



EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE PROPAGACIÓN *in vitro* DE *Agave salmiana*

Florencia Salinas^a, E. Bautista^a, A. Olvera^a, Y. Sánchez^a.

^aUniversidad Tecnológica de Tecámac, Estado de México, biotlofencia@yahoo.com.mx, marin_bautista_123@outlook.com, berolco_815@yahoo.com.mx, mayesi7405@hotmail.com.

RESUMEN

En México, los agaves tienen una gran importancia económica y cultural para numerosos pueblos indígenas y mestizos que han aprovechado sus características como fuente de alimento, bebida, medicina, combustible, cobijo, ornato, fibras. Desafortunadamente, muchas especies de este grupo se han visto amenazadas por la sobre explotación, en donde la Biotecnología Vegetal aporta herramientas que permitan promover su rescate ecológico mediante técnicas que permitan la propagación *in vitro* de especies de Agave. De acuerdo con Gentry (1982), el género Agave se propaga por semillas, vástagos vegetativos (la más utilizada) y propágulos en la inflorescencia. Se ha enfatizado la necesidad de un programa de mejoramiento con técnicas de propagación *in vitro* que proporcionen nuevas características como periodicidad, crecimiento rápido, mayor rendimiento, mayor producción de carbohidratos. El proyecto se realizó con *Agave salmiana*, especie endémica de zonas de Hidalgo, Tlaxcala y Estado de México y que se realizó en dos etapas; la primera evaluó la eficiencia del medio MS en dos concentraciones (50% y 100%) en condiciones de cultivo artificial con un fotoperiodo de 16 hrs de luz y 8 de oscuridad con una temperatura de $27^{\circ}\text{C} \pm 2$, la segunda evaluó las técnicas de germinación tradicional y con escarificación mecánica; ambas con la finalidad de determinar la viabilidad, minimizando tiempos de propagación de la especie. Los resultados reportados indican que el mejor medio fue el cultivo MS al 100% con un 72% de germinación la cual se cataloga como germinación avanzada ya que presentó la radícula y el brote de la plántula en el mismo intervalo de tiempo de incubación. Para la segunda etapa se logró una germinación cercana al 100% en 3 días de la especie, cuando con las técnicas tradicionales reportan el porcentaje de germinación es menor y tarda en promedio 10 días.

1. INTRODUCCIÓN

Conocido con el nombre de maguey manso, maguey verde y maguey pulquero (*Agave salmiana*), es una de las especies con más tradición de uso en México. Perteneciente a la familia Agavaceae, se reconoce por sus hojas anchas, fuertes, suculentas, de color verde con largos ápices acuminados y sigmoideos, de tallo corto y macizo, con forma de roseta y tamaños que van desde 1.50 m a 3.40 m de altura y hasta 5 m de diámetro. Tiene flores carnosas de tépalos dimorfos, estrechos, doblados hacia el interior. Se le encuentra en terrenos planos y montañosos, desde suelos profundos a superficiales, este Agave se distribuye principalmente en el valle de México y en los estados de México, Hidalgo, Puebla y Tlaxcala. (Galván, 1994). En México, los agaves han tenido y tienen una gran importancia económica y cultural para numerosos pueblos indígenas y mestizos, que los han aprovechado durante siglos como fuente de alimento, bebida, medicina, combustible, cobijo, ornato, fibras. Actualmente su importancia va desde su valor ecológico y económico, hasta su aspecto cultural. Desafortunadamente, muchas especies de este grupo han sido descuidadas desde los puntos de vista del mejoramiento, explotación racional y conservación. En este sentido, la Biotecnología puede aportar herramientas valiosas que permitan el mejor aprovechamiento de estas plantas y aseguren al mismo tiempo su conservación, como son las



técnicas que permiten la propagación masiva in vitro de especies de Agave. (Domínguez et al., 2008)

El presente trabajo se desarrolló en dos etapas, en la primera etapa se evaluó la eficiencia del medio MS en dos concentraciones (50% y 100%) para la germinación de semilla de Agave salmiana en condiciones in vitro dentro de las instalaciones del Laboratorio de Tejidos Vegetales de la Universidad Tecnológica de Tecámac, con la finalidad de determinar la viabilidad de la técnica, minimizando tiempos de propagación de la especie. En la segunda etapa se realizó la evaluación del medio MS al 50 y 25 % a partir de semillas de Agave salmiana, bajo tratamiento simple y escarificación de semilla. El objetivo de la primera etapa es evaluar la eficiencia de los dos medios de cultivo para la micropropagación de semilla de Agave salmiana. Para la segunda etapa, evaluar los dos medios de cultivo y la propagación a partir de semilla por tratamiento simple y escarificación.

2. TEORÍA

Los agaves crecen en las planicies, las montañas, los acantilados, las dunas costeras o en los picos montañosos, preferentemente entre los mil y dos mil metros de altitud. El género Agave le da nombre a la familia Agavaceae, a la cual pertenecen otros ocho géneros de plantas mexicanas, como los amoles (géneros *Beschorneria*, *Manfreda*, *Polianthes* y *Prochnyanthes*), pitas (*Furcraea*), samandoques (*Hesperaloe*) e izotes (*Hesperoyucca* y *Yucca*). De los nueve géneros se obtienen beneficios como fibras, alimento, material de construcción, sustitutos del jabón, etcétera. Sin embargo, únicamente del género Agave se obtienen bebidas fermentadas o destiladas.

Descripción botánica del agave salmiana

De acuerdo con (Gentry, 1982), que describe a la especie salmiana como:

- Plantas medianas o grandes con un tallo pequeño y grueso, forma rosetas macizas de 1.5-2 m de alto y con el doble de ancho, hojas de 100-200 x 20-35 cm de amplitud, carnosas y macizas, verdes y grisáceas.
- Son monocotiledóneas, de raíz fibrosa revestida de escamas morenas e imbricadas de hojas en roseta apretada más o menos y por lo regular de textura firme, con espina terminal pungente y con abundantes espinas marginales.
- El borde foral es alto y se haya provisto de numerosas brácteas prefoliadas.

Usos

Las diferentes necesidades que han presentado las comunidades indígenas de nuestro país a través del tiempo, han hecho que se considere a la planta de agave como una fuente de recurso sustentable, para los habitantes de ciertas regiones, asignándoles, ciertos usos tal como se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2. Uso tradicional alimenticio, tejido, vestuario, construcción y uso doméstico de los agaves en México.

Concepto	Uso	Partes de la planta
Alimenticio	Aguamiel, jarabe, mezcal, etc.	Piña del maguey, aguamiel concentrado.
Tejido y vestuario	Hilos, bolsas, lazos y mantas.	Fibras de las pencas.
Construcción	Techo, aditivo para mezcla.	Pencas frescas, qurote seco, baba de la penca.
Uso doméstico	Jabón para ropa	Raíces y pencas.

Fuente (Cervantes Huerta, 2007)



Importancia ecológica de los agaves

Se conoce que cerca del 50% del territorio presenta un suelo árido y semiárido provocando pérdida del mismo por erosión eólica, la instalación de los agaves salmiana permite garantizar la protección del suelo, ya que la generación de abundante raíz retiene al mismo, evitando que la corriente tanto de agua como de aire arrastre parte del suelo, evitan daños en lugar en donde crece (Rivera, 1990). En algunas regiones se cultiva delimitando bordos o terrazas para evitar la erosión y deslave de las tierras (Ramírez, 2001).

3. PARTE EXPERIMENTAL

Para el presente trabajo se utilizaron semillas recolectadas en el estado de Hidalgo, de la variedad *Agave salmiana* Otto, las cuales fueron sometidas a una serie de lavado y enjuagues con detergente en polvo al 5%, posteriormente se dejaron en remojo durante 24 horas en agua purificada, al día siguiente se enjuagaron nuevamente y se dejaron durante 20 min en una solución de hipoclorito de sodio al 6%, posteriormente se enjuagaron 3 veces con agua purificada estéril y se dejaron secar en papel filtro estéril durante 1 min dentro del área estéril. Posteriormente se sembraron 5 semillas por frasco con 5 repeticiones de medio MS al 100% y al 50%, dejándose en obscuridad durante 3 días a una temperatura de $27 \pm 2^\circ\text{C}$. Después de este tiempo las semillas contenidas en los frascos fueron incubadas en condiciones de cultivo artificial con un fotoperiodo de 16 hrs de luz y 8 de oscuridad con una temperatura de $27^\circ \pm 2$. Para la segunda etapa se empleó el medio de cultivo MS con dos variantes de concentración al 50 y 25% empleando un total de 50 semillas, las pruebas en las dos concentraciones se realizaron bajo condiciones de luz controlada. Se realizó la selección de la semilla en base a tamaño color, estado de la semilla sin necrosis ni señales de deterioro, utilizando para ello la prueba de flotación. A continuación se realizó la desinfestación de la semilla con hipoclorito de sodio al 12-15% y se dejaron reposar 24 horas. La siembra de la semilla se realizó mediante técnicas de sembrado simple y escarificación, la cual consistió en desprender la testa de la semilla y cortar en forma de embrión. Los frascos ya preparados fueron llevados a cámaras de incubación con una temperatura máxima de 24.8 y mínima de 21.8 °C con una humedad relativa de 28 % y un fotoperiodo de 16 horas s de luz y 8 de oscuridad.

4. RESULTADOS

En la primera etapa los resultados reportados indican que la germinación de la semilla fue del 64%, donde solo se presentó el desarrollo de radícula y el 20 % de los frascos que se sembraron presentaron contaminación por hongo. (Figura 1)

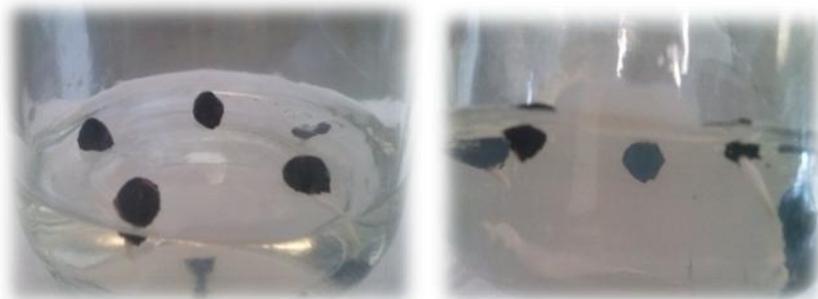


Figura 1. Germinación de semillas de *A. salmiana* en medio MS50% después de 11 días de incubación.



Con respecto al medio MS al 100% se observó la germinación del 72% de las semillas, el 25 % de los frascos que se sembraron presentaron contaminación por hongo. (Gráfica 1).

La germinación presente en los frascos de MS 100% se considera como germinación avanzada, ya que presenta tanto la radícula como el brote inicial de la plántula (figura 2).

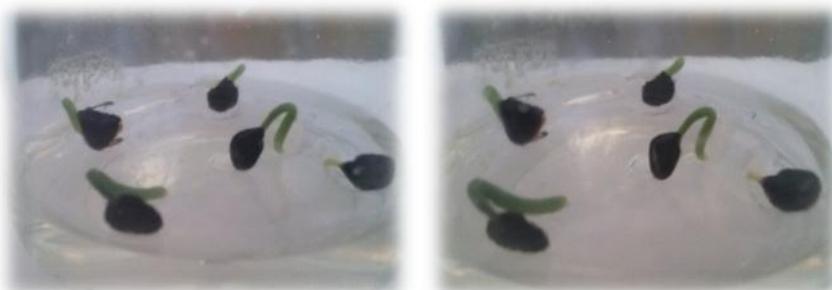
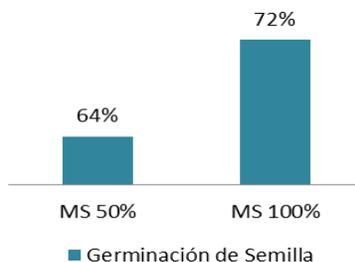


Figura 2. Germinación de semillas de *A. salmiana* en medio MS100% después de 11 días de incubación.

Se realizó el sembrado de las semillas de *A. salmiana* en dos medios de cultivo, MS 50% y MS 100% donde se obtuvo un mayor porcentaje de germinación en el medio MS 100% (gráfica 1).



Gráfica 1 –Comparativo del porcentaje de las germinaciones en medio de cultivo MS

El resultado encontrado a los 11 días de germinación, presenta un ahorro entre 2-10 días con relación a la germinación tradicional en invernadero como lo reporta Vázquez et al., (2011), en cuya siembra encontró que las hojas cotiledonares iniciaron la emergencia a los 13 día después de la siembra en promedio, y la mayor emergencia en plántulas hojas cotiledonares, se presentó entre los 21 y 51 días.

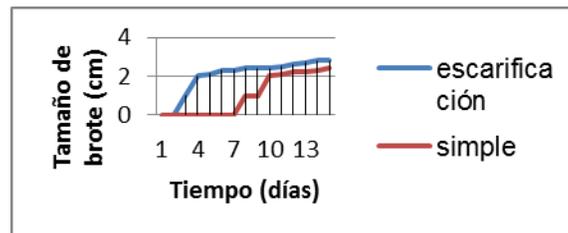
De acuerdo con las observaciones realizadas de las 15 muestras se tuvo germinación en la escarificación con un porcentaje del 90% debido a problemas de contaminación y de la siembra simple, fue mayor con un porcentaje de 95%. Estos resultados se llevaron a cabo en un tiempo de 15 días. (Tabla 1y gráfica 2)



Tabla 1 Control de germinación.

Muestras		Escarificado	Simple	Escarificado	Simple
Escarificado	Simple	Día de germinación	Día de germinación	Crecimiento total	Crecimiento total
1	1	3	10	2.3 cm	1.4 cm
2	2	3	10	1.8 cm	1.1 cm
3	3	-----	9	-----	1.5 cm
4	4	4	8	2.0 cm	1.8 cm
5	5	3	11	2.6 cm	1.0 cm
6	6	3	-----	2.7 cm	-----
7	7	3	10	2.4 cm	1.2 cm
8	8	3	10	2.5 cm	1.3 cm
9	9	3	10	2.6 cm	1.3 cm
10	10	3	10	2.4 cm	1.4 cm
11	11	3	9	2.4 cm	1.0 cm
12	12	-----	10	-----	1.3 cm
13	13	4	10	2.1 cm	1.5 cm
14	14	3	8	2.8 cm	1.8 cm
15	15	4	9	1.9 cm	1.8 cm

En la gráfica 2 se observa el tiempo de crecimiento del brote mediante las dos técnicas de germinación de semilla *Agave salmiana*, es más rápido con escarificación que con sembrado simple en su tiempo de brote, dado que los nutrientes estimulan su aprovechamiento en esta etapa, favoreciendo su desarrollo.



Gráfica 2. Crecimiento de brotes.

5. CONCLUSIONES

Se obtuvo un mayor porcentaje de germinación en el medio MS 100% con la ventaja de que la germinación se asocia a un desarrollo avanzado identificado por brote radicular y apical aéreo. Se establece que la escarificación es el proceso más rápido para obtener brotes de la semilla con un tiempo de tres días en cambio el sembrado simple requiere de 10 días.

BIBLIOGRAFÍA (ARIAL, bold, 10 pt. justificado a la izquierda)

1. Domínguez, M. S.; Alpuche, A.G.; Vasco, N.L.; Pérez, E.; 2008. Efecto de citocininas en la propagación in vitro de Agaves mexicanos. Revista Fitotecnia Mexicana. Vol. 31(4):317-322.
2. Galván, R.V. 1994. Riquezas de las familias Agavaceae y Nolinaceae en México. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
3. Vázquez E.; García, J.; Peña, C.; Ramírez, H.; Morales, V. 2011. Tamaño de la semilla, emergencia y desarrollo de la plántula de maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). Fitotecnia Mexica Vol. 34(3): 167-173