). Es una especie de arbusto en la familia de las *Fabaceae* (Conabio, 2018). Es conocida por varios nombres comunes como casirpi, garabatillo, garruño, gatillo, gatuño, huiscalate, huizache, huizachito, shamini (otomí), shashne, uña de gato (**Figura 1**), y es utilizada para cercas vivas, como leña, para forraje, como material de construcción, peletería e implemento agrícola (Camargo-Ricalde, Grether, Martínez-Bernal, García-García & Barrios-Del Rosal, 2001; Camargo-Ricalde, S., Dhillon, S., & Grether, R. 2002).



Figura 1. *Mimosa biuncifera* o *Mimosa aculeaticarpa* var. *Biunficera* (Garabatlillo, 2018; Gatuño, 2018).

Es un arbusto de 0.5 a 1.5 m de alto, con ramas jóvenes acostilladas, rojizas, puberulentas a pubescentes; ramas maduras divaricadas en ángulos de 60-70. estriadas, grisáceas, glabrescentes. con aguijones recurvados, infraestipulares. pareados, a veces solitarios, rara vez en grupos de tres. Tiene un hábito arbustivo, frutos pequeños y semillas oblongas, creciendo principalmente en zonas áridas y semiáridas. Su hábitat es el Matorral xerófilo; ocasionalmente invade áreas perturbadas de bosque de *Pinus-Quercus*. Se desarrolla en sustrato de caliza y suelo somero, con elevaciones de 1500-2530 m. Florece de abril a julio. Fructifica de mayo a diciembre (Alvarado-Cárdenas, 2006; Camargo-Ricalde, S., Dhillion, S., & Grether, R. 2002). Estudios realizados en Irapuato a 2,000 msnm (Luna-Suárez, S., Frías-Hernández, J., Olalde-Portugal, V., & Dendooven, L. 2000), se observó que esta leguminosa fija Nitrógeno del ambiente en la materia orgánica del suelo, en una proporción C:N promedio de 8.4 y 9. 1, mientras que el contenido de C y de la biomasa microbiana como porcentaje de la materia orgánica del suelo, es 1.6 veces mayor en áreas con alta densidad de plantas y menor erosión, en comparación con sitios con baja densidad y mayor erosión; también en asociación con otras especies, favorece la creación de Islas de Recursos (IR) en actividades de restauración de suelos, como lo han demostrado diversos estudios, tales como los realizados en matorrales semiáridos del Valle del Mezquital (Montaño-Arias, N., García-Sánchez, R., Ochoa-De la Rosa, G., & Monroy-Ata, A. 2006; Luna Suárez, *et al.*, 2000), donde se revela que con presencia de mezquite, cactáceas y Leguminosae, el suelo donde se ubican puede ser utilizado como Islas de Recursos (IR), ya que se favorece la acumulación de MO, COS, Pi y N total, disminuye las concentraciones de  $Mg^{2+}$  y  $Ca^{2+}$  y beneficia la biomasa microbiana, lo que incrementa la disponibilidad de nutrimentos en el suelo; asimismo en asociación con otra leguminosa como *Prosopis laevigata* (García-Sánchez, *et al.*, 2012), el suelo presenta mayor cobertura, plantas más altas de mayor diversidad y mayor cantidad nutrimentos como materia orgánica del suelo



(MO), carbono orgánico del suelo (COS), nitrógeno total (Nt), la mineralización de fósforo-Olsen (P) y carbono (C).

#### Germinación.

En estudios realizados para la recuperación de la Reserva Ecológica El Pedregal de San Ángel (González-Kladiano & Camacho-Morfín, 1994), se ha experimentado la propagación en laboratorio de especies de *Mimosa biuncifera* a partir de semillas recolectadas de lomeríos erosionados del municipio de Naucalpan, un grupo de semillas fueron sujetas a tratamiento por inmersión en agua a 72° y 92°C durante 3 y 6 min., respectivamente, y con semillas sin tratamiento pero escarificadas manualmente, cortándoles el extremo de la testa opuesto al sitio en que emerge la radícula. Las unidades experimentales fueron de 50 semillas. En vivero se realizó mediante la siembra de semillas tratadas a 75°C por 6 min.

Los resultados obtenidos del experimento en laboratorio después de un mes de incubación a 25°, indican que las semillas escarificadas tardaron 4 días en germinar y las tratadas con agua a 72°C por 3 y por 6 min lo hicieron en 10 días, con una mayor germinación en las primeras alcanzando un porcentaje total del 75%, de acuerdo con lo señalado en la **Tabla 1**:

Tratamiento		Resultados		
Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Germinadas (%)	Impermeables (%)	Muertas (%)
72	3	67	9	24
72	6	50	8	42
92	3	1	1	98
92	6	2	0	98
Escarificado		75	0	25
Sin tratamiento		15	54	31

Tabla 1. Resultados de laboratorio para la germinación de *Mimosa biuncifera* recolectada en lomeríos erosionados de Naucalpan, Estado de México (González-Kladiano & Camacho-Morfín, 1994).

En vivero, la germinación fue menor del 10%. En ambos casos, las semillas presentaron daños debidos a gorgojos o pudrición, de la misma manera se ve afectada durante el almacenamiento (Montaño-Arias, S., Camargo-Ricalde, S., Grether, R., & Díaz-Pontones, D. 2015), que por lo que se recomienda el uso de sustratos, fungicidas, esterilización de la superficie de las semillas y el control de gorgojos en las semillas.

En (Peña-Becerril, Monroy-Ata, Orozco-Almanza & García-Amador, 2016) se llevó a cabo el establecimiento de *M. biuncifera* a partir de semillas colectadas Xitzio, localidad del Valle del Mezquital en Hidalgo, utilizando para las plántulas suelo de la misma zona que manifestara la presencia de agaváceas y catáceas como IR. La fase de laboratorio se desarrolló en un invernadero a 22°C de temperatura media (máximo 33°C, mínimo 11 °C) y



una humedad relativa promedio de 41 % (máximo 50 %; mínimo 9 %), dentro de las instalaciones de la FES Zaragoza de la UNAM. El suelo utilizado en el invernadero se tamizó y se mezcló con grava de mármol 1:1 (V/V) para promover la filtración de agua, y esterilizado en autoclave durante 1 hora a 96 °C. El inóculo inicial contenía dos elementos principales: esporas de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) de los géneros *Acaulospora sp.*, *Glomus claroideum*, *Glomus sp.* y *Sclerocystis sp.*, en una cantidad de 1,934 esporas/100 g de suelo, y restos de raíces de las especies *Lycopersicon esculentum* P. Mill. (Solanaceae, tomate) and *Lolium multiflorum* Lam. (Poaceae, ryegrass anual) donde se desarrolló el HMA.

Para la germinación, se utilizaron 150 semillas desinfectadas por inmersión en hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos, escarificadas mecánicamente en la parte posterior de la posición del embrión, y colocadas en cajas Petri con papel filtro húmedo a temperatura ambiente para inducir la germinación. Tres días después de la germinación, estas semillas fueron colocadas en macetas tubulares de PVC de 24.5 cm de alto y 7.2 cm de diámetro, humedecidas y selladas en su base para el control de suelo. El suelo donde se colocaron las plántulas estaba compuesto de 1,000 g de suelo estéril (suelo IR) filtrado con agua destilada para fomentar la asociación de micorrizas, más 100 g de inóculo de HMA obtenido del filtrado de una mezcla de suelo IR con agua estéril en papel Whatman No. 42. El riego inicial para las plántulas en invernadero fue de 40 mm de H<sub>2</sub>O (162.86 ml) para proporcionar una reserva de agua y posteriormente, 11 días después del trasplante, cada semana se dio un riego con 20 mm de H<sub>2</sub>O (81.43 ml) hasta la semana 14, donde se redujo la cantidad de agua a la mitad (10 mm), alcanzando al final del tratamiento, un total de 370 mm H<sub>2</sub>O (1,506.45 ml).

Al final del experimento en el invernadero, se observó un crecimiento adecuado en altura, diámetro promedio de cobertura y número de pinnas en las plántulas. Un año después de trasplantar las plantas del invernadero al campo experimental, se tuvo un porcentaje de supervivencia de entre el 91.66% y 83.33%, alcanzando una altura de acuerdo con la exploración de la parte apical.

Una técnica similar para la germinación, dispersión y establecimiento de plántulas de este género se llevó a cabo en la UAM Iztapalapa (Camargo-Ricalde, S., & Grether, R. 1998; Montaña-Arias, et al., D. 2015), pero con la especie *Mimosa tenuiflora*, *M. aculeaticarpa* var. *aculeaticarpa* y *M. luisana* (Leguminosae). En este caso, las semillas fueron recolectadas en los estados de Chiapas, Michoacán y Puebla, respectivamente. Las semillas de *Mimosa tenuiflora* fueron utilizadas después de 4 años de almacenamiento, mientras que las semillas de *M. aculeaticarpa* var. *aculeaticarpa* y *M. luisana* fueron recolectadas de octubre a noviembre del 2015. En ambos experimentos, las semillas fueron lavadas con agua destilada y después con detergente



comercial (tres g de detergente/100 ml de agua destilada), enjuagándose dos veces con agua destilada estéril; después se lavaron en una solución de hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos y se enjuagaron dos veces con agua destilada estéril. Se escarificaron mecánicamente y después se colocaron en cajas de Petri con dos hojas de papel filtro humedecidas con agua destilada estéril, dentro de una bolsa de plástico autoadherible. Posteriormente se colocaron en germinadores a un intervalo de temperaturas de 5 a 45°C y a tres fotoperiodos: a) luz continua, b) oscuridad constante y c) luz 12 hr/oscuridad 12 hr.

En estas condiciones, las semillas germinaron durante los primeros 4 días, con un porcentaje del 95.55% a una temperatura óptima de 25°C, sin que el fotoperiodo interviniera significativamente. Sin embargo, en una prueba paralela con semillas escarificadas con ácido sulfúrico, se obtuvo un porcentaje de germinación del 91.11% en fotoperiodos de oscuridad constante y 88.88% de luz/oscuridad. Durante los primeros días del cultivo de plántulas en laboratorio, tuvieron un crecimiento de 2 a 5 mm diarios; posteriormente durante diez días la radícula es recta, el hipocótilo se desarrolla rápidamente, el epicótilo está reducido a la plúmula y los cotiledones; durante los siguientes 6 días, crece el hipocótilo con tricomas, se larga el epicótilo y se desarrolla la primera eófila paripinnada, con 4-6 pares de folíolos linear-oblongos de 2-3 x 1 mm; a partir del día 17 y hasta el día 20, se desarrolla la primera pronomófila, alterna, biparipinnada, con 6-8 pares de folíolos linear-oblongos, 1-2 x 1 mm, con tricomas glandulares en el margen; después de 11 a 12 semanas se desarrolla la tercera pronomófila hasta alcanzar un total de diez pronomófilas; al contacto con el suelo, el hipocótilo desarrolla raíces adventicias. La fase de plántula concluye en la semana 12 a 14 con hojas semejantes a la de la planta adulta. Durante ambos experimentos, el incremento o decremento en la temperatura no inhibe la germinación de las especies (Camargo-Ricalde, S., & Grether, R. 1998; Montaña-Arias, et al., D. 2015).

Tampoco el escarificado puede afectar el porcentaje de germinación de las semillas (Álvarez-Bernal, D., Contreras-Ramos, S., Marsch, R., & Dendooven, L. 2007; González-Castañeda et al., 2004), ya que se puede obtener un alto porcentaje de germinación de semillas de *Mimosaceae* mediante escarificación mecánica o sumergiéndolas en H<sub>2</sub>SO al 98%. Esto último puede ser muy importante cuando se requiera una gran cantidad de plantas en un programa de reforestación, ya que sumergir una gran cantidad de semillas en H<sub>2</sub>S04 al 98% durante un periodo de 20 a 30 minutos, es una mejor alternativa que escarificándolas mecánicamente.

#### Hipótesis.

La propagación de *Mimosa aculeaticarpa* var. *Biuncifera* de manera asexual por injerto ha sido inviable, posiblemente a que la planta recolectada en

campo proviene de un hábitat seco y bajo en nitrógeno, con clima templado y nula presencia de cactáceas, lo que pone esta técnica en desventaja; sin embargo, es posible realizar su germinación a través de semilla no contaminada por brúquidos, recolectada en época de lluvia, preferentemente, a través de escarificación química con  $H_2SO_4$  al 98% o algún otro compuesto a base de nitrógeno. En caso de que ninguna de las técnicas funcione, será necesario desarrollar un protocolo de trabajo para su micropropagación a futuro.

### Objetivos.

#### Objetivo General.

- ~ Llevar a cabo la propagación de 70,000 individuos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *Biuncifera* a partir de la escarificación química con semillas recolectadas en la zona, para utilizarlas en actividades de forestación.

#### Objetivos particulares.

- ~ Identificar la viabilidad de la escarificación química de semillas de *Mimosa aculeaticarpa* var. *Biuncifera*, pudiendo ser con  $H_2SO_4$  al 98% o algún compuesto a base de nitrógeno;
- ~ Desarrollar un protocolo de propagación para *Mimosa aculeaticarpa* var. *Biuncifera* a partir de células somáticas, a base de escarificación química;
- ~ Llevar a cabo la propagación de 70,000 individuos de *Mimosa aculeaticarpa* var. *Biuncifera* a partir de semillas recolectadas en la zona hasta la aparición de la plántula, colocarla en vivero y mantenerla ahí hasta su utilización en actividades de forestación.

### Metodología.

#### *Recolección de semilla.*

Se llevó a cabo la recolección de las semillas en los ejidos de Cahuacán, Municipio de Villa del Carbón y Atotonilco, en el Estado de México, que se encuentran a una altura de 2,700 a 2,900 msnm. El clima en Cahuacán es templado subhúmedo, con temperatura promedio de 16 °C con máxima de 30°C y mínima de 7°C; la precipitación promedio anual es de 1,136 mm con lluvias de julio a septiembre. La vocación del suelo es agrícola y forestal, con predominancia de vertisoles con alto contenido de arcilla, lo que dificulta las actividades agrícolas y de construcción. Por su parte en Atotonilco es subhúmedo con lluvias en verano, una precipitación media anual de 800 milímetros con un periodo de lluvias entre junio y septiembre, donde la temperatura máxima promedio es de 19.9°C, con una mínima de 7.4°C y media anual de 13.8°C. el suelo es planosol, que son fértiles, planos, llanos, viejos, conocidos como “tepetate”, muy

fácilmente erosionables con rendimientos moderados en ganadería y agricultura.

#### *Preparación de muestra.*

Para ambas localidades, se lavaron las semillas en agua destilada y después con detergente comercial (tres g de detergente/100 ml de agua destilada), enjuagándolas dos veces con agua destilada estéril.

Un lote de las semillas lavadas fue escarificado químicamente por inmersión en  $H_2SO_4$  al 98% durante 30 minutos y enjuagadas en agua destilada estéril. Se trabajó con 3 muestras de la siguiente manera: el día 5 de octubre del 2018 se colocaron 87 semillas; el 17 de octubre 180 semillas y el 29 de octubre 4,400 semillas.

Otro lote de semillas lavadas fue utilizado para su escarificación química con base nitrógeno, utilizando un producto químico conocido como MEGAFOL (S.L., 2019), que contiene 3% de Nitrógeno total, además de Nitrato de calcio y promotores de crecimiento. Las dosis utilizadas fueron de 1 ml por litro de agua de cada producto durante 48 horas. Se colocaron 7,000 semillas el día 2 de enero del 2019, el día 12 de enero se colocaron 9,000 semillas y el 4 de febrero se colocaron 10,000 semillas.

#### *Germinación con agentes químicos.*

Las semillas sujetas a inmersión en  $H_2SO_4$  al 98% durante 30 minutos fueron posteriormente colocadas en cajas Petri, y después sobre una charola de plástico en una cama de arena humedecida con agua destilada estéril, y selladas con plástico autoadherible, para ser introducidas a un cuarto germinador a 30°C y humedad relativa del 40%, en condiciones de semioscuridad.

Las semillas colocadas en base nitrógeno fueron posteriormente colocadas en un medio de cultivo preparado de la siguiente manera (**Figura 2**): se creó una cama de 15 cm de suelo arcilloso recolectado en la misma zona donde se colectaron las semillas, después una cama de 7 a 8 cm de suelo vegetal y encima de ésta se espació sulfato de amonio en polvo. Sobre esta superficie se colocaron las semillas y se cubrieron con una capa de tierra de hoja de 1 a 2 cm mezclada con tezontle. Esta preparación se colocó en un pequeño germinador rústico con 3 focos de 100 watts a la intemperie, cubierto con plástico negro durante la noche, dentro de una estructura especial del vivero, donde se procuró mantener una temperatura aproximada de 30 a 35°C durante el día y de 20 a 25° por la noche.

Pasados 5 días o al tiempo que aparezca la plántula, ambos lotes fueron colocados en macetas para dar seguimiento durante 14 semanas.

#### *Trasplante.*

El sustrato en las macetas se prepara con 100 g de suelo estéril (suelo IR) filtrado con agua destilada para fomentar la asociación de micorrizas, más 10 g de inóculo de HMA obtenido del filtrado de una mezcla de suelo IR con agua estéril en tela de manta.



Figura 2. a) Vista exterior del germinador rústico con focos; b) Vista interior del germinador rústico con focos; c) Vista de la plántula en el germinador rústico, y d) Vista del germinador rústico dentro de la estructura para control de la temperatura.

El riego inicial es de 17 ml como reserva de agua; a los 11 días y hasta la semana 14 se agregan otros 8 ml de manera periódica, y a partir de la semana catorce se reduce a la mitad hasta que al final del tratamiento, se alcancen 1.5 litros de agua.

Posteriormente, se realizará el trasplante de plantas adultas a los sitios con presencia de suelo erosionado, de manera conjunta a otras especies de agaváceas, cactáceas o forestales.

El esquema general del procedimiento, por pasos, se presenta en la **Figura 3:**

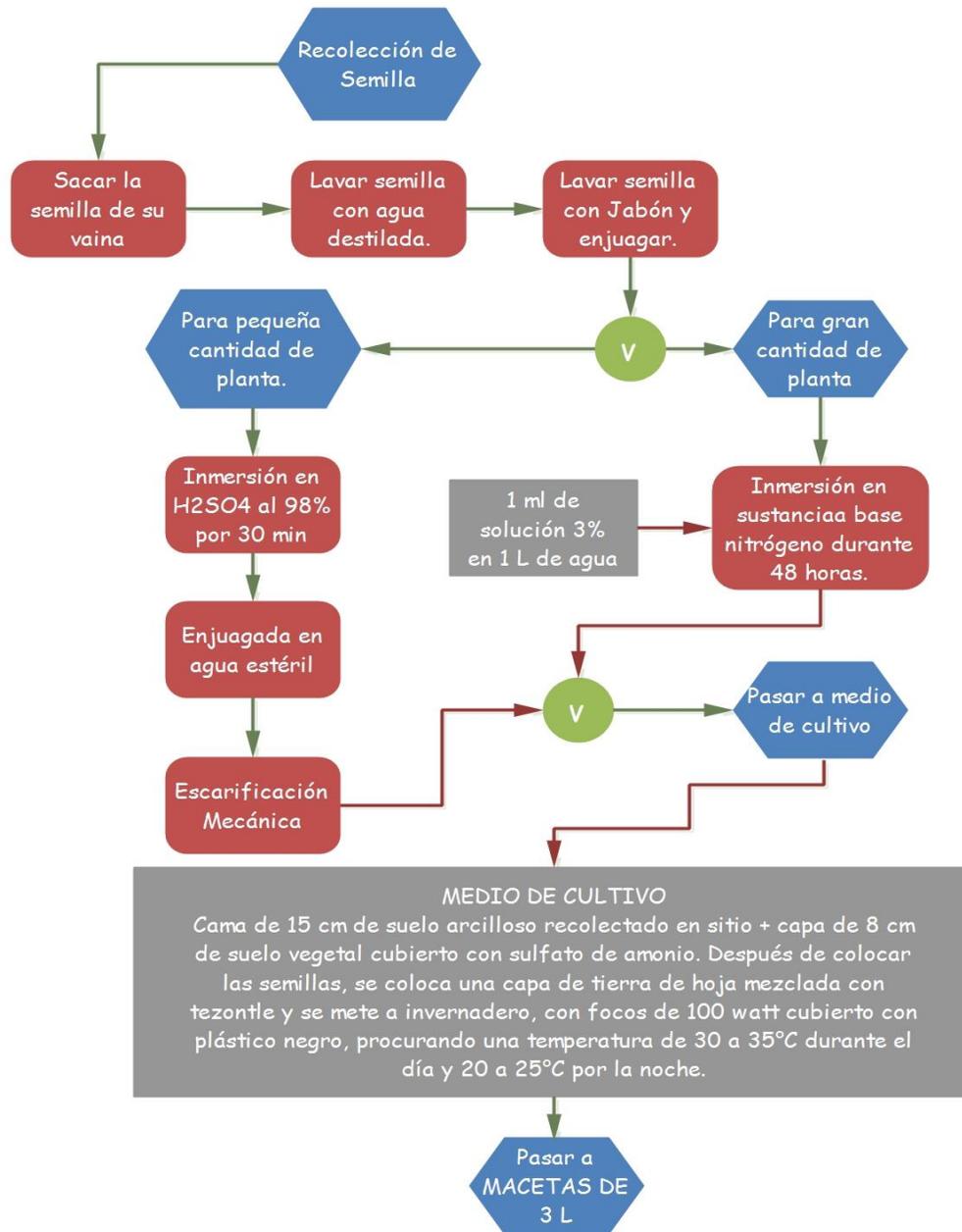


Figura 3. Metodología general de trabajo, por pasos. Fuente: Elaboración propia con el programa Edrawsoft 2015 V7.9

## Resultados.

Viabilidad de la escarificación química de semillas de *Mimosa aculeaticarpa* var. *Biuncifera*, pudiendo ser con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98% o algún compuesto a base de nitrógeno.

Durante el mes de octubre se realizaron actividades más puntuales respecto a la recolección de planta y semilla, ya que es la época donde algunas plantas comienzan a producir semilla. El día 1° de octubre se recolectó semilla de *Mimosa Biuncifera* en la localidad de la Cañada, en el Municipio de Villa del Carbón, misma que en el vivero se puso a secar durante tres días para obtener la semilla, de acuerdo con la metodología que se presenta en la **Figura 4**. Se obtienen 87 semillas cada 10 gramos.

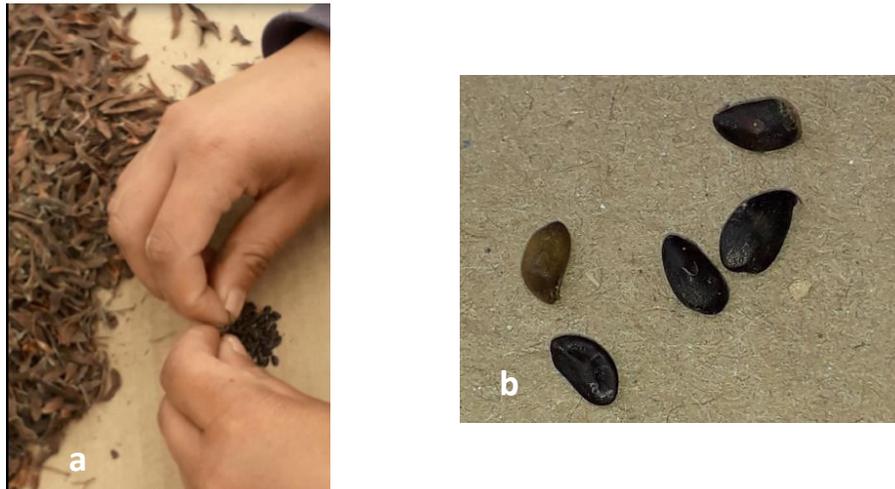


Figura 4. Figura 4. a) Retiro de semilla de la planta, y b) acercamiento a la semilla.

Con base a la medición del peso número de individuos recolectados, tenemos que, para contar con 70,000 individuos, se requieren:

$$\frac{87 \text{ semillas}}{10 \text{ gramos}} \times \frac{1,000 \text{ gramos}}{1 \text{ kilogramo}} = \frac{87,000 \text{ semillas}}{10 \text{ kilogramos}}$$

$$70,000 \text{ semillas} \times \frac{10 \text{ kilogramos}}{87,000 \text{ semillas}} = 8 \text{ kilogramos}$$

Esto es si todas las semillas germinaran; sin embargo, al no saber el porcentaje de éxito de la germinación, la empresa consideró contar con 10 kilogramos como mínimo para trabajar la germinación.

Las muestras colocadas en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98% y las colocadas en base nitrógeno, tuvieron los siguientes resultados:

	Fecha	Muestra	Germinación (%)
Lote 1 (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> al 98%)	5 octubre 2018	87	46 (52.87)
	17 octubre 2018	180	14 (7.77)
	29 octubre 2018	4,400	0 (0)
Lote 2 (base nitrógeno)	2 enero 2019	7,000	5,000 (71.43)
	12 enero 2019	9,000	7,000 (77.77)
	4 febrero 2019	10,000	9,000 (90)

Tabla 2. Resultados para la germinación de *Mimosa biuncifera* en 2 lotes de escarificación.

**Germinación por inmersión en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98%.**

La muestra del 5° de octubre preparada con 87 semillas tratadas durante 30 minutos con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98%, se colocó en una charola sobre papel húmedo, presentando una germinación de 46 semillas, mismas que se presentan en la **Figura 5**.

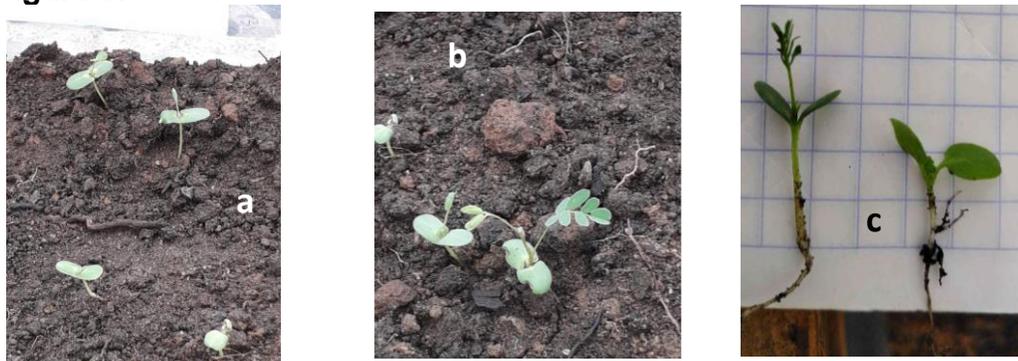


Figura 5. Plántulas de *Mimosa biuncifera* a los 15 días de tratamiento con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98%. a) Con dos estipulas puberulentas y pinnas pares; b) Pecíolo con 8 folíolos; c) Acercamiento plantas de 1 a 2 meses.

La muestra del 17 de octubre con 180 semillas se colocó sobre un sustrato de Tierra negra, semilla y extracto de lenteja como enraizador. Sólo germinaron 14 plántulas de 180 colocadas, lo que representa un 7.7%. una imagen capturada de estas plántulas se presenta a continuación en la **Figura 6**.



Figura 6. Plántulas de 3 meses: a) germinadas en charolas de germinación, con ramas jóvenes de 8 foliolos; b) acercamiento.

La muestra del 29 de octubre con 74 charolas de germinación (4,440 semillas), como se muestra en la **Figura 7**, fueron colocadas directamente sobre tierra obtenida del dosel de plantas en desarrollo. No se registró germinación.



Figura 7. Charolas germinadoras donde se colocaron 4,400 semillas



#### *Germinación por inmersión en base nitrógeno.*

Derivado de los resultados obtenidos, de los comentarios vertidos a la empresa y del análisis de la literatura, se experimentó con otro elemento diferente al  $H_2SO_4$  como el nitrógeno para la escarificación química y desarrollado a temperatura ambiente dentro del vivero como laboratorio, y mezcla de suelo colectado bajo el dosel de la planta, como sustrato enriquecido con suelo vegetal adicionado con nitrógeno y tezontle.

La muestra del 2 de enero del 2019 con 7,000 semillas produjo una germinación de 5,000 plántulas de acuerdo a lo observada en la **Figura 8**:



*Figura 8. Plántula con ramas jóvenes de 8 foliolos.*

La muestra del 12 de enero además de colocarla sobre una cama de tierra se mantuvo cubierta con un plástico caliente durante la noche y focos de 100 watts para mantener el calor. Esta muestra tuvo 9,000 plantas de donde germinaron 7,000, de acuerdo como se observa en la **Figura 9**:



*Figura 9. Plántula con ramas jóvenes de 8 foliolos y algunas con sólo dos estípulas puberulentas y pinnas pares.*

La muestra preparada desde el 4 de febrero con 10,000 plantas produjo una germinación de 9,000 plantas, de acuerdo a lo observado en la **Figura 10**:



*Figura 10. Plántula con tallas entre 1.5 a 2 cm, crecimiento entre 15 a 20 días con dos estípulas puberulentas y pinnas pares, y algunas ramas jóvenes de 8 foliolos.*



El seguimiento de tamaño de la planta germinada consideró muestreos mensuales de 200 plantas, donde se determinaron los valores máximos y mínimo, el valor promedio, el rango, su intervalo de acuerdo con la Regla de Sturges y frecuencia. La amplitud del rango se calculó mediante la fórmula:

$$w = \frac{R}{c}$$

Los resultados obtenidos son los siguientes:

Intervalos de clase	Marca clase	F absoluta	F acumulada	F relativa	F rela acum	Intervalos de clase	Marca clase	F absoluta	F acumulada	F relativa	F rela acum
3.4	4.6	4	16	0.080	0.080	20	21.6	21	9	0.045	0.045
4.7	5.9	5.3	18	0.090	0.170	21.8	23.5	23	32	0.160	0.205
6	7.2	6.6	36	0.180	0.350	23.7	25.3	24	25	0.125	0.330
7.3	8.5	7.9	23	0.115	0.465	25.5	27.1	26	25	0.125	0.455
8.6	9.8	9.2	16	0.080	0.545	27.3	28.9	28	7	0.035	0.490
9.9	11.1	10.5	29	0.145	0.690	29.1	30.8	30	25	0.125	0.615
11.2	12.4	11.8	13	0.065	0.755	31.0	32.6	32	32	0.160	0.775
12.5	13.7	13.1	27	0.135	0.890	32.8	34.4	34	33	0.165	0.940
13.8	15	14.4	22	0.110	1.000	34.6	36.3	35	12	0.060	1.000
<b>1 mes (entre 4 y 14 mm) Base Nitrógeno</b>						<b>2 meses (entre 14 y 21 mm) Base Nitrógeno</b>					
Intervalos de clase	Marca clase	F absoluta	F acumulada	F relativa	F rela acum	Intervalos de clase	Marca clase	F absoluta	F acumulada	F relativa	F rela acum
20	21.0	21	20	0.100	0.100	29.5	30.9	30	16	0.080	0.080
21.2	22.3	22	11	0.055	0.155	31.0	32.4	32	25	0.125	0.205
22.5	23.5	23	15	0.075	0.230	32.5	33.9	33	19	0.095	0.300
23.7	24.8	24	20	0.100	0.330	34.0	35.4	35	35	0.175	0.475
25.0	26.0	26	43	0.215	0.545	35.5	36.9	36	22	0.110	0.585
26.2	27.3	27	28	0.140	0.685	37.0	38.4	38	26	0.130	0.715
27.5	28.5	28	22	0.110	0.795	38.5	39.9	39	13	0.065	0.780
28.7	29.8	29	21	0.105	0.900	40.0	41.4	41	32	0.160	0.940
30.0	31.0	31	20	0.100	1.000	41.5	42.9	42	12	0.060	1.000
<b>3 meses (entre 21 y 30 mm) Base Nitrógeno</b>						<b>4 meses (entre 30 y 42 mm) Base Nitrógeno</b>					
Intervalos de clase	Marca clase	F absoluta	F acumulada	F relativa	F rela acum	Intervalos de clase	Marca clase	F absoluta	F acumulada	F relativa	F rela acum
29	55.0	42	21	0.105	0.105	250	285.5	268	4	0.09	0.087
56.0	82.0	69	24	0.12	0.225	286.5	321.9	304	5	0.11	0.196
83.0	109.0	96	25	0.125	0.350	322.9	358.4	341	4	0.09	0.283
110.0	136.0	123	27	0.135	0.485	359.4	394.8	377	16	0.29	0.630
137.0	163.0	150	24	0.12	0.605	395.8	431.3	414	4	0.09	0.717
164.0	190.0	177	18	0.09	0.695	432.3	467.7	450	7	0.15	0.870
191.0	217.0	204	16	0.08	0.775	468.7	504.2	486	6	0.13	1.000
218.0	244.0	231	26	0.13	0.905						
245.0	271.0	258	19	0.095	1.000						
<b>5 meses (entre 30 y 260 mm) Base Nitrógeno</b>						<b>8 meses (entre 260 y 500 mm) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98%</b>					

Tabla 3. Frecuencias de tallas en *Mimosa biuncifera*, tratada por escarificación química.

El polígono de frecuencias resultantes se presenta a continuación (**Figura 11**):

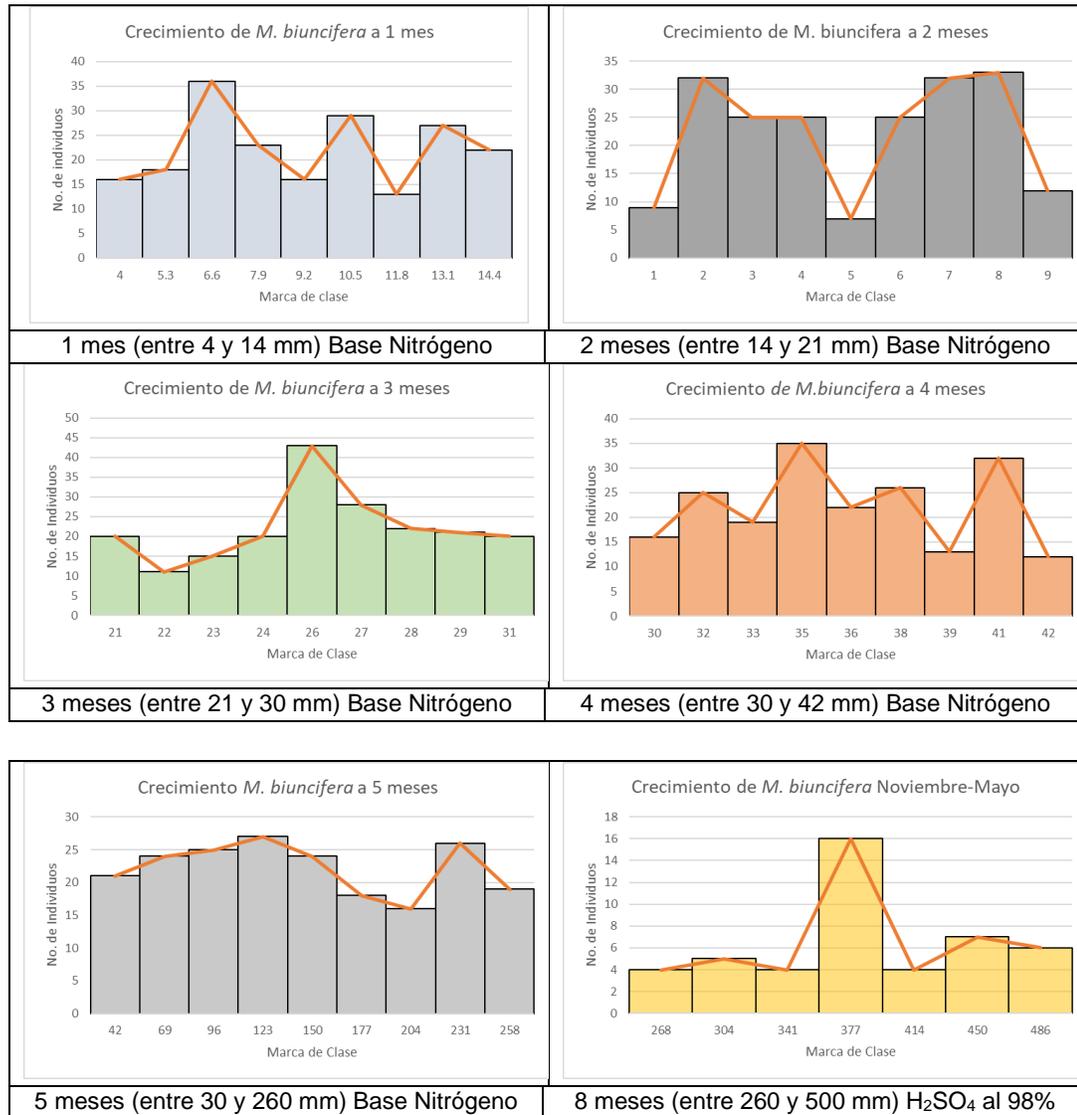


Figura 11. Polígonos de frecuencias de tallas en *Mimosa biuncifera*, tratada por escarificación química.

La planta de talla hasta 5 cm tiene una edad de hasta 3 meses, que es la más abundante, corresponde al tratamiento con base nitrógeno; la planta más grande de hasta 12 cm tiene más de 4 meses de germinada, y corresponde a la que pudo obtenerse por inmersión en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98% que sobrevivió. La **Figura 12** muestra la diferencia de tamaños de la planta obtenida de octubre del 2018 a marzo del 2019 y la gráfica general de crecimiento.

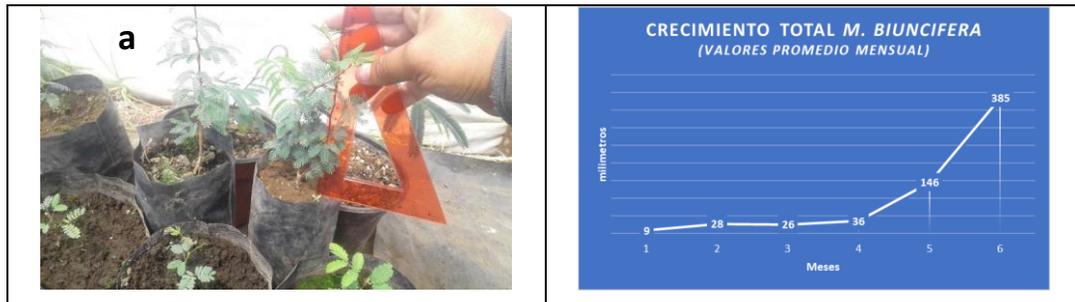


Figura 12. a) Diferencia de tallas entra las plantas que sobrevivieron la germinación con  $H_2SO_4$  al 98% en octubre del 2018, y las germinadas con base nitrógeno del 12 de enero del 2019; b) Gráfica de crecimiento de la planta germinada con  $H_2SO_4$  al 98% de octubre del 2018 a mayo del 2019.

### Ventajas y desventajas de los métodos empleados.

De acuerdo con la bibliografía consultada, la escarificación química con  $H_2SO_4$  al 98% durante 30 minutos puede ser un proceso muy eficiente cuando se trata de pequeñas cantidades de semilla, siempre y cuando se haga una escarificación mecánica previa; sin embargo, producir cantidades superiores de hasta 9,000 plántulas por lote para la atención de altos requerimientos productivos, es una complejidad que muy difícilmente se resuelve con este método. Además de lo anterior, el manejo de ácidos fuertes conlleva riesgos en la seguridad y la problemática del manejo de residuos peligrosos.

Por el contrario, durante el experimento se observa que la escarificación química mediante compuestos base nitrógeno, con un pH cercano a la neutralidad, evita los riesgos a la seguridad y es más operativo, además que requiere pocas medidas de control sobre el proceso, lo que favorece el manejo de mayores cantidades de semilla.

Durante el experimento se ha observado que a mayor cantidad de semillas colocadas en  $H_2SO_4$  al 98%, menor la germinación; mientras que para la semilla colocada en base nitrógeno, a mayor cantidad de semilla, mayor germinación.

Protocolo de propagación a partir de células somáticas, a base de escarificación química.

De acuerdo a lo anterior y con base a la literatura, de manera preliminar se puede desarrollar el siguiente protocolo para la producción de la plántula de *Mimosa biuncifera*:

1. Lavar las semillas con agua destilada;
2. Lavar las semillas con detergente comercial (tres g de detergente/100 ml de agua destilada) y enjuagarlas dos veces con agua destilada estéril;

Para pequeña cantidad de semilla:

3. Se escarifican químicamente las semillas por inmersión en  $H_2SO_4$  al 98% durante 30 minutos;
4. Pasados los 30 minutos, las semillas son enjuagadas en agua destilada estéril;
5. Se aplica escarificación mecánica;
6. Después de la escarificación mecánica, pasar a medio de cultivo;

Para gran cantidad de semilla:

7. Se escarifican químicamente las semillas por inmersión en solución a base de nitrógeno durante 48 horas;
8. La dosis aplicada es de 1 ml de solución base nitrógeno 3% por litro de agua;
9. Después de las 48 horas en la solución base de nitrógeno, pasar a medio de cultivo;

Para el medio de cultivo:

10. Crear una cama de 15 cm de suelo arcilloso recolectado en la misma zona donde se colectaron las semillas;
11. Encima de esta cama se coloca una capa de 7 a 8 cm de suelo vegetal, a la que se le esparce encima sulfato de amonio en polvo;
12. Sobre esta superficie se colocan las semillas;
13. Se cubren con una capa de tierra de hoja de 1 a 2 cm mezclada con tezontle;
14. Se colocan focos de 100 watts y se cubre con plástico negro durante la noche procurando mantener una temperatura aproximada de 30 a 35°C durante el día y de 20 a 25° por la noche;
15. Realizar riego inicial de 17 ml como reserva de agua; a los 11 días y hasta la semana 14 se agregan otros 8 ml de manera periódica, y a partir de la semana catorce se reduce a la mitad hasta que al final del tratamiento, se alcancen 1.5 litros de agua;
16. Pasados 14 semanas o cuando aparezca la plántula, se colocan en macetas para dar seguimiento fitosanitario;
17. Se realiza el trasplante a macetas de 3 L, aproximadamente.
18. Continuar con riego suficiente para mantenimiento.

Propagación de 70,000 individuos a partir de semillas recolectadas en la zona hasta la aparición de la plántula, colocarla en vivero y mantenerla ahí hasta su utilización en actividades de forestación.

Hasta el mes de abril del 2019, se han producido un total de 21,255 plantas de *Mimosa biuncifeta* en el vivero, de acuerdo con la contabilidad de la autoridad supervisora. La planta faltante será producida durante los meses de junio a noviembre del 2019.



*Perspectiva de planta producida en el Vivero de Servicios Ambientales MEGA, S.A. de C.V.*

#### Análisis de los resultados.

En los estudios llevados a cabo para la Reserva Ecológica El Pedregal de San Ángel (González-Kladiano & Camacho-Morfín, 1994), el experimento se llevó a cabo en un laboratorio cerrado donde se humectaron 56 semillas con agua a diferentes temperaturas y se les corto el extremo opuesto de la testa al sitio donde emerge la radícula, lo que favoreció hasta un 75% de germinación en un periodo de 4 a 10 días.

Durante el experimento con las 150 semillas colectadas en el Valle del Mezquital en Hidalgo (Peña-Becerril, Monroy-Ata, Orozco-Almanza & García-Amador, 2016), después de un año de haber colocado las plántulas en el campo, se obtuvo una supervivencia de entre 83 y 92%. Estas semillas también fueron escarificadas mecánicamente en la parte posterior de la



posición del embrión, desinfectadas por inmersión en hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos y colocadas en cajas de Petri sobre papel filtro, pero a diferencia del primer experimento, aquí se utilizó como laboratorio un invernadero con condiciones ambientales controladas y como medio de cultivo, suelo del sitio donde creció la planta enriquecido con esporas de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA) perfectamente identificados, y adicionado con un material pétreo para favorecer la infiltración de agua.

En la UAM Iztapalapa (Camargo-Ricalde, S., & Grether, R. 1998; Montañón-Arias, et al., D. 2015), las semillas se recolectaron en los estados de Chiapas, Michoacán y Puebla, mismas que fueron sometidas a dos procesos diferentes: en el primer periodo, las semillas fueron humedecidas en agua, desinfectadas con detergente comercial y lavadas en una solución de hipoclorito de sodio al 10% durante 10 minutos, para posteriormente retirar la parte posterior de la posición del embrión y finalmente, colocarlas para germinación en cajas Petri en condiciones de temperatura y fotoperiodo. Como resultado, se obtuvo un 89% de germinación después de 4 días a 25°C y sin que se reportaran alteraciones por fotoperiodos diversos. En el segundo proceso las semillas fueron tratadas con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98% en sustitución del hipoclorito de sodio, dando un porcentaje de germinación de entre el 89 y 91% antes de 10 días. En el segundo proceso se confirma la investigación de Álvarez-Bernal, et al (2004), quienes afirman que la escarificación química con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98% también es una alternativa viable para obtener un alto porcentaje de germinación sin necesidad de llevar a cabo la escarificación.

Nuestro protocolo incorporó las metodologías desarrolladas en los trabajos mencionados, pero con semillas recolectadas en zonas más frías que las anteriores, con nula presencia de cáctaceas y agaváceas pero con presencia de vegetación secundaria, lo que podría afectar la presencia de HMA; otras diferencias significativas fueron la omisión de la escarificación mecánica y que la especie tratada con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98% en la bibliografía fue diferente a la *Mimosa biuncifera* (González et al., 2008; Álvarez-Bernal, et al., 2004).

Los resultados obtenidos y los antecedentes presentados indican que fue necesario llevar a cabo la escarificación mecánica además de la química, lo cual resulta significativamente difícil al trabajar con 70,000 semillas.

Verificando metodologías de escarificación mecánica en la literatura, se observa una coincidencia con nuestro análisis ya que se manifiesta que *“...Los métodos comunes utilizados en los viveros para escarificar la semilla y mejorar la germinación consisten en sumergirlas en agua caliente o hervirlas o ponerlas en ácido. Sin embargo, estos métodos no siempre son satisfactorios...”* ya que *“...requiere de un control estricto...Además, puede ser difícil controlar la temperatura de grandes cantidades de semillas durante el tratamiento...”* (M. Poulsen and Stubsgaard, 2000, pp.1-2). Para ello, puede ser oportuno utilizar una pistola de semillas (**Figura 13**), aunque su porcentaje

de efectividad es muy variable en cuanto a la germinación por especie: Promedio 39.34%, Moda 49.00%, Mediana 40.00% y Desviación estándar 29.49 (**Tabla 4**).

Especie	% de Germinación.	Especie	% de Germinación.	Especie	% de Germinación.
<i>Acacia drepanolobium</i>	88	<i>Albizia lebeck</i>	42	<i>Parkinsonia aculeata</i>	49
<i>A. meamsii L1</i>	5	<i>A. procera</i>	45	<i>Pettophorum pterocarpum</i>	11
<i>A. meamsii L2</i>	10	<i>Bahuhinia purpurea</i>	81	<i>Prosopis chiiensis</i>	78
<i>A. nilotica</i>	21	<i>Cassia spectabilis</i>	3	<i>P. cineraria</i>	49
<i>A. nolotica indica</i>	49	<i>Delonix elata</i>	53	<i>P. tamarugo</i>	66
<i>A. nolotica nilotica</i>	9	<i>Delonix regia</i>	47	<i>Tamarindus indica</i>	29
<i>A. senegal L1</i>	81	<i>Faidherbia albida L1</i>	20	<i>Senna grandis</i>	5
<i>A. senegal L2</i>	92	<i>F. albida L2</i>	38	<i>S. spectabilis</i>	0
<i>A. tortilis Lote 1</i>	10	<i>Gerdenia temifolia</i>	92	<i>Sesbania sesban</i>	52
<i>A. tortilis L2</i>	14	<i>Leucaena leucocephala</i>	7	<i>Xeroderris stuhlmanii</i>	68
<i>Adenanthera pavonina</i>	16	<i>L. leucocephala L2</i>	29		

Tabla 4. Resultados de laboratorio para la germinación de diversas especies utilizando la escarificación mecánica con pistola de semillas (M. Poulsen and Stubsgaard, 2000).

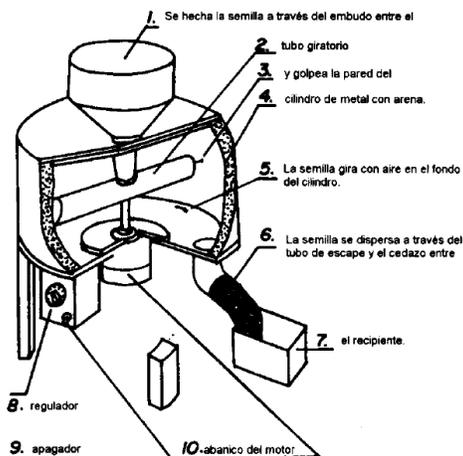


Figura 13. Vista transversal de una pistola de semillas. Se lanzan las semillas contra la pared rellena con arena a una velocidad de 30 m/s Tomado de M. Poulsen and Stubsgaard (2000).

Por otra parte, la modificación al protocolo que considera utilizar nitrógeno y reguladores de crecimiento evita el daño a la semilla con por la acidez del  $H_2SO_4$ ; la humectación a temperatura ambiente evita complicaciones con el control de la temperatura; el sustrato a base de tierra rica enriquecida con nitrógeno mezclada con tierra extraída del dosel de la planta y tezontle favorece la presencia de HMA, aire y agua; el control del fotoperiodo natural y la utilización del vivero como laboratorio, permite mantener una temperatura de entre 25 y 35°C.

Revisando nuevamente la literatura, se anotaron las observaciones de González-Kladiano & Camacho-Morfín (1994), quienes aplicaron un riego inicial con reguladores de crecimiento a base de soluciones de tiourea al 0.5%, nitrato de potasio al 0.5% y giberelina a 1000 ppm, lo cual es compatible con esta nueva propuesta. En Peña-Becerril, et al, (2016), se utilizó directamente el invernadero como laboratorio y como sustrato, suelo del sitio donde creció la planta enriquecido con esporas de HMA perfectamente identificados adicionado con un material pétreo para favorecer la infiltración de agua. Este procedimiento también es compatible con la propuesta de referencia, ya que, aunque no se pudieron identificar las HMA, si se favorece su presencia cuando se usa el suelo del dosel de la planta.

Las modificaciones realizadas al protocolo mostraron un incremento significativo en la presencia de la plántula, posiblemente por la interacción de HMA-nitrógeno.

#### Conclusiones.

La escarificación química con solución de nitrógeno y promotores de crecimiento, utilizando suelo enriquecido con nitrógeno, HMA y material pétreo dentro de un vivero como laboratorio, permite una alta germinación de semillas una alta producción de la especie *Mimosa biuncifera*, mientras que el  $H_2SO_4$  al 96% tiene mejores resultados en pequeñas cantidades de semilla.

Por tal motivo es que la creación de estructuras de crecimiento vegetal como los viveros, a los cuales se les pueden incorporar diseños y equipos que permitan un control de las variables de sistema como temperatura y humedad, para incrementar la productividad alimentaria y de floricultura, restauración de suelo o controlar el manejo de organismos genéticamente modificados, lo que da un valor significativo al protocolo obtenido durante la rectificación del elemento utilizado para la escarificación química.

## Referencias.

Alvarado-Cárdenas, L. (2006). *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán* (1st ed.). México, D.F.: Inst. de Biología, UNAM.

Álvarez-Bernal, D., Contreras-Ramos, S., Marsch, R., & Dendooven, L. (2007). Influence of CatclawMimosa Monancistraon the Dissipation of Soil PAHS. *International Journal Of Phytoremediation*, 9(2), 79-90. doi: 10.1080/15226510701232690

Calva-Calva, G. and Pérez-Vargas, J. (2005). Cultivo de células y tejidos vegetales: Fuente de alimentos para el futuro. *Revista Digital Universitaria*, [online] (6). Disponible en: [http://www.revista.unam.mx/vol.6/num11/art104a/nov\\_art104a.pdf](http://www.revista.unam.mx/vol.6/num11/art104a/nov_art104a.pdf) [Accesado el 18 de noviembre del 2018].

Camargo-Ricalde, S., & Grether, R. (1998). *Germinación, Dispersión Y Establecimiento De Plántulas De Mimosa Tenuiflora (Leguminosae) En México*, 46(3). Recuperado de [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77441998000300007&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0034-77441998000300007&script=sci_arttext&tlng=pt)

Camargo-Ricalde, S., Grether, R., Martínez-Bernal, A., García-García, V., & Barrios-Del Rosal, S. (2001). Especies útiles del género *Mimosa* (*fabaceae-mimosoideae*) en México. *Bol. Soc. Bol. México*, 68. Recuperado de <http://www.botanicalsciences.com.mx/index.php/botanicalSciences/article/viewFile/1634/1283>

Camargo-Ricalde, S., Dhillion, S., & Grether, R. (2002). Community structure of endemic *Mimosa* species and environmental heterogeneity in a semi-arid Mexican Valley. *Journal Of Vegetation Science*, 13(5), 697-704. doi: 10.1111/j.1654-1103.2002.tb02097.x

Chimal-Sánchez, E. (2015). *Influencia de cuatro especies del género Mimosa L. (Leguminosae) en la diversidad y potencial de inóculo de hongos micorrizógenos arbusculares en un ecosistema semiárido de México* (Maestría en Biología). Universidad Autónoma Metropolitana.

Conabio. (2018). *Garabatillo (Mimosa biuncifera)*. *Enciclovida.mx*. Recuperado el 7 de octubre del 2018, a partir de <http://enciclovida.mx/especies/171843-mimosa-biuncifera>.

Ecured (2018). *Explantos (Biotecnología Vegetal)*. [online] Disponible en: [https://www.ecured.cu/Explantos\\_\(Biotecnolog%C3%ADa\\_Vegetal\)](https://www.ecured.cu/Explantos_(Biotecnolog%C3%ADa_Vegetal)) [Accesado el 18 de noviembre del 2018].

Garabatlillo. (2018). *Garabatlillo (Mimosa biuncifera)*. *NaturaLista*. Recuperado el 7 de octubre del 2018, a partir de <https://www.naturalista.mx/taxa/278410-Mimosa-biuncifera>.

Gatuño. (2018). *gatuño (Variety Mimosa aculeaticarpa biuncifera)*. *NaturaLista*. Recuperado el 7 de octubre del 2018, a partir de <https://www.naturalista.mx/taxa/494743-Mimosa-aculeaticarpa-biuncifera>

García-Sánchez, R., Camargo-Ricalde, S., García-Moya, E., Luna-Cavazos, M., Romero-Manzanares, A., & Montaña, N. (2012). *Prosopis laevigata* and *Mimosa biuncifera* (Leguminosae), jointly influence plant diversity and soil fertility of a Mexican semiarid ecosystem. *Revista De Biología Tropical*, 60(1). Recuperado de [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442012000100006](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442012000100006)

González-Castañeda, J., Angoa-Pérez, M., Frías-Hernández, J., Olalde-Portugal, V., Flores-Ancira, E., & Terrones-Rincón, T. et al. (2004). Germination of seeds of huisache (*Acacia schaffneri*) and catclaw (*Mimosa monancistra*) as affected by sulphuric acid and mechanical scarification and subsequent growth and survival in a greenhouse and field experiment. *Seed Science And Technology*, 32(3), 727-738. doi:10.15258/sst.2004.32.3.08

González-Kladiano, V., & Camacho-Morfín, F. (1994). *Avances en la propagación de cuatro especies presentes en El Pedregal de San Angel D.F.*. México: UNAM. Recuperado a partir de [http://www.repsa.unam.mx/documentos/Gonzalez-Kladiano\\_y\\_Camacho-Morfin\\_1994\\_Propagacion.pdf](http://www.repsa.unam.mx/documentos/Gonzalez-Kladiano_y_Camacho-Morfin_1994_Propagacion.pdf)

González, M., Quiroz, I., García, E. and Gutiérrez, B. (2008). Escarificación química con ácido sulfúrico como tratamiento pregerminativo para semillas de toromiro (*Sophora toromiro* Skotts.). *Instituto Forestal*, [En Línea] 14(1). Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/282672607\\_Escarificacion\\_quimica\\_con\\_acido\\_sulfurico\\_como\\_tratamiento\\_pregerminativo\\_para\\_semillas\\_de\\_toromiro\\_Sophora\\_toromiro\\_Skotts](https://www.researchgate.net/publication/282672607_Escarificacion_quimica_con_acido_sulfurico_como_tratamiento_pregerminativo_para_semillas_de_toromiro_Sophora_toromiro_Skotts) [Recuperado el 20 de febrero del 2019].

Grof, B., Ramírez, A., & Buch, C. (1981). *Técnicas en propagación por estacas de leguminosas forrajeras*. Colombia: CIAT.

Kane, C., & Rose, F. (2007). *Herbal medicine of the American Southwest* (1st ed.). [Tucson, Ariz.]: Lincoln Town Press.

Llinás-Solano, H., & Rojas-Álvarez, C. (2005). *Estadística descriptiva y distribuciones de probabilidad* (1st ed.). Barranquilla: Ediciones Uninorte.

Luna-Suárez, S., Frias-Hernández, J., Olalde-Portugal, V., & Dendooven, L. (2000). Catclaw (*Mimosa buincifera*): a pest or a means to restore soil fertility in heavily eroded soil from the central highlands of Mexico?. *Biology And Fertility Of Soils*, 32(2), 109-113. doi: 10.1007/s003740000224

Montaño-Arias, N., García-Sánchez, R., Ochoa-De la Rosa, G., & Monroy-Ata, A. (2006). Relación entre la vegetación arbustiva, el mezquite y el suelo de un ecosistema semiárido en México. *Terra Latinoamericana*, 24(2). Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/573/57311108006.pdf>

Montaño-Arias, S., Camargo-Ricalde, S., Grether, R., & Díaz-Pontones, D. (2015). Effect of scarification and temperature on seed germination of two Mexican species of *Mimosa* (*Leguminosae-Mimosoideae*). *Botanical Sciences*, 93(3), 649. doi: 10.17129/botsci.185

M. Poulsen, K. and Stubsgaard, F. (2000). Tres métodos de escarificación mecánica de semillas de testa dura. *Técnicas para la escarificación de semillas forestales. Serie Técnica. Manual Técnico*, [online] 35(36). Disponible ent: <http://www.bionica.info/biblioteca/PoulsenEscarificacionSemillas.pdf> [Recuperado el 20 de febrero del 2019].

Orozo-Cardona, A., Franco-Herrera, N. and Taborda-Beltrán, L. (2010). Evaluación de tres métodos de escarificación en semillas de algarrobo. *Rev. Invest. Univ. Quindío*, [En Línea] 20, pp.36-41. Disponible en: [http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/7fa8\\_RIUQ2005.pdf](http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/7fa8_RIUQ2005.pdf) [Recuperado el 20 de febrero del 2019].

Peña-Becerril, J., Monroy-Ata, A., Orozco-Almanza, M., & García-Amador, E. (2016). Establishment of catclaw plants (*Mimosa biuncifera* Benth.) inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi in greenhouse and field drought conditions. *Revista De Biología Tropical*, 64(2), 791. doi: 10.15517/rbt.v64i2.20289

P. Pavón, N., Ballato-Santos, J., & Pérez-Pérez, C. (2011). Germinación y establecimiento de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (*Fabaceae-Mimosoideae*). *Revista Mexicana De Biodiversidad*, (Vol. 82 núm 2.). Recuperado de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-34532011000200023](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532011000200023)

Ramírez-Serrano, A., Romero Gómez, G., & Romero Nápoles, J. (2013). Brúquidos (*Coleoptera: Bruchidae*) asociados a la leguminosa *Indigofera densiflora*. *Acta Zoológica Mexicana*, vol.29(no.2). Recuperado a partir de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0065-17372013000200007](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0065-17372013000200007)



Roca, W. and Mroginski, L. (1993). *Cultivo de tejidos en la agricultura*. 2nd ed. Cali: CIAT (Centro Internacional de Agricultura Tropical).

S.L., B. (2019). *CARBONO ORGÁNICO 9%. SL:MEGAFOL, Valagro en CARBONO ORGÁNICO 9%. SL Fitosanitarios y Nutricionales*. [En Línea] Terralia.com. Disponible:

[https://www.terralia.com/vademecum\\_de\\_productos\\_fitosanitarios\\_y\\_nutricionales/view\\_trademark?book\\_id=1&trademark\\_id=3892](https://www.terralia.com/vademecum_de_productos_fitosanitarios_y_nutricionales/view_trademark?book_id=1&trademark_id=3892) [Recuperado el 20 de febrero del 2019].