

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE INGENIERÍA
PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA



Desarrollo de un protocolo de establecimiento *in vitro* de peyote (*Lophophora Williamsii*)

Por:

LAYLA FERNANDA CHACÓN DELGADO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Saltillo, Coahuila. México

Noviembre, 2024.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Desarrollo de un protocolo de establecimiento *in vitro* de peyote (*Lophophora Williamsii*)

Por:

LAYLA FERNANDA CHACÓN DELGADO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Jurado Examinador:



Dr. Julio César Tafolla Arellano

Asesor principal




M.C. Miguel Ángel García Moreno

Coasesor



Dra. Adriana Antonio Bautista

Coasesora



Dr. Juan Antonio Nuñez Colima

Coasesor



M.C. Sergio Sánchez Martínez

Coordinador de la División de Ingeniería

Saltillo, Coahuila. México

Noviembre, 2024.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

PROGRAMA DOCENTE DE INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Desarrollo de un protocolo de establecimiento *in vitro* de peyote (*Lophophora Williamsii*)

Por:

LAYLA FERNANDA CHACÓN DELGADO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Aprobada por el Jurado Examinador:



Dr. Julio César Tafolla Arellano

Asesor principal



M.C. Miguel Angel García Moreno

Coasesor



Dra. Adriana Antonio Bautista

Coasesora



Dr. Juan Antonio Nuñez Colima

Coasesor



M.C. Sergio Sánchez Martínez

Coordinador de la División de Ingeniería

Saltillo, Coahuila. México

Noviembre, 2024.

DERECHO DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

Todo material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor de los Estados Unidos Mexicanos, y pertenece al autor principal quien es el responsable directo y jura bajo protesta de decir la verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos:

Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia: omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, gráficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente. Así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Por lo anterior nos responsabilizamos de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaramos que este trabajo no ha sido previamente presentado en ninguna otra institución educativa, organización, medio público o privado.

A t e n t a m e n t e.

Alma Terra Mater



Layla Fernanda Chacon Delgado

Autora Principal

AGRADECIMIENTOS

Agradezco sinceramente a **mis padres** brindarme su apoyo y su amor.

A mis asesores de tesis, **Julio César Tafolla Arellano** y **Adriana Antonio Bautista** por su orientación, y apoyo con el material y sostén en cada etapa de esta tesis.

Reconozco y agradezco el gran aporte de M.C **Luis Bernardo Rincón López**, quien me dio valiosas lecciones y grandes aprendizajes, su compromiso y generosidad con su tiempo y conocimiento siempre serán recordados y apreciados.

A **mis hermanos** porque ellos son la fuente de mi inspiración para seguir adelante.

Agradezco a mi **familia** por ayudarme en esta etapa de mi vida importante, por su apoyo económico, y por darme ese motivo de seguir adelante.

Agradezco a M.C **Miguel Ángel García Moreno** por su invaluable orientación, apoyo y dedicación en la realización de esta tesis.

Agradezco al **Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular** por abrirme las puertas y permitirme haber sido parte de su equipo de trabajo. Así como al proyecto UAAAN-38111-425405001-0162 de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por el financiamiento para desarrollar esta tesis|

Y, por último, agradezco a mis amigos por apoyarme y confiar en mí.

DEDICATORIA

A **mis abuelos**, por su apoyo económico y quienes me tuvieron paciencia para cada etapa de este proyecto, se los dedico con mucho amor.

A **mi novio** por su amor y por estar en las buenas y en las malas.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO

Página

| | |
|--|-------------------------------|
| DERECHO DE AUTOR Y DECLARACIÓN DE NO PLAGIO..... | ¡Error! Marcador no definido. |
| AGRADECIMIENTOS..... | V |
| DEDICATORIA..... | VI |
| ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDO | VII |
| RESUMEN..... | XII |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 JUSTIFICACIÓN..... | 2 |
| 1.2 HIPÓTESIS | 3 |
| 1.3 OBJETIVO GENERAL | 3 |
| 1.3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 3 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 4 |
| 2.1 Generalidades de la <i>Lophophora williamsii</i> | 4 |
| 2.1.1 Botánica..... | 5 |
| 2.1.1.1 Taxonomía..... | 5 |
| 2.1.1.2 Morfología de la planta..... | 5 |
| 2.1.1.3 Requerimientos edafoclimáticos | 8 |
| 2.1.1.3.1 Clima | 8 |
| 2.1.1.3.2 Tipo de suelo | 8 |
| 2.1.1.3.3 Formas de propagación..... | 8 |
| 2.1.1.3.4 Distribución | 9 |
| 2.1.1.3.5 Metabolitos secundarios | 9 |
| 2.2 Uso y aplicaciones del peyote | 10 |
| 2.3 Importancia peyote | 11 |
| 2.4 Amenazas..... | 11 |
| 2.4.1 Legislación del peyote..... | 12 |
| 2.5 Cultivo de tejidos vegetales..... | 12 |
| 2.5.1 Propagación de plantas <i>in vitro</i> | 12 |
| 2.5.2 Etapas del cultivo de tejidos | 12 |

| | |
|--|----|
| 2.5.2.1 Medio de cultivo..... | 12 |
| 2.5.2.2 Acondicionamiento de la planta madre | 12 |
| 2.5.2.3 Desinfección del material vegetal..... | 13 |
| 2.5.3 Multiplicación..... | 13 |
| 2.5.3.1 Organogénesis | 13 |
| 2.5.3.2 Organogénesis directa..... | 13 |
| 2.5.3.3 Organogénesis indirecta | 13 |
| 2.5.4 Enraizamiento..... | 13 |
| 2.5.5 Conservación: | 13 |
| 2.6 Micropropagación de peyote | 14 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS..... | 16 |
| 3.1 Material vegetal | 16 |
| 3.1.1 Obtención de material vegetal | 16 |
| 3.2 Estrategia experimental | 17 |
| 3.2.1 Tratamientos de desinfección | 17 |
| 3.3 Tratamientos de desinfección evaluados en laboratorio..... | 18 |
| 3.3.1 Tratamiento 4, 5, 6 y 7..... | 18 |
| 3.3.2 Tratamiento 8 y 9..... | 18 |
| 3.3.3 Tratamiento 10..... | 19 |
| 3.4.1 Medio de cultivo..... | 20 |
| 3.4.2 Composición de protocolos reportados | 20 |
| 3.4.3 Tratamientos formulados para establecimiento..... | 21 |
| 3.5 Esterilización | 22 |
| 3.7 Establecimiento | 22 |
| 3.8 Siembra de explantes | 22 |
| IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 24 |
| 4.1 Evaluación de tratamientos..... | 24 |
| 4.1.1 Evaluación del Tratamiento T1 | 24 |
| 4.1.2 Evaluación del Tratamiento 2..... | 25 |
| 4.1.3 Evaluación del Tratamiento 3..... | 26 |
| 4.1.4 Evaluación del Tratamiento 4..... | 27 |
| 4.1.5 Evaluación del tratamiento 5 | 28 |

| | |
|---|----|
| 4.1.6 Evaluación del Tratamiento 6..... | 29 |
| 4.1.7 Evaluación del Tratamiento 7..... | 30 |
| 4.1.8 Evaluación del Tratamiento 8..... | 31 |
| 4.2 Análisis estadísticos..... | 35 |
| V. CONCLUSIONES..... | 37 |
| VI. LITERATURA CITADA..... | 38 |

ÍNDICE DE FIGURAS

PÁGINA

| | |
|--|----|
| Figura 1. Planta de peyote (<i>Lophophora williamsii</i>) en la Reserva Natural Estatal La Muralla, Monclova, Coahuila..... | 6 |
| Figura 2. Semillas <i>Lophophora williamsii</i> | 6 |
| Figura 3. Fruto del peyote en Reserva Natural Estatal La Muralla, Monclova, Coahuila..... | 7 |
| Figura 4. Flor del peyote en la Reserva Natural Estatal La Muralla, Monclova, Coahuila. | 7 |
| Figura 5. Distribución geográfica de <i>Lophophora williamsii</i> | 9 |
| Figura 6. Peyote y la conformación estructural de su alcaloide principal, la mescalina | 10 |
| Figura 7. Alcaloides del peyote. | 10 |
| Figura 8. Ceremonia hikuri..... | 11 |
| Figura 9. Ubicación geográfica de “ Reserva Natural Estatal La Muralla”, Monclova, Coahuila | 16 |
| Figura 10. “Reserva Natural Estatal La Muralla”, Monclova, Coahuila..... | 17 |
| Figura 11. Macetas en observación | 22 |
| Figura 12. Establecimiento..... | 23 |
| Figura 13. Contaminación presentada | 24 |
| Figura 14. Muerte por necrosis..... | 25 |
| Figura 15. Muestra de contaminación en el tratamiento..... | 26 |
| Figura 16. Contaminación en el tratamiento 3 | 27 |
| Figura 17. Contaminación presentada en el tratamiento 4..... | 28 |
| Figura 18. Contaminación presentada en el tratamiento 5..... | 29 |
| Figura 19. Contaminación y necrosis presentada en el tratamiento 6..... | 30 |
| Figura 20. Muestras contaminadas..... | 31 |
| Figura 21. Necrosis del tratamiento 8..... | 32 |
| Figura 22. Necrosis del tratamiento 9..... | 32 |
| Figura 23. Muerte por necrosis..... | 33 |
| Figura 24. Callogénesis presentada | 34 |
| Figura 25. Tejido embriogénico a los 21 días después de siembra..... | 36 |

ÍNDICE DE CUADROS

PÁGINA

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Tratamiento 1 de desinfección | 17 |
| Cuadro 2. Tratamiento 2 y 3 de desinfección | 18 |
| Cuadro 3. Desinfección tratamiento 8 y 9..... | 19 |
| Cuadro 4. Desinfección tratamiento 10 | 19 |
| Cuadro 5. Tratamientos de medio de cultivo | 20 |
| Cuadro 6. Tratamientos evaluados..... | 21 |
| Cuadro 7. Evaluación de protocolos publicados..... | 35 |
| Cuadro 8. Comparación de medias de Tukey de la Evaluación de tratamientos en laboratorio..... | 36 |

RESUMEN

El peyote (*Lophophora williamsii*) es un cactus que se encuentra en el norte de América, en México una especie protegida por la NOM-059-SEMARNAT-2010, debido a su extracción y explotación ilegal y sus diferentes usos como el medicinal, religioso y cultural. Además, su lento crecimiento, los bajos índices de reproducción y las amenazas bióticas en su entorno dificultan su propagación. El objetivo de la presente investigación fue desarrollar un protocolo de establecimiento de peyote para su propagación *in vitro*. Se colectaron plantas madre de Reserva Natural Estatal La Muralla, Monclova, Coahuila. Se eliminaron raíces, espinas de las areolas y se utilizaron como explantes zonas meristemáticas apicales (corona). Se evaluaron seis protocolos de desinfección en 10 tratamientos, donde el T9 obtuvo mejores resultados y consistió en sumergir los cortes vegetales durante 10 min en alcohol al 80 %, posteriormente 30 minutos en cloro al 20% y 10 minutos en azul de metileno a 1 g/L⁻¹. Posteriormente, se evaluaron 10 tratamientos en la fase de establecimiento a los 7, 14 y 21 días después de siembra, donde el T9 obtuvo los mejores resultados, el medio del establecimiento del material con capacidad embriogénica fue medio MS 1X, adicionado con ácido 1-naftalenacético 0.1 g/L⁻¹, kinetina 1 g/L⁻¹ y ácido ascórbico 1 mg L⁻¹ que dieron origen a tejido embriogénico con capacidad regenerativa en un 70 % de las réplicas comparado con protocolos que obtuvieron 100% de oxidación de los explantes.

Palabras clave: Peyote, protocolos, desinfección, antioxidantes e *in vitro*.

I. INTRODUCCIÓN

Lophophora williamsii es un pequeño cactus globular y sin espinas, originario del desierto de Chihuahua. La datación por radiocarbono de "botones" de peyote hallados en sitios arqueológicos de la región indica que las comunidades indígenas lo han utilizado en rituales religiosos durante al menos 5700 años (Watkins *et al.*,2023).

Se tiene un gran interés histórico, ceremonial y medicinal que se ha utilizado desde hace siglos en ceremonias. Su forma es redonda con nervaduras, tiene un diámetro de aproximado de dos a 12 cm y una altura aproximada de cinco cm (Macías y Flores, 2009). Esta cactácea crece en regiones con climas áridos y semiáridos, donde la precipitación anual varía entre 200 y 500 mm. En las altitudes donde se encuentran son aproximadas entre 600 y 2.000 m sobre el nivel del mar y generalmente en áreas con pendientes mínimas o nulas (González, 2004). En la década de 1960 el peyote se hizo popular gracias a la contractura sumergida en los Estados Unidos. En 1967 se documentaron extracciones significativas de esta cactácea (Anderson, 2007). La mescalina es el alcaloide que más predomina en *Lophophora williamsii* por su alto contenido de esta y por su amplia gama de efectos biológicos en diversos organismos (Romero *et al.*, 2015), afecta el sistema nervioso central. Induciendo una respuesta que resulta en un estado de calma e hipersensibilidad donde se puede dar alucinación, aumento en la presión arterial y la dilatación de las pupilas (Luna, 2017).

1.1 JUSTIFICACIÓN

Lophophora williamsii es una especie sujeta a protección especial por la norma oficial mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 que está incluida en el apéndice II de Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES). Es una especie consumida por sus propiedades medicinales, ceremoniales y espirituales, por lo cual esta especie es tratada como especie sujeta a protección especial. Se han realizado diversos protocolos de propagación *in vitro*, sin embargo, dichos protocolos no han sido eficientes para su conservación de esta manera se planteó establecer un protocolo eficiente en la propagación y conservación de la especie.

Esta planta crece muy lentamente, ya que tarda unos diez años desde que germina hasta alcanzar su madurez. Lamentablemente, su población está disminuyendo porque su hábitat natural está siendo destruido, principalmente por la expansión urbana y las actividades agrícolas. Estos cambios están afectando los lugares donde normalmente crece, lo que pone en peligro su supervivencia.

1.2 HIPÓTESIS

El uso de meristemas de peyote tratados con agentes antioxidantes y bactericidas permitirá la fase de establecimiento.

1.3 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un protocolo de establecimiento de peyote para su propagación *in vitro*

1.3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar y reformular métodos de desinfección existentes para obtener tejido embrionario de peyote bajo condiciones de *in vitro*.
- Evaluar y reformular medios de cultivo de propagación *in vitro* previamente reportados mediante la observación de la supervivencia de la planta.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de la *Lophophora williamsii*

Lophophora williamsii, conocido como peyote, es un cactus pequeño y globular, con una altura de 2 a 7 cm y un diámetro de 4 a 12 cm. Este cactus es originario del desierto del norte de México y el sur de los Estados Unidos. Debido a su amplia distribución geográfica, esta especie exhibe una gran variedad de formas fenotípicas. Estas van desde especímenes que son prácticamente esféricos hasta aquellos que presentan costillas muy pronunciadas (Nájera *et al.*, 2013).

Su relevancia se debe a su uso ceremonial como planta enteógena desde hace siglos, varias tribus de América del Norte han empleado el peyote tanto en ceremonias religiosas y rituales como en tratamientos para diversas enfermedades (Elizondo *et al.*, 2015). En México y Estados Unidos, diversas tribus indígenas, incluyendo los huicholes, yaquis, apaches, y tarahumaras, han utilizado el peyote, también conocido como "jículi", "peyotl" o "mescal boton" en sus ceremonias religiosas debido a sus efectos alucinógenos. Estas propiedades psicotrópicas captaron la atención de muchos exploradores y, desde finales del siglo pasado, se han llevado a cabo estudios químicos de esta planta (Garza, 2010).

La explotación ilegal del peyote (*Lophophora williamsii*) por su contenido de mescalina ha crecido debido a su demanda tanto en mercados recreativos como en investigaciones psicoterapéuticas. La mescalina, conocida por sus potentes efectos alucinógenos, ha captado el interés de quienes buscan experiencias psicodélicas, así como de estudios científicos que exploran su potencial terapéutico para tratar trastornos como la depresión y el TEPT (Terry y Trout, 2013).

Además de la mescalina, el peyote contiene diversos alcaloides. Al igual que la mescalina, las concentraciones de estos alcaloides varían según la parte de la planta. La composición química de la planta también se ve influenciada por factores como el clima, la cantidad de luz, las condiciones del suelo y el momento de la cosecha (Baümler, 2007). Algunos de estos alcaloides no tienen actividad farmacológica propia, pero potencian los efectos de la mescalina (Dinis *et al.*, 2019).

2.1.1 Botánica

Lophophora williamsii fue descrita por primera vez por J.M. Coult. y fue publicada en Contributions from the United States National Herbarium en 1894.

2.1.1.1 Taxonomía

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Cactaceae

Subfamilia: Cactoideae

Tribu: Cacteae

Género: *Lophophora*

Especie: *Lophophora williamsii*

2.1.1.2 Morfología de la planta

Las flores emergen desde la parte central de la planta, son de color rosa pálido, tienen una forma campanulada y un diámetro de 2,5 cm. Estas florecen de manera continua durante todo el verano (Rodríguez y Mariana, 2015). Alcanzan un tamaño que varía entre dos y 12 cm de diámetro, con una altura aproximada de cinco cm. A diferencia de la mayoría de los cactus, no contiene espinas; en su lugar, presenta lana en las areolas (Velazco y Alanís, 2009).



Figura 1. Planta de peyote (*Lophophora williamsii*) en la Reserva Natural Estatal La Muralla, Monclova, Coahuila.

El fruto de esta planta es una baya con forma de maza, que contiene semillas de aproximadamente 1.5 mm de largo, las cuales tienen una forma piriforme y están recubiertas por una testa de color negro. Este tipo de fruto y semilla es característico del género y contribuye a su dispersión y germinación en su entorno natural. Las semillas negras y duras están adaptadas para sobrevivir en el árido desierto donde crecen, facilitando su propagación y asegurando la continuidad de la especie (Segura, 2013).



Figura 2. Semillas *Lophophora williamsii*

Las areolas de esta planta no tienen espinas y están cubiertas por una pelusa blanca. Las flores, de un suave color rosa, brotan del ápice entre marzo y mayo. Todas las especies del

género *Lophophora* crecen a un ritmo muy lento, a menudo tomando más de 30 años para llegar a la edad en la que pueden florecer (Perez, 2021).



Figura 3. Fruto del peyote en Reserva Natural Estatal La Muralla, Monclova, Coahuila.



Figura 4. Flor del peyote en la Reserva Natural Estatal La Muralla, Monclova, Coahuila.

2.1.1.3 Requerimientos edafoclimáticos

2.1.1.3.1 Clima

Lophophora williamsii, es una especie vegetal que es resistente a diversas condiciones climáticas. Esta cactácea se encuentra en climas áridos y semiáridos, caracterizados por precipitaciones que varían entre 200 y 500 mm anuales. Su hábitat se ubica en altitudes de 600 y 500 m sobre el nivel del mar (González, 2004). El índice de aridez, que refleja el entorno se ubica entre 64 y 394, lo que indica la versatilidad de la cactácea para prosperar en áreas con diferentes niveles de sequedad. Estas características hacen que esta especie sea resiliente y adaptativa (Rojas y Flores, 2016).

2.1.1.3.2 Tipo de suelo

Lophophora williamsii se localiza principalmente en el desierto de Chihuahua, un bioma desértico de clima templado y cálido que presenta una notable diversidad en su vegetación y topografía. los suelos en esta región deben ser de origen calizo, con un pH que oscila entre 7.9 y 8.3. Estos suelos suelen contener más de 150 ppm de calcio y al menos 6 ppm de magnesio, además de tener una presencia significativa de carbonatos (Clavijo, 2018).

2.1.1.3.3 Formas de propagación

Se desarrolla con lentitud extrema, alcanzando su madurez después de aproximadamente 30 años en su hábitat natural, aunque en entornos controlados, con las condiciones óptimas de calor y riego, su crecimiento puede acelerarse, llegando a madurar en un periodo de 10 a 15 años (Cortes-Olmo, 2018). Este cactus se reproduce tanto de forma vegetativa como sexual, con su floración vinculada a la temporada de lluvias en los meses cálidos y un periodo de maduración de frutos que puede extenderse hasta un año, tiempo durante el cual los frutos permanecen protegidos en la lana apical. de la planta para asegurar la germinación en condiciones propicias (Terry y Trout, 2013).

La reproducción de las cactáceas se realiza principalmente a través de semillas, pero es importante considerar métodos alternativos de propagación. Los experimentos de germinación son esenciales para identificar el potencial máximo de germinación de un lote de semillas, y también permiten evaluar su rendimiento en condiciones naturales. La germinación en un entorno de laboratorio proporciona una primera información sobre la

calidad de las semillas, lo cual es crucial para su desarrollo y éxito en el campo (Guzman, 2017).

2.1.1.3.4 Distribución

Lophophora williamsii se distribuye a lo largo de aproximadamente 1200 km, desde los 20° 54' hasta los 29° 47' de latitud norte. Esta planta se encuentra en la cuenca del Río Bravo y se extiende hacia el sur en la meseta central alta del norte de México, específicamente en las Sierras Madre Oriental y Occidental En Estados Unidos, su presencia se registra en la región del Río Grande en Texas (Feeney, 2016; Rojas-Aréchiga y Flores, 2016).



Figura 5. Distribución geográfica de *Lophophora williamsii* en México.

Basado en Terry, M. (2013)

2.1.1.3.5 Metabolitos secundarios

Se han descubierto 55 alcaloides en la actualidad, los cuales se agrupan en dos categorías: alcaloides fenólicos y no fenólicos. Se clasifican como feniletilaminas o isoquinolinas (Bäumler, 2007).

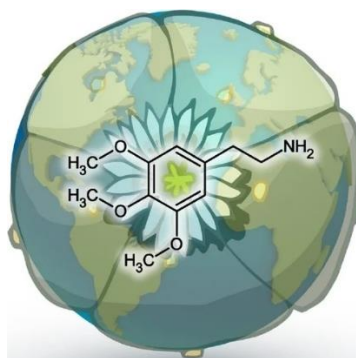


Figura 6. Peyote y la conformación estructural de su alcaloide principal, la mescalina.
Fuente: Duesburg-van *et al.*, 2021.

Las isoquinolinas se han identificado 23 tipos, donde se destacan los siguientes: anhalamina, anhalinina, anhalidina, lofoforina, anhalonidina y pelletina (Anderson y Edward, 2007).

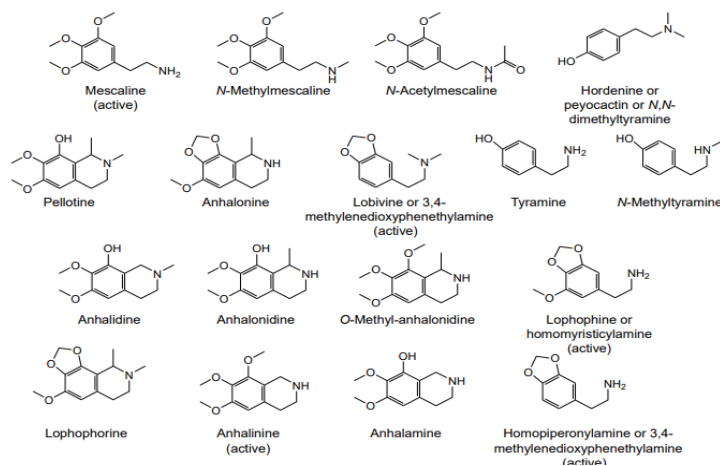


Figura 7. Alcaloides del peyote.

Fuente: Anderson (2007).

2.2 Uso y aplicaciones del peyote

Lophophora williamsii tiene un rol sobresaliente en ceremonias religiosas y rituales de las comunidades indígenas (Elizondo *et al.*, 2015). El peyote es consumido con el propósito de expandir la conciencia y generar experiencias introspectivas profundas alterar la mente y facilitar una conexión con los espíritus o dioses. También se utiliza con fines medicinales especialmente en el tratamiento de dolores, fiebres, reumatismo, y para aliviar efectos de picaduras de serpientes y escorpiones (Gründemann, 2023) (Clavijo, 2018).



Figura 8. Ceremonia hikuri.

Fuente: Robyn Huang (2021)

Se ha reportado el potencial de la mescalina en contextos no clínicos para tratar enfermedades mentales como la depresión, la ansiedad, el trastorno de estrés postraumático (TEPT) y los trastornos relacionados con el consumo de alcohol y drogas (Agin-liebes *et al.*, 2021; Uthaug *et al.*, 2022). El peyote también tiene beneficios antiinflamatorios y efectos analgésicos, lo que le permite aliviar el dolor físico en dosis controladas (Gründemann, 2023)

2.3 Importancia peyote

El peyote es una planta que posee un significado cultural, espiritual y terapéutico profundo, especialmente para los pueblos indígenas de América del Norte. En el ámbito espiritual, es usado tradicionalmente en rituales y ceremonias de sanación dentro de la Iglesia Nativa Americana y otras culturas indígenas (Gründemann, 2023)

2.4 Amenazas

Es una planta de desarrollo lento, necesitando diez años desde la germinación para llegar a la madurez, se están llevando a cabo investigaciones para determinar el tiempo que debe pasar antes de que una planta cosechada pueda ser recolectada nuevamente (Terry *et al.*, 2011).

La disminución de la población es provocada por la destrucción de su hábitat, relacionado con la expansión urbana o prácticas agrícolas (Kalam *et al.*, 2013).

2.4.1 Legislación del peyote

En México, el peyote está regulado por 3 normativas: Sanitarias, Artículo 245 del capítulo IV de la ley general de Salud; Penales, Artículo del 193 al 199 del Código Penal Federal; Ambientales y la Norma Oficial Mexicana 059 de Protección Ambiental-Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres que clasifica las especie en peligro de extinción, amenazadas y sujetas a protección especial (Norma Oficial Mexicana, 2010).

2.5 Cultivo de tejidos vegetales

El cultivo de tejidos vegetales se refiere a una técnica de la biotecnología que implica mantener plantas o partes de estas en un ambiente controlado, libre de microorganismos, con un suministro de nutrientes externo y utilizando contenedores de plástico o vidrio. Esta metodología ha sido empleada en diversas áreas del desarrollo agrícola y en la investigación de las plantas (Padrón, 2020). Los procedimientos de regeneración *in vitro* pueden ser útiles para todas las variedades vegetales, con la condición de que se configuren las condiciones ambientales idóneas y se elijan cuidadosamente el explante de tejido vegetal y el sustrato de cultivo correspondiente. (Martín *et al.*, 2015).

2.5.1 Propagación de plantas *in vitro*

2.5.2 Etapas del cultivo de tejidos

2.5.2.1 Medio de cultivo

Se requiere un sustrato para cada explante que puede ser de forma líquida o sólida. Este sustrato está compuesto por macronutrientes (nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio y azufre) y micronutrientes (hierro, manganeso, zinc, boro, cobalto, molibdeno y cobre) cruciales para la supervivencia de la planta (Segretín, 2006). Además, se incorporan compuestos orgánicos como carbohidratos, vitaminas, reguladores del crecimiento y reguladores de crecimiento (Sharry *et al.*, 2015).

2.5.2.2 Acondicionamiento de la planta madre

Las plantas elegidas necesitan ser apartadas en un entorno aséptico, ventilado y con control riguroso de patógenos, con el propósito de reducir fuentes de contaminación. Es recomendable llevar a cabo evaluaciones periódicas que posibiliten supervisar la existencia de parásitos sistémicos, además de aplicar fungicidas (Suárez *et al.*, 2006).

2.5.2.3 Desinfección del material vegetal

La técnica estéril implica la implementación de diversas estrategias destinadas a minimizar la presencia de agentes contaminantes en los cultivos *in vitro*. Cada posible fuente de contaminación es abordada con un componente específico de la técnica estéril para prevenir su incidencia. La aplicación general de esta técnica abarca el uso de agentes químicos, métodos de manejo y calibración precisa de los equipos empleados en el cultivo de tejidos vegetales (Padrón, 2020).

2.5.3 Multiplicación

En esta etapa se desarrollan los explantes en medios de concentración elevadas de citoquininas con el fin de promover el desarrollo de los brotes laterales (Suárez y Quintero, 2014). Existen dos tipos de formas de citoquininas, origen natural (kinetina, zeatina y benciladenina) y artificiales (BAP, thidiazuron). En algunas se añaden cantidades moderadas de auxinas para la formación de callos (Suarez *et al.*, 2009; Lopez 2017).

2.5.3.1 Organogénesis

La organogénesis, un proceso clave en la regeneración de plantas, puede clasificarse en dos tipos: directa e indirecta (George y Debergh, 2008).

2.5.3.2 Organogénesis directa

En la organogénesis directa se generan los brotes a partir directamente de los explantes, sin la necesidad de pasar por fases intermedias de callo (George y Debergh, 2008).

2.5.3.3 Organogénesis indirecta

En el proceso de organogénesis indirecta, se generan agregados celulares desordenados que están en un estado de diferenciación, con el propósito de posteriormente diferenciarse y dar lugar a la formación de órganos (Randel *et al.*, 2015; Domínguez y González, 2008).

2.5.4 Enraizamiento

Inducir en la planta los mecanismos requeridos para su supervivencia en condición *ex vitro*. En ciertas especies los tallos son trasladados a un método de elongación que contiene ácido giberélico, para incrementar su tamaño (Suárez y Quintero, 2011).

2.5.5 Conservación:

Los bancos de germoplasma *in vitro* son instalaciones destinadas a la conservación de

recursos genéticos en condiciones de laboratorio controlados, empleando varias técnicas de cultivo y almacenamiento *in vitro*, su objetivo es maximizar la diversidad de especímenes recolectados de poblaciones naturales o de su centro de origen. Dependiendo del hábito de crecimiento de la especie, la unidad de colección mantenida en condiciones controladas puede ser la semilla botánica o explantes vegetativos (Rao, 2004; Wang *et al.*, 2005; Tyagi *et al.*, 2007).

2.6 Micropropagación de peyote

Han sido reportados algunos protocolos de propagación *in vitro* de peyote (*Lophophora williamsii*). En el estudio titulado "Propagación vegetativa *in vitro* de realizado por Alcántara (1991), se llevó a cabo la preparación del medio de cultivo Murashige y Skoog (MS 1X) (1962). Este medio fue complementado con 10 mg/L de Myo-inositol y 3% de sacarosa, además de reguladores de crecimiento como el ácido naftalenacético (ANA) y la kinetina (KIN).

Durante la desinfección las plantas se lavaron en condiciones *ex vitro* utilizando agua y jabón, lavando la superficie con una esponja específica para este propósito y enjuagando con agua corriente. Las raíces se recortaron cuidadosamente para eliminarlas, junto con la lana presente en las areolas. Luego, se realizó un enjuague final con agua destilada y se trasladó la corona a una cámara de vacío dentro de una campana de flujo laminar ambas previamente desinfectadas y esterilizadas durante 15 minutos bajo luz ultravioleta. En este entorno, el fragmento vegetal se colocó en una solución de alcohol al 80 % durante 10 minutos, utilizando la cámara de vacío en cada procedimiento. Posteriormente, se enjuagó con agua destilada esterilizada y se trasladó a una solución de hipoclorito de sodio al 20% con la adición de 0.1 mg/L de TWEEN 20, durante un periodo de 30 minutos. Finalmente, se realizaron tres enjuagues con agua destilada esterilizada para completar el proceso de desinfección (Alcántara, 1991).

Este protocolo fue reportado por Buendía (1999), para la determinación de las concentraciones de reguladores de crecimiento que inducen organogénesis en peyote (*Lophophora williamsii*). El mejor resultado del protocolo consistió en Murashige y skoog

(MS1X), en donde se le añadió sacarosa al 3 % y Agar 8 g.L⁻¹ y se le agregó ácido naftalenacético (ANA), kinetina (KIN) y Myo-inositol 10 mg. L⁻¹ (Buendía, 1999).

El método de desinfección fue realizado dentro de la campana de flujo laminar utilizando una mezcla compuesta por 70% de alcohol y agua destilada previamente esterilizada, donde se sumergió el fragmento de peyote en esta solución durante un período de 2 minutos. Transcurrido este tiempo, el fragmento se transfirió a una solución que contenía 10 % de hipoclorito de sodio, a la cual se le añadió 0.05 ml de TWEEN 20, manteniéndolo en esta mezcla durante 10 minutos. Después de este intervalo, la solución se eliminó y se procedió a realizar cinco lavados con agua destilada esterilizada (Buendía 1999).

En el estudio titulado "Formación de callo e inducción de un cultivo de células en suspensión en *Lophophora williamsii*" realizado por Esparza (2004), reportaron un medio de cultivo basado en la formulación de Murashige y Skoog. Este medio fue complementado con 3 % de sacarosa y 8 % de agar, además de 250 mg/L de carbón activado para actuar como antioxidante (Esparza, 2004).

El proceso de desinfección empezó en *ex vitro* con el corte de las coronas, eliminando las raíces y la lana de las areolas. Los fragmentos se lavaron con jabón y agua corriente, manteniendo un movimiento constante durante 10 minutos. Posteriormente, los fragmentos fueron transferidos a una campana de flujo laminar, donde se sumergieron en una solución de alcohol al 70 % durante 2 minutos. Después de este paso, los fragmentos se sumergieron durante 10 minutos en una solución de hipoclorito de sodio al 10 %, a la cual se añadieron 0.05 ml de TWEEN 20. Finalmente, se realizaron cinco lavados con agua destilada estéril para completar el proceso de desinfección (Esparza, 2004).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Material vegetal

3.1.1 Obtención de material vegetal

Se recolectó el material en la ubicación Reserva Natural Estatal La Muralla, Monclova, Coahuila ($26^{\circ} 17' 42.5''$ N $101^{\circ} 21' 02.8''$ W) en el año 2023 bajo el registro número 09/K5-0189/03/21, con la colaboración de la Dra. Adriana Antonio Bautista. se extrajeron 15 plantas madre al azar para después trasplantarlas en macetas y llevarlas al Laboratorio de Biotecnología y Biología Molecular de la UAAAN.



Figura 9. Ubicación geográfica de “Reserva Natural Estatal La Muralla”, Monclova, Coahuila



Figura 10. “Reserva Natural Estatal La Muralla”, Monclova, Coahuila

3.2 Estrategia experimental

3.2.1 Tratamientos de desinfección

En los siguientes cuadros se encuentran los protocolos de desinfección evaluados donde se eligió el tratamiento 1 de Alcántara, (1991) para el proceso de desinfección de los explantes de peyote.

Cuadro 1. Tratamiento 1 de desinfección

| Solución | Tiempo (minutos) |
|-----------------------------|-------------------------|
| Alcohol (80 %) | 10 |
| Hipoclorito de sodio (20 %) | 30 |
| TWEEN 20 (0.01)* | 30 |

*Miligramos por litro (mg. L⁻¹)

Cuadro 2. Tratamiento 2 y 3 de desinfección

| Solución | Tiempo (minutos) |
|--|--------------------------|
| Alcohol (70 %) | 2 |
| Hipoclorito de sodio (10 %) | 10 |
| TWEEN 20 (CAS 9005-64-5) (0.05 ml) | 10 |

3.3 Tratamientos de desinfección propuestos

3.3.1 Tratamiento 4, 5, 6 y 7

Primeramente, en *ex vitro* se lavó el peyote y se eliminaron raíces y espinas de las areolas y se lavó con agua corriente y jabón, finalmente se enjuagó con agua destilada. Se utilizó una cámara al vacío la cual fue tratada con hipoclorito de sodio, 15 minutos bajo luz ultravioleta. Al introducir la corona cortada se sumergió en alcohol al 80 % durante 10 minutos. Después, se enjuagó con agua destilada esterilizada y se repitió este paso añadiendo 1500 $\mu\text{l. L}^{-1}$ de TWEEN 20 durante 30 min. Finalmente, se enjuagó tres veces con agua destilada estéril.

3.3.2 Tratamiento 8 y 9

Se realizó la desinfección del peyote con las soluciones descritas en el **Cuadro 3**, *ex vitro* se lavó el peyote, se eliminaron raíces, espinas de las areolas y se lavó con agua corriente y jabón, finalmente, se enjuagó con agua destilada. Se utilizó una cámara al vacío la cual fue tratada con hipoclorito de sodio, 15 minutos bajo luz ultravioleta. Al introducir la corona cortada se sumergió en alcohol al 80 % durante 10 minutos. Al finalizar el tiempo se enjuagó con una solución de agua destilada esterilizada y PPM para posteriormente sumergir en una solución de hipoclorito de sodio y 1500 $\mu\text{l. L}^{-1}$ de TWEEN 20 durante 30 min. Después, se enjuagó 3 veces con una solución de agua destilada estéril y PPM. Finalmente se trasladó a una solución de azul de metileno con una solución de agua destilada esterilizada y PPM.

Cuadro 3. Desinfección tratamiento 8 y 9

| Solución | Tiempo (minutos) |
|-----------------------------------|------------------|
| Alcohol 80 % | 10 |
| Hipoclorito de sodio 20 % | 30 |
| TWEEN 20 (CAS 9005-64-5) (1500) * | 30 |
| Azul de metileno | 10 |

*Microlitros por litro ($1\mu\text{l. L}^{-1}$)

3.3.3 Tratamiento 10

El peyote se desinfectó usando las soluciones del **Cuadro 4**. Primero, se lavó *ex vitro*, eliminando raíces y lana de las areolas con agua corriente y jabón, y se enjuagó con agua destilada. Luego, se sumergió en una solución esterilizada de PPM durante 24 horas en una campana de flujo laminar. La corona cortada se trató con alcohol al 80 % durante 10 minutos y se enjuagó con agua destilada esterilizada. hipoclorito de sodio con $1500\mu\text{l. L}^{-1}$ de TWEEN 20 durante 30 minutos y se enjuagó tres veces con agua destilada estéril. Finalmente, se trasladó a una solución de azul de metileno durante 10 minutos y se enjuagó tres veces.

Cuadro 4. Desinfección tratamiento 10

| Solución | Tiempo (minutos) |
|-----------------------------------|------------------|
| Agua / PPM | 1440 |
| Alcohol 80 % | 10 |
| Hipoclorito de sodio 20 % | 30 |
| TWEEN 20 (CAS 9005-64-5) (1500) * | 30 |
| Azul de metileno | 10 |

*Microlitros de muestra por litro ($1\mu\text{l. L}^{-1}$)

3.4.1 Medio de cultivo

3.4.2 Composición de protocolos reportados

A partir de estos protocolos publicados **Cuadro 5** se modificó el medio de cultivo para el establecimiento eficaz del peyote mediante la adicción de otros componentes como en los que se muestra en el **Cuadro 6**.

Cuadro 5. Tratamientos de medio de cultivo

| Compuesto | Alcántara, 1991 | Buendía, 1999 | Esparza, 2004 |
|-----------------------------------|------------------------|----------------------|----------------------|
| | (T1) | (T2) | (T3) |
| Murashige y skoog* | 4.5 | 4.5 | 4.5 |
| Sacarosa (CAS 9002-18-0)* | 3 | 3 | 3 |
| Myo-inositol (CAS 87-89-8)* | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| Agar (CAS 9002-18-0)* | 8 | 8 | 8 |
| ANA (CAS 86-87-3)** | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| KIN (CAS 527-79-1)** | 0.1 | 0.4 | 0.4 |
| Carbón Activado (CAS 7440-40-0)** | ----- | ----- | 250 |

*Gramos por litro (g.L⁻¹), ** miligramos por litro (mg.L⁻¹), Kinetin solution (KIN), 1-Naphthaleneacetic acid (ANA),

3.4.3 Tratamientos formulados para establecimiento

En el **Cuadro 6** están las formulaciones de medio de cultivo para los tratamientos 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, evaluados para el establecimiento *in vitro* del peyote.

Cuadro 6. Tratamientos evaluados

| Compuesto | T4 | T5 | T6 | T7 | T8 | T9 | T10 |
|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------|
| Murashige y skoog * | 4.5 | 4.5 | 4.5 | 4.5 | 4.5 | 4.5 | 4.5 |
| Sacarosa (CAS 57-50-1)* | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 | 30 |
| Myo-inositol (CAS 87-89-8)* | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| PPM*** | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| Agar (CAS 9002-18-0)* | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 | 7.5 |
| ANA (CAS 86-87-3)** | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.1 |
| KIN (527-79-1)** | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Carbón activo (CAS 7440-44-0)* | ----- | ----- | ----- | 3 | ----- | ----- | ----- |
| Ácido ascórbico ** | 1 | ----- | 1 | ----- | 1 | 1 | 1 |
| Azul de metileno ** | ----- | 1 | 1 | ----- | 1 | ----- | ----- |

* Gramos por litro (g.L⁻¹), **Miligramos por litro (mg.L⁻¹), ***Porcentaje (%). Kinetin solution (KIN), 1-Naphthaleneacetic acid (ANA).

3.5 Esterilización

La esterilización se realizó en una autoclave, durante un periodo de 20 minutos, manteniendo una presión de 20 PSI y una temperatura de 120 °C.

3.6 Preparación del material de vegetal

Las macetas se mantuvieron en observación y añadiéndole 0.1 % de Captan combinado con 150 ml de agua destilada, para prevenir hongos o bacterias.



Figura 11. Macetas en observación

3.7 Establecimiento

3.8 Siembra de explantes

Se realizaron cortes con bisturí esterilizado, obteniendo segmentos para obtener la areola de aproximadamente 1 cm. Se sembró una areola por frasco para después sellarlos con papel film para su posterior incubación con las condiciones de una temperatura de 24 ± 2 °C, con un fotoperiodo de luz 16 h y 8 h oscuridad.



Figura 12. Establecimiento

*A y B Siembra de areolas, C) sellado con papel film

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluación de tratamientos

Se realizaron evaluaciones periódicas a los 7, 14 y 21 días después de la siembra de los explantes evaluando variables de generación de tejido embriogénico, oxidación y contaminación,

4.1.1 Evaluación del Tratamiento T1

Con base en lo reportado por Alcántara (1991), este protocolo produjo una contaminación del 30 %. En nuestra evaluación se observó una contaminación del 92.31 % con una tasa de supervivencia del 7.69 % de los explantes sembrados **Cuadro 9** para la propagación *in vitro* de *Lophophora williamsii*. La diferencia entre la contaminación reportada por Alcántara y nuestros resultados podría deberse a variables no controladas, diferencias en las condiciones experimentales, plantas madres, etc. Estos resultados sugieren la necesidad de ajustar y optimizar el protocolo de desinfección para mejorar la tasa de supervivencia.



Figura 13. Contaminación presentada

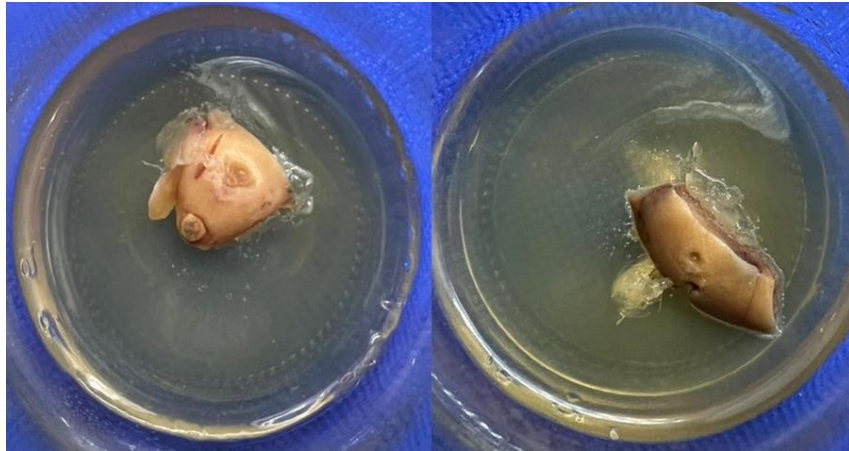


Figura 14. Muerte por necrosis

4.1.2 Evaluación del Tratamiento 2

En base de lo reportado de Buendía (1999) se observó que dieron porcentajes de contaminación mayores a 50%, sin embargo, durante la evaluación del tratamiento de desinfección 2 se obtuvo un 100 % de contaminación en donde es mayor en los resultados. Este resultado podría estar relacionado con una esterilización insuficiente, en el protocolo 2 no se indica la realización de una pre-desinfección y esta es muy importante en el proceso de preparación de medios de cultivo, ya que ayuda a eliminar contaminantes potenciales que podrían afectar el crecimiento y desarrollo de los microorganismos.



Figura 15. Muestra de contaminación en el tratamiento.

4.1.3 Evaluación del Tratamiento 3

A partir del protocolo 3 evaluado por Esparza (2004), se reportó una contaminación del 38%. Sin embargo, los resultados obtenidos en el **Cuadro 7** indican una contaminación del 100%. Esta diferencia podría deberse a varias causas, como diferencias en los métodos aplicados, cambios en las condiciones de las muestras, o factores no considerados en el estudio previo. Esto abre la posibilidad de que haya aspectos adicionales que no se habían identificado antes y que requieren un análisis más profundo para entender esta variación tan marcada.



Figura 16. Contaminación en el tratamiento 3

4.1.4 Evaluación del Tratamiento 4

En el estudio de Rodríguez-de la OJL (2020), se demostró que el uso de ácido ascórbico en medios de cultivo *in vitro* favorece la formación de brotes y reduce la oxidación fenólica evitando necrosis, un problema común en el cultivo de cactáceas. Sin embargo, en el tratamiento 4 de este experimento, el uso de PPM en combinación con ácido ascórbico mostró un 65 % de plantas embriogénicas y un 35 % de plantas no embriogénicas, destacándose como uno de los mejores resultados obtenidos. La notable efectividad del tratamiento con antioxidantes en este estudio podría deberse a la capacidad del ácido ascórbico para contrarrestar la oxidación en los explantes, lo cual podría variar según las condiciones del medio y los componentes específicos utilizados. Estos hallazgos subrayan la importancia de los antioxidantes, como el ácido ascórbico, en la mejora de la supervivencia de los explantes al mitigar los efectos negativos de la oxidación fenólica, sugiriendo que la combinación de agentes antioxidantes con medios de cultivo estériles puede ser una estrategia eficaz para mejorar la viabilidad en el cultivo *in vitro* de cactáceas.

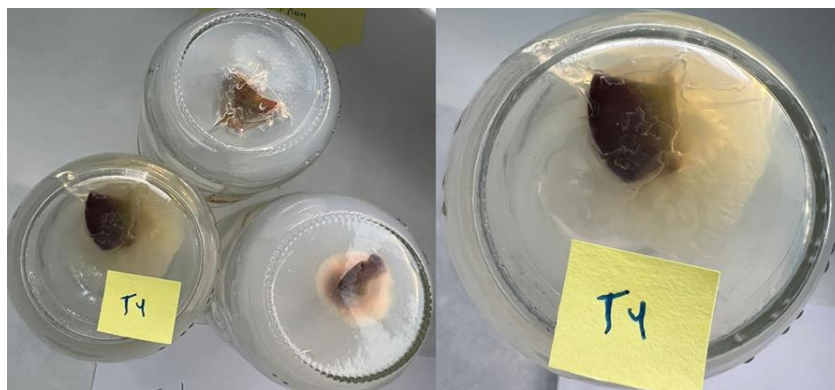


Figura 17. Contaminación presentada en el tratamiento 4

4.1.5 Evaluación del tratamiento 5

Con base en lo reportado por Bouzroud *et al.* (2022), quienes demostraron que técnicas como la aplicación de vacío y el uso de antioxidantes y agentes desinfectantes pueden incrementar la tasa de embriogénesis somática en *Opuntia ficus-indica* y otras especies de cactáceas, se observará que en el **Cuadro 9**, el tratamiento 5, que combinó una cámara de vacío, azul de metileno y PPM, alcanzó un 60 % de plantas embriogénicas y un 40 % de plantas no embriogénicas para la micropropagación de *Lophophora williamsii*. La similitud entre estos resultados y los obtenidos en estudios previos sugiere que el uso de antioxidantes y técnicas de aplicación de vacío también puede ser efectivo para esta especie. Es posible que el azul de metileno, con sus propiedades antimicrobianas y antioxidantes, haya contribuido a mitigar la oxidación fenólica en los explantes, mientras que el vacío permitió una mayor penetración de los agentes desinfectantes, mejorando así la viabilidad de los explantes. Estos hallazgos subrayan la importancia de integrar técnicas complementarias de desinfección y antioxidación para optimizar los resultados en el cultivo *in vitro* de cactáceas.

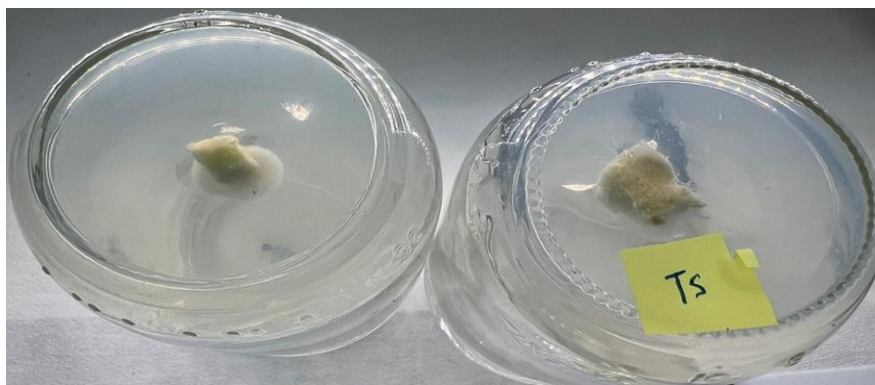


Figura 18. Contaminación presentada en el tratamiento 5

4.1.6 Evaluación del Tratamiento 6

Estudios previos de Giraldo-Silva (2023) *Opuntia ficus-indica* y otras cactáceas han demostrado que la interacción entre componentes antioxidantes y agentes antimicrobianos debe ser cuidadosamente equilibrada para evitar efectos adversos sobre la descontaminación y la embriogénesis. En el **Cuadro 9**, el tratamiento 6, que incluyó ácido ascórbico, azul de metileno y PPM, registró un 80 % de contaminación y solo un 20 % de plantas embriogénicas. La notable diferencia entre los resultados obtenidos y la efectividad esperada del PPM podría deberse a la interferencia del ácido ascórbico, que, aunque reduce la oxidación fenólica, puede afectar la acción antimicrobiana de los biocidas. Además, la combinación con azul de metileno podría alterar las propiedades químicas del medio de cultivo, contribuyendo a la alta tasa de contaminación observada. Estos hallazgos sugieren que, como en el caso de *Opuntia ficus-indica*, es fundamental optimizar la combinación de antioxidantes y agentes antimicrobianos para mejorar tanto la descontaminación como la embriogénesis en el cultivo *in vitro*.

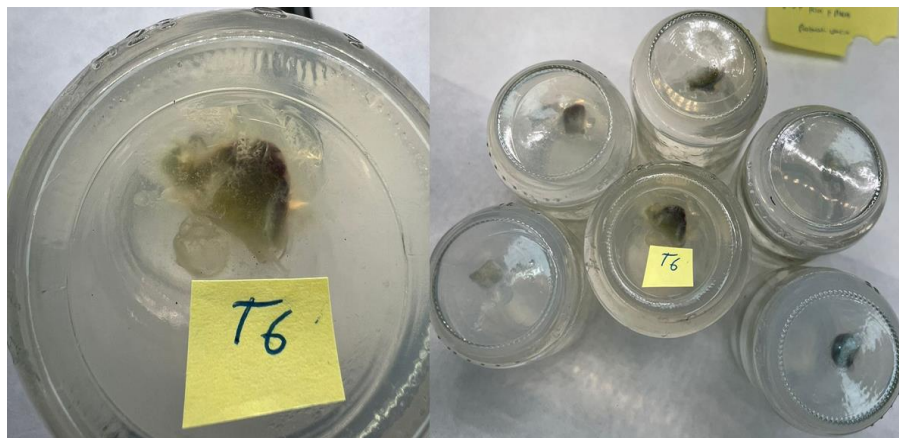


Figura 19. Contaminación y necrosis presentada en el tratamiento 6

4.1.7 Evaluación del Tratamiento 7

Con base en lo reportado en estudios sobre *Turbinicarpus* de la Rosa-Carrillo, (2012), se ha observado que el uso de carbón activado, cuando se combina con reguladores de crecimiento, puede favorecer el crecimiento y enraizamiento de los brotes, aunque sin un enfoque específico en el control de contaminantes. Sin embargo, al aplicar carbón activado en el cultivo *in vitro* de *Lophophora williamsii*, nuestros resultados mostraron una contaminación del 100 % y la ausencia de formación de embriones. La diferencia entre los efectos del carbón activado en *Turbinicarpus* y *Lophophora williamsii* podría atribuirse a variaciones en las necesidades y respuestas de cada especie, así como al propósito del tratamiento. Estos hallazgos sugieren que, aunque el carbón activado puede estabilizar el medio y favorecer el crecimiento en algunas especies, deben considerarse otros compuestos para un protocolo eficiente.

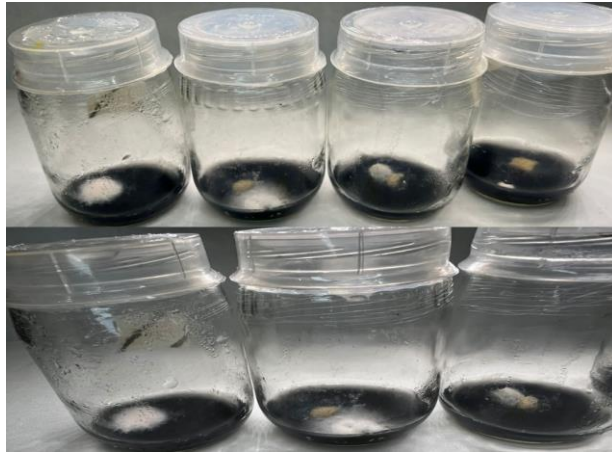


Figura 20. Muestras contaminadas

4.1.8 Evaluación del Tratamiento 8

Con base en lo reportado en estudios de *Hylocereus* por Moreira-Palacios, M., & Sánchez-Rodríguez, A. (2017), quienes observaron problemas relacionados con la oxidación en cultivos *in vitro* de esta cactácea, se encontró que, en nuestro tratamiento con *Lophophora williamsii*, también se presentan problemas significativos debido a la oxidación. En el caso de *Hylocereus*, los explantes tratados con antioxidantes y reguladores de crecimiento mostraron una respuesta variable en cuanto a crecimiento y diferenciación, lo que sugiere que la respuesta a la oxidación en cada especie depende de sus adaptaciones genéticas y ambientales específicas. Aunque en *Hylocereus* no se emplea azul de metileno, el uso de distintos antioxidantes subraya la importancia de realizar ajustes específicos en el protocolo para cada especie en cultivo *in vitro*, con el fin de minimizar la oxidación y mejorar el crecimiento de los explantes.



Figura 21. Necrosis del tratamiento 8

4.1.9 Evaluación del Tratamiento 9

Con base en lo reportado por Morales (2015) en su estudio con *Eremurus spectabilis*, donde se emplearon antioxidantes para promover la regeneración, se encontró que en nuestro tratamiento 9, el uso de ácido ascórbico y azul de metileno resultó en un 70 % de éxito en embriogénesis. La notable efectividad observada en ambos estudios sugiere que el empleo de antioxidantes específicos y un medio equilibrado puede mejorar significativamente la embriogénesis y el desarrollo de brotes embriogénicos. Estos resultados resaltan la importancia formular los componentes del medio de cultivo *in vitro* para cada especie, optimizando así las condiciones que favorecen su regeneración y crecimiento.



Figura 22. Necrosis del tratamiento 9

4.1.10 Evaluación del Tratamiento 10

Con base en lo reportado por Romadanova *et al.* (2022) en cultivos de manzano, donde una exposición prolongada al PPM generó efectos negativos en los tejidos, incluyendo estrés oxidativo, se obtuvo en el tratamiento 10 de nuestro estudio un 100 % de mortalidad debido a oxidación al emplear ácido ascórbico en el medio y PPM en una inmersión de 24 horas. La notable consistencia entre los efectos observados en el manzano y nuestros resultados sugiere que la exposición prolongada al PPM puede inducir estrés oxidativo en tejidos sensibles, como es el caso en *Lophophora williamsii*. Este hallazgo destaca la importancia de ajustar tanto la concentración como el tiempo de aplicación de PPM, ya que un uso excesivo o prolongado puede provocar daños irreversibles en los tejidos, afectando la viabilidad de los explantes en el cultivo *in vitro*.



Figura 23. Muerte por necrosis

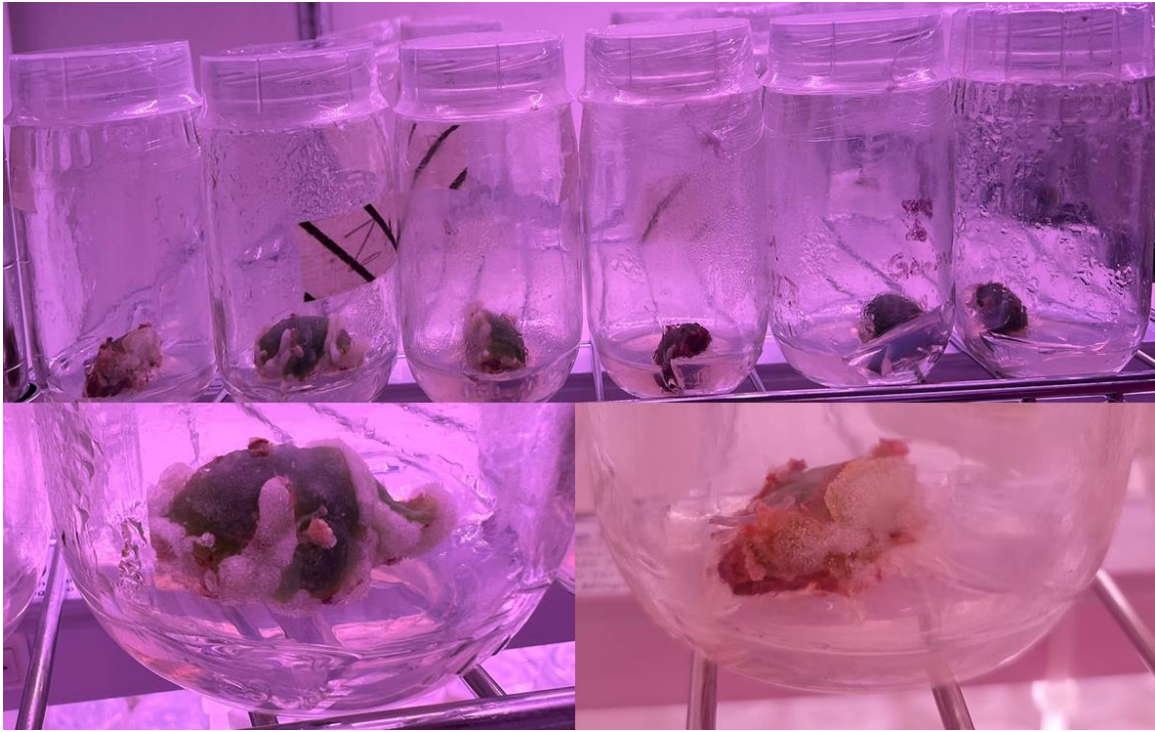


Figura 24. Callogénesis presentada

4.2 Análisis estadísticos

De los tres tratamientos publicados se realizó la prueba de los protocolos para la desinfección de explante observando que el tratamiento 2, Alcántara (1991) reportó una supervivencia del 30 % las pruebas realizadas en el laboratorio determinaron un 7.60 % de supervivencia como se observa en el **Cuadro 7**.

Los tratamientos evaluados de Buendía (1999) y Esparza (2004) denotan un porcentaje de supervivencia de 50 % y 38 % en esta evaluación realizada siguiendo los mismos parámetros se obtuvo un 100 % de contaminación como se observa en el **Cuadro 7**.

Cuadro 7. Evaluación de protocolos publicados.

| Tratamientos | Embriogénesis | Contaminados | Totales |
|--------------|---------------|--------------|---------|
| T1 | 7.69 % | 92.30 % | 13 |
| T2 | 0 % | 100 % | 13 |
| T3 | 0 % | 100 % | 13 |

Tomando en cuenta la supervivencia del tratamiento 1 **Cuadro 7** se determinó que la mejor metodología para el establecimiento fue la de Alcántara (1991) con punto de partida de esta investigación añadiendo parámetros diferentes en cuanto la concentración del medio (Cuadro 2). Observándose que el mejor tratamiento para el establecimiento de tejido embriogénico fue el tratamiento 9 con una supervivencia del 70 % de esta manera se determinó que los tratamientos 4 y 5 mostraron un porcentaje de supervivencia igual o mayor al 60 % por lo cual se recomienda el uso de estos.

Cuadro 8. Comparación de medias de Tukey de la Evaluación de tratamientos en laboratorio.

| Tratamientos | Embriogénicos | No embriogénicos | Totales |
|--------------|-------------------|------------------|---------|
| T4 | 65.00 % c | 35.00 % b | 15 |
| T5 | 60.00 % c | 40.00 % b | 15 |
| T6 | 20.00 % ab | 80 % cd | 15 |
| T7 | 0 % a | 100 % d | 15 |
| T8 | 0 % a | 100 % d | 15 |
| T9 | 70 % d | 30 % a | 15 |
| T10 | 0 % a | 100 % d | 15 |

*valores con la misma letra son estadísticamente similares (Tukey $p>0.05$).

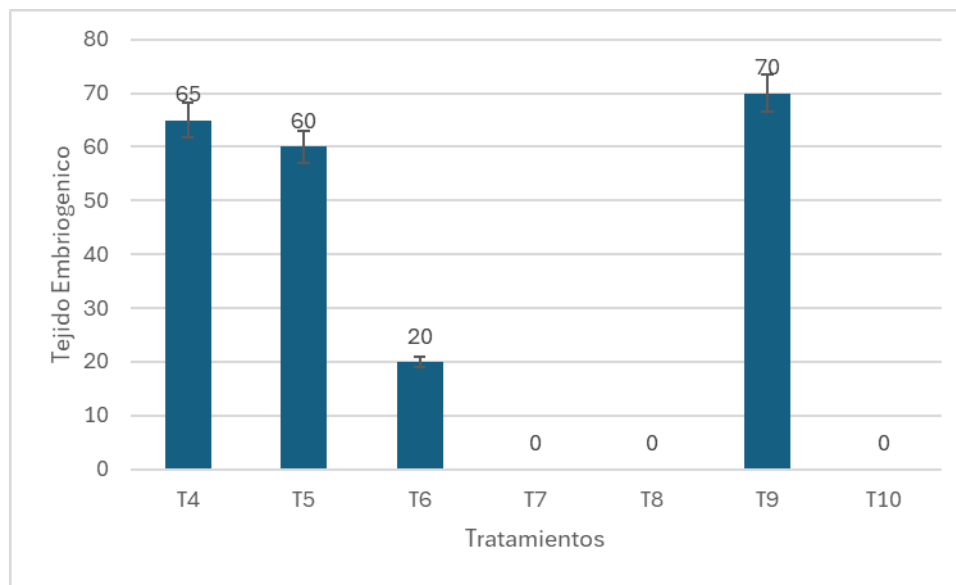


Figura 25. Tejido embriogénico a los 21 días después de siembra.

V. CONCLUSIONES

En los protocolos establecidos el medio más adecuado para el cultivo fue el tratamiento X que obtuvo un porcentaje de 7.69 de embriogénesis. Se observó de los protocolos realizados en el laboratorio, el tratamiento 9 es el más eficaz para la desinfección de corona en el cual se utiliza agua con PPM para enjuagar la corona e igual se utiliza PPM en el medio, alcohol 80 %, hipoclorito de sodio 20 % y TWEEN 20 en la que se demostró que el uso de ácido ascórbico como antioxidante promueve la supervivencia de los tejidos vegetales

Mediante las pruebas realizadas se determinó que el mejor tratamiento para combatir la oxidación fue el T9 en donde se utilizó ácido ascórbico 1 mg. L⁻¹ y se registró un porcentaje de plantas embriogénicas del 70 %.

VI. LITERATURA CITADA

- Abedini, W., Adema, M., & Sharry, S. (2015). *Plantas de probeta: Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos in vitro*. Universidad de la Plata, Edulp.
- Agin-Liebes, G., Haas, TF, Lancelotta, R., Uthaug, MV, Ramaekers, JG y Davis, AK (2021). El uso naturalista de mescalina se asocia con mejoras psiquiátricas autoinformadas y cambios positivos duraderos en la vida. *Farmacología y ciencia traslacional de ACS*, 4 (2), 543-552.
- Anderson, E. F. (1969). The biogeography, ecology, and taxonomy of *Lophophora* (Cactaceae). *Brittonia*, 21(3), 299–310.
- Anderson, E. F. (1980). *Peyote: The Divine Cactus*. University of Arizona Press.
- Anderson, E. F. (2007). *Peyote, The Divine Cactus* (1st ed.). LAERTES.
- Baskaran, P., & Jayabalan, N. (2005). An efficient micropropagation system for *Eclipta alba*—A valuable medicinal herb. *In vitro cellular & developmental biology-Plant*, 41, 532-539.
- Bäumler, S. (2007). *Heilpflanzen-Praxis heute: Porträts, Rezepturen, Anwendung*. Elsevier, Urban&FischerVerlag.
- Benson, L. (1982). *The Cacti of the United States and Canada* (1st ed.). Stanford University Press.
- Blanco, A. (2006). Vitaminas. En A. Blanco (Ed.), *Química Biológica* (8a ed., pp. 447–479). Buenos Aires: El Ateneo.
- Bouzroud, S., El Maaiden, E., Sobeh, M., Devkota, KP, Boukcim, H., Kouisni, L. y El Kharrassi, Y. (2022). Micropropagación de *Opuntia* y oFronteras en la ciencia vegetal.

- Bruhn, J. G., & Holmstedt, B. (1974). Early peyote research: An interdisciplinary study. *Economic Botany*, 28(4), 353–390.
- Cárdenas, M. L. O., Chávez, A. A., González, M. T., Medina, S. D. J. M., Kosky, R. G., Pérez, L. P., ... & Corona, M. P. (2012). Efecto de dos citoquininas, ácido ascórbico y sacarosa en la obtención de plantas *in vitro* de *Sorghum bicolor* para la formación de callos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(2), 101-110.
- Ceremonia de Hikuri / Hikuri Ceremony (Peyote) - Pahkalli-Xeripa. (s.f.). Recuperado de <https://pahkalli-xeripa.com/services/ceremonia-de-hikuri/>
- Clavijo González, N. (2018). *Etnobotánica de Lophophora williamsii*.
- Cortés Olmos, C., Gurrea-Ysasi, G., Prohens Tomás, J., Rodríguez Burruezo, A., & Fita, A. (2018). *Protocolos de germinación y crecimiento in vitro de la ornamental Lophophora williamsii (Lem.) Coult. como herramienta para proteger poblaciones silvestres en peligro de extinción*. *Scientia Horticulturae*, 237, 120-127.
- Cortés-Olmos, C., Gurrea-Ysasi, G., Prohens, J., Rodríguez-Burruezo, A., & Fita, A. (2018). *In vitro* germination and growth protocols of the ornamental *Lophophora williamsii* (Lem.) Coult. as a tool for protecting endangered wild populations. *Scientia Horticulturae*, 237, 120-127.
- De la Rosa-Carrillo, M. de L., Domínguez-Rosales, MS, Pérez-Reyes, ME, & Pérez-Molphe-Balch, E. (sf). *Cultivo y propagación in vitro de cactáceas amenazadas del género Turbinicarpus*.
- Dinis-Oliveira, RJ, Pereira, CL y Da Silva, DD (2019). Aspectos farmacocinéticos y farmacodinámicos del peyote y la mescalina: repercusiones clínicas y forenses. *Farmacología molecular actual*, 12 (3), 184-194.
- Doesburg-van Kleffens, M., Zimmermann-Klemd, AM y Gründemann, C. (2023). Una visión general sobre el peyote alucinógeno y su alcaloide mescalina: la importancia del contexto, la ceremonia y la cultura. *Moléculas*, 28 (24), 7942.

- Domínguez, M., González, Ma. (2008). El cultivo *in vitro* como herramienta para el aprovechamiento, mejoramiento y conservación de especies del género *Agave*. *investigación y ciencia*, 41, 53-62
- Elizondo, R. E., Martínez, S., & Murray, W. (2015). Usos del peyote *Lophophora williamsii* (Lem. ex Salm-Dyck) J.M. Coult en el noreste mexicano prehispánico. *Planta*, 10(21), 1-4.
- Estévez, M. M. (2021). Conservación *in vitro* de germoplasma, un método para salvar el acervo genético en plantas. *Desde El Herbario CICY*, 86, 83-86.
- Feeney, K. (2016). Peyote, Conservation, and Indian Rights in the United States. En B. C. Labate y C. Cavnar (Eds.), *Peyote. History, Tradition, Politics and Conservation* (pp.105-128). Santa Bárbara, California: ABC-CLIO/Praeger Publishers.
- Flores-Mora, D. M., Jiménez-Bonilla, V., y Chacón-Cerdas, R. 2009. Cultivo de tejidos en *Ficus carica* con miniestacas. *Agronomía Mesoamericana*. pp. 319-325
- Frazier, E. G. (2006). Préstamos del náhuatl al español mexicano. *Hesperia: Anuario de Filología Hispánica*, 9, 75-86.
- George, E. F., & Debergh, P. C. (2008). Micropropagation: Uses and methods. En E. F. George, M. A. Hall, & G. J. De Klerk (Eds.), *Plant propagation by tissue culture* (3rd ed., pp. 29-64). Springer.
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2008). *Plant Propagation by Tissue Culture* (3rd ed.). Springer.
- Giraldo-Silva, L., Ferreira, B., Rosa, E. y Dias, ACP (2023). Fruto de *Opuntia ficus-indica* : una revisión sistemática de sus actividades fitoquímicas y farmacológicas. *Plantas* , 12 (3) , 543.

- González Botello, M. Á. (2004). *Cactáceas del estado de Nuevo León: Riqueza, patrones de distribución y conservación* [Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Forestales].
- Gründemann, C. (2023). Una visión general del peyote alucinógeno y su alcaloide mescalina: la importancia del contexto, la ceremonia y la cultura . *Molecules* , 28 (24), 7942. <https://doi.org/10.3390/molecules28247942>
- Gureev, AP y Popov, VN (2023). El azul de metileno induce la defensa antioxidante y la reparación del ADN mitocondrial de una manera dependiente de Nrf2 durante la toxicidad renal inducida por cisplatino. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*, 24 (7), 6118. <https://doi.org/10.3390/ijms24076118>
- Guzmán, C., M. G. (2017). Interculturalidad en torno al uso del peyote. Un patrimonio biocultural en condición de ilegalidad. *Alteridades*, 27(53), 95-106.
- Ibarra-Laclette, E., Zamudio-Hernández, F., Pérez-Torres, C. A., Albert, V. A., Ramírez-Chávez, E., Molina-Torres, J., Fernández-Cortes, A., Calderón-Vázquez, C., Olivares-Romero, J. L., & Herrera-Estrella, A. (2015). De novo sequencing and analysis of *Lophophora williamsii* transcriptome and searching for putative genes involved in mescaline biosynthesis. *BMC Genomics*, 16(1), 1–14.
- Kalam, M. A., Trout, K., Klein, M. T., Daley, P., Hulsey, D., & Terry, M. (2013). A preliminary report of mescaline concentrations in small regrowth crowns vs. mature crowns of *Lophophora williamsii* (Cactaceae): Cultural, economic, and conservation implications. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 435–440.
- Loizaga Velder, A., & Loizaga Pazzi, A. (2013). *Peyote y salud mental* (Memorias de congreso).
- López, C. (2017). *Micropropagación de tres variedades de caña flecha (Gynerium sagittatum Aubl.)* [Tesis de M. Sc. Biotecnología, Universidad de Córdoba, Departamento de Química].

- Luna Fuentes, C. (2017). Peyote, cactus sagrado. *Periodismo de reflexión y difusión*. Recuperado de <https://nosotrosmx.com/2017/08/31/peyote-cactus-sagrado/>
- Macías, C. G. V., & Flores, G. J. A. (2009). *Cactáceas de Nuevo León, México*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Márquez, D. A. (2023). Estudio de la desinfección para la micropropagación *in vitro* de segmentos nodales de guanábana (*Annona muricata* L.) Study of disinfection for *in vitro* micropropagation of nodal segments of soursop (*Annona muricata* L.).
- Martín, R., Chong-Pérez, B., & Pérez-Alonso, N. (2015). Organogénesis *in vitro* en el género *Digitalis*. *Biotecnología Vegetal*, 15(4).
- Medina Miranda, H. M. (2013). Las personalidades del maíz en la mitología wixarika o cómo las mazorcas de los ancestros se transformaron en peyotes. *Revista de El Colegio de San Luis*, 3(5), 164–183.
- Morales, S. (2015). *Estudio de la germinación y crecimiento de Eremurus spectabilis bajo condiciones controladas* (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España.
- Moreira-Palacios, M., & Sánchez-Rodríguez, A. (2017). *Estudio del género Hylocereus en la producción de frutos y adaptación a diferentes condiciones ambientales* (Tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México.
- Mroginski, P. S., & Flaschland, E. (2004). Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales. En G. Levitus, V. Echenique, C. Rubinstein, E. Hopp, & L. Mroginski (Eds.), *Biología y mejoramiento vegetal II* (2a ed., pp. 17–25). Argenbio. Consejo Argentino para la Información y Desarrollo de la Biotecnología. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).
- Nájera-Quezada, P., Jaime-Hernández, J., López-Martínez, C., & Neri-Cardona, S. K. (2013). About the use and abuse of peyote (*Lophophora williamsii* [Lem. ex Salm-Dyck] JM Coult.).

Nett, RS , Lau, W. & Sattely, ES (2020) Descubrimiento e ingeniería de la biosíntesis de alcaloides de colchicina . *Naturaleza* , 584 , 148 – 153

Norma Oficial Mexicana. Protección Ambiental-Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres-Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio-Lista de Especies en Riesgo. NOM-059-SEMARNAT. Diario Oficial, 2010.

Pérez Silva, E. R. (2021). *Evaluación de la Fenología Reproductiva y Polinizadores de Lophophora williamsii (Lem. ex Salm-Dyck) JM Coult y Thelocactus bicolor (Galeotti ex Pfeiff.) Britton & Rose en Nuevo León y San Luis Potosí, México* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).

Quisbert Cuchut , J. ., & Murillo, R. A. . (2019). Efecto de tres concentraciones de carbón activo y diferentes fuentes de carbono, en multiplicación de vitroplantas de Papa Imilla Negra (*Solanum tuberosum* L. Ssp.Andigena). *Apthapi*, 5(2), 1616–1631. Recuperado a partir de <https://apthapi.umsa.bo/index.php/ATP/article/view/12>

Rao, N. K. (2004). Recursos fitogenéticos: promoción de la conservación y el uso mediante la biotecnología. *Revista Africana de Biotecnología*, 3, 136-145.

Resumen de compuestos PubChem del Centro Nacional de Información Biotecnológica para CID 4076, mescalina. Disponible en línea: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mescaline> (consultado el 13 de noviembre de 2023).

Riesgo, E. N. (n.d.). *Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección Ambiental-Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres-Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio-Lista de Especies en Riesgo Prefacio*.

Robert A. Tobey, D., Orlicky, J., Larry L. Deaven, B., and Richard J. (1978). Effects of Bouvardin (NSC 259968), a Cyclic Hexapeptide from *Bouvardia ternifolia*, on the

Progression Capacity of Cultured Chinese Hamster Cells. American Association for Cancer Research., 38, 4415-4421.

Rodríguez, M., & Mariana, S. (2015). Morfología, germinación, micropropagación y análisis cromosómico de cuatro especies de cactáceas para su conservación.

Rodríguez-de la OJL, Ramírez-Pantoja PE. "Micropropagación de materiales seleccionados de *Opuntia ficus-indica* L mediante cultivo *in vitro* de areolas". *Revista de biotecnología aplicada y bioingeniería*.

Rodríguez-Garay, B., et al. (1996). "Micropropagation of *Mammillaria albilanata*, a threatened species." *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 46(1), 63-67.

Rojas, A., M., & Flores, J. (2016). An overview of cacti and the controversial peyote. *Peyote: History, tradition, politics, and conservation*, 21-42.

Romadanova, N. V., Tolegen, A. B., Kushnarenko, S. V., Zholdybayeva, E. V., & Bettoni, J. C. (2022). Effect of plant preservative mixtureTM on endophytic bacteria eradication from *in vitro*-grown apple shoots. *Plants*, 11(19), 2624.

Romadanova, NV, Tolegen, AB, Kushnarenko, SV, Zholdybayeva, EV y Bettoni, JC (2022). Efecto de Plant Preservative MixtureTM en la erradicación de bacterias endófitas de brotes de manzana cultivados *in vitro*.

Romero, R., Morales, P., Pino, O., Cermeli, M., & González, E. (2015). Actividad insecticida de seis extractos etanólicos de plantas sobre mosca blanca. *Revista de Protección Vegetal*, 30, 23–28.

Segretín, M. E. (2006). Los cultivos celulares y sus aplicaciones II (cultivos de células vegetales). *Consejo Argentino para la Información y el Desarrollo de la Biotecnología*, 2, 5–8.

- Segura, B. O. D. (2013). Dinámica Poblacional de *Lophophora diffusa* “Peyote”(Cactaceae) en una localidad del estado de Querétaro (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma Metropolitana).
- Suárez Padrón, I. (2020). Cultivo de tejidos vegetales. Ed. Fondo Editorial Universidad de Córdoba.
- Suárez, I., & Quintero, I. (2011). Micropropagación de *Stevia rebaudiana* Bertoni, un endulzante natural. *VIII Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal*, Ciego de Ávila, Cuba.
- Suárez, I., & Quintero, I. (2014). Micropropagación de *Stevia rebaudiana* Bertoni, a través de explantes con meristemos pre-existentes. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 16(1), 29–33.
- Suárez, I., Aramendiz, H., & Pastrana, I. (2009). Micropropagación de caña flecha (*Gynerium sagittatum* Aubl.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín*, 62(2), 5135–5143.
- Suárez, I., Jarma, A., & Ávila, M. (2006). Desarrollo de un protocolo para propagación *in vitro* de roble (*Tabebuia rosea*). *Temas Agrarios*, 11(2), 46–52.
- Tejada-Alvarado, J. J., Meléndez-Mori, J. B., Vilca-Valqui, N. C., Huaman-Huaman, E., & Oliva-Cruz, S. M. (2022). Efecto de biocidas y consistencia del medio de cultivo para el establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia*. *Bosque (Valdivia)*, 43(2), 117-123.
- Terry, M., & Trout, K. (2017). Regulation of peyote (*Lophophora williamsii*: Cactaceae) in the USA: A historical victory of religion and politics over science and medicine. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 11(1), 147–156.
- Terry, M., Trout, K., Williams, B., Herrera, T., & Fowler, N. (2011). Limitations to natural production of *Lophophora williamsii* (Cactaceae) I. Regrowth and survivorship two

- years post harvest in a South Texas population. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 661–675.
- Terry, M., y Trout, K. (2013). "Cosecha sustentable de peyote por parte de los nativos americanos del sur de Texas". *Instituto de Investigación Botánica de Texas* .
- Terry, M., y Trout, K. (2013). Cultivo de peyote: una solución lógica y *práctica al problema de la disminución de la disponibilidad* . *Phytologia* , 4(95).
- Thorpe, T. A. (Ed.). (2007). *Micropropagation, Rooting, and Acclimatization*. Springer.
- Tyagi, R. K., Agrawal, A., Mahalakshmi, C., Hussain, Z., & Tyagi, H. (2007). Medios de bajo costo para la conservación *in vitro* de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) y evaluación de la estabilidad genética utilizando marcadores RAPD. *Biología Celular y del Desarrollo in vitro - Planta*, 43, 51-58.
- Uthaug, M. V., Davis, A. K., Haas, T. F., Davis, D., Dolan, S. B., Lancelotta, R., ... & Ramaekers, J. G. (2022). The epidemiology of mescaline use: Pattern of use, motivations for consumption, and perceived consequences, benefits, and acute and enduring subjective effects. *Journal of Psychopharmacology*, 36(3), 309-320.
- Velazco Macías, C. G., & Alanís Flores, G. J. (2009). *Cactáceas de Nuevo León, México*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Wang, Y. L., Fan, M. J., & Liaw, S. L. (2005). Criopreservación de puntas de brotes de papaya (*Carica papaya* L.) cultivadas *in vitro* mediante vitrificación. *Boletín Botánico de la Academia Sínica*, 46, 29-34.
- Watkins, J. L., Li, Q., Yeaman, S., & Facchini, P. J. (2023). Elucidation of the mescaline biosynthetic pathway in peyote (*Lophophora williamsii*). *The Plant journal : for cell and molecular biology*, 116(3), 635–649. <https://doi.org/10.1111/tpj.16447>