

## **Propagación masiva *in vitro* de pata de elefante (*Beaucarnea recurvata* Lemaire (Nolinaceae))**

José Juvencio Castañeda Nava y Fernando Santacruz Ruvalcaba.

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad de Guadalajara. Departamento de Producción Agrícola. Km 15.5 Carretera Guadalajara-Nogales. Zapopan, Jalisco, México. C.P. 45110. Correo-e  
FernandoSantacruz@cucba.udg.mx

### **Introducción**

El género *Beaucarnea* es apreciado por su belleza ornamental; México cuenta con varias especies, siendo algunas endémicas como *B. gracilis*, *B. recurvata* y *B. pliabilis* que son las más utilizadas como ornamentales (Cardel y col. 1997; Fuentes y col. 2006). Otro uso que presenta el género *Beaucarnea* es la fabricación de cestos a partir de hojas tejidas (Soler y Soler 2004). Por estas características tienen demanda nacional e internacional, las plantas son extraídas de las zonas naturales dañando las poblaciones por lo que se coloca como una especie amenazada (Fuentes y col. 2006).

Existen estudios en los que señalan que poblaciones de este vegetal, en un área alcanzan una densidad de 16.7 individuos/ha a causa del sobrepastoreo y la baja sobrevivencia de organismos jóvenes (Cardel y col. 1997). Estas plantas tardan varios años en llegar a producir semilla y muchas de las veces son saqueadas por el hombre para su comercialización (Gilman y Watson 1993). Al momento, es importante buscar alternativas de propagación. Entre ellas podemos mencionar la propagación de manera asexual y una estrategia sería el empleo de herramientas biotecnológicas, utilizando el cultivo *in vitro* por medio de la técnica de proliferación de yemas axilares.

### **Objetivos**

- I. Evaluar diferentes dosis de los reguladores de crecimiento 6-Benciladenina (BA) y Ácido 2,4-Dicloro-fenoxiacético (2,4-D) en la estimulación de yemas axilares *in vitro* *Beaucarnea recurvata* Lemaire (Nolinaceae)
- II. Evaluar diferentes factores para el enraizamiento de *B. recurvata*

## **Materiales y Métodos**

El material vegetativo se estableció a partir de semillas que fueron conseguidas en el vivero Navaflor, el trabajo se realizó en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del CUCBA. Para el establecimiento de las semillas, se lavaron con jabón líquido comercial y se enjuagaron con agua corriente, después se pasaron a la campana de flujo laminar para ser desinfectadas con hipoclorito de sodio (cloro comercial de la marca Cloralex® que se encuentra a una concentración del 6 %) se tomaron 20 mililitros que fueron diluidos en 50 mililitros de agua previamente esterilizada. Se sumergieron las semillas por 8 minutos con agitación constante, posteriormente se cambiaron dos veces a otros recipientes para enjuagarlas con agua estéril, en el que permanecieron por un período de 3 minutos, ya desinfectadas se sembraron en frascos con medio basal MS (Murashige y Skoog 1962) para su germinación.

En el proceso de esterilización de los medios de cultivos para los experimentos se utilizó una autoclave a una temperatura de 121 ° C y una presión de 18 lb/in<sup>2</sup> por 15 minutos.

Para la proliferación de yemas axilares se utilizó como medio de cultivo basal MS, adicionado con vitaminas L2 (Phillips y Collins 1979), FE-EDTA y 30 g/L de sacarosa. Se evaluaron mediante un diseño bifactorial las 12 combinaciones posibles de los reguladores de crecimiento Benciladenina (BA) en concentraciones de 0, 2.5, 5 y 7.5 mg/L y el Ácido 2,4-Dicloro-Fenoxiacético (2,4-D) en concentraciones de 0, 0.15 y 0.30 mg/L. Posteriormente, se ajustó el pH a  $5.8 \pm 0.05$  con el potenciómetro de la marca Termo Orion Modelo 420A. Para solidificar los medios de cultivo se utilizaron 8 g/L de agar. Se vaciaron 25 ml del medio de cultivo a frascos de vidrio de alimento infantil y se colocaron en el autoclave para su esterilización. Se emplearon cinco repeticiones por tratamiento, siendo una repetición la siembra de un brote por frasco. Se evaluó la cantidad de brotes producidos por explante y los datos se analizaron mediante el programa estadístico Statgraphics.

Para la estimulación de producción de raíz se utilizó el medio basal MS más diversos suplementos, probándose ocho tratamientos:

1. 8 g/L de agar.

2. 2 g/L de phytigel.
3. 2 g/L de phytigel más 2 g/L de carbón activado.
4. 4 g/L de phytigel.
5. 2 g/L de phytigel más 40 mg/L de hemisulfato de adenina.
6. 2 g/L de phytigel más 80 mg/L de hemisulfato de adenina.
7. 4 g/L de phytigel más 40 mg/L de hemisulfato de adenina.
8. 2 g/L de phytigel más 1mg/L de AIB (Ácido Indol-Butirico).

Se evaluaron la cantidad de raíces producidas por explantes y los datos se analizaron mediante el programa estadístico Statgraphics.

Todo el material de los experimentos de proliferación de yemas axilares y de estimulación de producción de raíz de *Beaucarnea recurvata* se incubaron en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos del CUCBA. Se utilizó una temperatura de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  e intensidad lumínica de 1500 luxes y un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.

## **Resultados y discusión**

Al transcurrir 65 días del establecimiento de los explantes estadísticamente se observó significancia para el factor BA ( $p=0.0373$ ), al adicionar el regulador de crecimiento BA se favorece la proliferación de yemas axilares (Figura 1), siendo estadísticamente iguales 2.5 mg/L, 5 mg/L y 7.5 mg/L. Se demostró que cualquiera de estas dosis puede estimular la proliferación de yemas axilares de los explantes, la dosis que presenta un promedio más alto en la producción de brotes (10.93 brotes por explante) es la de 5 mg/L (Cuadro 1), coincidiendo con lo reportado por Osorio y Mata-Rosas (2005) quienes utilizaron esta dosis para la proliferación de yemas axilares de *B. gracilis*. Estos mismos resultados difieren a lo reportado por Espinosa y col. (2006) quienes adicionaron 2 mg/L y 1 mg/L ANA y se obtuvo formación de brotes y callo solo en la parte basal. En el caso de 2,4-D no presentó significancia) a ninguna dosis (0.8504).

Cuadro 1. Comparación múltiple de medias (Diferencias Mínimas Significativas) para la estimulación de yemas axilares de *Beaucarnea recurvata* a los 65 días del establecimiento *in vitro*.

Cantidad de BA mg/L	Media brotes/explante	Grupos
0 mg/L	0.7333	a
7.5 mg/L	5.8166	a b
2.5 mg/L	8.1166	b
5 mg/L	10.9333	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes,  $\alpha=0.05$



Figura1. Proliferación de yemas axilares en *Beaucarnea recurvata* cultivada *in vitro*.

Los resultados obtenidos en la estimulación de raíces a los 45 días son altamente significativos ( $p=0.0000$ ). Demostrado que el tratamiento 8 presenta el promedio más alto de número de raíces (Figura 2), resaltando que el AIB influye directamente en la estimulación de raíz (Cuadro 2), estos resultados difieren a lo obtenido por Bettaieb y col. (2006) que utilizaron medio basal MS al 50% suplementado con beta-ciclodextrina 2.03 mg/L y AIB 0.95 mg/L, sin embargo ellos atribuyen la estimulación de raíz solamente a beta-ciclodextrina.

Cuadro 2. Comparación múltiple de medias (Diferencias Mínimas Significativas) para la estimulación de raíz de *Beaucarnea recurvata* a los 45 días.

Tratamiento	Media raíz/explante	Grupos
7	0.7	a
3	1	a
1	1.4	a
4	1.11	a
2	1.6	a
5	1.9	a
6	2.11	a
8	6.6	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes,  $\alpha=0.05$



Figura 2. Estimulación de raíz *in vitro* en *Beaucarnea recurvata*

## Literatura citada

- Cardel Y., V. Rico-Gray, J. G. García-Franco & L. B. Thien.** 1997. Ecological status of *Beaucarnea gracilis*, an endemic species of the semiarid Tehuacán Valley, México. *Society for Conservation Biology* 11:367-374.
- Bettaieb T., M. Mhamdi & I. Hajlaoui.** 2008. micropropagacion of *Nolina recurvata Hemsl.*: beta-cyclodextrina effects on rooting. *Scientia Horticulturae* 117: 366-368.
- Espinosa G. A., E. Aguirre, A. Monsalvo & J. E. Campos.** 2006. Estudios de conservación *ex situ* de *Beaucarnea gracilis* del Valle de Zapotitlán, Puebla, a través de pruebas de viabilidad y senescencia experimental. *Memorias del XXVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A. C. Guanajuato, 12 al 17 de Noviembre del 2006.*
- Fuentes J., A. G. Santiago, L. A. Sánchez & E. Villanueva.** 2006. Efecto de la fuente nitrogenada sobre la organogénesis de *Beaucarnea pliabilis*, una Nolinácea endémica y amenazada. *Memorias del XXVI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Bioquímica, A.C. Guanajuato. 12 al 17 de Noviembre del 2006.*
- Gilman E. F. & D. G. Watson.** 1993. *Beaucarnea recurvata* Ponytail. Forest Service, Department of Agriculture. Fact Sheet ST-93.
- Murashige T. & L. Skoog.** 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Osorio R. M. & M. Mata-Rosas.** 2005. Micropropagation of endemic and endangered Mexican species of ponytail palms. *Hortscience* 40: 1481-1484
- Phillips G. C. & G. B. Collins.** 1979. *In vitro* tissue culture of selected legumes and plant regeneration from callus culture of red clover. *Crop Science* 19: 59-64.
- Soler M. & J. M. Soler.** 2004. *Mil maderas.* Universidad de Valencia, España. 68 p.