



Instituto Politécnico Nacional



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN
EN BIOTECNOLOGÍA APLICADA**

**“EVALUACIÓN DE REGULADORES DE CRECIMIENTO
VEGETAL EN SEMILLAS Y PLÁNTULAS DE AGAVE
PULQUERO (*Agave atrovirens* KARW. EX SALM-DYCK) Y SU
IMPLICACIÓN EN UN SISTEMA DE PROPAGACIÓN”**

TESIS DE MAESTRÍA

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MAESTRO EN TECNOLOGÍA AVANZADA

PRESENTA:

BIOL. ELDA MIREYA ROMERO TEPAL

DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. ANGÉLICA DEL C. RUÍZ FONT

Tepetitla de Lardizábal, Tlaxcala

Febrero 2009

I. RESUMEN

El maguey pulquero (*Agave atrovirens karw. ex. Salm-Dyck*) es de gran importancia en los estados de México, Tlaxcala, Hidalgo y Puebla debido a que esta planta proporciona una gran variedad de productos (Granados-Sánchez, 1999), además de la producción del aguamiel y del pulque que en la actualidad es una bebida que regresa con potencial para su industrialización y exportación. Una planta madura de Agave de 10 años de edad produce de tres a seis litros de aguamiel por día y puede producir de 500 a 1,000 litros a lo largo de tres a ocho meses (Cervantes-Ramírez, 2002). Por otro lado el sistema de propagación del Agave es ineficiente, la propagación sexual por semillas comprende de 12 a 15 años y la propagación asexual, la única que tradicionalmente se utiliza, genera entre 8 a 10 hijuelos en su vida (Nobel, 1985).

Este trabajo establece un protocolo de propagación rápido y de bajo costo, empleando la técnica de cultivo de tejidos *in vitro*, por organogénesis indirecta (vía callo). Los explantes utilizados fueron semillas y la base de la hoja de plantas jóvenes, los cuales fueron evaluados para la producción de callo y formación de brotes. El cultivo de los callos se inicio con la mezcla de BAP y 2,4-D a concentraciones de 2.2 a 9.04 μM (0.5 a 2 mg/l) y 4.4 a 11.3 μM (1 a 2.5 mg/l) respectivamente. Y también se usó la mezcla de de KIN y 2,4-D de 2.3 μM (0.5 mg/l) y 2.2 μM (0.5 mg/l) respectivamente. Ambas mezclas mostraron buena callogénesis (100%) en condiciones de oscuridad a $27 \pm 3^\circ\text{C}$.

Se encontró que la formación de brotes puede ser inducida por cuatro formulaciones: con 26.6 μM (6mg/l) de BAP; con la mezcla de 2,4-D y BAP en concentraciones de 0.09 y 26.6 μM (0.02mg/l y 6mg/l), con la mezcla ANA y KIN de 6.24 y 4.6 μM (1.5 y 1mg/l) y sin reguladores de crecimiento (40% de brotes) en condiciones de fotoperiodo (16 horas luz y 8 oscuridad). Para el enraizamiento, el medio MS a la mitad de sus sales con 2.85 μM de AIA, 10% de sacarosa fue el óptimo.

Por otro lado, se realizó la evaluación de biorreguladores comerciales para acelerar el crecimiento en las plántulas sobre la parte aérea y en las raíces, los resultados indican que los productos Agro-V en menor concentración y Biozyme e Impulsor Vegetal en mayor concentración (100 ml^{-100L}, 250 ml^{-100L} y 333.3 ml^{-100L} respectivamente) manifestaron formación y crecimiento de hojas. El productos Biozyme (83.3ml^{-100L}) mostró un 8.5% de formación radicular, no obstante el uso de estos productos no proporcionaron el crecimiento que se esperaba sobre las etapas tempranas de de *A. atrovirens*.

También, se realizó una caracterización morfológica de Agaves pulqueros en dos diferentes vegetaciones (bosque de pino y matorral xerófito con 8, 20 plantas respectivamente). El sitio con vegetación de Matorral xerófito presentó mayor formación de frutos y semillas en comparación con la vegetación de bosque de pino. En cuanto las evaluaciones en la germinación de las semillas colectadas, se encontró que la mezcla de suelo de arcilla, arena, y vermiculita (1:2:3) presentó un alto porcentaje (64.4%), que es similar a la eficiencia obtenida con un sistema de laboratorio en el que se utilizó papel toalla presentando un 65% de germinación.

I. ABSTRACT

The maguey pulquero (*Agave Atrovirens* Karw. Ex. Salm-Dyck) is of great importance in the states of Mexico, Tlaxcala, Hidalgo and Puebla because this plant provides a wide range of products (Sanchez-Granados, 1999), in addition to the production of mead and pulque which at present is a drink that comes back with potential for industrialization and export. A mature Agave plant produces three to six liters of mead per day and can produce 500 to 1000 liters in the course of three to eight months (Cervantes-Ramirez, 2002), this requires plants on more than ten years of age. On the other hand the system for the propagation of the Agave is inefficient; sexually spread by seed comprises 12 to 15 years and asexual propagation, the only one that is traditionally used, generates between 8 to 10 tillers (Nobel, 1985).

This work establishes a protocol for rapid propagation and low cost, using the technique of in vitro tissue culture, by indirect organogenesis (via callus). The explants used are based on the seeds and leaves of young plants; they were evaluated for the production of callus formation and shoot. The cultivation of calluses began with the mixture of BAP and 2,4-D at concentrations of 2.2 to 9.04 μM (0.5 to 2 mg/l) and 4.4 to 11.3 μM (1 to 2.5 mg/l) respectively. And also used a mixture of KIN, and 2.3 μM of 2,4-D (0.5 mg/l) and 2.2 μM (0.5 mg/l) respectively. Both mixtures showed good callogenesis (100%) under conditions of darkness at $27\pm 3^\circ\text{C}$.

It was found that the formation of buds can be induced by four formulations: with 26.6 μM (6 mg/l) of BAP, with the mixture of 2,4-D and BAP at concentrations of 0.09 and 26.6 μM (0.02 mg/l and 6 mg/l), with the mixture ANA and KIN of 4.6 μM and 6.24 μM (1.5 mg/l and 1 mg/l) and without growth regulators (40% of shoot) in terms of photoperiod (16 hours light and darkness 8). Rooting for the MS half salts with 2.85 μM of AIA, 10% sucrose was the best.

The commercial biorregulats to accelerate the growth of seedlings are evaluated in part on the area and roots; the results indicate that the products Agro-V at a lesser concentration and Biozyme, Vegetal Impulsor the highest concentration (100 ml^{-100L}, 250 ml^{-100L}, 333.3 ml^{-100L} respectively) showed formation and growth of leaves. The product Biozyme (83.3 ml^{-100L}) showed positive effects with 8.5% of root formation; however the use of these products did not provide sufficient growth to be expected on the seedlings of *A. atrovirens*.

We conducted a morphological characterization of Agave originating from two different vegetation (pine forest and scrubland xerophyte with 8, 20 plants respectively). The scrubland xerophyte site had the best content of fruits and seeds. As the assessments on the germination of seeds collected, it was found that the mixture of arcilla soil, sand, and vermiculite (1:2:3) introduced a high percentage (64.4%), which is efficient as the system in laboratory in which paper towel was used by presenting a 65% germination.