



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

**DISEÑO Y EVALUACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO
PARA GENERACIÓN Y PROPAGACIÓN DE CALLO DE
LOS ENCINOS *QUERCUS CALOPHYLLA* Y *QUERCUS
LAURINA*, CON POTENCIAL SILVÍCOLA.**

Tesis que para obtener el título de

LICENCIADO (A) EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

SALAZAR PALACIOS ROGELIO IVAN

DIRECTOR: **DR. CONTRERAS PAREDES CARLOS
ALBERTO**

MARZO, 2024



Agradecimientos.

Por la presente se agradece al Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales por tratarse de la instalación donde se realizó el cien por ciento del trabajo experimental contenido en esta tesis, y al titular del laboratorio, el Dr. Carlos Alberto Contreras Paredes por su apoyo para dirigir esta investigación.

Además, se hace agradecimiento al Mtro. Allen James Coombes, curador de la colección del Herbario del Jardín Botánico Universitario VIEP-BUAP por su participación en la identificación de las especies de encino muestreadas en los bosques del espacio que comprende el municipio de Zacapoaxtla en el norte del Estado de Puebla, México.

Dedicatoria.

Amigos, familia, si encuentran esta tesis no la suban a internet, le dedique todo lo que soy y tengo, solo espero la vean y no la juzguen con dureza, hoy es el día en que todo lo que he vivido culmina creo, y si no fuera por el gran terror existencial de apagar la luz a la vida universitaria literalmente y abrir la puerta de la terrorífica y caótica vida adulta diría que me siento bien de que todo acabe, ya lo que paso, paso ¿no?

Quiero expresar mi agradecimiento especial a todos los doctores y profesores que me acompañaron a lo largo de toda mi vida estudiantil y que han hecho todo lo posible para que este día llegara, podría hablar de la Mtra. Luz, la Dra. Abigail, el Dr. Carlos y demás profesionales de la enseñanza...fueron prácticos, dedicados y solo un “poquito” sádicos, me han dedicado más tiempo del que habría merecido y me enseñaron más que lo que podría haber imaginado, pero ahora es todo, la burocracia acabara en poco tiempo y tan tan, si quieren llorar lloren un par de semanas y luego sigamos con nuestras vidas como si nada.

Mis padres me dieron todo lo que pudieron y no puedo ser capaz de reprocharles nada, solo puedo hacerles la promesa de aprovechar las enseñanzas y ser mejor padre de lo que fueron conmigo, a mis hermanos sé que siempre les dije que no pero solo por esta vez les permito que me tomen como ejemplo, pero no me vanaglorio, me refiero a que si yo logre esto estoy seguro de que ustedes pueden lograr más, solo espero estar ahí para poder verlos y apoyarlos; mis abuelos Rogelio y José Isabel que tal vez nunca entendieron mis proyectos, sueños y razones pero que sin importar nada de eso, siempre creyeron en mí, me apoyaron y nunca cuestionaron mis decisiones o pusieron en duda mi potencial, como me gustaría que estuvieran aquí para verme, los extraño demasiado y siempre los llevo en el corazón...

Mis abuelas Julia y Andrea, han sido pilares fundamentales de las familias y un ejemplo de trabajo, perseverancia, dedicación y fuerza, a mi abuela Hilaria lamentablemente no logre conocerla, pero tu hija, si bien no es perfecta siempre se ha esforzado por mí y por ser la mejor madre posible, así que estoy seguro de que hiciste un trabajo excepcional, estoy seguro de que, donde quiera que estes, estarás orgullosa de mi madre y espero que también de mí.

Tío José y Roberto, en varios momentos de mi vida los he considerado figuras paternas y ojala no les moleste, pero es muy probable que lo siga haciendo si me lo permiten; para mis mejores amigos Yair, Guadalupe, Augusto, Araceli y Manuel, ustedes siempre me acompañaron y ayudaron cuando estaba en problemas,

muchos de los recuerdos más felices de mi vida los tuve cuando ustedes estaban presentes así que por favor perdónenme si nunca llego a pagar cada uno de esos favores, les prometo que en la medida de lo posible, si me necesitan estaré, si hay algo que pueda hacer lo hare, y por supuesto jamás los olvidare.

Cielo Sharis Herrera García, jamás conocí a nadie como tú y no lo digo por la forma (que en si misma ya califica como inusual), si no por quién eres y quien has llegado a significar en mi vida, te encontré sin buscarte y aunque las cosas nunca han sido fáciles y en cambio han sido demasiado difíciles para mi gusto, eso no me ha detenido ni lo hará, no quiero avergonzarte pero tú me impulsas a ser mejor cada día; esta tesis la escribí yo, pero tú me diste el impulso necesario para terminarla, al final de todo, el resultado de esto, los logros, los éxitos, todo eso para mí no significa nada si tú no estás ahí para compartirlo así que gracias por todo, no me importan las dificultades que se lleguen a presentar, no importa si tengo que buscarte hasta el fin del mundo, iré por ti, porque te amo...

Para el resto de mi familia y amigos no es que no los considere importantes, a su manera lo son, pero no me permiten hacer la dedicatoria demasiado larga y necesitaría un manuscrito más grande que este para agradecerles a cada uno cada cosa que han hecho por mí y los míos, así que lo resumiré en “-Gracias totales-“.

Todos queríamos un final feliz, a veces las cosas no salen así, pero esta vez quiero creer que sí, espero que más adelante podamos seguir celebrando más logros, espero que haya familias reunidas y que seamos felices en la normalidad (si es que alguna vez fuimos normales), y es que, si me hubieran dicho cuando era pequeño que los iba a conocer y a tener en mi vida, no lo hubiera creído, pero por favor ¿quién lo habría imaginado?

Todas las cosas buenas y malas que pasamos, y para bien o para mal esa es la realidad que nos tocó vivir y en la que seguiremos aprendiendo a vivir. Así que decidí escribir esta dedicatoria en mi tesis, como un pequeño saludo y un recuerdo para dejar constancia de que estuvimos juntos, en caso de que la vida nos lleve por otros caminos porque esa siempre es una posibilidad y esa es la cosa, solo quedara afrontarlo de frente ¿no? sabemos que parte del viaje es su final, pero no hay que preocuparnos por eso, estoy seguro de que nos va a ir bien a todos.


Los quiero tres millones...

Índice

Agradecimientos	2
Dedicatoria	3
Índice	5
Abreviaturas	7
I. Resumen	9
II. Introducción	10
III. Antecedentes	13
III.I Características generales del Estado de Puebla, México	13
III.II. Explotación de recursos forestales	17
III.III. El sector forestal mexicano en números	17
III.IV. El Estado de Puebla en el sector forestal	24
III.V. Características generales del municipio de Zacapoaxtla, Puebla	25
III.VI. Actividad forestal en Zacapoaxtla	27
III.VII. Encinos	28
III.VIII. <i>Q. laurina</i> y <i>Q. calophylla</i> y su estado de conservación	29
III.IX. Alternativas y herramientas para la explotación sustentable de recursos forestales	33
III.X. Cultivo y propagación de especies de encinos	34
III.XI. Cultivo <i>in vitro</i> de tejidos vegetales	35
III.XII. Micropropagación a partir de callo vegetal	37
III.XIII. Cultivo y propagación <i>in vitro</i> de especies de encinos	38
III.XIV. Reguladores hormonales del desarrollo vegetal	40
IV. Objetivos	42
V. Materiales y métodos	43
V.I. Colecta de material vegetal	43
V.II. Tratamiento para almacenamiento en laboratorio	44
V.III. Desinfección de semillas de encinos	44

V.IV. Medios de cultivo para germinación e inducción de callo de encinos	45
V.V. Germinación de semillas de encinos	46
V.VI. Siembra de explante para Inducción de callogénesis	46
VI. Resultados	48
VI.I. Germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Q. laurina</i> y <i>Q. calophylla</i>	48
VI.II. Generación de callo a partir de explantes de <i>Q. laurina</i> y <i>Q. calophylla</i>	52
VII. Discusión	56
VIII. Conclusiones	60
IX. Bibliografía	61
X. ANEXOS	71

Abreviaturas

2, 4-D: Ácido 2,4-diclorofenoxiacético

aBSS4: compuesto promotor de crecimiento vegetal 4

aBSS12: compuesto promotor de crecimiento vegetal 12

BAP: 6-Bencilaminopurina o 6-Benciladenina

BUAP: Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

CH: Hidrolizado de caseína

cm: centímetros

CONABIO: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad

CONAFOR: Comisión Nacional Forestal

GA3: Ácido giberélico

GD: Gresshoff y Doy (medio de cultivo)

ha.: hectáreas

IAA: Ácido 3-indolacético

IBA: Ácido indol-3-butírico

INECC: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático

INEGI: Instituto Nacional de Estadística y Geografía

INIFAP: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

IUNC: International Union for Conservation of Nature

m³ rta: metros cúbicos de rollo total de árbol

mm: milímetros

MS: Murashige & Skoog (medio de cultivo)

msnm: metros sobre el nivel del mar

NAA: Ácido naftalenacético

pH: Potencial de Hidrogeno

PIB: Producto Interno Bruto

PROFEPA: Procuraduría Federal de Protección al Ambiente

SEMARNAT: Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales

SH: Schenk y Hilderbrandt (medio de cultivo)

SNIEG: Sistema Nacional de Información, Estadística y Geografía

TDZ: Tidiázuron

UMAFORES: Unidades de Manejo Forestal

UNDP: United Nations Development Programme

VIEP: Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado

WPM: Woody Plant Medium (medio de cultivo)

°C: Grados centígrados

I. Resumen

Desde sus inicios, la humanidad ha tomado los recursos de la naturaleza para satisfacer sus necesidades más básicas, estableciendo actividades como la agricultura y la ganadería, no obstante, esto ha tenido un impacto en la naturaleza causando la pérdida de flora y fauna; entre las alternativas generadas para mitigar dicho impacto se encuentra el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, el cual es considerado como la combinación de técnicas y conocimientos científicos para mantener y propagar células, tejidos y plantas con distintos fines.

En este trabajo se planteó como objetivo diseñar y evaluar medios de cultivo para el establecimiento y propagación mediante cultivo *in vitro* de callo las especies *Quercus laurina* y *Quercus calophylla*, mismas que tienen un gran potencial silvícola por su altura, el grosor y uniformidad de su tronco, y su madera compacta. Después de su colecta en campo, muestras de ejemplares fueron depositadas en el Herbario del Jardín Botánico de la BUAP donde se realizó la identificación taxonómica, posterior a la selección de las especies se realizó la desinfección de las semillas y se sembraron en cinco medios de cultivo (MS, MS3, MS6, MS9 y MS15), siendo el medio MS15 el mejor para la germinación de las bellotas de *Q. laurina* con una tasa de éxito del 80% en 5 días y 7 días para *Q. calophylla*. Los mismos medios de cultivo, fueron probados para promover la generación de callo tomando como explantes las plántulas obtenidas a partir de las bellotas. Los medios MS6 y MS15 indujeron la mayor producción de callo con una tasa de éxito superior al 80 % para ambas especies de encinos, luego el medio MS9 indujo la formación de callo con un porcentaje de éxito superior al 70% de éxito y finalmente el medio MS3 indujo la formación de callo con un porcentaje de éxito inferior al 45%.

Aunque en la literatura no se han reportado medios de cultivo específicos para el establecimiento de callo de encinos, en este trabajo se logró el establecimiento de callo de las especies *Quercus calophylla* y *Quercus laurina*, las cuales son importantes por su potencial silvícola.

II. Introducción

Desde el inicio de la humanidad, esta ha gozado del privilegio de tomar de la naturaleza lo necesario para cubrir sus necesidades más básicas como el refugio y el alimento, sin devolverle un poco de lo recibido, lo que ha puesto al planeta en la delicada situación medioambiental en la que se encuentra actualmente (Cohen, M., 2017). Lo que comenzó como caza y recolección se transformó en agricultura y ganadería, y para poder llevar a cabo estas actividades se desarrollaron prácticas que permitieron el desarrollo de las civilizaciones y sus actividades, por ejemplo, la agricultura, ganadería, construcción, entre otras (Zimmer, C., 2016).

México, al ser un país megadiverso cuenta con una amplia variedad de ecosistemas (SEMARNAT, 2024), dentro de los que destacan los bosques, cuyo porcentaje de extensión cubre el 24.8% de la superficie total del territorio nacional (CONAFOR, 2020), estos bosques perciben algún nivel de aprovechamiento de sus recursos, siendo las coníferas, latifoliadas, maderas preciosas y especies comunes tropicales las más aprovechadas para la obtención de recursos maderables (aserrío, celulosa, chapa, triplay, postes, leña y carbón), y no maderables (tierra de monte, rizomas, ceras, gomas, resinas, entre otros) (SEMARNAT, 2017).

La explotación de los recursos forestales es una actividad que ha dado beneficios a corto plazo para el ser humano, pero no ha sido redituable para el medio ambiente, no fue sino hasta hace pocos años, posterior al auge de las revoluciones industrial y verde, que se hicieron evidentes las consecuencias de la deforestación, como la extinción de especies de flora y fauna, pérdida de los suelos, aumento de las temperaturas, deshielo de los polos, entre otros (SEMARNAT, 2022; Milo, A., 2023).

La comunidad científica y demás individuos interesados comenzaron a investigar, desarrollar e implementar estrategias encaminadas a mitigar y combatir las consecuencias de las acciones antropogénicas y, de alguna manera, intercambiar actividades desorganizadas y excesivas por otras más amigables y sustentables (INECC, 2024), Una alternativa poco explorada debido al alto costo de la

infraestructura requerida para el establecimiento y mantenimiento de los cultivos, los medios de nutrientes especializados acorde a la especie y tipo de cultivo, la capacitación y experiencia del personal (Hasnain, A. *et al.*, 2022), es la propagación de plantas mediante el cultivo *in vitro*, que garantizará la producción de una gran cantidad de plantas en condiciones inocuas, es decir, libres de microorganismos y patógenos como nematodos, hongos, bacterias y virus.

Aunque se han establecido distintos medios para el cultivo *in vitro* de diferentes especies vegetales (Acosta, A., *et al.*, 2011; da Silva, J., *et al.*, 2015; Gerszberg, A., *et al.*, 2015; Rodríguez, M., *et al.*, 2014; Thomas, T., 2008), los medios para el cultivo *in vitro* de especies como los encinos, poseen requerimientos específicos dependiendo de la finalidad del cultivo, por ejemplo el enraizamiento de brotes, la inducción de la embriogénesis somática o la propagación de brotes múltiples a partir de embriones cigóticos (Vidal, N., *et al.*, 2003; Corredoira, E., *et al.*, 2017; García, G., *et al.*, 2005; Testillano, P., *et al.*, 2018; Delgadillo, J., *et al.*, 2013).

En este proyecto de tesis se realizó una búsqueda de especies forestales con potencial silvícola, se consideró la altura de crecimiento de ejemplares adultos, el ancho de su tronco, la calidad de su madera, su distribución en México y el estado de conservación o posible riesgo que se ha registrado dentro de la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUNC por sus siglas en inglés International Union for Conservation of Nature).

Después de realizar colectas de campo, se depositaron en el herbario del Jardín Botánico Universitario de la BUAP ejemplares herborizados, mismos que fueron identificados como *Q. sartorii* Liebm., *Q. laurina* Bonpl., *Q. obtusata* Bonpl. y *Q. calophylla* Schltld. y Cham. De las especies identificadas, se seleccionaron a *Quercus laurina* y *Quercus calophylla*, las cuales se encuentran en un estado de menor preocupación dentro de la lista roja de la IUNC (Jerome, D. 2018; Jerome, D., *et al.*, 2018), estas especies se encuentran en un estado de preocupación menor, lo que indica que sus poblaciones son lo suficientemente grandes para

considerarse fuera de peligro de extinción o que no requieren ser consideradas en programas de conservación.

Previo al establecimiento del cultivo *in vitro*, se estandarizaron las condiciones de limpieza y desinfección de las semillas. Durante el procedimiento experimental, se probaron cuatro medios nutritivos a los que se les adicionaron distintas cantidades de fitohormonas así como dos compuestos promotores de crecimiento vegetal que fueron generados en el laboratorio de Síntesis y Modificación de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP (Zeferino, R., *et al.*, 2015), de los medios de cultivo probados (denominados MS3, MS6, MS9 y MS15), el medio MS15 permitió el mayor porcentaje de germinación siendo de 80% para *Q. laurina* en cinco días y 80% para *Q. calophylla* en siete días, seguido del medio MS6 en el que para ambas especies se obtuvo la germinación del 80% de las semillas en 12 días para *Q. laurina* y 14 días para *Q. calophylla*, mientras que los medios MS3 y MS6 indujeron la germinación de las semillas con un porcentaje inferior al 60% en un tiempo mayor a los 12 días, mientras que las semillas puestas en medio MS sin reguladores de crecimiento, no germinaron aún después de 30 días de incubación en el medio.

Una vez que se obtuvieron plántulas, estas se tomaron como explantes para probar el establecimiento del cultivo de callo, usando los mismos medios, Después de 16-19 días se observó que el medio MS15 indujo el establecimiento de callo con 84.8% para *Q. laurina* y 82.9% para *Q. calophylla*, y a los 16-18 días el medio MS6 indujo porcentajes muy similares de callo, 85.7% para *Q. laurina* y 82.9% para *Q. calophylla*, mientras que el medio MS9 indujo la formación de callo en un 79.4% para *Q. laurina* y 72.4% para *Q. calophylla* a 17-20 días, finalmente el medio MS3 indujo la formación de callo en un porcentaje inferior al 45% para ambas especies de encinos.

Aunque se ha logrado el cultivo *in vitro* de algunas especies de encinos, en este trabajo se logró generar y probar medios de cultivo en los que se ha establecido el

cultivo *in vitro* de callo de las especies de encino *Q. laurina* y *Q. calophylla*, las cuales por sus características tienen un alto potencial de aprovechamiento silvícola.

Pero, además, el conocimiento logrado forma parte de un cambio, de nuevas ideas, iniciativas y proyectos que puedan ser utilizados y extrapolados a otras especies forestales o en la mejora de procesos, pues lo maravilloso de la ciencia y lo que permite día a día su avance, es la curiosidad de los investigadores y el querer mejorar lo preestablecido en aras del bien de la sociedad.

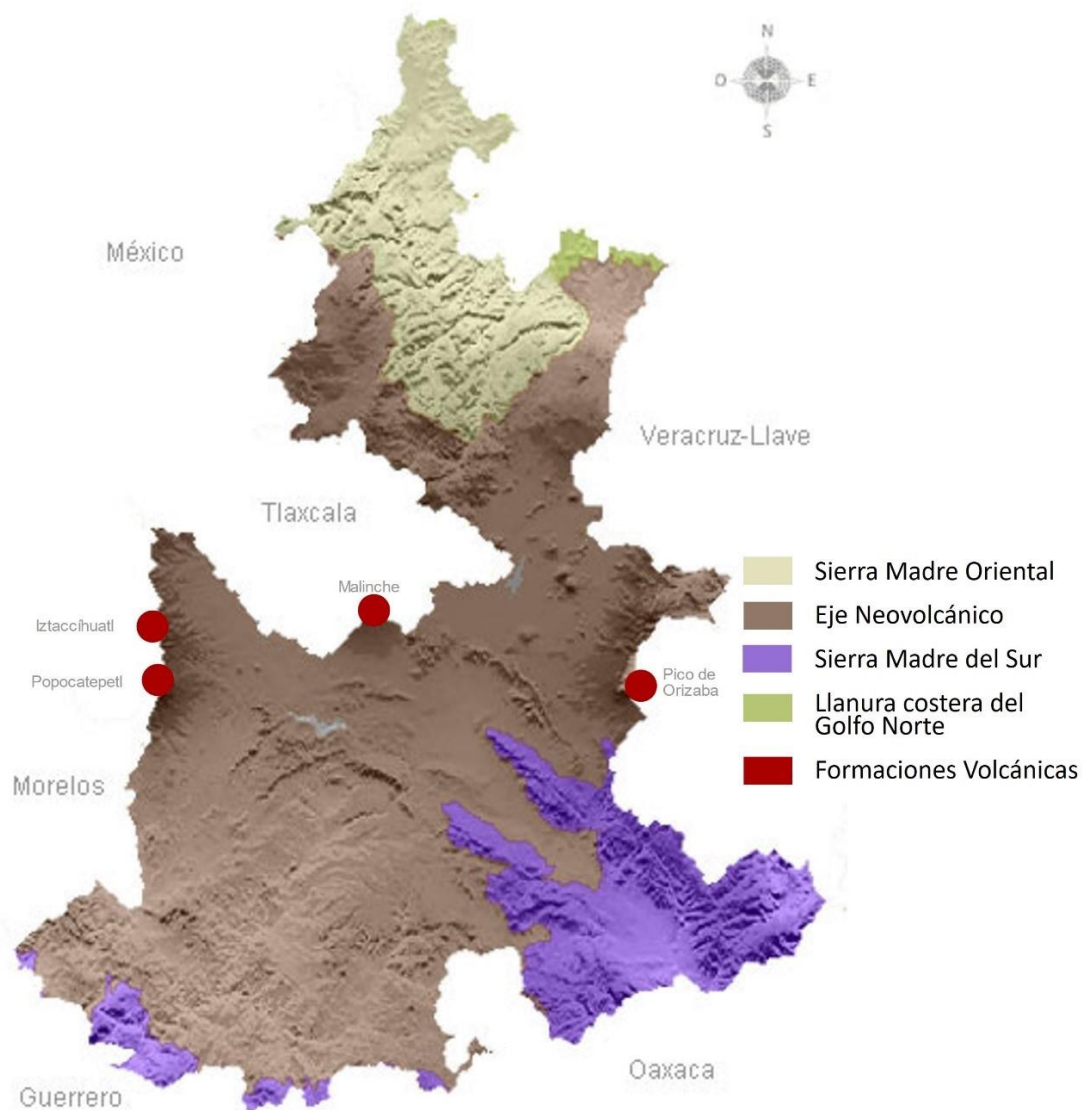
III. Antecedentes

III.I Características generales del Estado de Puebla, México

El Estado de Puebla es la entidad federativa número 21 de las 32 que conforman a los Estados Unidos Mexicanos, se encuentra ubicado en la zona centro del país (Mapa 1), enmarcado dentro de las coordenadas geográficas: Longitud 97°38'41.28"O, 97°31'12.36"O y Latitud 19°43'08.40"N, 19°57'47.52"N; cuenta con una superficie de 34 309.6 kilómetros cuadrados con relieves variados entre los que destacan sierras, valles y algunas formaciones volcánicas como la Malinche, el Pico de Orizaba, el Iztaccíhuatl (inactivos/extintos), y el Popocatepetl (activo), localizadas en las fronteras de Puebla con otros estados (Mapa 2) (Relieve, Puebla, 2024).



Mapa 1. Ubicación del Estado de Puebla dentro del territorio nacional mexicano (Mapa de elaboración propia con información de Google Earth, 2020).



Mapa 2. Visualización de los relieves que se encuentran presentes dentro de los límites del Estado de Puebla (Relieve, Puebla, 2024).

Al encontrarse en el centro del territorio nacional, el Estado de Puebla presenta la mayoría de los climas (Mapa 3), por tanto, cuenta con los principales ecosistemas del país: bosques nevados, nublados y templados, selvas húmedas y secas, matorrales, pastizales de centro a norte y desierto del sur (exceptuando los relacionados con el mar) (CONABIO, 2021).



Mapa 3. Visualización de los climas que imperan dentro de los límites del Estado de Puebla (Clima, Puebla, 2024).

Tomando como referencia el último censo quinquenal de Población y Vivienda del INEGI 2020, la población corresponde a 6 583 278 habitantes, la economía de la población poblana es tan variada como sus características medioambientales, comenzando desde el sector económico primario (agricultura, ganadería, explotación forestal, minería a cielo abierto), hasta el sector secundario y terciario (comercio, manufactura, prestación de servicios), aportando 750, 988.64 millones

de pesos de los 24, 225, 440 millones de pesos del PIB a nivel nacional generados en el año 2021, lo que representa el 3.1% (INEGI, 2022).

III.II. Explotación de recursos forestales

Las actividades socioeconómicas primarias, se definen como aquellas que aprovechan los recursos de la naturaleza que no han sufrido una transformación drástica previa (INEGI, 2007), dentro de estas actividades se pueden encontrar agricultura, ganadería, acuicultura, caza y por supuesto la explotación de recursos forestales, esta última ha evolucionado hasta dar lugar a la Silvicultura, la cual es considerada como el conjunto de prácticas para establecer y constituir un ecosistema forestal para la continua producción de bienes y servicios (SEMARNAT, 2024).

III.III. El sector forestal mexicano en números

Como es sabido México es un país megadiverso debido a múltiples variables como su localización geográfica, su colindancia con los océanos Pacífico y Atlántico, orografía accidentada y variada compuesta por sierras, valles y llanuras, además del clima y la presencia de los cuerpos de agua, lo que le confiere la capacidad de albergar un amplio abanico de ecosistemas como bosques, selvas, desiertos, ecosistemas acuáticos (Tabla 1) (SEMARNAT, 2024; CONABIO, 2023).

Tabla 1. Distribución de la superficie forestal de México por tipo de ecosistema
(Tomada de CONAFOR, 2020).

Ecosistema	Superficie forestal (ha)		Total	
	Vegetación primaria	Vegetación secundaria	hectáreas	%
Bosques	20663676	13536751	34200426	24.8
Selvas	10167721	19858784	30026505	21.8
Manglar	842975	96660	939636	0.7
Otras asociaciones	533828	6332	540160	0.4
Matorral zerófilo	50816909	5488101	56305010	40.8
Otras áreas forestales	11488048	4345353	15833401	11.5
TOTAL	94513157	43331981	137845138	100

Las formaciones boscosas mexicanas ocupan aproximadamente 34, 200, 426 ha. que representan el 24.8% del territorio nacional, de estas, 20, 663, 676 ha. corresponden a vegetación primaria (aquella que no ha sufrido cambios derivados de las actividades humanas o perturbaciones naturales), y el resto corresponden a vegetación secundaria (aquella que se desarrolla posterior a actividades humanas y puede tener una composición y estructura parecida a la vegetación original); estas formaciones boscosas se pueden clasificar principalmente en bosques de coníferas, coníferas y latifoliadas, latifoliadas y bosque mesófilo (Tabla 2), las cuales pueden agrupar varios tipos de vegetación (CONAFOR, 2020).

Tabla 2. Superficie forestal de México por tipo y uso de suelo (Tomada de CONAFOR, 2020).

Ecosistema	Formación forestal	Tipo de vegetación	Vegetación primaria	Vegetación secundaria	TOTAL (ha)
Bosques	Coníferas	Bosque de ayarín	24177	15855	40032
		Bosque de cedro	2035	709	2744
		Bosque de oyamel	128840	28877	157717
		Bosque de pino	4910571	2640936	7551507
		Bosque de táscate	145111	205718	350829
		Matorral de coníferas	0	262	262
	Subtotal		5210734	2892357	8103091
	Coníferas y latifoliadas	Bosque de encino-pino	2950107	1430151	4380258
		Bosque de pino-encino	5186551	3382961	8569512
	Subtotal		8136658	4813112	12949770
	Latifoliadas	Bosque de encino	6472137	4864689	11336826
		Bosque de galería	21006	2667	23673
	Subtotal		6493143	4867356	11360499
	Bosque mesófilo	Bosque mesófilo de montaña	823141	963924	1787065
TOTAL			20663676	13536749	34200425

Dos tipos de vegetación importantes para la silvicultura son los bosques inducidos y cultivados (Tabla 3), los cuales abarcan cerca de las 80 000 ha. y que son formaciones destinadas al aprovechamiento silvícola, (SNIEG, 2024). Por otra parte, el pastizal (INEGI, 2024), y la pradera de alta montaña (CONAFOR, 2016), son áreas que podrían ser usadas para el establecimiento de bosque cultivado o inducido dadas las características que presentan (CONAFOR, 2001).

Tabla 3. Superficie forestal de México por tipo y uso de suelo (otras formaciones forestales de interés) (De elaboración propia con información de CONAFOR, 2020).

Ecosistema	Formación forestal	Tipo de vegetación	Vegetación primaria	Vegetación secundaria	TOTAL (ha)
Otras áreas de interés		Bosque cultivado	74895	0	74895
		Bosque inducido	5047	0	5047
		Pastizal natural	5860897	3715306	9576203
		Pradera de alta montaña	17710	0	17710
		Subtotal	5958549	3715306	9673855
Áreas no forestales		Agricultura	32759101		32759101
		Agostadero	18973589		18973589
		Zonas urbanas	2170906		2170906
		Subtotal	53903596		53903596
TOTAL		63577451			

Finalmente, se encuentran las áreas no forestales las cuales superan en superficie a las áreas forestales y las de bosques inducidos o cultivados, abarcan 53, 903. 596 ha. (Tabla 3), y comprenden sitios en donde los principales usos de suelo son agricultura, agostadero y zona urbana (Imagen 1).



Imagen 1. Árboles de encino rodeados de suelo destinado a la agricultura y agostadero en el municipio de Zacapoaxtla, Puebla (Imagen de elaboración propia).

Es diferente hablar de la superficie territorial que ocupa una formación forestal y de la superficie arbolada de esa formación, los bosques en conjunto con otras asociaciones forestales menores conforman el 52.8% de la superficie forestal arbolada del país (Tabla 4), lo que significa que dicho porcentaje de árboles dentro del territorio nacional pertenecen a los bosques que solo conforman el 24.8% del total de los árboles del territorio nacional (Tabla 1), lo que permite resaltar lo importantes que son los árboles en los bosques, lo reducidos que se encuentran los bosques mexicanos dentro de la superficie total del territorio nacional y la importancia de los bosques mexicanos como ecosistemas (PROFEPA, 2024).

Tabla 4. Superficie forestal arbolada de los bosques mexicanos en hectáreas
(De elaboración propia con información de CONAFOR, 2020).

Ecosistema	Formación forestal	Superficie forestal arbolada (ha)		Total	
		Vegetación primaria	Vegetación secundaria	ha	%
Bosques	Coníferas	5210734	2892357	8103091	12.3
	Coníferas y latifoliadas	8136658	4813113	12949771	19.7
	Latifoliadas	6493143	4867357	11360500	17.3
	Bosque mesófilo de montaña	823141	963924	1787065	2.7
Otras asociaciones		533828	6332	540160	0.8
TOTAL		21197504	13543083	34740587	52.8

Hasta el 2017 los grupos forestales mayormente aprovechados eran el pino, comunes tropicales, encinos, otras latifoliadas, oyameles, otras coníferas y maderas preciosas (Tabla 5). Este aprovechamiento es considerado como las existencias maderables, las cuales se expresan como los metros cúbicos de rollo total de árbol (m^3 rta), es decir, la madera del fuste y corteza de árboles maduros, sin incluir ramas y disponibles en cierto número de hectáreas de terreno.

Tabla 5. Grupos forestales con mayor aprovechamiento (m³ rta), en 2017
(Tomada de CONAFOR, 2020).

Género o grupo	Producción 2017	Participación (%)
Pino	6386758	70.87
Oyamel	225688	2.5
Otras coníferas	38184	0.42
Encino	886339	9.84
Otras latifoliadas (hojas)	249441	2.77
Preciosas	19103	0.21
Comunes tropicales	1206523	13.39
TOTAL	9012036	100

La madera no siempre se utiliza recién extraída del bosque, a veces debe transformarse previamente en otros subproductos (CONAFOR, 2017), dependiendo de las aplicaciones a las que se destine (Tabla 6). Esta madera es usada para diferentes propósitos (muebles, construcción, materia prima para productos más elaborados como papel).

Tabla 6. Producción maderable por grupo de productos (m³ rta), para el año 2017 (Tomada de CONAFOR, 2020).

Producto	2017	Participación %
Aserrio	5950441	66
Celulosa	1383508	15.4
Chapa y triplay	461198	5.1
Postes	161624	1.8
Leña y carbon	1055264	11.7
TOTAL	9012035	100

III.IV. El Estado de Puebla en el sector forestal

El Estado de Puebla ocupa el cuarto lugar en lo que se refiere a la población indígena que reside dentro y a los alrededores más cercanos de los ecosistemas forestales con una población total de 339, 356 lo que representa el 9.9% del total nacional que asciende a 3, 427, 373 habitantes. Además, es el doceavo estado de la república mexicana en número de UMAFORES (unidades de manejo forestal), con un total de 8 de las 224 que hay en todo el país y que ocupan una superficie de 3, 412, 623 hectáreas y el onceavo en cantidad de organizaciones sociales del sector forestal con 7 de las 153 que existen a nivel nacional (CONAFOR, 2020).

El estado ocupa el sexto lugar nacional por las 14,253 ha. de superficie en las que se encuentran establecidas plantaciones forestales comerciales maderables, siendo las especies utilizadas en su mayoría por eucalipto, cedro rojo, variedades de pino, encino, teca y melina. En cuestiones productivas, para el año 2020, el Estado de Puebla genero 2, 095, 000 plantas de las 21, 747, 894 producidas en México; su producción forestal no maderable en toneladas se dirigió hacia el aprovechamiento

de 1, 724 toneladas que incluyen tierra de monte, rizomas, ceras, gomas, resinas o fibras y 4, 746 ejemplares de árboles navideños (SEMARNAT, 2017).

Otro punto importante es que en el estado hay empresas de transformación de los recursos forestales, concretamente 120 aserraderos, 2 estufas para fabricar carbón vegetal, 3 fábricas de tarimas y 12 industrias de cajas y empaques, añadiendo que al compartir territorios forestales con Tlaxcala y al ser este último un estado de la república con una superficie territorial reducida, en los que convergen los espacios forestales de Puebla y Tlaxcala hay 30 aserraderos 1 estufa de carbón y 2 industrias de cajas y empaques (CONAFOR, 2020).

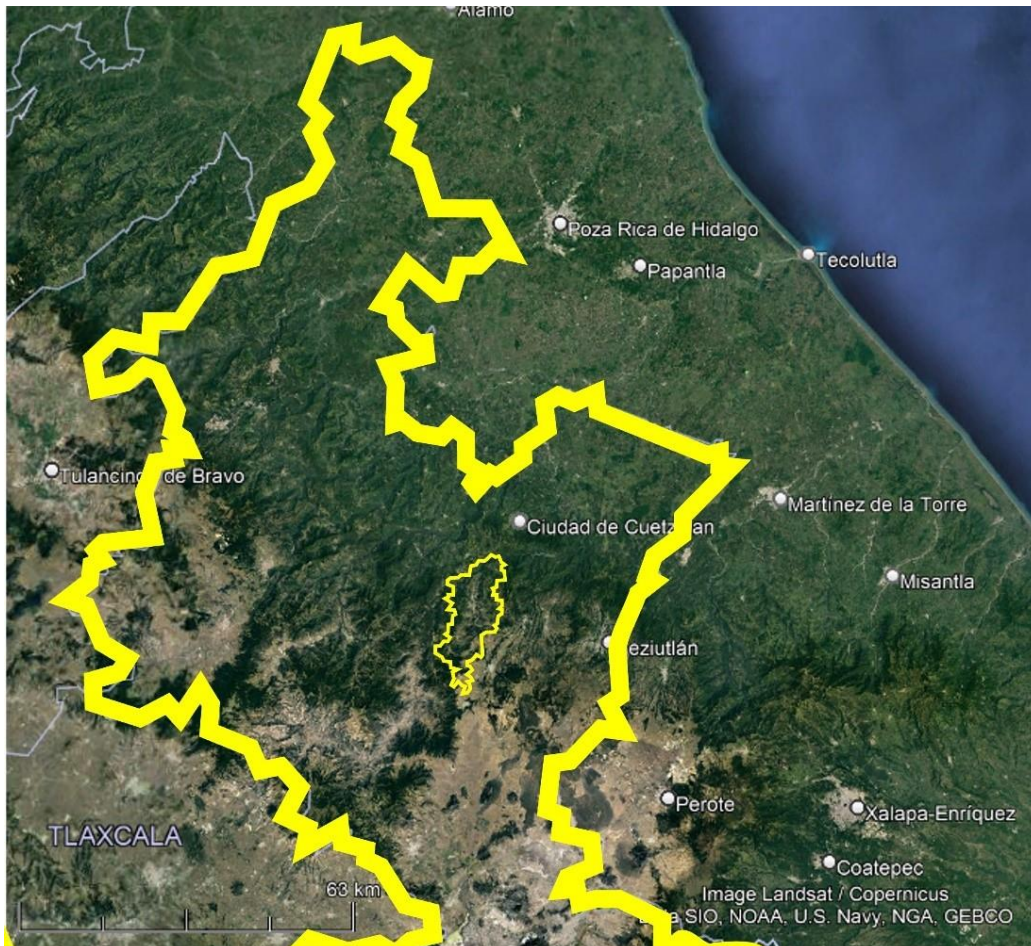
III.V. Características generales del municipio de Zacapoaxtla, Puebla



Imagen 2. Plaza de Armas del Municipio de Zacapoaxtla, Puebla, México (Imagen tomada de González, R., 2022).

El Municipio de Zacapoaxtla (con origen en el vocablo náhuatl: *zacat*, *pohuat*, *tlá*: “Lugar donde abunda el zacate”), es un municipio ubicado en la sierra nororiental (Mapa 4), del Estado de Puebla, México (Imagen 2). Se encuentra enmarcado

dentro de las coordenadas geográficas: Longitud 97°38'41.28"O, 97°31'12.36"O y Latitud 19°43'08.40"N, 19°57'47.52"N; cuenta con una superficie de 1 888 kilómetros cuadrados con un relieve bastante accidentado pues presenta un volcán extinto y numerosas y largas sierras que le confieren una topografía demasiado irregular.



Mapa 4. Ubicación de la región de Zacapoaxtla en la sierra norte del Estado de Puebla (Mapa de elaboración propia con información de Google Earth, 2020).

El clima es templado/húmedo con lluvias frecuentes y formación de densos bancos de niebla, aunque los ecosistemas originales del municipio han reducido su tamaño por las actividades antropogénicas (agricultura, ganadería, tala, caza, fauna invasora), aún existen partes de diferentes tamaños de bosques mesófilo de

montaña, y de coníferas y encino que habitan algunos ejemplares de fauna (pequeños mamíferos, reptiles, anfibios y aves). Dentro de la hidrografía se mencionan pequeños arroyos que bajan de las sierras algunos se pierden en el subsuelo y otros son superficiales, al final todos desembocan en los afluentes de los ríos Texpilco, Apulco y Atehuetzian (Arriaga, L., *et al.*, 2000; INEGI, 2000; INEGI, 2010).

Las cifras de población de acuerdo con el último Censo quinquenal de Población y Vivienda del INEGI (2020), es de 57 887 habitantes, una población cuyas actividades económicas van enfocadas hacia el sector primario siendo la agricultura, ganadería y la prestación de servicios, el tridente que mantiene en movimiento de la maquinaria económica del municipio (Data México, 2020), que para el año de 2016 genero la cantidad de 317 millones de pesos en PIB.

III.VI. Actividad forestal en Zacapoaxtla

Al encontrarse ubicado en la Sierra Norte del Estado de Puebla y derivado de las características de relieve y altura, los ecosistemas dominantes en el municipio de Zacapoaxtla y sus alrededores son los bosques destacando la presencia de coníferas y latifoliadas (Flora y Fauna, Puebla, 2024).

Estos bosques tienen algún grado de alteración debido al aprovechamiento de sus recursos, que, de acuerdo con el Anuario estadístico y geográfico de Puebla del 2017, el volumen de la producción forestal maderable asciende a 1265 m³ rta, siendo especies de pino, encino y otras latifoliadas destinadas a productos como escuadría y leña generando 1, 171, 000 pesos mexicanos. Cabe resaltar que, como parte del Programa Nacional Forestal (encargado de actividades de reforestación en el país), se ha logrado el establecimiento de 60 500 unidades vegetales en un espacio de 55 ha. dentro del propio municipio (INEGI, 2017).

III.VII. Encinos

El género *Quercus* al que pertenecen los encinos, es uno de los grupos de angiospermas leñosas más importantes de los ecosistemas forestales y del hemisferio norte dando un amplio abanico en diversidad de especies con dominancia ecológica. Los ejemplares del género *Quercus* son altamente adaptables y pueden predominar en una amplia variedad de ecosistemas como diversos tipos de bosques templados, tropicales, de alta montaña, sabanas, selvas, pastizales, matorrales y en los márgenes y fronteras con otros ecosistemas (Nixon, K., 2006).

La gran diversidad de encinos se debe a su adaptabilidad en ecosistemas forestales donde los recursos nutricionales abundan; también existen especies de tamaño pequeño, árboles que no crecen demasiado o son arbustos que pueden ser encontrados en hábitats más secos y con menor disponibilidad de nutrientes (Rosaliano, R., *et al.*, 2022; Valencia, S., *et al.*, 2021).

Los encinos no deben su valía solo a su importancia ecológica, también a su importancia socioeconómica, la madera de encino es ampliamente valorada por su calidad, dureza y como la leña o combustible, entre otros usos. Sin embargo, a pesar de su importancia medioambiental y socioeconómica, no se conoce el total de especies de encinos a nivel mundial, y por su puesto tampoco se tiene un registro de la riqueza total de estas especies en México, aunque se cuenta con varias estimaciones que, derivado de la explotación de los recursos y el cambio climático las cifras han ido en decaimiento (Valencia, S., 2004).

III.VIII. *Q. laurina* y *Q. calophylla* y su estado de conservación

En 1964 la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN, por sus siglas en inglés), estableció la Lista Roja de Especies Amenazadas a fin de tener disponible la información sobre las especies de flora y/o fauna a nivel mundial y el grado de amenaza que pudiera presentar alguna (IUCN, 2023).

Quercus laurina cuyos sinónimos son *Quercus zempoaltepecana* o *Quercus ocoteifolia* y comúnmente conocida como ahucepitzahuac, bik'tal-anal, chiquinib, encino ahualpitzahual, encino capulincillo, encino jarilla, encino laurelillo, encino nechilahue. esta distribuido desde Honduras, El Salvador, Guatemala hasta México, siendo los Estados de Nuevo León, Tamaulipas, Jalisco, Guanajuato, Querétaro, Hidalgo, Veracruz, Michoacán, México, Ciudad de México, Morelos, Puebla, Tlaxcala, Guerrero, Oaxaca y Chiapas, donde predominan las poblaciones, (Mapa 5), en bosques de niebla, de encino, pino-encino y pino-encino-abeto en altitudes desde los 1600 a 3000 msnm y hasta los 3650 msnm (Heathcoat, M., 2009; Nelson, C., 2008); los ejemplares adultos poseen una altura de 35 metros o más con un tronco relativamente recto y es usado principalmente para la obtención de postes y tablas, además de leña y materia prima para hacer carbón (González, M., *et al.*, 2011).

De acuerdo con la información emitida en la REDlist de la UICN, la población de *Quercus laurina* es lo suficientemente grande como para sufrir desestabilización por lo que es considerada como de menor preocupación, no obstante, la combinación de tala, incendios y pastoreo podría comprometer la estabilidad poblacional de esta especie (Jerome, D., 2018).



Mapa 5. Distribución de *Q. laurina* en México según REDlist. (Mapa tomado de REDlist, 2017)

Quercus calophylla, fue conocida anteriormente como *Quercus candicans* (Valencia, A., *et al.*, 2018), esta especie está distribuida en Guatemala y México, siendo los Estados de Chihuahua, Sinaloa, Durango, Nayarit, Jalisco, Hidalgo, Veracruz, Michoacán, México, Ciudad de México, Morelos, Puebla, Guerrero, Oaxaca y Chiapas donde se presentan las principales poblaciones, asociadas a bosques mesófilos de montaña y de encinos que cuentan con un clima templado y en altitudes que van desde los 1200 a los 2000 msnm y hasta los 2600 msnm (Hardy, A., y Lamant, T., 2006; Heathcoat, M., 2009). Los ejemplares adultos llegan a poseer una altura de 8 a 25 metros y son usados principalmente como leña.

Su estado dentro de la REDlist es considerado como de preocupación menor a pesar del elevado índice de deforestación dentro de su área de distribución, sin embargo, a pesar de dicha situación la población de la especie se ha logrado mantener estable, sin embargo, se necesitan más investigaciones sobre el tamaño y las tendencias de la población (Wenzell, K., *et al.*, 2017).



Mapa 6. Distribución de *Q. calophylla* en México según REDlist (Mapa tomado de REDlist, 2017).

III.IX. Alternativas y herramientas para la explotación sustentable de recursos forestales

Desde hace unas décadas, un sector de la población mundial ha sido más consciente de las consecuencias de las actividades antropogénicas, generando propuestas dirigidas a mitigar los efectos de tales actividades (Bajpai, P., 2013; Boyle, J., *et al.*, 2016; Douglas, J., *et al.*, 2016).

La silvicultura considera el tiempo para regenerar las áreas utilizadas y diseña opciones para reestablecer en lo posible los volúmenes de recursos forestales (maderables y no maderables), aprovechados tratando de garantizar el cumplimiento de la demanda de estos recursos a través del tiempo. Para México, la aplicación de la silvicultura es gestionada por la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR), o por particulares y asociaciones cooperativas (ejidales o comunidades), señalando que las asociaciones incluyen la participación de las comunidades dentro de un territorio de uso común, y, por consiguiente, los beneficios obtenidos se destinan a fortalecer sus procesos internos de desarrollo (CONAFOR, 2015).

La explotación maderable necesita la aplicación de estrategias a fin de generar una reposición de los recursos sustraídos, por ejemplo, plantaciones *in situ* y *ex situ* (Werden, L., *et al.*, 2020), invernaderos que utilicen semillas, esquejes o injertos (INIFAP, 2023; UNDP, 2024). Además, para garantizar la salubridad de los bosques se programan y realizan monitoreos para detectar y combatir plagas o enfermedades que podrían poner en riesgo la salud del ecosistema, y la calidad de los recursos maderables/biomasa afectando las cifras monetarias resultantes (CONAFOR, 2022).

Otras innovaciones que se han adicionado al proceso de propagación de plantas para usos silvícolas han sido la mejora y tratamiento de los sustratos para el desarrollo de plantas (Błońska, E., *et al.*, 2022), la detección y aplicación de tratamientos contra plagas y enfermedades (Ye, W., *et al.*, 2022; Zheng, Z., y Zhang,

C., 2022; Box, O., *et al.*, 2023), el cultivo y micropropagación *in vitro* (Ciaffi, M., *et al.*, 2018), y el mejoramiento genético (Olsson, S., *et al.*, 2023).

III.X. Cultivo y propagación de especies de encinos

Los encinos son especies de importancia socioeconómica y medioambiental, la forma en que los encinos hacen frente a las condiciones medioambientales y su distribución casi cosmopolita les confiere la idoneidad para considerarse en proyectos de reforestación y rehabilitación (Valencia, S., 2021), en consecuencia, la aplicación de protocolos y técnicas de cultivo, propagación y conservación de ejemplares de encinos es de vital importancia en países como México por ser uno de los más ricos en especies de encinos siendo muchas de estas endémicas y muchas de ellas amenazadas, aunque sin llegar a encontrarse en la NOM-59-SEMARNAT-2010 (Valencia, S., 2021), pero, ¿por qué esperar a que estas especies se encuentren reconocidas como amenazadas? ¿por qué no buscar alternativas para retrasar o evitar que las especies sean consideradas con algún nivel de riesgo en la lista de alguna norma?

Los encinos son especies delicadas de tratar en proyectos forestales por varias razones por ejemplo por la pérdida de bellotas por herbivoría, enfermedad o plaga y la pérdida de viabilidad por almacenamiento (Valencia, S., 2021). Ante esto, se han establecido varios modelos de propagación en invernaderos *in situ* y *ex situ* utilizando esquejes (Bassuk, N., y Coombes, A., 2021; Benoit, D., 2009), pero siendo la germinación de las semillas (Imagen 3), el modelo de propagación preferido (Lozano, J., *et al.*, 2021; Albino, F., *et al.*, 2021; Jiménez, F., 1993), pero dadas las características de las bellotas como semillas, se recomienda que su procesamiento desde la colecta, la selección y germinación hasta el desarrollo de las plántulas en maceta sean con rapidez y la mayor inocuidad posible, además de realizar un monitoreo constante antes de su reintroducción al medio silvestre (Rodríguez, M., 2021).



Imagen 3. Plantas de encino obtenidas a partir de la germinación de bellotas en el área de propagación del jardín botánico universitario de la BUAP (Imagen de elaboración propia).

III.XI. Cultivo *in vitro* de tejidos vegetales

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales es el desarrollo de protocolos, que permiten realizar la propagación y/o conservación de plantas a partir de una porción de tejido conocida como explante, con distintos fines, por ejemplo obtener plantas inocuas y de calidad, en una menor cantidad de tiempo; o bien, para obtener tejido indiferenciado con la posibilidad de generar un mayor volumen de plantas para distintos fines (Rajewski, A., *et al.*, 2019; Germáná, M., y Lambardi, M., 2016; Blasco, M., *et al.*, 2013; Corredoira, E., *et al.*, 2017; Barra, A., *et al.*, 2014).

El cultivo *in vitro* no está exento de las necesidades de las plantas producidas en cultivo en tierra, por lo que se deben mantener ciertas condiciones como el fotoperiodo, temperatura, humedad, y la disponibilidad de macro y micronutrientes en las proporciones necesarias para cubrir las demandas del cultivo (Castillo, A., 2024), por lo que los medios nutritivos son fundamentales en el cultivo *in vitro* de tejidos vegetales, y su composición puede variar dependiendo del uso y de la

especie de interés (Chávez, J., *et al.*, 2019; Andrade, A., *et al.*, 2021), ya que se pueden modificar algunas variables como los tipos y cantidades de factores hormonales de desarrollo (Friml, J., 2003; Friml, J., *et al.*, 2003), además de los nutrientes (Corredoira, E., *et al.*, 2012; Steiner, N., *et al.*, 2016).

Uno de los medios nutritivos más usados en el cultivo *in vitro* es el medio Murashige & Skoog (MS), el cual fue inventado por los científicos Toshio Murashige y Folke K. Skoog hace más de 60 años, dicho medio está constituido por componentes inorgánicos como el nitrato de amonio, cloruro de calcio, sulfato de magnesio, fosfato monopotásico, nitrato de potasio, ácido bórico, cloruro de cobalto (II), sulfato de hierro, sulfato de manganeso, yoduro de potasio, molibdato de sodio, sulfato de zinc, ácido etilendiaminotetraacético y sulfato de cobre (II) pentahidratado, además de compuestos orgánicos como el ácido 3-indolacético (IAA), kinetina, tiamina-HCl, ácido nicotínico, piridoxina-HCl, glicina, mio-inositol, edamina, sacarosa y agar, estos componentes satisfacen los requerimientos nutricionales para el desarrollo de la mayoría de las especies vegetales (Murashige, T., y Skoog, K., 1962).

Por ejemplo, en la germinación de semillas de *Buchanania cochinchinensis*, la cual es una especie rica en fitoquímicos de valor medicinal en raíces, corteza, hojas, frutos y semillas, además proporciona alimento, combustible, forraje, madera y medicinas para los pueblos tribales de los bosques de la India (Agrawal, T., y Quraishi, A., 2024), otro ejemplo es la planta *Evolvulus alsinoides*, la cual busca propagarse debido a su importancia como medicinal (Omondi, C., *et al.*, 2024), así mismo se puede mencionar la planta *Glochidion chodoense*, una planta medicinal nativa de Corea y en peligro de extinción, a la que se busca propagar vía la inducción de callogénesis (Kim, J., *et al.*, 2024).

El medio MS también ha sido usado en la propagación de plantas ornamentales como las orquídeas (Sedano, G., *et al.*, 2015), no obstante dependiendo de las especies vegetales y los requerimientos nutricionales que estas tengan, se han desarrollado otros medios de cultivo, por ejemplo los medios: Solución Hoagland

(Hoagland, D., y Arnon, D., 1950), B5 de Gamborg (Gamborg, O., *et al.*, 1968), Nitsch (Nitsch, J., y Nitsch, C., 1969), SH (Schenk, R., y Hildebrandt, A., 1972), Quoirin y Lepoivre (Quoirin, M., y Lepoivre, P., 1977), y conocido también como Woody Plant Medium (WPM) (Lloyd, G., y McCown, B., 1981), usado para el cultivo *in vitro* de plantas leñosas.

III.XII. Micropropagación a partir de callo vegetal

Los callos vegetales son cúmulos de células vegetales que se encuentran en un estadio constante de proliferación y baja diferenciación, ambos procesos dependientes de diversos factores entre los que se encuentran el genotipo del explante utilizado, pero principalmente derivado de la concentración y combinación de los reguladores de desarrollo adicionados al medio de cultivo (Hernández, A., y Díaz, H., 2019).

La micropropagación de organismos vegetales a partir de la generación de callo vegetal es una técnica muy valiosa de la biotecnología aplicada con la capacidad de producir cientos o miles de plantas clones a partir de un explante (Davies, K., y Deroles, S., 2014) , dicha técnica aprovecha el potencial de las células de los explantes vegetales, los cuales puestos en medios de cultivo con los nutrientes, vitaminas, fitohormonas y condiciones adecuadas pueden proliferar formando masas amorfas de células con bajo o incluso nulo grado de diferenciación (Hernández, A., *et al.*, 2021).

El éxito de la formación de callos y sus características dependen de factores como la temperatura, tiempo de exposición a la luz, además de la cantidad de nutrientes y factores de desarrollo, los cuales se eligen y modifican dependiendo de la especie vegetal, y las características deseadas del callo por ejemplo, la generación de callo para la producción en grandes volúmenes de plantas como hace Rizwan, H., y cols., (2020), la proliferación de embriones para la producción de semillas sintéticas como hace Rihan, S., y cols., (2012), al trabajar con microbrotes de coliflor, cultivos en biorreactores como en el trabajo de Teixeira, H., y cols., (2016), donde se busca la

regeneración de embriones somáticos de palma aceitera (*Elaeis guineensis*), mediante biorreactores de inmersión temporal; o para manipulación genética, como se puede ver en el trabajo realizado por Tardast, Z., y cols., (2023), al funcionalizar nanotubos de carbono de paredes múltiples con ácido carboxílico (COOH-MWCNT), para mejorar la producción de atropina en el callo de *Datura inoxia* al influir en el metabolismo, la regulación genética y la metilación de la citosina del DNA.

III.XIII. Cultivo y propagación *in vitro* de especies de encinos

El cultivo *in vitro* de tejidos vegetales implica la utilización de una amplia diversidad de tejidos y puede tener diferentes fines, en el caso de los encinos como ejemplo de plantas leñosas de gran importancia se han usado yemas (Favre, J., y Juncker, B., 1987), como es el caso para *Quercus robur*, en cuyo cultivo se usaron variaciones de 6-Bencilaminopurina (BAP), y carbón activado, por su parte, San José, M., y cols., (1990), utilizaron brotes de ejemplares jóvenes y adultos de *Quercus petraea*, con el fin de obtener plántulas con radícula usando el medio Gresshoff y Doy (GD), y MS, con variaciones de BAP como regulador de desarrollo; en el mismo año, Manzanera, J., y Pardos, J., (1990), propusieron yemas apicales y segmentos de tallo nodales de *Quercus suber*, como explantes iniciales, estos explantes fueron plántulas jóvenes, brotes de tocones y brotes formados a partir de esquejes recolectados de árboles viejo; trabajando en medios como MS o como los medios Sommer o Heller, con la participación de BAP y ácido naftalenacético (NAA), como reguladores del desarrollo en la búsqueda de la generación de brotes con radícula.

Chalupa, V., (1993), se inclinó por trabajar en la micropropagación por multiplicación de brotes axilares y por embriogénesis somática, la multiplicación de los brotes axilares se estimuló en medios bajos en sal (Broadleaves Tree Medium, o Woody Plant Medium), suplementados con una baja concentración de BAP, mientras que los cultivos embriogénicos se iniciaron a partir de embriones cigóticos inmaduros de

Quercus petraea, cultivados en medio Schenk y Hildebrandt (SH) modificado, suplementado con BAP.

Schwarz, O., y Schlarbaum, S., (1993), seleccionaron *Quercus alba*, y *Quercus rubra*, para desarrollar métodos de regeneración de plántulas *in vitro* a partir de explantes de yemas y embriones aplicando varias combinaciones hormonales a los explantes para inducir la proliferación de yemas axilares; la producción máxima de brotes múltiples se obtuvo cuando se aplicó BAP en combinación con NAA.

Purohit, M., y cols., (2002a; 2002b), realizó dos trabajos, en el primero se desarrolló un protocolo de regeneración para *Quercus floribunda*, utilizando nudos cotiledóneos como explantes y se indujeron múltiples brotes en medio WP o MS suplementado con BAP solo o en combinación con ácido giberélico (GA3), y para promover el enraizamiento los brotes se trataron con ácido indol-3-butírico (IBA); para el segundo trabajo se indujeron múltiples brotes de *Quercus leucotrichophora*, y *Quercus glauca*, a partir de embriones intactos (semillas sin recubrimiento), así como de nudos cotiledóneos (con cotiledones adheridos pero sin radícula ni brote primario), de plántulas cultivadas *in vitro* de 3 semanas de edad en medio WPM y MS suplementados con BAP, ya sea en solitario o en combinación con GA3, e IBA.

Tamta, S., y cols. (2008), desarrollaron un método eficaz y reproducible para la regeneración de múltiples brotes de *Quercus semecarpifolia*, en el que se utiliza como explante una parte del tubo peciolar que contiene un brote primario en medio MS y WP, ambos con variaciones de BAP e IBA; llegando a Vengadesan, G., y Pijut, P., (2009), que propagaron brotes de *Quercus rubra*, a partir de explantes de nudos cotiledóneos en medio MS suplementado con BAP, tiazurón (TDZ), e hidrolizado de caseína (CH).

En los trabajos anteriormente descritos, se puede notar que tejidos como yemas, plántulas, brotes axilares, embriones, nudos cotiledónales, tubos peciolares, entre otros, pueden ser seleccionados como explantes ya que poseen células con el potencial para establecer un cultivo que permita la propagación vegetal (Delgadillo,

J., *et al.*, 2013), y que en el caso de las especies de encinos se busca la regeneración directa de plantas, sin embargo, no existen trabajos en los que el principal objetivo sea la propagación a partir del establecimiento y cultivo de callo para llevar a cabo la regeneración de plantas en grandes cantidades.

III.XIV. Reguladores hormonales del desarrollo vegetal

Las fitohormonas son compuestos químicos producidos por las plantas cuya concentración, distribución y localización se encuentra definida por su función y actúan como señalizadoras y reguladoras de los procesos como el desarrollo, defensa, tolerancia al estrés y reproducción de las plantas (Porta, H., y Jiménez, G. 2019; Alcántara, J., *et al.*, 2019; Méndez, H., *et al.*, 2019), por lo que la adición exógena de cualquiera de estos compuestos puede modificar el desarrollo de las plantas, por ejemplo, en el tamaño de órganos, producción de flores o frutos, e incluso la percepción del ambiente (Liu, Z., *et al.*, 2023; Kaur, H., *et al.*, 2023).

De las seis clases de fitohormonas que existen, las auxinas y las citocininas han jugado un papel importante en el establecimiento de cultivos vegetales, por ejemplo, las auxinas ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), y el ácido naftalenacético (NAA), (Hartmann, H., *et al.*, 1975), han sido usadas por su capacidad para inducir la formación y elongación de tallos, la producción de raíces adventicias, aumento de la dominancia apical, división y elongación celular, además de la diferenciación celular, promoción de la división celular meristemática, aumento del contenido osmótico celular, de la permeabilidad celular y la producción proteica, así como la disminución de la presión en la pared celular (Alcántara, J., *et al.*, 2019; Garay, A., *et al.*, 2014).

En el caso de las citocininas la 6-Bencilaminopurina o 6-Benciladenina (BAP), es un compuesto sintético al que se le ha atribuido la iniciación y elongación de raíces, regulación de la senescencia de las hojas, estimulación del desarrollo fotomorfológico y la generación de brotes axilares. (Rodríguez, M., y Tempe, J., 2017), además, estimula la multiplicación celular del tejido embrionario y promueve

la germinación (Kucera, B., *et al.*, 2005; Moradi, K., y Otroshy, M., 2012). También promueve el vigor de plántulas (Dissanayaka, N., *et al.*, 2015), promueve una alta proliferación y división celular, afectan la ultraestructura de los cloroplastos, así como las funciones de las enzimas de los cloroplastos y la acumulación de pigmentos y tasa de fotosíntesis (Cárdenas, J., *et al.*, 2010; Carnelos, D., *et al.*, 2022).

En la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP, el grupo de investigación en Síntesis y Modificación de Productos Naturales generó una familia de compuestos promotores del crecimiento vegetal denominados aBSS, los cuales han sido caracterizados como derivados 22-oxocolestánicos, producidos a partir de estructuras espirostánicas (Zeferino, R., *et al.*, 2015), y a los que se les ha asociado una actividad superior a la de los brasinoesteroides o a los análogos de brasinoesteroides (Rojas, H., 2015), tales como la capacidad para promover el desarrollo de plantas de alfalfa, frijol (Andrade, M., 2013; Peña, N., 2012), arroz (Gómez, D., 2013), y maíz (Moreno, A., 2009; Zurita, L., 2011), además de generar cambios en los perfiles de expresión genética pero promoviendo el desarrollo aún en condiciones de calor, sequía (Susano, E., 2019), frío (Robles, K. del C., 2019), y permitiendo que las plantas superen la infección por virus (Santos, I., 2019).

En este trabajo se plantea el establecimiento de un cultivo de callo de las especies encino *Quercus laurina* y *Quercus calophylla* utilizando medios nutritivos en los que se incorporaron las auxinas 2, 4-D y NAA la citocinina BAP y los compuestos aBSS4 y aBSS12 para inducir la germinación de las semillas y el establecimiento del callo.

IV. Objetivos

General:

- Establecer y propagar mediante cultivo *in vitro* callo de las especies encino *Quercus laurina* y *Quercus calophylla* para su aplicación en silvicultura.

Específicos:

- Realizar colectas de campo para obtener material vegetal.
- Identificar taxonómicamente ejemplares de los encinos colectados.
- Generar los medios de cultivo para inducir la germinación de semillas, desarrollo de plántulas y establecimiento de callos de encinos.
- Establecer las condiciones de limpieza de los explantes a cultivar.
- Evaluar la germinación de bellotas y el desarrollo de plántulas.
- Evaluar el establecimiento y desarrollo de callo a partir de los explantes en los medios de cultivo diseñados.

V. Materiales y métodos

V.I. Colecta de material vegetal

El material vegetal usado para la realización de este trabajo fue obtenido a través de colectas de campo en el municipio de Zacapoaxtla en la Sierra Norte del Estado de Puebla, el material vegetal fue colocado en una prensa botánica y se llevó a las instalaciones del Herbario del Jardín Botánico de la BUAP donde se solicitó su identificación taxonómica.

Una vez que las especies de encinos fueron identificadas como *Q. sartorii* Liebm., *Q. laurina* Bonpl., *Q. obtusata* Bonpl. y *Q. calophylla* Schltld. y Cham (Anexo1); se seleccionaron a *Quercus laurina* y *Quercus calophylla*, la primera fue colectada en las coordenadas 19°52'22.3"N 97°36'02.4"O, dentro de las inmediaciones de la colonia Los Cristales, en el caso de *Q. calophylla*, fue colectada en las coordenadas 19°55'02.0"N 97°35'07.1"O en las inmediaciones de la colonia Xilita Xalacapan.

Además del material para la identificación taxonómica, se colectaron bellotas de árboles jóvenes o adultos visiblemente sanos (Figura 1). A las bellotas colectadas, se les realizó la prueba de flotabilidad en agua corriente para descartar las semillas no viables, las que resultaron viables se pusieron en un recipiente con una solución de cloro al 5 % por dos horas y se enjuagaron con agua, luego se pusieron a secar sobre un paño para eliminar el exceso de agua.

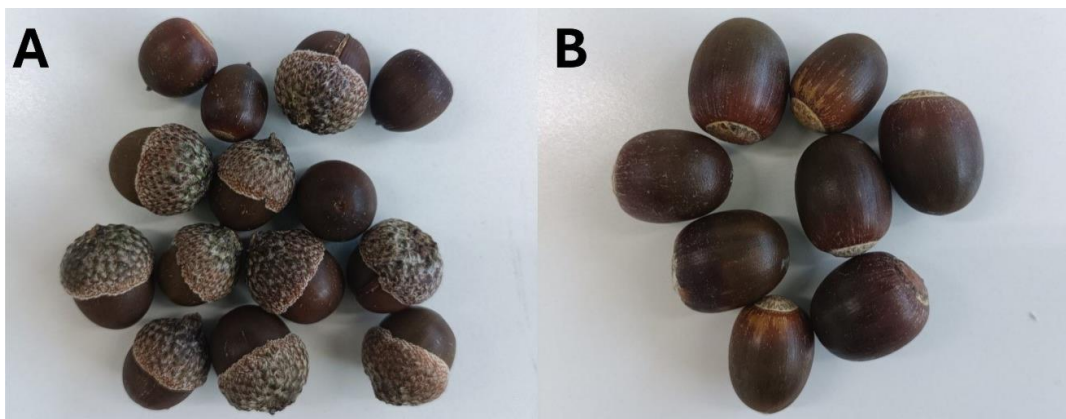


Figura 1. Bellotas de A) *Q. laurina* y B) *Q. calophylla* colectadas en campo.

V.II. Tratamiento para almacenamiento en laboratorio

Una vez en el laboratorio, las bellotas se almacenaron a 4°C por una noche, al día siguiente fueron tratadas con una solución de captan al 5% y puestas en un agitador orbital a 100 rpm por dos horas para garantizar que la solución de fungicida impregnara toda la superficie de las bellotas; después, fueron enjuagadas con agua destilada, posteriormente fueron puestas en una solución de etanol al 70% y se agitaron a 100 rpm por 15 minutos, finalmente fueron enjuagadas con agua destilada y puestas a secar para ser almacenadas a 4°C hasta su utilización.

V.III. Desinfección de semillas de encinos

Para lograr la germinación de las semillas de las especies de encinos *Q. laurina* y *Q. calophylla*, se realizaron dos procesos de desinfección los cuales se muestran en el Diagrama 1. En el primero se tomaron bellotas maduras, las cuales fueron lavadas con agua y jabón líquido comercial frotando con un cepillo, luego fueron enjuagadas con agua destilada. En campana de flujo laminar, se continuó con la remoción de la cúpula y se colocaron en una solución de fungicida Promyl al 5 % por 15 minutos, después, el fungicida fue retirado enjuagando con agua destilada estéril; luego se realizó un lavado por diez minutos con una solución de cloro al 50% y una gota de Tween 20 por cada semilla, se enjuagó con agua destilada estéril hasta retirar los restos de detergente y cloro; finalmente las semillas se lavaron con etanol a 70% durante 5 minutos y se enjuagaron con agua destilada estéril.

Para el segundo tratamiento de desinfección realizado también en condiciones de asepsia, se escindió la cubierta externa de las bellotas previamente tratadas y se colocaron en una solución de fungicida Captan al 5% por diez minutos, después, se enjuagaron con agua destilada estéril; se realizó un lavado por diez minutos con una solución de cloro al 15% y una gota de Tween 20 por cada semilla, se realizaron lavados con agua destilada estéril hasta retirar los restos de detergente y cloro; finalmente las semillas se lavaron con etanol a 70% durante 1 min y se enjuagaron con agua destilada estéril

V.IV. Medios de cultivo para germinación e inducción de callo de encinos

Para probar la germinación de las semillas de las dos especies de encinos y la inducción de callo, se prepararon cinco medios nutritivos. Como se muestra en la tabla 7 se usó medio MS sin adición de fitohormonas como control, a los medios MS3, MS6, MS9 y MS15 se añadieron además de los componentes básicos del medio MS, distintas cantidades de las fitohormonas BAP, NAA, 2,4-D y de los dos compuestos promotores del crecimiento vegetal generados en la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP denominados aBSS4 y aBSS12, a todos los medios también se adicionó 1% de sacarosa, 1% de agar y 0.25% de carbón activado y el pH se ajustó a 5.5.

Tabla 7. Medios de cultivo empleados para la germinación de semillas de encinos y el establecimiento de callo.

Componente	MS	MS6	MS3	MS9	MS15
Agar	1%	1%	1%	1%	1%
Sacarosa	1%	1%	1%	1%	1%
Carbon activado	0.25%	0.25%	0.25%	0.25%	0.25%
MS	1.107g	1.107g	1.107g	1.107g	1.107g
BAP	—	666µl	—	444µl	444µl
NAA	—	73µl	—	—	52µl
2,4-D	—	—	250µl	250µl	—
a-BSS4	—	—	25µl	25µl	—
a-BSS12	—	—	—	—	100µl

V.V. Germinación de semillas de encinos

Una vez que las semillas se desinfectaron, fueron puestas en frascos con los medios que se prepararon de acuerdo con la Tabla 7, por cada especie de encino se colocó una semilla por frasco y 10 frascos por cada medio, adicionalmente como una condición control se colocaron semillas en cinco frascos que contenían medio MS sin reguladores del crecimiento vegetal los frascos fueron sellados y colocados en una cámara de crecimiento vegetal en condiciones de 16 horas luz por 8 de oscuridad y $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 30 días.

Los cultivos se revisaron periódicamente para evaluar el desarrollo de plántulas, así como la presencia microorganismos contaminantes.

V.VI. Siembra de explante para Inducción de callogénesis

Después de 30 días, cuando se habían desarrollado plántulas con hipocótilos, raíces, tallos y hojas, se tomaron para ser segmentadas y puestas en frascos con medios MS3, MS6, MS9 y MS15, los frascos fueron sellados y colocados en una cámara de crecimiento vegetal por 30 días en condiciones de 16 horas luz por 8 de oscuridad y $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Los cultivos se monitorearon periódicamente para evaluar la inducción de callo y detectar la presencia de microorganismos contaminantes.

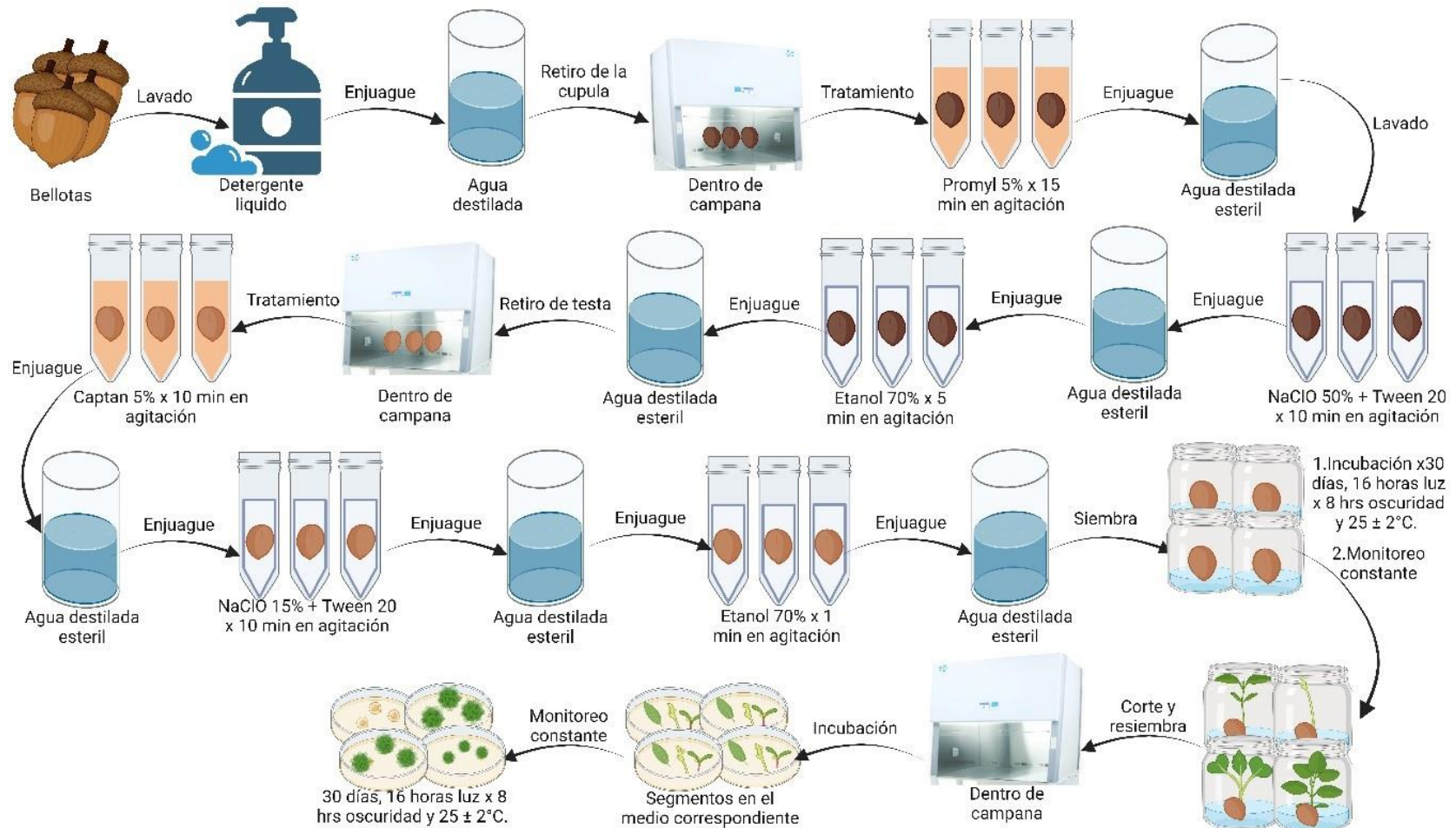


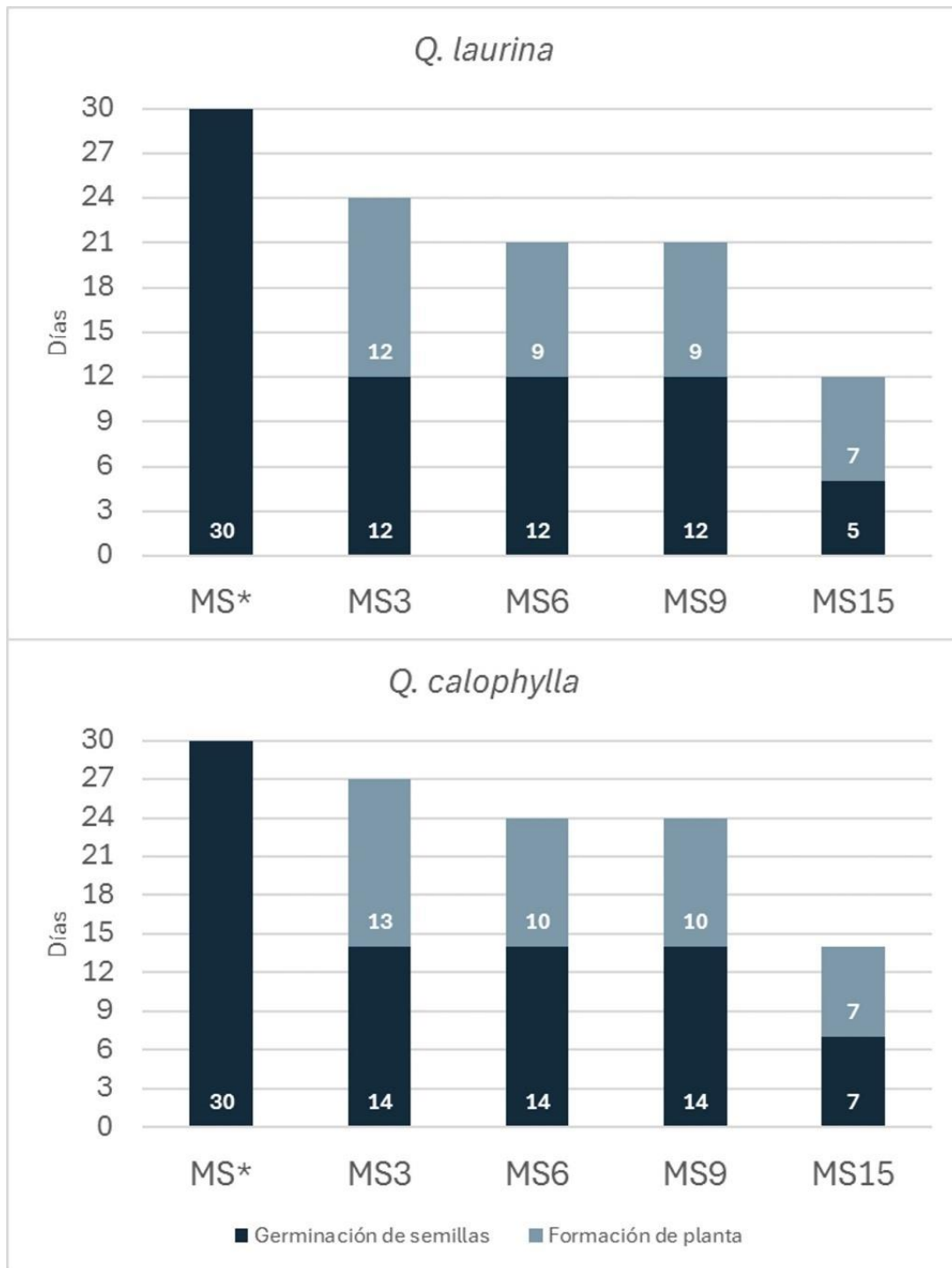
Diagrama 1. Pasos realizados desde la inocuidad de las bellotas hasta la producción de callo (Elaboración propia realizada mediante BioRender, 2024).

VI. Resultados

VI.I. Germinación *in vitro* de semillas de *Q. laurina* y *Q. calophylla*

Para evaluar la germinación de las dos especies de encinos se sembraron 40 semillas de *Q. laurina* y 40 semillas de *Q. calophylla* en frascos con los medios MS, MS3, MS6, MS9 y MS15 depositando una semilla en cada frasco y 10 frascos por cada medio, además de cinco semillas de cada especie en frascos que contenían medio MS sin reguladores del desarrollo vegetal, usado como grupo control.

Después de 30 días de incubación en medio MS, las semillas de ambas especies de encinos no germinaron o se indujo el desarrollo de tejido, indicando que esta condición y medio no resultaron los óptimos para la germinación (Grafica 1).



Grafica 1. Tiempo de germinación y desarrollo de plántulas de las especies de encino *Q. laurina* y *Q. calophylla*. Después de 30 días no se observó la germinación de semillas en el medio MS y, por consiguiente, tampoco la formación de plántula.

En el medio MS3, el 50% de las semillas de la especie *Q. laurina* (Tabla 8), lograron la germinación a los 12 días y a los 24 días (Gráfica 1), se observó el desarrollo de plántulas (Figura 2A); mientras que solo el 40% las semillas de *Q. calophylla* germinaron en este medio (Tabla 8), a los 14 días y a los 27 días (Gráfica 1), se observó la formación de plántulas (Figura 3A). Después de la germinación, el medio MS3 indujo principalmente la proliferación de tejido radicular y en ambos casos la altura de las plántulas fue menor a 2 cm.

El medio MS6 indujo la germinación del 80% de las semillas de *Q. laurina* (Tabla 8), a los 12 días de incubación y a los 21 días (Gráfica 1), se observó el desarrollo de plántulas con hojas verdaderas (Figura 2B), para *Q. calophylla* la germinación del 80% de las semillas se observó a los 14 días (Tabla 8), y el desarrollo de plántulas de aproximadamente 3 cm (Figura 3B), se observó a los 24 días (Gráfica 1).

El medio MS9 indujo la germinación del 60 % de semillas de *Q. laurina* (Tabla 8), a los 12 días de incubación y la formación de plántulas se observó a los 14 días de incubación (Gráfica 1), mientras que para la especie *Q. calophylla*, el 50 % de las semillas (Tabla 8), germinaron a los 14 días de incubación y el desarrollo de plántulas se observó a los 24 días de incubación (Gráfica 1). En el caso de ambas especies se observaron plántulas de aproximadamente 4 cm de altura con hojas verdaderas (Figura 2C y 3C).

Finalmente, el medio MS15 indujo la germinación del 80 % de las semillas de *Q. laurina* (Tabla 8), a los 5 días de incubación y 12 días para observar el desarrollo de plántulas (Gráfica 1), de aproximadamente 5 cm de altura con hojas verdaderas (Figura 2D), mientras que el 80 % de las semillas de la especie *Q. calophylla* (Tabla 8), tardaron en germinar 7 días y en desarrollarse como plántulas con hojas verdaderas (Figura 3D), tardaron 14 días (Gráfica 1). Este resultado indicó que el medio MS15 fue el que indujo junto con el medio MS6 el mayor porcentaje de germinación, pero acelerando el desarrollo de plántulas.

Tabla 8. Número de semillas y porcentaje de éxito en la germinación de las especies de encinos *Q. laurina* y *Q. calophylla*.

Clave del medio	<i>Quercus laurina</i>		<i>Quercus calophylla</i>	
	semillas germinadas	%	semillas germinadas	%
MS	0/5	0	0/5	0
MS3	5/10	50	4/10	40
MS6	8/10	80	8/10	80
MS9	6/10	60	5/10	50
MS15	8/10	80	8/10	80

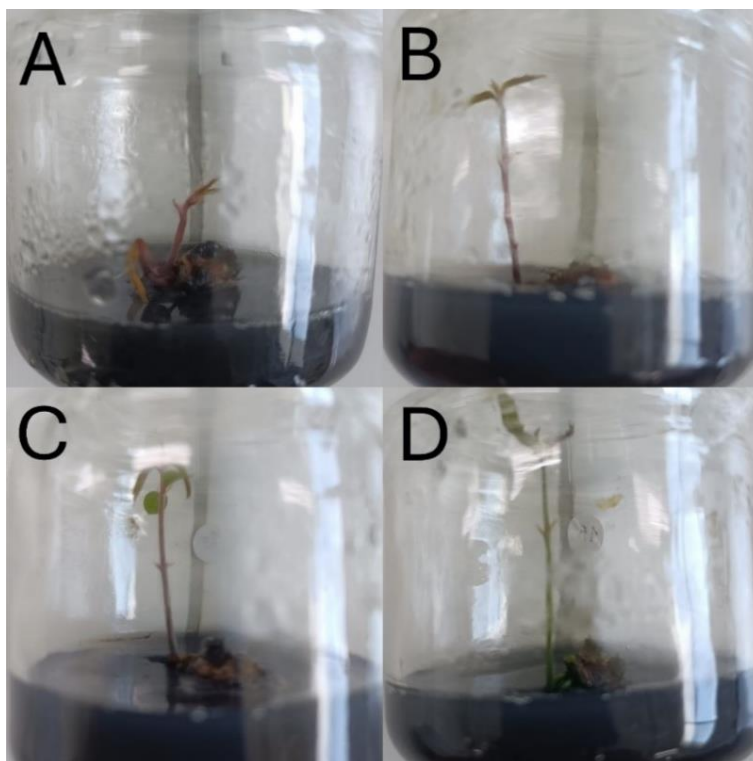


Figura 2. Desarrollo de plántulas de *Q. laurina* a 30 días de incubación en A. medio MS3, B. medio MS6, C. medio MS9 y D. medio MS15.

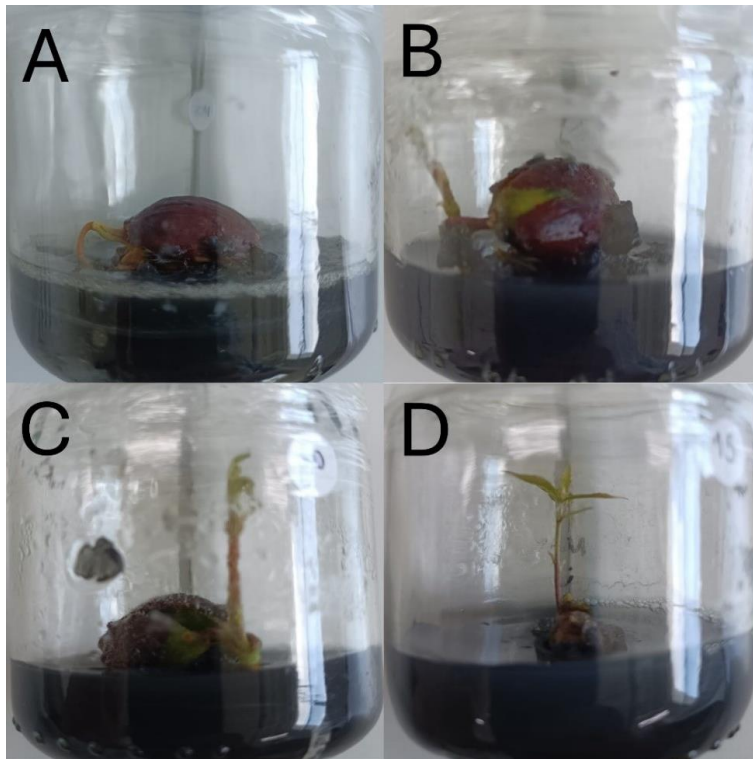


Figura 3. Desarrollo de plántulas de *Q. laurina* a 30 días de incubación en A. medio MS3, B. medio MS6, C. medio MS9 y D. medio MS15.

VI.II. Generación de callo a partir de explantes de *Q. laurina* y *Q. calophylla*

Una vez lograda la germinación de las semillas de encinos y el desarrollo de plántulas, estas fueron tomadas y seccionadas para ser colocadas en los cuatro medios de cultivo, en el medio MS3 se observó la formación de callo de *Q. laurina* en un 44.4% de los explantes (Tabla 10), a los 20 días posteriores a la siembra (Tabla 9), y para *Q. calophylla* el 41.7% de los explantes (Tabla 10), indujeron la formación de callo a los 23 días posteriores a la siembra (Tabla 9). En el caso de las dos especies, los callos fueron compactos, no clorofílicos, de coloración blanquecina-amarilla y de hasta 3 mm (Figura 4).

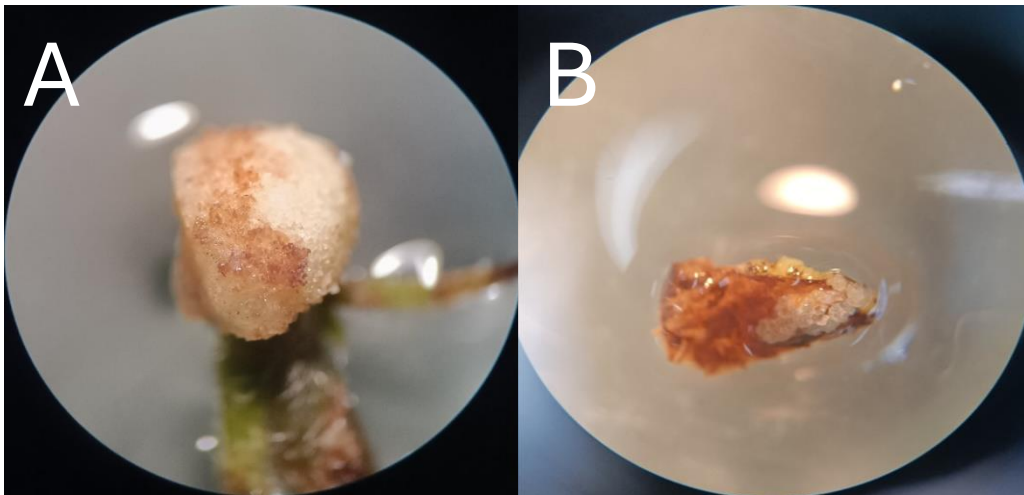


Figura 4. Vista al microscopio de callos a 30 días posteriores a la siembra de los explantes. A. Callo en medio MS3 de la especie *Q. laurina*, B. Callo en medio MS3 de la especie *Q. calophylla*.

En el medio MS6 se observó la formación de callo de *Q. laurina* a los 16 días de siembra (Tabla 9), en el 85.7% de los explantes (Tabla 10), y el 82.9% de los explantes de *Q. calophylla* (Tabla 10), indujeron la formación de callo a los 18 días de incubación (Tabla 9). En ambos casos se generaron callos compactos, no clorofílicos de 6 a 8 mm (Figuras 5).

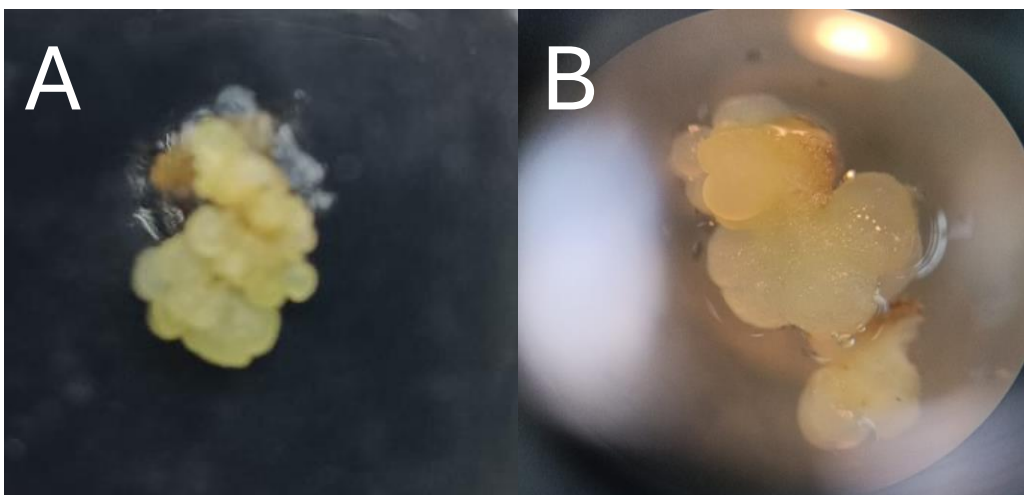


Figura 5. Vista al microscopio de callos a 30 días posteriores a la siembra de los explantes. A. Callo en medio MS6 de la especie *Q. laurina*, B. Callo en medio MS6 de la especie *Q. calophylla*.

En el medio MS9, el callo de a partir de explantes de *Q. laurina* se generó a los 17 días de siembra (Tabla 9), en el 79.4 % de los explantes (Tabla 10), los callos fueron parcialmente friables, clorofílicos y hasta de 6 mm (Figura 6A). Para *Q. calophylla*, el 72.4 % de los explantes (Tabla 10), indujeron la formación de callo a los 20 días posteriores a la siembra (Tabla 9), los callos obtenidos fueron parcialmente friables, no clorofílicos y desarrollaron oxidación parcial (Figura 6B).

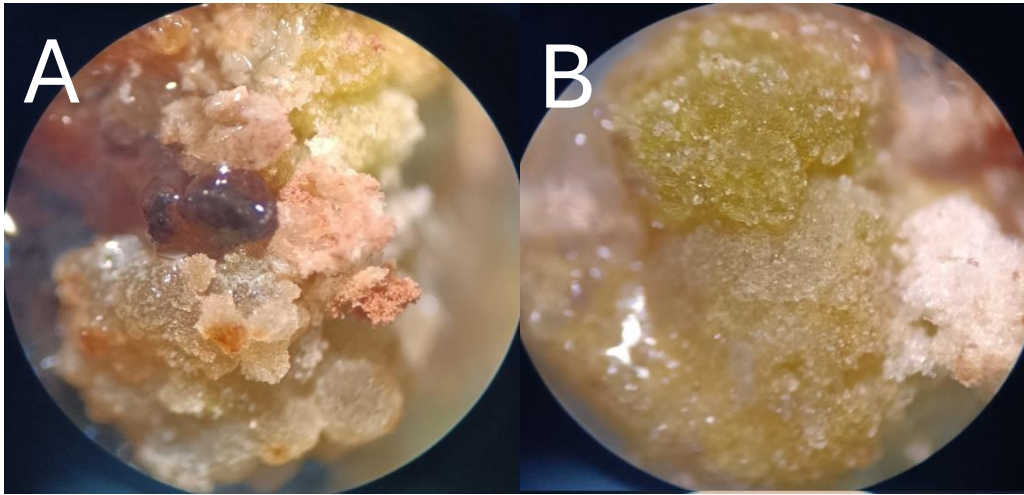


Figura 6. Vista al microscopio de callos a 30 días posteriores a la siembra de los explantes. A. Callo en medio MS9 de la especie *Q. laurina*, B. Callo en medio MS9 de la especie *Q. calophylla*.

El medio MS15 indujo la formación de callo en el 84.8% (Tabla 10), de los explantes de *Q. laurina* a los 16 días posteriores a la siembra (Tabla 9), generándose callos compactos, clorofílicos no mayores a 3 mm (Figura 7A); para *Q. calophylla* se indujo callo en el 82.9% de los explantes (Tabla 10), a los 19 días posteriores a la siembra (Tabla 9), estos callos fueron compactos, no clorofílicos con un poco de oxidación y no mayores a 3 mm (Figura 7B).

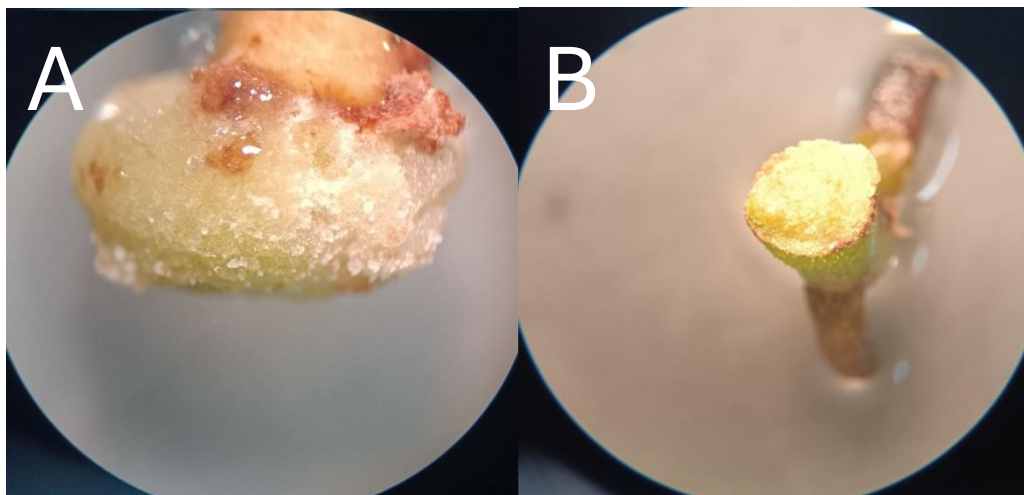


Figura 7. Vista al microscopio de callos a 30 días posteriores a la siembra de los explantes. A. Callo en medio MS15 de la especie *Q. laurina*, B. Callo en medio MS15 de la especie *Q. calophylla*.

Tabla 9. Tiempo de generación de callo a partir de explantes de *Q. laurina* y *Q. calophylla*

Clave del medio	<i>Quercus laurina</i>	<i>Quercus calophylla</i>
	Tiempo de inducción del callo	Tiempo de inducción del callo
MS3	20 días	23 días
MS6	16 días	18 días
MS9	17 días	20 días
MS15	16 días	19 días

Tabla 10. Generación de callo a partir de las plántulas germinadas de *Q. laurina* y *Q. calophylla*

Clave del medio	<i>Quercus laurina</i>			<i>Quercus calophylla</i>		
	Fragmentos de tejido	Callos generados	%	Fragmentos de tejido	Callos generados	%
MS3	18	8	44.4	12	5	41.7
MS6	42	36	85.7	35	29	82.9
MS9	34	27	79.4	29	21	72.4
MS15	46	39	84.8	41	34	82.9

VII. Discusión

De acuerdo con la CONAFOR (2020), los ecosistemas boscosos representan el 24.8% del territorio nacional y aunque no se cuenta con datos recientes, estos bosques presentan algún nivel de aprovechamiento (SEMARNAT, 2017), que de forma indiscriminada ha puesto en riesgo el equilibrio del medio ambiente (SEMARNAT, 2022; Milo, A., 2023), no obstante, la silvicultura ha generado propuestas para mitigar el efecto de esa explotación (CONAFOR, 2015; INIFAP, 2023; UNDP, 2024), por ejemplo, la propagación de especies forestales para la reposición de los recursos sustraídos (Werden, L., *et al.*, 2020), pero estos procesos pueden ser lentos y usar una gran cantidad de recursos, otra alternativa es la micropropagación o cultivo *in vitro* de especies vegetales (Błońska, E., *et al.*, 2022; Ye, W., *et al.*, 2022; Box, O., *et al.*, 2023; Ciaffi, M., *et al.*, 2018), sin embargo, en el caso de los encinos, que a pesar de ser un grupo forestal relevante ecológica y económicamente (Nixon, K., 2006), su propagación ha resultado difícil debido a la pérdida de bellotas por herbivoría, enfermedad o plaga y por lo recalcitrante de sus tejidos y semillas (Valencia, S., 2021), siendo la germinación de semillas en maceta una de las estrategias más exitosas (Rodríguez, M., 2021).

En este trabajo se planteó generar el cultivo de callo de los encinos *Quercus calophylla* y *Quercus laurina*, pero aunque se ha logrado la propagación de encinos utilizando tejidos como yemas, embriones, segmentos nodales de tallos (Favre, J., y Juncker, B., 1987; Manzanera, J., y Pardos, J., 1990; Schwarz, O., y Schlarbaum, S., 1993), plántulas (San José, M., *et al.*, 1990), brotes (Chalupa, V., 1993), nudos cotiledonales y embriones (Purohit, V., *et al.*, 2002a; Purohit, V., *et al.*, 2002b; Vengadesan, G., y Pijut, P., 2009), tubos peciolares (Tamta, S., *et al.*, 2008), entre otros, el establecimiento del cultivo *in vitro* de callo de encinos ha sido poco implementado.

Los resultados de este trabajo mostraron que después de llevar a cabo el proceso de limpieza y esterilización de las semillas de encinos, y ser colocadas en los medios que se prepararon, el medio MS no fue suficiente para inducir la germinación de las semillas aún después de 30 días de incubación, mientras que se ha reportado que para semillas de otras especies vegetales este medio es suficiente para inducir su germinación (Diantina, S., *et al.*, 2020; Agrawal, T., y Quraishi, A., 2024; Kaladharan, S., *et al.*, 2024), Las auxinas y las citocininas, han sido empleadas desde hace tiempo en el establecimiento de cultivos vegetales (Redhwan, A., *et al.*, 2023; Sarhang, M., *et al.*, 2023), por ejemplo, las auxinas 2,4-D, NAA y la citocinina BAP han sido usadas para inducir la germinación de semillas, (Hartmann, H., *et al.*, 1975; Kucera, B., *et al.*, 2005; Moradi, K., y Otroshy, M., 2012; Dissanayaka, N., *et al.*, 2015).

De igual manera, en este trabajo se pudo apreciar el efecto de este tipo de fitohormonas en la germinación de las semillas de las dos especies de encinos siendo el medio MS6 al que se adicionó BAP y NAA en el que se logró la germinación del 80 % de las semillas de *Q. laurina* a 12 días de incubación y 14 días de incubación para *Q. calophylla* (Grafica 1). Adicionalmente los compuestos aBSS4 o aBSS12 desarrollados en la BUAP (Zeferino, R., *et al.*, 2015), mostraron un efecto en la germinación como ha sido probado por Rojas, H., (2015), con semillas de orquídeas, en este trabajo el medio MS3 adicionado con 2, 4-D y el

aBSS4 indujo la germinación del 50 % de las semillas *Q. laurina* en 12 días y el 40 % de las semillas de *Q. calophylla* en 14 días, mientras que el medio MS9 adicionado con BAP, 2, 4-D y aBSS4, indujo la germinación del 60 % de las semillas *Q. laurina* en 12 días y el 50 % de las semillas de *Q. calophylla* en 14 días, pero el medio MS15 adicionado con BAP, NAA y aBSS12, indujo también un 80% de germinación de semillas pero en cinco días para *Q. laurina* y siete para *Q. calophylla*. Este resultado permite concluir que los medios MS3, MS6 y MS9 inducen la germinación en los mismos lapsos de tiempo, aunque el medio MS6 induce el mayor porcentaje de germinación, no obstante, el medio MS15 también indujo el 80% de la germinación, pero en un tiempo menor.

Para la inducción de callo se usaron los mismos medios empleados para la germinación, pero cabe señalar que, aunque en el laboratorio se han probado otros medios con otras combinaciones de compuestos, los medios presentados en la tabla 7 fueron los que en comparación con el medio MS promovieron la germinación de las semillas de las dos especies de encinos y la generación de callo, la cual se pudo apreciar en los cuatro medios probados (MS3, MS6, MS9 y MS15), no obstante los explantes puestos en el medio MS3 tardaron hasta 20 días para *Q. laurina* y 23 días para *Q. calophylla* en generar callos compactos no clorofílicos, en menos del 45% de los explantes (Figuras 4, 5, 6 y 7), esto puede deberse a que aún en presencia de las fitohormonas, el tejido se mantiene viable, pero el estímulo no es suficiente para inducir el desarrollo del callo como ha ocurrido en otros estudios en donde incluso la formación de callo es considerada como algo secundario (Purohit, V., *et al.*, 2002b).

Por otro lado, en el medio MS9 en el que el 79.4 % de los explantes de *Q. laurina* generaron callo en 17 días y el 72.4 % de explantes de *Q. calophylla* en 20 días, mientras que los medios MS6 y MS15 indujeron callo en más del 82 % de los explantes de *Q. laurina* en 16 días y *Q. calophylla* en 18 y 19 días (Tablas 9 y 10), sugiriendo que las auxinas y citocininas juegan un papel importante para el establecimiento del callo (Rodríguez M., y Tempe J., 2017; Gerszberg, A., *et al.*,

2015; Rodríguez, M., *et al.*, 2014; Martínez, N., *et al.*, 2013), particularmente cuando se usa BAP y NAA como lo muestra también San José, M., y cols., (2010), no obstante, la adición del compuesto aBSS12 permitió acelerar el proceso de callogénesis, y aunque este compuesto no se ha probado como promotor del desarrollo de cultivo de callo, esta familia de compuestos han mostrado en varias ocasiones una mejora en el desarrollo de las plantas incluso como atenuadores del estrés (Zeferino, R., *et al.*, 2015; Cruz, E., 2015; Rojas, H., 2015; Susano, E., 2019; Robles, K. del C., 2019; Santos, I., 2019), por lo que este resultado propone que el medio MS6 y MS15 son los mejores para la inducción de callo al menos para las especies de encinos usadas en este trabajo.

VIII. Conclusiones

Los resultados de este trabajo permiten concluir que:

1. La estrategia de limpieza y desinfección empleada permitió establecer los cultivos en condiciones axénicas.
2. Se diseñaron y establecieron cuatro medios nutritivos en los que se pudo probar la germinación de semillas y callogénesis de *Q. laurina* y *Q. calophylla*.
3. Se logró inducir exitosamente la germinación de las semillas de los encinos *Q. laurina* y *Q. calophylla*, siendo el mejor medio el MS15, y se propone probar la germinación de semillas de otras especies de encinos.
4. Se pudo inducir la callogénesis a partir de explantes de *Q. laurina* y *Q. calophylla*, siendo los medios MS6 y MS15 los mejores para la inducción de dicho cultivo.

Este proyecto de tesis propone una alternativa poco explorada para la propagación de las especies de encinos *Q. laurina* y *Q. calophylla* las cuales pueden tener aprovechamiento silvícola, y puede ser probada o adaptada en otras especies forestales además de los encinos.

IX. Bibliografía

1. Acosta, A., Peña, E., Castro, D. (2011). Evaluación de medios de cultivo para la producción *in vitro* de *Annona muricata* mediante la técnica de microinjertación seriada. *Acta Agronómica*, 60(2), 140-146.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28122011000200005
2. Agrawal, T., y Quraishi, A. (2024). *In vitro* seed germination for the seedling rescue of *Buchanania cochinchinensis* (Lour.) M.R. Almeida - a valuable tropical forest tree. *Vegetos/Vegetos - International Journal of Plant Research*.
<https://doi.org/10.1007/s42535-024-00864-w>
3. Albino, F., Hernández, R., Rodríguez, D., Mohedano, L. (2021). Calidad de planta de *Quercus rugosa* Née en vivero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 12(67).
<https://doi.org/10.29298/rmcf.v12i67.967>
4. Alcántara, J., Acero, J., Alcántara, J., Sánchez, R. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal.
<http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n32/1794-2470-nova-17-32-109.pdf>
5. Andrade, M. (2013). Efecto de un análogo de brasinoesteroide en la inclinación de la lámina de arroz y en los cultivos de frijol. Jardín Botánico Universitario, Laboratorio de Síntesis y Modificación de productos naturales, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura.
6. Andrade, A., Gómez, L., Torres, Y., Aguilera, G. (2021). Evaluación de medios de cultivo para el establecimiento, multiplicación y enraizamiento *in vitro* de Mora (*Rubus glaucus* Benth.). *Chilean Journal of Agricultural & Animal Sciences*, 37(2), 117–127.
<https://doi.org/10.29393/chjaas37-14emag40014>
7. Arriaga, L., Espinoza, J., Aguilar, C., Martínez, E., Gómez, L., Loa, E. (2000). Regiones terrestres prioritarias de México. CONABIO, México. RTP-105, Cuetzalan.
http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/rtp_105.pdf
8. Bajpai, P. (2013). Impactos ambientales y perspectivas futuras. Biorrefinería en la industria de la pulpa y el papel, 99–103. doi:10.1016/b978-0-12-409508-3.00005-5
9. Barra, A., Blasco, M., Ruiz, M., Celestino, C., Alegre, J., Arrillaga, I., Toribio, M. (2014). Cloning mature holm oak trees by somatic embryogenesis *Trees-Struct. Funct.*, 28 (3), pp. 657-667
10. Bassuk, N., y Coombes, A. (2021). Propagación por esquejes e injertos. En Manual para la propagación de *Quercus*. pp 46-54. <https://www.bgci.org/wp/wp-content/uploads/2021/01/MANUAL-PARA-LA-PROPAGACION-DE-QUERCUS.pdf>
11. Benoit, D. (2009). Clonal Oak Propagation by Grafting. *International Oak Journal* No, 20, 7.
<https://www.internationaloaksociety.org/sites/default/files//files/IO/IOS%20Journal%20%2320/International%20Oaks%20No.%2020%20-%20Clonal%20Oak%20Propagation%20by%20Grafting%20-%20Dirk%20Benoit.pdf>
12. BioRender. (2024). Biorender.com.
<https://app.biorender.com/illustrations/63c0534802f0282d81b309b8>
13. Blasco, M., Barra, A., Brisa, C., Corredoira, E., Segura, J., Toribio, M., Arrillaga, I. (2013). Somatic embryogenesis in holm oak male catkins *Plant Growth Regul.*, 71, pp. 61-270
14. Błórska, E., Kempf, M., Lasota, J. (2022). Woody debris as a substrate for the growth of a new generation of forest trees. *Forest Ecology and Management*, 525, 120566–120566. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120566>
15. Box, O., Dodds, K., Orwig, D., D'Amato, A. (2023). The effects of intensive eradication efforts for Asian longhorned beetle on understory plant communities, tree regeneration, and forest structure in southern New England hardwood forests. *Forest Ecology and Management*, 545, 121290–121290. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2023.121290>

16. Boyle, J., Tappeiner, J., Waring, R., Tattersall, C. (2016). Silvicultura sostenible: ecología y silvicultura para bosques resilientes. Módulo de Referencia en Sistemas Terrestres y Ciencias Ambientales. doi:10.1016/b978-0-12-409548-9.09761-x
17. Cárdenas, J., Álvarez, J., Barragan, E., Rivera, C. (2010). Efecto del ácido giberélico y la 6-bencilaminopurina sobre el desarrollo de yemas en injertos de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Agronomía Colombiana* 28(1), 19-27.
<http://www.scielo.org.co/pdf/agc/v28n1/v28n1a03.pdf>
18. Cernelos, D., Lozano, J., Giardina, E., Tognetti, J., di Benedetto, A. (2022). Cytokinin action revisited: leaf anatomical changes play a key role in 6-benzylaminopurine-driven growth promotion in pot-grown lettuce. *Revista Chapingo Serie Horticultura (En Línea)/Revista Chapingo. Serie: Horticultura*, 27(2), 109–133.
<https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2021.07.015>
19. Castillo, A. (2024). Propagación de plantas por cultivo *in vitro*: una biotecnología que nos acompaña hace mucho tiempo.
<http://inia.uy/en/Publicaciones/Documentos%20compartidos/111219220807102417.pdf>
20. Chalupa, V., (1993). Vegetative propagation of oak (*Quercus robur* and *Q. petraea*) by cutting and tissue culture. *Ann. Sci. For.*, 501: 295-307.
21. Chávez, J., Andrade, M., Juárez, P., Villegas, O., Sotelo, H., Perdomo, F. (2019). Evaluación de tres sistemas de cultivo *in vitro* para la multiplicación de microcormos de gladiolo. *Revista fitotecnia mexicana*. vol.41 no.4a.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802018000500551
22. Ciaffi, M., Alicandri, E., Vettrano, A., Paolacci, A., Tamantini, M., Tomao, A., Agrimi, M., Kuzminsky, E. (2018). Conservation of veteran trees within historical gardens (COVE): a case study applied to *Platanus orientalis* L. in central Italy. *Urban Forestry & Urban Greening*, 34, 336–347. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2018.07.022>
23. Cohen, M. (2017). Riesgo ambiental: La aportación de Ulrich Beck. *Acta Sociológica (México)*, 73, 171–194. <https://doi.org/10.1016/j.acso.2017.08.006>
24. CONAFOR. (2001). Modelos Propuestos para la Recuperación Forestal. Programa Regional Hidrológico Forestal Lerma-Santiago-Pacífico.
<http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/12/161Modelos%20de%20Recuperaci%C3%B3n%20Forestal%20Propuestos%20para%20la%20Regi%C3%B3n%20VIII,%20Lerma-Santiago-Pac%C3%ADfico.pdf>
25. CONAFOR. (2015). Silvicultura Comunitaria.
<https://www.gob.mx/conafor/documentos/silvicultura-comunitaria-27813#:~:text=La%20silvicultura%20comunitaria%20se%20concibe,y%20ejidos%20for estales%20en%20M%C3%A9xico>.
26. CONAFOR. (2016). Catálogo de Tipos de Vegetación Natural e Inducida de México.
https://www.snieg.mx/Documentos/Normatividad/Vigente/cat_tem_gen_tipos_veg_oct2016.pdf
27. CONAFOR. (2017). Catálogo de Productos Forestales Certificados.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/213032/Catalogo_de_Productos_Forestales_Certificados.pdf
28. CONAFOR. (2020). El Sector Forestal Mexicano en Cifras 2020.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/644967/El_Sector_Forestal_Mexicano_en_Cifras_2020_compressed__1_.pdf
29. CONAFOR. (2022). Aprovechar el bosque con equilibrio.
<https://www.gob.mx/conafor/articulos/aprovechar-el-bosque-con-equilibrio#:~:text=El%20manejo%20forestal%20sustentable%20consiste,y%20restauraci%C3%B3n%20de%20los%20ecosistemas>.
30. CONABIO. (2021). La biodiversidad en Puebla: Estudio de Estado | Biodiversidad Mexicana. https://www.biodiversidad.gob.mx/region/EEB/estudios/ee_puebla
31. CONABIO. (2023). México megadiverso | Biodiversidad Mexicana.
<https://www.biodiversidad.gob.mx/pais/quees>

32. Corredoira, E., San José, M., Vieitez, A. (2012). Induction of somatic embryogenesis from different explants of shoot cultures derived from young *Quercus alba* trees. *Trees-Struct. Funct.*, 26 (3) pp. 881-891.
33. Corredoira, E., Cano, V., Bárány, I., Solís, M., Rodríguez, H., Vieitez, A., Risueño, M., Testillano, P. (2017). Initiation of leaf somatic embryogenesis involves high pectin esterification, auxin accumulation and DNA demethylation in *Quercus alba*. *Journal of Plant Physiology*, 213, 42–54. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2017.02.012>
34. Cruz, E. (2015). Efecto de una serie de análogos de brasinoesteroides en el desarrollo celular y crecimiento de mono y dicotiledóneas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura
35. Data México. (2020). Zacapoaxtla: Economía, empleo, equidad, calidad de vida, educación, salud y seguridad pública. <https://www.economia.gob.mx/datamexico/es/profile/geo/zacapoaxtla#:~:text=La%20po%20blaci%C3%B3n%20total%20de%20Zacapoaxtla,%25%20mujeres%20y%2046.9%25%20hombres.>
36. Davies, K., y Derolles, S. (2014). Prospects for the use of plant cell cultures in food biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 133–140. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.010>
37. da Silva, J., Cardoso, J., Dobránszki, J., Zeng, S. (2015). *Dendrobium* micropropagation: a review. *Plant Cell Reports*, 34(5), 671-704. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1754-4>
38. Diantina, S., Kartikaningrum, S., Clavijo, A., Millner, J., McGill, C., Pritchard, H., Nadarajan. J. (2020). Comparative *in vitro* seed germination and seedling development in tropical and temperate epiphytic and temperate terrestrial orchids. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 143(3), 619–633. <https://doi.org/10.1007/s11240-020-01947-7>
39. Dissanayaka, N., Kodikara, K., Vithanage, D., Krishnarajah, S., Rubasinghe, M., Dayananda, T. (2015). Effects of 6-Benzylaminopurine (BAP) Treatment on Seed Germination and Seedling Vigour of Endemic Herb *Exacum trinervium* L. in Sri Lanka: Conservation strategy. *Journal of the University of Ruhuna* 3(1):14-20.
40. Delgadillo, J., Morales, J., Santos, M., Pérez, E. (2013). *In vitro* propagation of Mexican oaks (*Quercus spp.*). *Polibotánica*. Núm. 35, pp. 85-97, ISSN 1405-2768; México. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682013000100005&lng=es&tlng=
41. Douglas, J., Tattersall, T., Smith, C., Tappeiner, J., Boyle, J. (2016). Economic Considerations for Sustainable Forestry. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.09484-7>
42. Favre, J., y Juncker, B. (1987). *In vitro* growth of buds taken from seedlings and adult plant material in *Quercus robur* L. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 8: 49-60.
43. Friml, J., (2003). Auxin transport — shaping the plant. *Current Opinion in Plant Biology*, 6(1), 7–12. <https://doi.org/10.1016/s1369526602000031>
44. Friml, J., Vieten, A., Sauer, M., Weijers, D., Schwarz, H., Hamann, T., Offringa, R., Jurgens, G. (2003). Los gradientes de auxina dependientes del flujo de salida establecen el eje apical-basal de *Arabidopsis* *Naturaleza*, 426 (6963), págs. 147-153
45. Gamborg, O., Miller, R., Ojima, K. (1968). Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research*, 50(1), pp. 151–158. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(68\)90403-5](https://doi.org/10.1016/0014-4827(68)90403-5)
46. Garay, A., de la Paz, M., García, B., Álvarez, E., y Gutiérrez, C. (2014). La Homeostasis de las Auxinas y su Importancia en el Desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *REB. Revista de Educación Bioquímica*, 33(1), 13–22. https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-19952014000100003
47. García, G., Manzanera, J., González, M. (2005). Effect of exogenous ABA on embryo maturation and quantification of endogenous levels of ABA and IAA in *Quercus suber*

- somatic embryos. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 80(2), 171-177.
<https://doi.org/10.1007/s11240-004-1056-y>
48. Germáná, M., y Lambardi, M. (2016). *In vitro* embryogenesis in higher plants. *Methods in Molecular Biology series*, Vol. 1359, Springer Protocols, Humana Press. p. 1359.
 49. Gerszberg, A., Hnatuszko, K., Kowalczyk, T. (2015). *In vitro* regeneration of eight cultivars of *Brassica oleracea* var. capitata. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 51(1), 80-87. <https://doi.org/10.1007/s11627-014-9648-7>
 50. Gómez, D. (2013). Efecto del análogo de Brasinoesteroide en lámina de arroz. Jardín Botánico Universitario, Laboratorio de Síntesis y Modificación de Productos Naturales, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura
 51. González, R. (2022). Zacapoaxtla relata en sus monumentos la historia del 5 de Mayo. Grupo Milenio. <https://www.milenio.com/politica/comunidad/zacapoaxtla-relata-monumentos-historia-5-mayo>
 52. González, M., Meave, J., Lorea, F., Ibarra, G., Newton, A. (2011). The Red List of Mexican Cloud Forest Trees. FFI, BGCI, Cambridge, UK.
 53. Hardÿ, de B.A. y Lamant, T. (2006). Guide illustré des Chênes, in 2 volumes. Editions du 8ème, Paris, France.
 54. Hartmann, H., Kester, D., Davies, F., Geneve, R. (1975). *Plant Propagation: Principles and Practices*. Upper Saddle River, Nueva Jersey: Prentice Hall. pp. 289, 309-310, 561, 598.
 55. Hasnain, A., Hasan, S., Iqra, S., Khalid, F., Ellahi, M., Iqbal, S., Zeeshan, M., Abbas, A., Adamski, R., Markowska, D., Baazeem, A., Mustafa, G., Moustafa, M., Hasan, M., Abdelhamid, M. (2022). Plants *in vitro* propagation with its applications in food, pharmaceuticals and cosmetic industries; current scenario and future approaches. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1009395>
 56. Heathcoat, A. (2009). *The Oaks of Chevithorne Barton*, Adelphi Publishers, London. ISBN 10: 095623870X ISBN 13: 9780956238702
 57. Hernández, A., y Diaz, H. (2019). Inducción *in vitro* de callo embriogénico a partir del cultivo de anteras en "papa amarilla" *Solanum goniocalyx* Juz. y *Bukasov* (*Solanaceae*). *Arnaldoa*, 26(1). <https://doi.org/10.22497/arnaldoa.261.26111>
 58. Hernández, A., Argüelles, A., Cortez, A., Díaz, H. (2021). Inducción *in vitro* de callos a partir de explantes foliares en rocoto (*Capsicum pubescens* Ruiz & Pav.). *La Granja. Revista de Ciencias de La Vida*, 34(2), 131–140.
<https://www.redalyc.org/journal/4760/476068396011/html/>
 59. Hoagland, D., y Arnon, D. (1950). The water-culture method for growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station*. Vol. 347, No. 2nd edit, pp. 32. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19500302257>
 60. Indacochea, B., Parrales, J., Hernández, A., Castro, C., Vera, M., Zhindón, A., Gabriel, J. (2018). Evaluación de medios de cultivo *in vitro* para especies forestales nativas en peligro de extinción en Ecuador. *Agronomía Costarricense*, 42(1). <http://dx.doi.org/10.15517/rac.v42i1.32203>
 61. INECC. (2024). Contexto Internacional en materia de Cambio Climático. <https://www.gob.mx/inecc/acciones-y-programas/contexto-internacional-1705>
 62. INEGI. (2000). Síntesis Geográfica del Estado de Puebla. ISBN 970-13-2365-3. https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/historicos/2104/702825222949/702825222949_1.pdf
 63. INEGI. (2007). Clasificación para Actividades Económicas. 2007. Ciudad de México: INEGI, p.9.
 64. INEGI. (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010, Zacapoaxtla, Puebla. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/21/21207.pdf
 65. INEGI. (2017). Anuario estadístico y geográfico de Puebla 2017. https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/anuarios_2017/702825094973.pdf

66. INEGI. (2020). Censo de Población y Vivienda 2020. <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2020/>
67. INEGI. (2022). Producto Interno Bruto por entidad federativa 2021 <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2022/PIBEF/PIBEF.pdf>
68. INEGI. (2024). Clima. Puebla. <https://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/pue/territorio/clima.aspx?tema=me&e=21>
69. INEGI. (2024). Flora y fauna, Puebla. https://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/pue/territorio/recursos_naturales.aspx?tema=me&e=21
70. INEGI. (2024) Relieve. Puebla. <https://cuentame.inegi.org.mx/monografias/informacion/pue/territorio/relieve.aspx?tema=me&e=21>
71. INEGI. (2024). Vegetación. Cuéntame de México. <https://cuentame.inegi.org.mx/territorio/vegetacion/pastizal.aspx?tema=T#:~:text=Se%20caracteriza%20por%20su%20vegetaci%C3%B3n,son%20propicios%20para%20su%20crecimiento.>
72. INIFAP. (2024). Plantaciones forestales, una alternativa económica para el desarrollo forestal. <https://www.gob.mx/inifap/articulos/plantaciones-forestales-una-alternativa-economica-para-el-desarrollo-forestal#:~:text=a%20los%20recursos-,Las%20Plantaciones%20forestales%20son%20una%20alternativa%20econ%C3%B3mica%20para%20el%20desarrollo,captura%20de%20carbono%2C%20producci%C3%B3n%20de>
73. IUCN. (2023). The IUCN Red List of Threatened Species.; Name. <https://www.iucnredlist.org/>
74. IUCN. (2023). The IUCN Red List of Threatened Species.; Name. <https://www.iucnredlist.org/about/background-history>
75. Jerome, D. (2018). *Quercus laurina*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T78968154A78968168. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T78968154A78968168.en>
76. Jerome, D., Kenny, L. Wenzell, K. (2018). *Quercus calophylla*. The IUCN Red List of Threatened Species 2018: e.T194071A2296178. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-1.RLTS.T194071A2296178.en>
77. Jiménez, F. (1993). Viveros forestales para producción de planta a pie de repoblación. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Secretaria General de Estructuras Agrarias. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1993_06.pdf
78. Kaladharan, S., Rengasamy, A., Chinnaiyan, R., Mariappan, M., Thirupathi, S. (2024). *In vitro* asymbiotic seed germination and micropropagation of *Dendrobium heyneanum* Lindl. – an endemic orchid of Western Ghats, India. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 157(2). <https://doi.org/10.1007/s11240-024-02758-w>
79. Kaur, H., Tashima, N., Singh, S., Hussain, S. (2023). Interplay between phytohormones and hydrogen sulfide regulates plant growth and development under normal and abiotic stresses. *Elsevier EBooks*, 265–281. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-91886-2.00015-x>
80. Kim, J., Kim, H., Han, S., Lee, H., Han, J., Kim, T., Seong, S., Kim, B., Lee, H., Seo, C., Kim, J., Im, S., Jung, J., Choi, K., Jeong, J. (2024). *In vitro* callus induction and growth for medicinal use of an endangered Korean native plant, *Glochidion chodoense* C. S. Lee & H. T. Im. *Rhizosphere*, 29, 100863–100863. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2024.100863>
81. Kucera, B., Cohn, M., Leubner, G. (2005). Plant hormone interactions during seed dormancy release and germination. *Seed Science Research* 15: 281-307. <https://doi.org/10.1079/ssr2005218>

82. Landsat, Copernicus. (2020). Estados Unidos Mexicanos [Imagen satelital editada]. Google Earth Pro (Aplicación de escritorio).
83. Landsat, Copernicus. (2020). Zacapoaxtla, Puebla, México [Imagen satelital editada]. Google Earth Pro (Aplicación de escritorio).
84. Liu, Z., Wen, F., Cheng, X., Wu, Z. (2023). Nano-controlled release of phytohormones will broaden its application on plant protection. *Advanced Agrochem*.
<https://doi.org/10.1016/j.aac.2023.11.004>
85. Lloyd, G., McCown, B. (1981). Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Proc. Intl. Plant Prop. Soc.* 30:421-427. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19830315515>
86. Lozano, J., Lugo, K., Rosales, L., Juárez, O., Vásquez, S. (2021). Ecología y Propagación de *Quercus* de la Sierra de Santa Rosa, Guanajuato. *Jóvenes en la Ciencia*, 10.
<https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/3444>
87. Manzanera, J., y Pardos, J. (1990). Micropropagation of juvenile and adult *Quercus suber* L. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 21: 1-8.
88. Martínez, N., Arévalo, K., Verde, M., Oranday, A., Rivas, C., Treviño, J., Morales, M. (2013). Germinación *in vitro* e inducción de callo en *Rubus adenotrichus* Schldl. *Polibotánica*, 35, 99–107.
https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682013000100006
89. Méndez, H., Ledezma, M., Avilez, R., Juárez, Y., Skeete, A., Avilez, J., De la Peña, C., Loyola, V. (2019). Signaling Overview of Plant Somatic Embryogenesis. *Front Plant Sci.* 2019 Feb 7;10:77. doi: 10.3389/fpls.2019.00077. PMID: 30792725; PMCID: PMC6375091.
90. Milo, A. (2023). Estamos a punto del colapso: la extinción humana está más cerca de lo que se esperaba. *National Geographic en español*.
<https://www.ngenespanol.com/ciencia/estamos-a-punto-del-colapso-la-extincion-humana-esta-cerca/>
91. Moradi, K., y Otroshy, M. (2012). A combination of chemical scarification and 6-Benzylaminopurine (BAP) treatment promote seed germination in *Dracocephalum kotschyi* seeds. *Trakia Journal of Sciences* 10(3): 26-29.
92. Moreno, A., (2009). Efecto del análogo de Brasinosteroides en diferentes variedades de Maíz (*Zea mays* L.) criollo. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura.
93. Murashige, T., y Skoog, F. (1962). Un medio revisado para el crecimiento rápido y bioensayos con cultivos de tejidos de tabaco. *Fisiología Plantarum*, 15(3), 473–497. doi:10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x
94. Nelson, C. (2008). Catálogo de las plantas vasculares de Honduras. Espermatofitas. Editorial Guaymuras, primera edición, 2008, 1576 pp. ISBN: 978-99926-44-80-5
95. Nixon, K. (2006) *Global and Neotropical Distribution and Diversity of Oak (Genus Quercus) and Oak Forests, en Ecology and Conservation of Neotropical Montane Oak Forests*. San José, Costa Rica: Springer, pp. 3–12.
96. Nitsch, J., y Nitsch, C. (1969). Haploid Plants from Pollen Grains. *Science*, 163(3862), 85–87. <https://doi.org/10.1126/science.163.3862.85>
97. Olsson, S., Dauphin, B., Jorge, V., Grivet, D., Farsakoglou, A., Climent, J., Alizoti, P., Faivre, P., Pinosio, S., Milesi, P., Scalabrin, S., Bagnoli, F., Scotti, I., Vendramin, G., Gonzalez, S., Fady, B., Aravanopoulos, F., Bastien, C., Alia, R. (2023). Diversity and enrichment of breeding material for resilience in European forests. *Forest Ecology and Management*, 530, 120748–120748. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2022.120748>
98. Omondi, C., Rakkammal, K., Jeevan, P., Pavan, K., Ragavan, K., Anitha, R., Govindan, S., Kher, M., Drori, E., Ramesh, M. (2024). Micropropagation, genetic fidelity and chromatographic analysis in *Evolvulus alsinoides* (L.): A potent multipurpose medicinal

- plant. *Industrial Crops and Products*, 213, 118444–118444. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118444>
99. Peña, N. (2012). Evaluación de Análogos de Brasinoesteroides mediante el bioensayo del frijol (*Phaseolus vulgaris*). Jardín Botánico Universitario; Facultad de Ciencias Químicas. Departamento de Química Orgánica BUAP, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura
 100. Porta, H., y Jiménez, G. (2019). Papel de las hormonas vegetales en la regulación de la autofagia en plantas. *TIP. Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, Vol. 22. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.160>
 101. PROFEPA. (2024). Importancia de los Ecosistemas Forestales; Especies de los Bosques y Selvas. <https://www.gob.mx/profepa/articulos/importancia-de-los-ecosistemas-forestales-especies-de-los-bosques-y-selvas?idiom=es#:~:text=Entre%20otros%20servicios%2C%20los%20bosques,actividades%20socioculturales%20de%20sus%20habitantes>.
 102. Purohit, V., Palni, L., Nandi, S., Rikhari, H. (2002a). *In vitro* regeneration of *Quercus floribunda* Lindl. through cotyledonary nodes: an important tree of Central Himalaya. *Current Science*, 833: 312-316
 103. Purohit, V., Tamta, S. Chandra, S., Vyas, P., Palni, L., Nandi, S. (2002b). *In vitro* multiplication of *Quercus leucotrichophora* and *Q. glauca*: Important Himalayan oaks. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.*, 69: 121-133.
 104. Quoirin, M., y Lepoivre, P. (1977). Etude de milieux adaptes aux cultures *in vitro* de *Prunus*. *Acta Horticulturae* 78: 437-442. DOI: 10.17660/ActaHortic.1977.78.54
 105. Rajewski, A., Elkins, K., Henry, A., Eck, J., Litt, A. (2019). *In vitro* plant regeneration and *Agrobacterium tumefaciens*–mediated transformation of *Datura stramonium* (*Solanaceae*). *Applications in Plant Sciences*, 7(2). <https://doi.org/10.1002/aps3.1220>
 106. Redhwan, A., Acemi, A., y Özen F. (2023). Effects of plant growth regulators on *in vitro* seed germination, organ development and callogenesis in *Pancreatium maritimum* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 154(1), 97–110. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02514-6>
 107. Rihan, S., Al-Issawi, M., Al-swedi, F., Fuller, M. (2012). The effect of using PPM (plant preservative mixture) on the development of cauliflower microshoots and the quality of artificial seed produced. *Scientia Horticulturae*, 141, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.03.018>
 108. Rizwan, H., Irshad, M., He, B., Liu, S., Lu, X., Sun, Y., Qiu, D. (2020). Role of reduced nitrogen for induction of embryogenic callus induction and regeneration of plantlets in *Abelmoschus esculentus* L. *South African Journal of Botany*, 130, 300–307. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.01.016>
 109. Robles, K. del C. (2019). Respuesta molecular inducida por promotores del crecimiento vegetal en plantas de maíz sometidas a estrés por frío. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura.
 110. Rodríguez, M. (2021). La germinación de los encinos, la experiencia mexicana. En *Manual para la propagación de Quercus*. pp 28-34. <https://www.bgci.org/wp/wp-content/uploads/2021/01/MANUAL-PARA-LA-PROPAGACION-DE-QUERCUS.pdf>
 111. Rodríguez, M., y Tampe, J. (2017). Efectos del ácido giberélico, N6-bencilaminopurina y fluridona sobre la germinación *in vitro* de *Aristotelia chilensis*. *Bosque*, 38(3), 593–597. <https://doi.org/10.4067/s0717-92002017000300017>
 112. Rodríguez, M., Latsague, M., Chacón, M., Astorga, P. (2014). Inducción *in vitro* de callogénesis y organogénesis indirecta a partir de explantes de cotiledón, hipocótilo y hoja en *Ugni molinae*. *Bosque*, 35(1), 21–22. <https://doi.org/10.4067/s0717-92002014000100011>
 113. Rojas, H. (2015). Influencia del análogo de Brasinoesteroide BSS4 en el desarrollo de plántulas de *Epidendrum ciliare* (*Orchidaceae*). Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura.

- <https://repositorioinstitucional.buap.mx/bitstream/handle/20.500.12371/7141/41115T.pdf?sequence=1>.
114. Rosa, W., Martins, J., Rodrigues, E., Rodrigues, L., Gontijo, A., Falqueto, A. (2018). Photosynthetic apparatus performance in function of the cytokinins used during the *in vitro* multiplication of *Aechmea blanchetiana* (Bromeliaceae). *Plant Cell Tiss Organ Cult.*, 133. pp. 339-350. <https://doi.org/10.1007/s11240-018-1385-x>
 115. Rosaliano, R., Ávila, V., Franco, S., Valencia, S., López, L. (2022). Estructura y diversidad arbórea en bosques de encino del centro de México. *Madera Y Bosques*, 28(2). <https://doi.org/10.21829/myb.2022.2822449>
 116. San José, M., Vieitez, A., Ballester, A. (1990). Clonal propagation of juvenile and adult trees of sessile oak by tissue culture techniques. *Silvae Genet.* 392: pp 50–55
 117. San José, M., Corredoira, E., Martínez, M., Vidal, N., Valladares, S., Mallón, R., Vieitez, A. (2010). Shoot apex explants for induction of somatic embryogenesis in mature *Quercus robur* L. trees. *Plant Cell Reports*, 29(6), 661–671. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0852-6>
 118. Santos, I. (2019). Papel de compuestos promotores de crecimiento vegetal sobre plantas infectadas con virus. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura.
 119. Sarhang, M., Acemi, A., y Türker, S. (2023). Comparison of the effects of cytokinins and chitosan on *in vitro* seed germination and organ development in radish. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 154(1), 29–41. <https://doi.org/10.1007/s11240-023-02507-5>
 120. Schenk, R., y Hildebrandt, A. (1972). Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. *Home Canadian Journal of Botany* Volume 50, Number 1. <https://doi.org/10.1139/b72-026>
 121. Schwarz, O., y Schlarbaum, S. (1993). Axillary bud proliferation of 2 North American oak species: *Quercus alba* and *Quercus rubra*. *Ann. Sci. For.*, 50: 340-343.
 122. Sedano, G., Manzo, A., Roldán, R., Castellanos, J. (2015). Propagación *in vitro* de orquídeas y otras ornamentales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, vol. 1. pp. 451-456. <https://www.redalyc.org/pdf/2631/263139243061.pdf>
 123. SEMARNAT. (2017). Anuario estadístico de la producción forestal. <https://dsiappsdev.semarnat.gob.mx/datos/portal/publicaciones/2020/2017.pdf>
 124. SEMARNAT. (2022). Denuncia la Tala ilegal y la Deforestación. <https://www.gob.mx/sspc/articulos/protejamos-el-medio-ambiente>
 125. SEMARNAT. (2024). Ecosistemas terrestres. https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe15/tema/pdf/Cap2_Ecosistemas.pdf
 126. SEMARNAT. (2024). Ley general de desarrollo forestal sustentable. https://dsiappsdev.semarnat.gob.mx/datos/juridico/leyes/LG_DE_DESARROLLO_FOR_ESTAL_SUSTENTABLE.pdf
 127. SEMARNAT. (2024). México, biodiversidad que asombra. <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/mexico-biodiversidad-que-asombra>
 128. SNIEG. (2024). La vegetación y el uso del suelo en México. https://www.snieg.mx/DocAcervoINN/documentacion/inf_nvo_acervo/SNIGMA/Uso_Suelo_Vegetacion/vegmex.pdf
 129. Steiner, N., Farias, F., Schmidt, E., Pereira, M., Scheid, B., Rogge, G., Bouzon, Z., Schmidt, D., Maldonado, S., Guerra, M. (2016). Toward establishing a morphological and ultrastructural characterization of proembryogenic masses and early somatic embryos of *Araucaria angustifolia* (Bert.) Kuntze, O. *Protoplasma*, 253 (2), pp. 487-501
 130. Susano, E. (2019). Promotores novedosos de crecimiento vegetal afectan la expresión génica en plantas de *Zea mays* bajo condiciones de estrés. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura.
 131. Tamta, S., Palni, L., Purohit, V., Nandi, S. (2008). *In vitro* propagation of brown oak (*Quercus semecarpifolia* Sm.) from seedling explants. *In Vitro Cell. Dev. Biol-Plant*, 44: 136-141.

132. Tardast, Z., Iranbakhsh, A., Ebadi, M., Oraghi, Z. (2023). Carboxylic acid-functionalized multiwalled carbon nanotubes (COOH-MWCNTs) improved production of atropine in callus of *Datura innoxia* by influencing metabolism, gene regulation, and DNA cytosine methylation; an *in vitro* biological assessment. *Plant Physiology and Biochemistry*, 202, 107975–107975. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2023.107975>
133. Testillano, P., Gómez, A., Pintos, B., Risueño, M. (2018). Somatic Embryogenesis of *Quercus suber* L. From Immature Zygotic Embryos. Loyola-Vargas, V., Ochoa-Alejo, N. (eds) *Plant Cell Culture Protocols. Methods in Molecular Biology*, vol 1815. Humana Press, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8594-4_16
134. Teixeira, H., Cunha, P., Aparecida, T., Scherwinski, J. (2016). Regeneration of somatic embryos of oil palm (*Elaeis guineensis*) using temporary immersion bioreactors. *Industrial Crops and Products*, 89, 244–249. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.05.021>
135. Thomas, T. (2008). The role of activated charcoal in plant tissue culture. *Biotechnology Advances*, 26(6), 618-631. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.08.003>
136. UNDP. (2024). Guía base para el establecimiento de viveros forestales. https://www.undp.org/sites/g/files/zskgke326/files/migration/cr/undp_cr_Guia_base_est_ablecimiento_viveros_forestales_20.pdf
137. Valencia, S. (2004). Diversidad del género *Quercus* (*Fagaceae*) en Boletín de La Sociedad Botánica de México, 75, 33–53. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57707503>
138. Valencia S. (2021). Importancia de los encinos, en Manual para la propagación de *Quercus*. pp 1-4. <https://www.bgci.org/wp/wp-content/uploads/2021/01/MANUAL-PARA-LA-PROPAGACION-DE-QUERCUS.pdf>
139. Valencia S., Rodríguez, M., Coombes, A. (2021). La importancia de cultivar encinos, en Manual para la propagación de *Quercus*. pp 5-20. <https://www.bgci.org/wp/wp-content/uploads/2021/01/MANUAL-PARA-LA-PROPAGACION-DE-QUERCUS.pdf>
140. Valencia A., Coombes, A., Villaseñor, J. 2018. *Quercus candicans* (*Fagaceae*) is not a *Quercus* but a *Roldana* (*Asteraceae*). *Phytotaxa* 333(2): 251-258.
141. Vengadesan, G., y Pijut, P. (2009). *In vitro* propagation of northern red oak (*Quercus rubra* L.). *In vitro Cell. Dev. Biol-Plant*, 45: 474-482.
142. Vieitez, A., Corredoira, E., Ballester, A., Muñoz, F., Durán, J. (2009). *In vitro* regeneration of the important North American oak species *Quercus alba*, *Quercus bicolor* and *Quercus rubr*. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.*, 98, pp. 135-10.1007/s11240-009-9546-6
143. Vidal, N., Arellano, G., San José, M., Vieitez, A., Ballester, A. (2003). Developmental stages during the rooting of *in-vitro* cultured *Quercus robur* shoots from material of juvenile and mature origin. *Tree Physiology*, 23(18), 1247-1254. <https://doi.org/10.1093/treephys/23.18.1247>
144. Wenzell, K., Kenny, L., Jerome, D. (2017). IUCN Red List of Threatened Species: *Quercus calophylla*. IUCN Red List of Threatened Species; Name. <https://www.iucnredlist.org/species/194071/2296178>
145. Werden, L., Sugii, N., Weisenberger, L., Keir, M., Koob, G., Zahawi, R. (2020). *Ex situ* conservation of threatened plant species in island biodiversity hotspots: A case study from Hawai'i. *Biological Conservation*, 243, 108435–108435. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2020.108435>
146. Ye, W., Lao, J., Liu, Y., Chang, C., Zhang, Z., Li, H., Zhou, H. (2022). Pine pest detection using remote sensing satellite images combined with a multi-scale attention-UNet model. *Ecological Informatics*, 72, 101906–101906. <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2022.101906>
147. Zeferino, R., Martinez, C., Rodríguez, M., Sandoval, J., Fernández, M. (2015). 22-Oxocholestanes as plant growth promoters. *Steroids*, 98, 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.03.005>

148. Zheng, Z., y Zhang, C. (2022). Electronic noses based on metal oxide semiconductor sensors for detecting crop diseases and insect pests. *Computers and Electronics in Agriculture*, 197, 106988–106988. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2022.106988>
149. Zimmer, C. (2016). Cómo los primeros agricultores cambiaron la historia. *The New York Times*. <https://www.nytimes.com/es/2016/11/01/espanol/como-los-primeros-agricultores-cambiaron-la-historia.html>
150. Zurita, L. (2011). Efectos de análogos de brasinoesteroides en maíz criollo (*Zea mays L.*) con variaciones de temperatura. Jardín Botánico Universitario; Facultad de Ciencias Químicas Departamento de Química Orgánica BUAP. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Tesis de Licenciatura

X. ANEXOS

ANEXO 1. Identificación taxonómica provista por el Herbario del Jardín Botánico Universitario BUAP.



Dr. Carlos Alberto Contreras Paredes
Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales
Herbario y Jardín Botánico
Benemérita Universidad Autónoma Puebla
PRESENTE

Por este medio reciba un cordial saludo y así mismo aprovecho la presente para entregarle la identificación taxonómica del material herborizado recibido, cuya identificación fue realizada por el curador MPhil Allen James Coombes, siendo la siguiente:

Nombre Científico	Familia	ID / Núm. Colecta.
<i>Quercus sartorii</i> Liebm.	FAGACEAE	87498 / 1 RISP
<i>Quercus sartorii</i> Liebm.	FAGACEAE	87499 / 2 RISP
<i>Quercus laurina</i> Bonpl.	FAGACEAE	87495 / 3 RISP
<i>Quercus sartorii</i> Liebm.	FAGACEAE	87494 / 4 RISP
<i>Quercus obtusata</i> Bonpl.	FAGACEAE	87496 / 5 RISP
<i>Quercus calophylla</i> Schltld. & Cham.	FAGACEAE	87497 / 6 RISP

Sin más por el momento, agradezco su atención y reitero a usted la seguridad de mis consideraciones.

Atentamente
“Pensar Bien, Para Vivir Mejor”

H. Puebla de Z. a 05 de enero 2023


Dr. Jesús Francisco López Olguín
 Director

c.c.p. archivo



Prolongación 24 sur y Av. San Claudio,
 Edif. HJB, Ciudad Universitaria,
 Col. San Manuel, Puebla, Pue. C.P. 72570
 01 (222) 229 55 00 Ext. 7032 y 7034