

UTILIZACIÓN DE UN SISTEMA DE INMERSIÓN TEMPORAL (SIT) PARA MULTIPLICAR PLANTAS ORNAMENTALES DE *Agave victoriae-reginae*

María del Carmen Durán Cuj (1), Héctor Gordon Núñez Palenius (2)

1 Ingeniería en Manejo de Recursos Naturales, Universidad Politécnica Mesoamericana | Dirección de correo electrónico:
www.upm.edu.mx

2 Ex hacienda el Copal, División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato –Salamanca, Universidad de Guanajuato | Dirección de
correo electrónico: palenius@ugto.mx

Resumen

El *Agave victoriae-reginae* (T. Moore) es un grupo de plantas endémicas del norte de México y distinguibles de otras especies de *Agave* por tener hojas con márgenes córneos sin dientes, bandas blancas sobre ambas caras y flores con tubos cortos. Dicha especie se encuentra en peligro de extinción debido a la tasa de colectas ilegales y sin control para fines comerciales, por ello se ubica en el estatus de amenazada en la NOM- 059- SEMARNAT – 2010, y en la categoría de peligro de extinción en la CITES Apéndice II. El objetivo del presente trabajo fue el establecimiento de un sistema de inmersión temporal para multiplicar plantas de *Agave victoria-reginae*. Los reguladores de crecimiento vegetal que se emplearon fueron BA (Bencilaminopurina) e IBA (Ácido Índolebutírico) en diferentes concentraciones, realizando dieciseis tratamientos con tres repeticiones cada uno, teniendo un total de cuarenta y ocho tratamientos. Cabe mencionar que los ex plantes fueron proporcionados por la Colección Nacional de Agaves UG-SAGARPA, que se encontraban en cultivo in vitro en medio sólido. Los resultados obtenidos mostraron que el tratamiento T9 con concentración de BA 3 mg/l e IBA en 0.1 mg/l resultó ser el mejor para la inducción de brotes en *Agave victoriae-Regina*, sin embargo el tratamiento T4 (BA 0.01 mg/L, IBA 1 mg/L) generó la mayor altura, número de puntas, y que los explantes produjeran raíces.

Abstract

The name of *Agave victoriae-reginae* has been applied to a group of endemic plants from north of Mexico easily distinguishable from other species of *Agave* for having leaves with horny toothless margins, white bands on both sides and flowers with short tubes funnel. This species is in extinction danger due to the rate of uncontrolled illegal collectors for commercial purposes, which are causing the threatened status of NOM- 059- SEMARNAT-2010 in the category of endangered species and CITES Appendix II. The study aimed to establish a temporary immersion system to multiply *Agave victoria-reginae*. Plant growth regulators used were BA (6-Benzylaminopurine) and IBA (Indolebutyric acid) in different concentrations, making sixteen treatments with three replicates each, with a total of forty-eight treatments. It is noteworthy that the former plantes were provided by the National Collection of Agaves UG-SAGARPA, which were in vitro culture on solid medium. The results showed that treatment T9 with BA concentration 3 mg / IBA him at 0.1 mg / l was found to be the best for shoot induction in *Agave victoriae - Regina*, however treatment T4 (BA 0.01 mg / L IBA 1 mg / L) generated the greatest height , number of points , and the explants produce roots

Palabras Clave

Sistema de inmersión temporal , *Agave victoriae-reginae* , Benzylaminopurina, Ácido Índolebutírico

INTRODUCCIÓN

En México existe una gran diversidad de flora y esto a su vez depende de la ubicación geográfica. Las plantas xerófitas pueden resistir condiciones de poca agua, altas temperaturas y suelos pobres en materia orgánica. Aún con estas limitantes las plantas de zonas áridas han llegado a tener importancia en el ámbito alimenticio, ornamental y medicinal.

Debido a la continua explotación de estos recursos vegetales y al mal aprovechamiento, tales como; la extracción de flora endémica, la tala inmoderada, sin llevar a cabo prácticas de conservación o mejoramiento, han provocado una disminución gradual de las especies endémicas de nuestro país.

Dentro de las especies amenazadas por estas razones se encuentran el maguey noa (*Agave victoriae-reginae* T. Moore) (Imagen 1). Este agave fue descrito en la familia (Agavaceae) por el botánico inglés Thomas Moore e incluida por Gentry en el grupo *Marginatae* por tener los márgenes de las hojas córneos y las flores con tubos cortos en forma de embudo. Y cuyo epíteto científico fue en honor a la reina Victoria del Reino Unido.



IMAGEN 1. *Agave victoriae-reginae*.

Dicha especie se localiza en escasas poblaciones de los estados de Coahuila, Durango y Nuevo León [1]. El uso que se le atribuye a esta especie principalmente es la ornamental, ya que a nivel mundial es considerada una de las plantas más bellas.

Debido a que la tasa de colección ilegal y sin control para fines comerciales ha sido muy alta, se ha provocado que sea una de las pocas especies de *Agave* listada bajo el estatus de amenazada en la NOM-059-SEMARNAT-2010 [2] y en la categoría de peligro de extinción en CITES Apéndice II [3].

El sistema de inmersión temporal ofrece una alternativa para contrarrestar los efectos de factores adversos que inciden en la propagación y la conservación del maguey noa, al utilizar distintas dosis de reguladores de crecimiento vegetal para acelerar el proceso de generación de brotes de dicha especie en un cultivo *in vitro*.

El presente estudio se llevó a cabo en el laboratorio de Cultivos de Tejidos Vegetales, de la División Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato, Ex Hacienda El Copal, Km 9; carretera Irapuato-Silao C.P. 36500. Irapuato, Guanajuato México.

Nuestra hipótesis fue que al realizar un sistema de inmersión temporal en medio líquido de *Agave victoriae-reginae*, este producirá más de un brotes saludables y vigorosos por explante. El objetivo del presente trabajo fue el establecimiento de un sistema de inmersión temporal para multiplicar plantas de *Agave victoriae-reginae* T. Moore con reguladores de crecimiento vegetales. Para ello se utilizaron 40 explantes de *Agave victoriae-reginae* de la Colección Nacional de *Agave* UG – SAGARPA con número de accesión 55, crecidos bajo condiciones *in vitro*, como material biológico, vigorosos y sin daño por fitopatógenos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una serie de experimentos factoriales con 16 tratamientos con tres repeticiones, colocando un explante por tratamiento; se utilizaron dos reguladores de crecimiento, tales como Bencilaminopurina y Acido Índolbutírico, con diferentes concentraciones para determinar cuál balance sería el más adecuado para la inducción de brotes (Tabla 1).

Tabla 1: Tratamientos de los Reguladores de Crecimiento

IBA mg/L \ BA mg/L	3	1	0.1	0.01
1	T1	T2	T3	T4
0.5	T5	T6	T7	T8
0.1	T9	T10	T11	T12
0.01	T13	T14	T15	T16

Se utilizó el medio de cultivo MS (Murashige y Skoog, 1962) colocando 35 ml de medio por frasco y suplementado con diferentes balances hormonales de reguladores de crecimiento.

Para realizar el sistema de inmersión se utilizaron frascos de vidrio de jugo del valle (413 ml) y algodón, manguera de plástico de un cm de diámetro, tapones con orificio, y malla de polietileno. A las mangueras se le introdujo el algodón de forma que estuviera apretado para que no entrara ni un cuerpo extraño y reducir la presencia de contaminación en los biorreactores y se colocaron los tapones. Enseguida se cortaron las mallas en forma de cruz, y éstas a su vez fueron introducidas en el frasco (imagen 2).



IMAGEN 2. Preparación del sistema de inmersión temporal.

Para tapar los frascos se colocaron cubiertas de papel aluminio a los biorreactores. Todos los materiales se esterilizaron durante 20 min a una

presión de 15 lb/pulg² y a una temperatura de 121 °C en autoclave.

Los biorreactores y tapones con el sistema se trasladaron bajo la campana de flujo laminar y se introdujo un explante en cada biorreactor. Cada frasco se selló, rotuló y se llevó al cuarto de crecimiento a una temperatura de 27°C con un fotoperiodo de 16 h luz y ocho de oscuridad. Los explantes se sumergieron en el medio de cultivo durante un minuto al día, y se monitorizaron cada ocho días para realizar la evaluación sobre el desarrollo fisiológico, contaminación, además de llevar un control del crecimiento en el cual se evaluaron la altura del explante, ancho del dosel del explante, número de puntas, número de raíces, número de brotes y puntas con necrosis.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se observan los tratamientos analizados con la prueba de Tukey, en la cual se observa que el tratamiento T4 es el mejor para incrementar altura en la planta, de igual forma en el análisis ANOVA factorial se obtuvo que este tratamiento es el mejor con una media de 3.33. En comparación con el T4, en el T2 no se obtuvo un crecimiento significativo, con una media de 1.666 resultó ser el tratamiento menos favorable (imagen 3).

En la anchura de dosel, el T16 fue el tratamiento que tuvo la media más alta, con 2.83 en comparación con el tratamiento T9 con una media de 2.16, aunque no existe una diferencia significativa dentro de los grupos por lo cual en la prueba Tukey no se aprecian estas diferencias.

Para generar raíces, el tratamiento T4 con una media de 2.33 resultó ser el más alto, en comparación con el tratamiento T14 que no mostró ningún resultado. Debido a esto no se recomienda emplear esa concentración para la producción de raíces. El tratamiento que más necrosis produjo fue T16 con una media 3.66 y el que presentó menos puntas necrosadas fue el tratamiento T14 con 0.33 (imagen 4).

	N	Mean
T4-A	3	3.3333
T10-A	3	3.2667
T16-A	3	3.1000
T12-A	3	2.8333
T8-A	3	2.8333
T11-A	3	2.7667
T14-A	3	2.6000
T3-A	3	2.5000
T15-A	3	2.4333
T7-A	3	2.3333
T1-A	3	2.3333
T13-A	3	2.1667
T9-A	3	2.1667
T6-A	3	2.1667
T5-A	3	1.8333
T2-A	3	1.6667

IMAGEN 3. Análisis de medias de Tukey para generar altura del explantes.

	N	Mean
T16-N	3	3.667
T9-N	3	3.333
T3-N	3	3.000
T15-N	3	2.667
T8-N	3	2.667
T10-N	3	2.000
T2-N	3	2.000
T13-N	3	1.667
T7-N	3	1.667
T6-N	3	1.667
T4-N	3	1.667
T1-N	3	1.667
T5-N	3	1.333
T12-N	3	1.000
T11-N	3	1.000
T14-N	3	0.333

IMAGEN 4. . Análisis de medias de Tukey de los tratamientos que generan necrosis en las puntas de los explantes.

Tabla 2. Prueba de Tukey para las medias de los tratamientos. Las medias que no comparten la misma letra son significativamente diferentes. Cabe mencionar que la única variable en la que se obtuvo relevancia fue la altura.

Tratamiento	Número de muestra	Altura de la planta	Anchura del dosel	Número de puntas	Número de raíces	Número de brotes generados	Número de plantas necrosadas
T1	3	AB	A	A	A	A	A
T2	3	B	A	A	A	A	A
T3	3	AB	A	A	A	A	A
T4	3	A	A	A	A	A	A
T5	3	AB	A	A	A	A	A
T6	3	AB	A	A	A	A	A
T7	3	AB	A	A	A	A	A
T8	3	AB	A	A	A	A	A
T9	3	AB	A	A	A	A	A
T11	3	AB	A	A	A	A	A
T12	3	AB	A	A	A	A	A
T13	3	AB	A	A	A	A	A
T14	3	AB	A	A	A	A	A
T15	3	AB	A	A	A	A	A
T16	3	AB	A	A	A	A	A

Posteriormente se analizaron los brotes teniendo como principal tratamiento el T9 con un brote en promedio y con el menor resultado el tratamiento T1 con una media de 0 (imagen 5). El tratamiento T9 con concentración de BA 3 mg/l e IBA en 0.1

mg/l resultó ser el mejor para la inducción de brotes en *Agave victoriae-reginae*, sin embargo este tratamiento presenta una inducción de brotes menor a la reportada previamente [4], en donde se reporta que el tratamiento más eficiente para la inducción de brotes contiene 0.53 mg/L de IBA con

	N	Mean
T9-H	3	1.0000
T15-H	3	0.6667
T5-H	3	0.6667
T11-H	3	0.3333
T6-H	3	0.3333
T16-H	3	0.0000
T14-H	3	0.0000
T13-H	3	0.0000
T12-H	3	0.0000
T10-H	3	0.0000
T8-H	3	0.0000
T7-H	3	0.0000
T4-H	3	0.0000
T3-H	3	0.0000
T2-H	3	0.0000
T1-H	3	0.0000

IMAGEN 5. Análisis de medias de Tukey para generar brotes .

0.1 mg/L de BA con una media de 7 brotes por explante. Según los resultados para este tratamiento las concentraciones en este rango (Tabla1).

A pesar de que en la prueba de Tukey la varianza entre grupos es pequeña por lo cual los grupa con la misma letra hay que destacar que las 16 concentraciones no produjeron resultados significantes para la inducción de raíces de acuerdo a la interacción entre IBA y BA no contribuye mucho al generación de raíces, así se acepta la hipótesis nula por el ANOVA factorial de raíces donde todos los tratamientos resultaron ser iguales.

Para brotes cabe destacar que los tratamientos T9, T15, T5, T11, T6 fueron los únicos que generaron brotes con la media más alta de 1. Por lo que si se quiere utilizar este método recomendaría utilizar otras rango de concentraciones de IBA y BA. Además de llevar los experimentos en un mayor periodo de tiempo.

La hipótesis planteada para este trabajo se rechaza ya que el 31.25 % de los explantes tuvieron al menos un 1 brote y el 68.65 % de los explantes sin presencia de estos ya que no hay la suficiente evidencia para aceptar la hipótesis en proporción de los 16 experimentos triplicado ni de acuerdo al ANOVA factorial de la imagen 4.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo no tuvieron diferencias significativas para generar brotes. No obstante se obtuvieron algunos tratamientos como el T9 (BA 3 mg/L, IBA 0.1 mg/L)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
BA	3	3.750	3.750	1.250	0.85	0.479
IBA	3	0.750	0.750	0.250	0.17	0.917
BA*IBA	9	32.083	32.083	3.565	2.41	0.032
Error	32	47.333	47.333	1.479		
Total	47	83.917				

IMAGEN 6. ANOVA factorial de necrosis.

y el T5 (BA 3mg/L, IBA 0.5 mg/L), en donde sí se indujo la producción de brotes. Para generar altura de la planta, el tratamiento que más destacó fue el T4 (BA 0.01 mg/L, IBA 1 mg/L). Para el número de puntas los tratamientos T15 (BA 0.1 mg/L, IBA 0.01 mg/L) y T4 (BA 0.01 mg/L, IBA 1 mg/L) fueron los que más se acentuaron. Para que los explantes generen raíces el tratamiento T4 (BA 0.01 mg/L, IBA 1 mg/L) fue el mejor. Para la anchura de dosel los tratamientos T16 (BA 0.01 mg/L, IBA 0.01 mg/L), y T6 (BA 1 mg/L, IBA 0.5 mg/L) fueron los más representativos y el tratamiento que produjo más necrosis fue el T16 (BA 0.01 mg/L, IBA 0.01 mg/L).

En el análisis de los resultados se observó que el tratamiento T4 (BA 0.01 mg/L, IBA 1 mg/L) produjo la mayor altura de los explantes, así como el número de puntas y raíces. Por lo que este tratamiento fue el más representativo.

Por lo que se determina que este tipo de propagación puede ser eficiente al cambiar las dosis y en un tiempo largo para obtener resultados más significativos.

AGRADECIMIENTOS

Yo, María del Carmen Durán Cuj, quiero expresarle mi gratitud a través de este medio al Dr. Héctor Gordon Nuñez Palenius por su gran apoyo hacia mí y por poner sus expectativas de desarrollo en mis capacidades y habilidades. Con esta oportunidad me permite crecer tanto como en lo personal como profesionalmente.

Asimismo quiero mencionar a mis compañeras de laboratorio Bianka Mónica González Durán y Ruth Medina guzmán quienes me brindaron el apoyo incondicional en este trabajo.

A CONACYT por otorgarme el apoyo económico para realizar el verano de investigación científica.

A todos muchas gracias.

REFERENCIAS

[1] Gentry, A. H. 1982. Patterns of Neotropical plant diversity. *Evolutionary Biology* 15: 1-84

[2] ANONIMO 2010. 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. Recuperado de:
www.sema.gob.mx/SRN-SIIAEC-RN-BIO-FAUNA-NOM.php

[3] CITES. 1995. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres. Recuperado de:
<http://cites.org/esp/search/node/1995>.

[4] Núñez-Palenius, H.G., Manjarrez-Rodríguez, E.J., Juárez-Gómez, A., Murillo Yáñez, E., Ramírez-Malagón, R., Salazar-Solís, E. y Herrera-Isidró, L. (2015) Micropropagation of *Agave victoriae-reginae* (T. Moore) in a Temporary Immersion System. In: A. Gutiérrez-Mora (Ed.), B. Rodríguez-Garay, S. M. Contreras-Ramos, M. R. Kirchmayr, M. González-Ávila (Comps.), *Sustainable and Integral Exploitation of Agave*. Retrieved from:
<http://www.ciatej.net.mx/agave/1.7agave.pdf>