



Polibotánica

ISSN: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

<http://www.polibotanica.mx>

FORMACIÓN DE RAÍCES E INDUCCIÓN DE HAUSTORIOS DE *Castilleja tenuiflora* BENTH. CON CATEQUINA Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

ROOT FORMATION AND HAUSTORIA INDUCTION OF *Castilleja tenuiflora* BENTH. WITH CATECHIN AND HYDROGEN PEROXIDE

Salcedo-Morales, G.; J.L. Trejo-Espino; B.P. Martínez-Bonfil, F. Cruz-Sosa, y G. Trejo-Tapia

FORMACIÓN DE RAÍCES E INDUCCIÓN DE HAUSTORIOS DE *Castilleja tenuiflora*
BENTH. CON CATEQUINA Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO.

ROOT FORMATION AND HAUSTORIA INDUCTION OF *Castilleja tenuiflora* BENTH.
WITH CATECHIN AND HYDROGEN PEROXIDE

FORMACIÓN DE RAÍCES E INDUCCIÓN DE HAUSTORIOS DE *Castilleja tenuiflora* BENTH. CON CATEQUINA Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

ROOT FORMATION AND HAUSTORIA INDUCTION OF *Castilleja tenuiflora* BENTH. WITH CATECHIN AND HYDROGEN PEROXIDE

Salcedo-Morales, G.; J.L. Trejo-Espino; B.P. Martínez-Bonfil, F. Cruz-Sosa, y G. Trejo-Tapia

FORMACIÓN DE RAÍCES E INDUCCIÓN DE HAUSTORIOS DE *Castilleja tenuiflora* BENTH. CON CATEQUINA Y PERÓXIDO DE HIDRÓGENO

ROOT FORMATION AND HAUSTORIA INDUCTION OF *Castilleja tenuiflora* BENTH. WITH CATECHIN AND HYDROGEN PEROXIDE

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 44: 147-156. Julio 2017

DOI:
10.18387/polibotanica.44.11

**G. Salcedo-Morales
J.L. Trejo-Espino
B.P. Martínez-Bonfil**

*Lab. de Productos Naturales, Depto. de Biotecnología,
Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional.
Calle CEPROBI núm. 8, Colonia San Isidro, CP 62730, Yautepec, Morelos.*

F. Cruz-Sosa

*Depto. de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Unidad Iztapalapa,
Av. San Rafael Atlixco núm. 186, Col. Vicentina, Ciudad de México, México.*

G. Trejo-Tapia/gttapia@ipn.mx

*Lab. de Productos Naturales, Depto. de Biotecnología,
Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional.
Calle CEPROBI núm. 8, Colonia San Isidro, CP 62730, Yautepec, Morelos.*

RESUMEN: *Castilleja tenuiflora* Benth. es una planta hemiparásita utilizada en la medicina tradicional mexicana debido a las propiedades farmacológicas que posee. Esta especie desarrolla un órgano llamado haustorio con el que se conecta a su hospedero y a través del cual se provee de agua, nutrientes y de diversos metabolitos. Debido a su importancia medicinal se han hecho esfuerzos para micropropagarla, sin embargo, en condiciones *in vitro* *C. tenuiflora* desarrolla raíces pequeñas y delgadas lo que ha dificultado este proceso. En el presente trabajo, se promovió la formación de haustorios en raíces de *C. tenuiflora* empleando catequina y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) con dos medios de cultivo; Schenk y Hildebrandt, 1972 (SH) y Gamborg *et al.*, 1968 (B5). Los resultados a nivel histológico muestran la presencia de haustorios en la epidermis de las raíces de *C. tenuiflora*. Se observó también un efecto de los tratamientos con B₅+catequina y SH+catequina sobre el número y grosor de raíces y de B₅ + H₂O₂ y SH+catequina en el número de haustorios, comparados con el control. Lo anterior indica que la catequina (flavonoide) y H₂O₂ en combinación con medio B5 o SH favorecen la formación de haustorios y el desarrollo de raíces en plantas de *C. tenuiflora* cultivadas *in vitro*.

Palabras clave: planta hemiparásita, micropropagación, haustorio.

ABSTRACT: *Castilleja tenuiflora* Benth. is a hemiparasite plant used in the traditional medicine in Mexico for its pharmacological properties. This species develops an organ called haustorium with which connects to its host and through which it provides water, nutrients and diverse metabolites. Primarily for its medicinal importance, there has been efforts to micropropagate *C. tenuiflora*, however the plants develop small and thin roots, making difficult this process. In this study the objective was to induce the formation of haustoria in roots of *C. tenuiflora* using catechin and hydrogen peroxide (H₂O₂) with two culture media; Schenk and Hildebrandt, 1972 (SH) and Gamborg *et*

al., 1968 (B5). The results at histological level had shown the presence of haustoria in the

catechin on the number and thickness of roots and B5 + H₂O₂ and SH + catechin in the number of haustoria, compared with the control, was also observed.

Key words: hemiparasite plant, micropropagation, haustorium

INTRODUCCIÓN

Castilleja tenuiflora Benth. (Orobanchaceae) es una planta hemiparásita conocida en la medicina tradicional mexicana como: cola de borrego, calzón de indio, garañona, garayona, hierba del golpe o hierba del cáncer (Martínez, 1994). Su importancia en la medicina tradicional está fundamentada en la producción y acumulación de compuestos químicos que le confieren un valor farmacológico como sedante, antiulcerogénico, citotóxico y antiinflamatorio. Estos compuestos activos son lignanos, feniletanoides (verbascósido e isoverbascósido), flavonoides (apigenina) e iridoides glicosilados (Herrera-Ruíz *et al.* 2015; Sánchez *et al.* 2013; Gómez-Aguirre *et al.*, 2012; López-Laredo *et al.*, 2012; Martínez-Bonfil *et al.*, 2011; Moreno-Escobar *et al.*, 2011).

Dada la importancia etnobotánica que tiene *C. tenuiflora* existe un interés por establecer un sistema de micropropagación con fines de conservación del germoplasma y para obtener un modelo de estudio que permita realizar investigación sobre la formación de raíces y haustorios. Los reportes sobre conservación del germoplasma en condiciones *in vitro* han involucrado para su establecimiento medios de cultivo como el B5 suplementado con ácido indolacético (AIA) para inducir la formación de raíces (Gómez-Aguirre *et al.*, 2012). Los resultados indican un mayor rendimiento en biomasa y cambios morfológicos en las raíces después de la transferencia a un medio de cultivo sin reguladores de crecimiento. Estos cambios se relacionaron con la presencia en las raíces laterales de *C. tenuiflora* de algunos abultamientos de forma redonda. Estas estructuras se asemejan a haustorios, órganos que desarrollan las especies hemiparásitas y cuya función es ser un puente de conexión entre la planta parásita y su hospedero, con el fin de obtener agua, nutrientes y diferentes tipos de metabolitos. Bajo condiciones *in vitro* se ha reportado la inducción de haustorios con compuestos químicos como vanilina, H₂O₂ y catequina (Salcedo-Morales *et al.*, 2014), o 2,6-dimetil-*p*-benzoquinona y antocianinas (Albrecht *et al.*, 1999). Estos compuestos son del tipo de los que encuentran en la rizósfera, por lo que se conocen como exudados de raíz y son los responsables de la formación de haustorios de manera natural (Walker *et al.*, 2003; Hassan *et al.*, 2004). En condiciones *in vitro* Tomilov *et al.* (2004) reportaron la inducción de haustorios en presencia de AIA (0.228 µM) en plantas de *Triphysaria versicolor* (Orobanchaceae), mientras que Montes-Hernández *et al.* (2015) señalaron que, a partir del haustorio, *C. tenuiflora* obtiene agua, compuestos fijadores de carbono, nitrógeno y nutrientes.

La inducción de haustorios en condiciones *in vitro* se ha llevado a cabo para conocer más sobre las relaciones parásitas que afectan una gran cantidad de cultivos de importancia económica (Deeks *et al.*, 1999). Sin embargo, la relación entre la formación de haustorios y el desarrollo de raíces no ha sido reportada. En condiciones *in vitro* *C. tenuiflora* presenta dificultades para desarrollar raíces, y cuando lo hace, estas son pequeñas y delgadas lo cual es un obstáculo para la micropropagación y subsecuentemente la aclimatación *ex vitro*. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue promover la generación de raíces e inducir la formación de haustorios en plántulas de *C. tenuiflora* cultivadas *in vitro*, para su caracterización morfológica e histoquímica, empleando catequina y H₂O₂ con dos medios de cultivo; SH y B5.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estrategia experimental

Para lograr la formación de raíces e inducción de haustorios y poder caracterizarlos, se hicieron crecer plántulas de *C. tenuiflora* de 21 días de edad en condiciones *in vitro*. Se probaron dos diferentes medios de cultivo y también dos distintos tipos de compuestos formadores de haustorios (CFHs), lo anterior según los siguientes cuatro tratamientos: Plántulas con medio B5; Plántulas con medio B5 mas catequina (25 μM); Plántulas con medio SH y Plántulas con medio SH mas H_2O_2 . Las variables de respuesta para todos los tratamientos fueron: número de raíces formadas por cada plántula, grosor de la raíz y número de haustorios presentes por raíz. Se realizaron dos experimentos independientes con dos replicas cada uno ($n = 4$). El análisis estadístico de los datos se realizó con el software SigmaStat® y consistió en un análisis de varianza seguido de una prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Material biológico y condiciones de cultivo

Plantas de *C. tenuiflora* cultivadas *in vitro* se desarrollaron durante 21 d en medio de cultivo líquido SH o B5 suplementados con 30 g/L de sacarosa y 10 μM de AIA. Los cultivos se mantuvieron en agitación a 110 rpm, en condiciones controladas de fotoperiodo (16 h luz/8 h oscuridad) a 70 $\mu\text{mol}/\text{m}^2\text{s}$ de intensidad luminosa y a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ de temperatura. Después de ese periodo de crecimiento, en condiciones asépticas se subcultivaron en los medios de cultivo sin reguladores de crecimiento. Para los tratamientos los CFHs fueron previamente esterilizados por filtración a través de membranas de nylon de 0.2 μm (Millipore, GNP, Irlanda) y las plántulas estuvieron en contacto con los CFHs durante 21 d. Para la identificación y caracterización de raíces y haustorios, se utilizó una tinción con cristal violeta y las raíces fueron observadas con un microscopio estereoscópico (modelo MZ 1500, Nikon, Japón) equipado con una cámara digital.

Análisis histológico de haustorios

El análisis histológico se realizó de acuerdo a lo reportado por Bancroft y Gamble (2002). Las raíces fueron fijadas con formaldehído durante 24 h, posteriormente se realizaron tres lavados con amortiguador de fosfatos pH 7.2 (0.2 M) para eliminar los restos de formaldehído y evitar dañar el tejido. El siguiente paso fue deshidratar las raíces utilizando etanol en diferentes concentraciones: 30%, 50%, 70%, 80%, 90% y etanol absoluto durante 1 h en cada una. Estas raíces se colocaron en una solución de xilol-etanol (50-50%, v/v) durante 1 h, y se transfirieron a xilol al 100% (v/v) durante 24 h. Posteriormente, se pasaron a una solución xilol-paraplast (50%-50%, v/v) por 24 h y se colocaron en paraplast al 100% durante 1 h. Finalmente, las raíces fueron colocadas de manera individual en contenedores simport con tapa en forma de rejilla (Sigma/Aldrich, St. Louis, MO, EU) colocándoles el paraplast hasta quedar completamente cubiertas y colocarles una rejilla que permitió que las raíces quedaran inmovilizadas. Las muestras se secaron durante 24 h en un horno a 60°C y se refrigeraron a 4°C para que solidificaran. Se realizaron cortes de 10 μm en un microtomo (LEICA, RM2125RT, Alemania), se tiñeron con el colorante cristal violeta y fueron observadas en un microscopio de luz (modelo Eclipse 801, Nikon, Japón) equipado con cámara digital.

RESULTADOS

Desarrollo de raíces de *C. tenuiflora*

Se observaron cambios morfológicos en las raíces de *C. tenuiflora* cultivadas *in vitro* y éstos se relacionaron tanto con el medio de cultivo utilizado, así como con la presencia de los CFHs suplementados en los tratamientos. Las raíces que se desarrollaron en los tratamientos control,

crecidas en medio de cultivo B₅ y SH (fig. 1A y 1B respectivamente), fueron de tipo axonomorfas, es decir, de la raíz principal emergen raíces delgadas y lisas. Por su parte los tratamientos a los que se aplicaron los CFHs desarrollaron más raíces, con respecto a los demás tratamientos, y éstas fueron más gruesas (fig. 1C, 1D y 1F). Los tratamientos de *C. tenuiflora* desarrollados en el medio B₅ ó SH con la aplicación de catequina desarrollaron un mayor número de raíces (cuadro 1), en comparación con el control y el tratamiento con en el mismo medio, pero con H₂O₂. En particular, con el tratamiento del medio de cultivo B₅ + catequina (fig. 1C) se obtuvieron raíces de *C. tenuiflora* en las que se aprecia la formación de haustorios y la presencia de pequeñas raíces delgadas (pelos haustoriales).

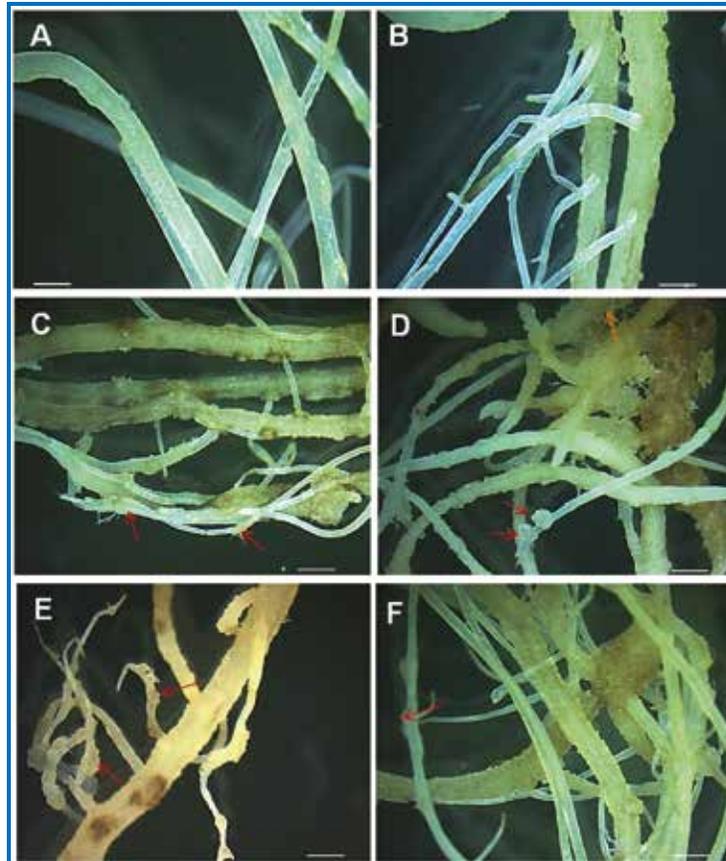


Fig. 1. Plántulas de *C. tenuiflora*. (A) Raíces de plantas crecidas en medio de cultivo B₅ (control). (B) Raíces de plantas crecidas en medio de cultivo SH (control). (C) Raíces de plantas crecidas en medio de cultivo B₅+catequina. (D) Raíces de plantas crecidas en medio de cultivo SH+catequina. (E) Raíces de plantas crecidas en medio de cultivo B₅ + H₂O₂. (F) Raíces de plantas crecidas en medio de cultivo SH +H₂O₂.

Las flechas indican la presencia de haustorios.

En el tratamiento con el medio de cultivo SH + catequina se obtuvieron plantas que presentaron entre 8 y 9 raíces, seguido por el tratamiento con medio B₅+ catequina con 6-7 raíces, mientras que en los controles, medio B₅ y SH, se obtuvieron entre 3-4 y de 2 a 3 raíces, respectivamente. Por su parte las plantas crecidas en los medios de cultivo B₅ + H₂O₂ y SH + H₂O₂, generaron de 1 a 2 y de 3 a 4 raíces, respectivamente.

La catequina tuvo un efecto significativo sobre el grosor de las raíces de *C. tenuiflora*, independientemente del medio de cultivo utilizado. El grosor de estas prácticamente se duplicó

alcanzando valores de 0.75 mm con B₅+catequina y 0.70 mm con SH+catequina respectivamente, mientras que los cultivos con H₂O₂ y control generaron raíces con valores de entre 0.37 mm y 0.45 mm de grosor (cuadro 1).

Cuadro 1. Inducción de haustorios, número y grosor de raíces en plantas de *C. tenuiflora* aplicando catequina y H₂O₂ como CFHs.

Tratamiento	Número de raíces	Grosor (mm)	Haustorios/raíz
B5	3 – 4 ± 2.4 ^B	0.37 ± 0.1 ^B	0 – 1 ± 0.5 ^B
+ catequina	6 – 7 ± 1.4 ^B	0.75 ± 0.3 ^A	1 – 2 ± 1.7 ^B
+ H ₂ O ₂	1 – 2 ± 1.5 ^B	0.46 ± 0.3 ^B	2 – 3 ± 1.1 ^A
SH	2 – 3 ± 2.5 ^B	0.45 ± 0.3 ^B	0
+ catequina	8 – 9 ± 2.6 ^A	0.70 ± 0.2 ^A	2 – 3 ± 1.5 ^A
+ H ₂ O ₂	3 – 4 ± 0.9 ^B	0.41 ± 0.3 ^B	0 – 1 ± 0.7 ^B

Los datos representan la media ± el error estándar de la media, de dos experimentos independientes (n = 4), letras diferentes en cada columna indican diferencia significativa de acuerdo con una prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Formación y caracterización histológica de haustorios en plantas de *C. tenuiflora*

El medio de cultivo tuvo efecto en la formación de haustorios, en la figura 2A se muestran raíces de *C. tenuiflora* crecidas en medio de cultivo B5 sin CFHs, en donde se observa tanto el inicio de la formación de raíces (flecha blanca), como el inicio de la formación de haustorios (flecha roja), mientras que con el medio de cultivo SH sin CFHs no se indujo la formación de haustorios (fig. 1E y cuadro 1). Por otro lado, la formación de haustorios si se presentó cuando se aplicaron los CFHs independientemente del medio de cultivo utilizado (figs. 2A y 2D). Al respecto, se encontró que el número de haustorios/raíz fue mayor con B₅ + H₂O₂ y SH + catequina (2-3 haustorios), en comparación al control (medio B5 sin CFHs) con el que se obtuvo solo un haustorio por raíz (cuadro 1).

En los cortes histológicos de raíz de *C. tenuiflora* crecida en medio de cultivo B₅ se observa el abultamiento de la epidermis de la raíz, debida al alargamiento de las células que posteriormente darán lugar a la emergencia de una raíz secundaria desde la zona del periciclo (fig. 2A). Mientras que en la figura 2C, se puede observar la presencia de gránulos de almidón (flecha blanca), los cuales se utilizan como fuente de energía en el proceso de enraizamiento y formación del haustorio.

En contraste, en la figura 2B y 2E se muestra un corte longitudinal de un haustorio de raíz de *C. tenuiflora* crecida en medio de cultivo SH + H₂O₂, la formación del haustorio se caracteriza por el alargamiento de las células de la epidermis de la raíz, así como por la formación de una zona meristemática, dando lugar a la formación de una zona de abultamiento en la que se identifica la presencia de tejido dérmico (a), tejido fundamental (b), tejido vascular (c) y tejido vascular de la raíz (d).

DISCUSIÓN

Un aspecto importante en la micropropagación *in vitro* a partir de brotes es la formación de raíces adventicias. Al respecto, en este estudio se probaron el efecto del medio de cultivo y CFHs en plántulas de *C. tenuiflora* sobre la formación de raíces y generación de haustorios. Los resultados muestran que hay una variación entre los diferentes tratamientos (cuadro 1). Esta

diferencia puede deberse a diversas razones, como la síntesis de auxinas, su transporte o la aplicación exógena de éstas (De Klerk *et al.*, 1999). Los tratamientos con H_2O_2 resultaron en una menor cantidad de raíces, lo anterior a pesar de ser una molécula que puede participar en procesos como gravitropismo de la raíz o desarrollo de raíces laterales, y que funciona tanto como un mensajero en la formación de raíces adventicias mediada por auxinas o como un mediador de los eventos responsables del enraizamiento adventicio (Huang, 2011). Sin embargo, el H_2O_2 es también una molécula que contribuye al estrés oxidativo, fenómeno común en plantas, y es posible que en este caso los brotes de *C. tenuiflora* hayan priorizado el activar su sistema de protección antioxidante para reducir los niveles de H_2O_2 y esto no permitió su participación en la rizogénesis (Cheniany *et al.*, 2010).

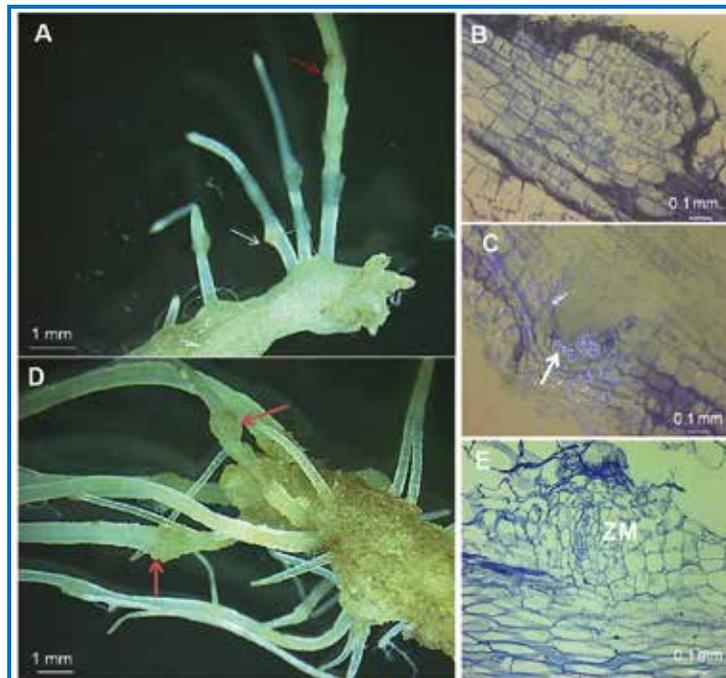


Fig. 2. Raíces y haustorios de plántulas de *C. tenuiflora*. (A) Formación de raíces (flecha blanca) y desarrollo de haustorios (flecha roja). (B-C) Corte histológico de un haustorio teñido con cristal violeta. (D). Desarrollo de haustorios (flecha roja) en raíces. (E) Corte histológico de una raíz con haustorio teñidos con cristal violeta, mostrando la formación de un haustorio y la zona meristemática (ZM). En B y E, tejidos que forman un haustorio, (a) Tejido dérmico, (b) tejido fundamental, (c) tejido vascular y (d) tejido vascular de raíz.

Por otro lado, los mejores resultados se presentaron con los tratamientos donde se agregó catequina como CFHs (cuadro 1). Resultados similares han sido reportados en *Eucalyptus gunni* (Curir *et al.*, 1990) y en *Chamaelucium uncinatum* (Curir *et al.*, 1993), quienes relacionan la capacidad de generación de raíces con la presencia de compuestos fenólicos. Esto se explica por el hecho de que los compuestos fenólicos protegen a las auxinas de la descarboxilación promoviendo una mayor disponibilidad de éstas para la inducción de raíces (De Klerk *et al.*, 2011). En este sentido, es posible que la catequina pueda estar participando en la protección de las auxinas y con ello promover la formación de raíces, obteniéndose de 6-7 raíces con un grosor de 0.75 mm con B5 + catequina y de entre 8-9 raíces con un grosor de 0.70 mm con SH + catequina.

Por su parte, los CFHs que se aplicaron a plantas de *C. tenuiflora* desarrolladas *in vitro*, tuvieron un efecto positivo sobre la formación de haustorios (cuadro 1). El desarrollo de haustorios de raíz en plantas hemiparásitas ha sido inducido en condiciones *in vitro* utilizando CFHs o exudados de raíz, este comportamiento está reportado para *Triphysaria versicolor* en donde utilizan vanillina, 2,6-dimetoxi-*p*-benzoquinona y peonidina como CFHs (Albrecht *et al.*, 1999) y para *Agalinis purpurea* en donde se aplicaron exudados del hospedero (Riopel y Musselman, 1979). Lo expuesto anteriormente coincide con los resultados obtenidos en este trabajo, en donde se promovió la inducción de haustorios con la adición tanto de catequina como de H₂O₂. Nuestros resultados concuerdan con lo descrito por Baird y Riopel (1984) quienes reportaron la formación de hasta 5 haustorios/planta inducidos con goma tragacanto. Por su parte, Montes-Hernández *et al.* (2015) reportaron una mayor cantidad de haustorios (hasta 10 haustorios por raíz) en raíces de plantas silvestres de *C. tenuiflora*, sin embargo esta cantidad la relacionan con la influencia que tiene el hospedero sobre *C. tenuiflora* y el estado vegetativo de ésta.

Las observaciones histológicas permitieron identificar que los haustorios desarrollados *in vitro* presentan tres tipos de tejido: dérmico, fundamental y vascular, lo que concuerda con lo reportado por Montes-Hernández (2015) para haustorios de plantas silvestres de *C. tenuiflora* que están en interacción con raíces de *Baccharis conferta*. Este mismo autor también reporta la presencia de gránulos de almidón en el haustorio de *C. tenuiflora* silvestre, y esto también se encontró en los haustorios generados *in vitro*. Al respecto, se sabe que el almidón es utilizado como fuente de energía durante su crecimiento, así como para la formación de semillas por la planta parásita (Quing-Liang *et al.*, 2011), sin embargo, se desconoce el uso que pueda tener cuando está en el haustorio.

CONCLUSIONES

Los CFHs (catequina y H₂O₂) inducen la formación de haustorios en raíces de *C. tenuiflora* cultivadas *in vitro*. El análisis histológico de las raíces y de los haustorios permitió observar los cambios característicos desde su formación; iniciación de una raíz (desde el periciclo) y de las zonas de abultamiento, alargamiento de las células de la epidermis y la zona meristemática que conforman la estructura de un haustorio. Este trabajo proporciona información que podría favorecer la propagación de *C. tenuiflora* en condiciones *ex vitro*.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por la Secretaría de Investigación y Posgrado del IPN (SIP20151108) y por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT 220007). GSM agradece al CONACYT por la beca recibida para realizar estudios de Doctorado. GSM, JLTE, BPMB y GTT agradecen al Sistema de Becas por exclusividad (SIBE; COFAA-IPN) y al Programa de Estímulos al Desempeño de los Investigadores (EDI-IPN).

LITERATURA CITADA

- Albrecht, H.; J.I. Yoder, y D.A. Phillips, 1999. "Flavonoids promote haustoria formation in the root parasite *Triphysaria versicolor*". *Plant Physiol.*, **119**: 585-591.
- Baird, W.V., y J.L. Riopel, 1984. Experimental studies of haustorium initiation and early development in *Agalinis purpurea* (L.) Raf. (Scrophulariaceae). *Am J Bot.* **71**: 803-814.
- Bancroft, J.D. y M. Gamble, (eds.) 2002. *Theory and Practice of Histological Techniques*, 2nd ed., Churchill Livingstone, NY, USA, page 111.

- Cheniany, M.; H. Ebrahimzadeh, A. Masoudi-nejad, K. Vahadati, y C. Leslie, 2010. "Effect of endogenous phenols and some antioxidant enzymes activities on rooting of Persian walnut (*Juglans regia*L.)". *Afr J Plant Sci*, **4**: 479-487.
- Curir, P.; C.F., Van Sumere, A. Termini, P. Barthe, A. Marchesini, y M. Dolci, 1990. "Flavonoid accumulation is correlated with adventitious roots formation in *Eucalyptus gunnii* Hook micropropagated through axillary bud stimulation". *Plant Physiol*, **92**: 1148-1153.
- Curir, P.; Sulis, S., Mariani, F., VanSumere, C.F., Marchesini, A., y Dolci, M., 1993. "Influence of endogenous phenols on rootability of *Chamaelaucium uncinatum* Schauer stem cuttings". *Sci Hortic*, **55**: 33-314.
- Deeks, S.J.; S.F. Shamoun, y Z.K. Punja, 1999. "Tissue culture of parasitic flowering plants: Methods and applications in agriculture and forestry". *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, **35**: 369-381.
- De Klerk, G.J.; W. Van der Krieken, y J.C. De Jong, 1999. "The formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities". *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, **35**: 189-199.
- Gamborg, O.L.; R.A. Miller, y K. Ojima, 1968. "Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells". *Exp Cell Res*, **50**: 151-158.
- Gómez-Aguirre, Y.; A. Zamilpa, C. González, y G. Trejo-Tapia, 2012. "Adventitious root cultures of *Castilleja tenuiflora* Benth as source of phenylethanoid glycosides". *Ind Crop Prod*, **36**: 188-195.
- Hassan, E.A.; S.S. El-Akkad., S.M. Moustafa, y M.E. El-Awadi, 2004. "Histochemical aspects of penetration and vascular connection of broomrape haustoria in the host root, and the possible implication of phenylpropanoids". *Int J Agric Biol*, **6**: 430-434.
- Herrera-Ruiz, M.; R. López-Rodríguez, G. Trejo-Tapia, B. Domínguez-Mendoza, M. González-Cortazar, J. Tortoriello, A. Zamilpa, 2015. "A New Furofuran Lignan Diglycoside and Other Secondary Metabolites from the Antidepressant Extract of *Castilleja tenuiflora* Benth". *Molecules*, **20**(7): 13127-13143.
- Huang, A.-X., X-P. She, B.-H. Cao, y Y. Ren, 2011. "Distribution of hydrogen peroxide during adventitious roots initiation and development in mung bean hypocotyls cuttings". *Plant Growth Regul*, **64**: 109-118.
- López-Laredo, A.R.; Y.A. Gómez-Aguirre, V. Medina-Pérez, G. Salcedo-Morales, G. Sepúlveda-Jiménez, y G. Trejo-Tapia, 2012. "Variation in antioxidant properties and phenolics concentration in different organs of wild growing and greenhouse cultivated *Castilleja tenuiflora* Benth". *Acta Physiol Plant*, **34**: 2435-2442.
- Martínez-Bonfil, B.P.; G. Salcedo-Morales, A.R. López-Laredo, E. Ventura-Zapata, S. Evangelista-Lozano, y G. Trejo-Tapia, 2011. "Shoot regeneration and determination of iridoid levels in the medicinal plant *Castilleja tenuiflora* Benth. Plant Cell Tiss Organ Cult", **107**: 195-203.
- Martínez, M., 1994. *Catálogo de nombres vulgares y científicos de plantas mexicanas*, 3ra. ed. Fondo de Cultura Económica, México 1220 pp.
- Moreno-Escobar, J.A.; S. Bazaldúa, M.L. Villarreal, J.R. Bonilla-Barbosa, S. Mendoza, y V. Rodríguez-López, 2011. "Cytotoxic and antioxidant activities of selected Lamiales species from Mexico". *Pharm Biol*, **49**: 1243-1248.
- Montes-Hernández, E. E. Sandoval-Zapotitla, K. Bermúdez-Torres, G. Trejo-Tapia, 2015. "Potential hosts of *Castilleja tenuiflora* (Orobanchaceae) and characterization of its haustoria". *Flora*, **214**: 11-16.
- Qing-Liang, C.; J. Ya-Min, W. Zhi-Fen, S. Cheng-Gang, Z. Jing-Bin, y G. Yu-Hai, 2011. "Postembryonic development of *Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight". *Pakistan J Bot*, **43**: 1823-1830.
- Riopel, J.L., y L.J. Musselman, 1979. "Experimental initiation of haustoria in *Agalinis purpurea* (Scrophulariaceae)". *Am J Bot*, **66**: 570-575.
- Salcedo-Morales, G.; A.R. Jiménez-Aparicio, F. Cruz-Sosa, y G. Trejo-Tapia, 2014. "Anatomical and histochemical characterization of *in vitro* haustorium from roots of *Castilleja tenuiflora*". *Biol Plant*, **58**: 164-168.

Recibido:

7/marzo/2016

Aceptado:

16/diciembre/2016

- Sánchez, P.M.; M.L. Villarreal, M. Herrera-Ruíz, A. Zamilpa, E. Jiménez-Ferrer, y G. Trejo-Tapia, 2013. “*In vivo* anti-inflammatory and anti-ulcerogenic activities of extracts from wild growing and *in vitro* plants of *Castilleja tenuiflora* Benth. (Orobanchaceae)”. *J. of Ethnopharmacol*, **150**: 1032-1037.
- Schenk, R.U., y A.C. Hildebrandt, 1972. “Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures”. *Can J Bot*, **50**: 199-204.
- Tomilov, A.; Tomilova, N., y Yoder, J.I. 2004. “*In vitro* hastorium development in roots and root cultures of hemiparasitic plant *Triphysaria versicolor*”. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, **77**: 257-265.
- Walker, T.S.; H.P. Bais, E. Grotewold, y J.M. Vivanco, 2003. “Root exudation and rhizosphere biology”. *Plant Physiol*, **132**: 44-51.