

Propagación *in vitro* de nolináceas mexicanas

In vitro propagation of mexican nolinaceae

Alberto Isaac Reyes Silva¹, Carlos Francisco Morales Muñoz¹,
Martha Evelia Pérez Reyes¹, Eugenio Pérez Molphe Balch^{1*}

Reyes Silva, A. I.; Morales Muñoz, C. F.; Pérez Reyes, M. E.; Pérez Molphe Balch, E., Propagación *in vitro* de nolináceas mexicanas. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. 58, 12-20, 2013.

RESUMEN

La familia Nolinaceae incluye más de 50 especies adaptadas a las zonas áridas y semiáridas de México. Sus poblaciones naturales han disminuido de manera preocupante debido a la sobreexplotación y destrucción de su hábitat, por lo que el desarrollo de sistemas rápidos y eficientes para la propagación masiva de estas especies es una herramienta importante para su conservación y explotación racional. En este estudio se reportan protocolos para la propagación masiva *in vitro* de las especies *Beaucarnea goldmanii*, *B. gracilis*, *B. recurvata*, *Dasyllirion leiophyllum*, *D. longissimum*, *D. lucidum*, *D. serratifolium*, *Nolina durangensis*, *N. longifolia* y *N. parviflora*. Esto mediante la brotación axilar en explantes basales cultivados en medio adicionado con diversas citocininas. La eficiencia observada fue desde 3.9 hasta 10.3 nuevos brotes por explante, dependiendo de la especie. Los brotes se enraizaron en medio basal con o sin carbón activado. Las plantas generadas a través de estos protocolos mostraron una supervivencia *ex vitro* de 44 a 100 %. Estos resultados muestran que la propagación masiva *in vitro* es una opción

Palabras clave: *Beaucarnea*, citocininas, *Dasyllirion*, micropropagación, *Nolina*.

Keywords: *Beaucarnea*, cytokinins, *Dasyllirion*, micropropagation, *Nolina*.

Recibido: 27 de Febrero de 2013, aceptado: 5 de Junio de 2013

¹ Unidad de Biotecnología Vegetal, Centro de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma de Aguascalientes.

* Autor para correspondencia: eperezmb@correo.uaa.mx

eficiente que podría contribuir a la conservación de este recurso natural.

ABSTRACT

Nolinaceae family includes over 50 species adapted to arid and semiarid regions of Mexico. Natural populations have declined alarmingly due to overexploitation and habitat destruction, so the development of fast and efficient systems for mass propagation of these species is an important tool for its conservation and rational exploitation. In this study, protocols are reported for *in vitro* mass propagation of the species *Beaucarnea goldmanii*, *B. gracilis*, *B. recurvata*, *Dasyllirion leiophyllum*, *D. longissimum*, *D. lucidum*, *D. serratifolium*, *Nolina durangensis*, *N. longifolia* and *N. parviflora*. This is done by axillary sprouting in basal explants cultured in media supplemented with various cytokinins. The observed efficiency was 3.9 to 10.3 new shoots per explant, depending on the species. Shoots were rooted in basal media with or without activated charcoal. Plants produced through these protocols showed an *ex vitro* survival of 44 to 100%. These results show that *in vitro* mass propagation is an efficient option that could contribute to the conservation of this natural resource.

INTRODUCCIÓN

La familia Nolinaceae está integrada por los géneros *Beaucarnea*, *Calibanus*, *Dasyllirion* y *Nolina*, e incluye aproximadamente 55 especies herbáceas, arbustivas o arborescentes. Estas plantas habitan desde el sur de E.U.A. hasta

Centroamérica; México tiene la mayor riqueza de especies. La familia Nolinaceae se propuso en 1936 y se aceptó en 1985; anteriormente estas plantas eran incluidas dentro de las familias Agavaceae o Liliaceae (Irish e Irish, 2000). Hay reportes de que plantas de los géneros *Dasyllirion* y *Nolina* eran parte de la dieta de los nativos americanos hace más de 2000 años (Poinar *et al.*, 2001).

Actualmente, las hojas de algunas especies de esta familia se utilizan para la elaboración de canastas, mientras que la base de las mismas (llamada flor de sotol) se usa como elemento decorativo. Especies del género *Nolina* se explotan para obtener fibras para cordelería, y algunas del género *Dasyllirion* se usan en el norte de México para elaborar una bebida alcohólica denominada "sotol". El uso actual más extendido de estas plantas es el ornamental. Todas las especies del género *Beaucarnea* (soyates o patas de elefante), así como muchas de los géneros *Dasyllirion* (sotoles) y *Nolina*, se comercializan masivamente con este fin. Esto se debe a su belleza y a su muy bajo consumo de agua. Desafortunadamente, las poblaciones silvestres de casi todas las especies de nolináceas se han reducido de manera importante en años recientes. Por este motivo, la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 incluye a 16 especies de esta familia en la lista de plantas en peligro, amenazadas o sujetas a protección especial. Entre estas se encuentran *Beaucarnea goldmanii*, *B. gracilis*, *B. recurvata* y *Dasyllirion longissimum*, consideradas como amenazadas.

Entre los factores que afectan la conservación de las nolináceas destacan: 1) la destrucción y la modificación de los hábitats causadas por la expansión agrícola y la explotación forestal; 2) la ganadería, en especial el pastoreo de cabras, que puede devastar poblaciones completas; 3) la sobreexplotación como materia prima de algunas especies, y 4) el saqueo de ejemplares silvestres para su venta en el mercado de ornamentales, situación especialmente grave en el género *Beaucarnea* (Cardel *et al.*, 1997; Golubov *et al.*, 2007).

La propagación masiva *in vitro* es una alternativa viable para especies vegetales amenazadas cuya multiplicación por métodos convencionales, ya sea por semillas o por métodos asexuales, es poco eficiente (Pence, 2011). Este es el caso de las nolináceas, que no se propagan

vegetativamente y la producción de semillas es errática. Hay pocos estudios acerca del cultivo y la propagación *in vitro* de este grupo de plantas. Samyn (1993, 1997) reporta la propagación *in vitro* de *Beaucarnea recurvata* en un medio con benciladenina (BA) y ácido giberélico, obteniendo un poco más de tres nuevas plantas por explante. Osorio-Rosales y Mata-Rosas (2005) propagaron *Beaucarnea gracilis* y *B. recurvata* a través de la generación de brotes en explantes tomados de plántulas obtenidas *in vitro*, usando sólo la citocinina BA. Por su parte, Flores-García *et al.* (2009) reportan la propagación de la especie *Nolina parviflora* a través de organogénesis, a partir de explantes tomados de plántulas obtenidas *in vitro*, en medios de cultivo con combinaciones de citocininas con auxinas. El objetivo de este estudio, fue el desarrollo de protocolos para la propagación masiva *in vitro* de 10 especies mexicanas de nolináceas pertenecientes a los géneros *Beaucarnea*, *Dasyllirion* y *Nolina*. Para siete de estas especies no existían reportes previos acerca de su cultivo y propagación *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Establecimiento de los cultivos *in vitro*

Se utilizaron semillas de *Beaucarnea goldmanii* Rose, *Beaucarnea gracilis* Lem., *Beaucarnea recurvata* Lem., *Dasyllirion leiophyllum* Engelm. ex Trel., *Dasyllirion longissimum* Lem., *Dasyllirion lucidum* Rose, *Dasyllirion serratifolium* (Karw. ex Schult. f.) Zucc., *Nolina durangensis* Trel., *Nolina longifolia* (Schult.) Hemsl. y *Nolina parviflora* (Kunth) Hemsl. Debido a la dificultad para obtenerlas, se contó con un máximo de 150 semillas por especie. Estas se desinfectaron lavándolas tres veces por 10 min con detergente líquido (Dermoclean) al 1% en agua corriente; luego, se lavaron durante 1 min con etanol al 70% y se trataron por 20 min con una solución de blanqueador comercial (Cloralex) al 10%. Las semillas se enjuagaron cuatro veces con agua destilada estéril bajo condiciones de asepsia y se incubaron 30 min en 50 mL de una solución de 20 mL L⁻¹ de PPM (Plant Preservative Mixture, Plant Cell Technology). Después se colocaron, sin enjuagar, en el medio de cultivo para su germinación.

El medio basal utilizado fue el MS (Murashige y Skoog, 1962), a pH 5.7 y con 8 g L⁻¹ de agar (Sigma-Aldrich) como gelificante. Los cultivos se mantuvieron a 25±2°C bajo luz continua (54 µmol m⁻² s⁻¹) por 30-60 d, hasta tener plántulas de 3-5

cm de altura. En los experimentos posteriores se utilizó este medio basal y las mismas condiciones de incubación. A partir de las plántulas obtenidas se tomaron los explantes a ser utilizados en los experimentos de multiplicación *in vitro*.

Multiplicación *in vitro*

Se eliminaron las hojas y las raíces de las plántulas obtenidas; la porción basal restante de 10 a 15 mm de longitud, conteniendo los tejidos meristemáticos, se inoculó en posición vertical en medio basal adicionado con citocininas, y se mantuvo la misma polaridad que en la plántula original. Esto con el fin de estimular la generación de brotes axilares múltiples en los explantes. En una primera serie de experimentos se probaron cuatro concentraciones de benciladenina (BA): 1, 2, 3 y 4 mg L⁻¹. En una segunda serie de experimentos se probaron, además, tratamientos con 3 mg L⁻¹ de las citocininas 6- γ , γ -dimetilalilaminopurina (2iP), tidiazurón (TDZ) y [N6-(meta-hidroxibencil) adenina] o metatopolina (MT). En todos los casos se utilizaron 15 explantes, también de 10 a 15 mm de longitud de cada especie por tratamiento y los experimentos se realizaron por triplicado. Adicionalmente, se colocaron 10 explantes de cada especie en medio basal carente de citocininas como testigo.

Debido a la poca disponibilidad de material vegetal, los brotes generados en los primeros experimentos de multiplicación se utilizaron como fuente de explantes para los subsecuentes. La incubación de los cultivos se realizó a 25 \pm 2 °C bajo luz continua (54 μ mol m⁻² s⁻¹) por 56-60 d, después de los cuales se registraron los resultados. Estos consistieron en el porcentaje de explantes que respondieron generando brotes y el número de brotes producidos por explante. Estos últimos datos se analizaron mediante ANDEVA y las medias se compararon mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

Enraizamiento

Se colectaron brotes de más de 3 cm de longitud generados en los experimentos de multiplicación y se inocularon en medio basal al 50% a pH 5.7 y con 8 g L⁻¹ de agar, o en medio basal a pH 5.7, con 8 g L⁻¹ de agar y 2 g L⁻¹ de carbón activado. Se utilizaron al menos 75 brotes de cada especie por cada tratamiento. Los cultivos se incubaron a 25 \pm 2 °C bajo luz continua por 45-50 d, después de los cuales se registró el porcentaje de brotes que generaron raíces.

Transferencia a suelo

Se eliminaron los sellos y se aflojaron las tapas de los recipientes de cultivo con brotes enraizados. Esto con el fin de promover la adaptación paulatina de los brotes a las condiciones de humedad del medio externo. Después de siete días en estas condiciones, los brotes se retiraron del medio de cultivo y su parte basal y raíces se lavaron con agua corriente para eliminar los restos del mismo. Posteriormente, se sembraron en macetas con una mezcla de suelo comercial y arena 1:1 y se cubrieron con una bolsa de plástico transparente para retener la humedad. Las macetas se mantuvieron por cinco días en una cámara bioclimática a 24 \pm 2 °C y con un fotoperíodo de 16 h de luz por 8 h de oscuridad; posteriormente se transfirieron a invernadero. Después de una semana se hicieron orificios a la cubierta plástica y a la tercera semana la misma se eliminó por completo. La supervivencia de las plantas generadas *in vitro* se determinó a la sexta semana. Se consideró que la adaptación al suelo fue exitosa cuando la planta dio señales de reiniciar su crecimiento ya en condiciones *ex vitro*.

RESULTADOS

La germinación *in vitro* de las semillas comenzó a observarse a los ocho días, y el proceso terminó a los 28. Las mayores tasas de germinación se observaron en *Beaucarnea gracilis* y *Dasyllirion leiophyllum*, de 96% y 95%, respectivamente. *Dasyllirion serratifolium* mostró la menor tasa (22%). El resto de las especies tuvieron tasas dentro de este rango. Osorio-Rosales y Mata-Rosas (2005) reportan tasas de germinación *in vitro* de 89.8 y 95.3% para *Beaucarnea gracilis* y *B. recurvata*. En este trabajo se observaron tasas similares en la primera especie, pero menores en la segunda.

En cuanto al protocolo usado para la desinfección de las semillas, resultó eficiente, ya que no se tuvieron pérdidas por contaminación. Esto pudo deberse al uso de PPM como parte del mismo, ya que en experimentos previos en donde no fue incluido se obtuvo material contaminado por hongos en 35% de las semillas evaluadas.

En este estudio se utilizaron sólo citocininas para inducir la producción de brotes en explantes basales. Todos los tratamientos fueron capaces de inducir la generación de brotes múltiples

en las especies trabajadas. Sin embargo, hubo diferencias en cuanto a la eficiencia de cada tratamiento y al grado de diferenciación de los brotes producidos (Tabla 1). La mayor respuesta se observó en *Dasyliion leiophyllum*, donde se produjeron en promedio más de 10 brotes por explante en el mejor tratamiento. La menor respuesta se observó en *Beaucarnea goldmanii*, que en su mejor tratamiento generó casi cuatro brotes por explante. En todas las especies, los explantes colocados en medio testigo sin citocininas no generaron nuevos brotes. En muchos casos se observó la generación de una sola planta debido a la rebrotación del meristemo principal del explante original.

Osorio-Rosales y Mata-Rosas (2005) probaron el efecto de varias concentraciones de BA en la generación de brotes en explantes basales de *Beaucarnea gracilis* y *B. recurvata*. Para la primera, el mejor tratamiento fue con 5 mg L⁻¹ de BA con una producción de 5.4 brotes por explante, mientras que para la segunda fue

3 mg L⁻¹ de BA con 1.9 brotes por explante. Sin embargo, cuando estos autores utilizaron cortes longitudinales de los segmentos basales como explante, la producción de brotes por explante en las mismas especies se incrementó a 8.2 y 11.1, aunque en el caso de *B. gracilis*, esto incrementó notablemente la mortalidad de los tejidos por oxidación. Sistemas de propagación similares se han desarrollado también para el género *Agave*, con resultados comparables a los observados en nolináceas (Domínguez-Rosales *et al.*, 2008). Sin embargo, en agaves también se ha reportado el uso de auxinas como el 2,4-D y el AIB en tratamientos de pulso para inducir la brotación (Ramírez-Malagón *et al.*, 2008). Por otro lado, en otra especie relacionada, *Yucca valida*, se recomienda el uso de citocininas combinadas con auxinas para generar brotes *in vitro*. En este caso, la mayor eficiencia es de 5.2 brotes por explante basal en un tratamiento con 4.5 mg L⁻¹ de BA y 0.87 mg L⁻¹ de ácido indolacético (AIA) (Arce-Montoya *et al.*, 2006).

Tabla 1. Efecto de la concentración y tipo de citocinina en medio basal empleada en la generación de brotes en explantes basales en 10 especies de nolináceas

Especie	Citocinina (mg L ⁻¹)				Explantes con brotes (%)	Brotes por explante [†]
	BA	2iP	TDZ	MT		
<i>Beaucarnea goldmanii</i>	1	---	---	---	100	2.3 b
	2	---	---	---	100	3.1 a
	3	---	---	---	100	3.9 a
	4	---	---	---	94	2.8 ab
	---	3	---	---	86	2.2 b
	---	---	3	---	54	1.4 c
	---	---	---	3	90	2.4 b
<i>Beaucarnea gracilis</i>	1	---	---	---	100	3.2 c
	2	---	---	---	100	7.2 b
	3	---	---	---	100	8.6 ab
	4	---	---	---	100	9.4 a
	---	3	---	---	90	6.8 b
	---	---	3	---	76	3.6 c
	---	---	---	3	100	7.4 b

Continuación de la tabla 1.

<i>Beaucarnea recurvata</i>	1	---	---	---	100	4.8 c
	2	---	---	---	93	6.5 b
	3	---	---	---	100	9.4 a
	4	---	---	---	98	9.2 a
	---	3	---	---	100	8.3 a
	---	---	3	---	68	4.2 c
	---	---	---	3	96	7.6 b
<i>Dasyllirion leiophyllum</i>	1	---	---	---	92	6.7 b
	2	---	---	---	100	8.8 ab
	3	---	---	---	100	10.3 a
	4	---	---	---	98	9.1 a
	---	3	---	---	59	2.8 c
	---	---	3	---	42	1.6 c
	---	---	---	3	50	3.8 c
<i>Dasyllirion longissimum</i>	1	---	---	---	90	6.2 b
	2	---	---	---	90	2.5 c
	3	---	---	---	100	5.3 b
	4	---	---	---	80	2.2 c
	---	3	---	---	100	9.6 a
	---	---	3	---	20	2.2 c
	---	---	---	3	80	6.2 b
<i>Dasyllirion lucidum</i>	1	---	---	---	94	2.7 bc
	2	---	---	---	100	3.2 b
	3	---	---	---	100	3.5 b
	4	---	---	---	100	6.8 a
	---	3	---	---	90	3.2 b
	---	---	3	---	64	2.0 c
	---	---	---	3	100	6.3 a
<i>Dasyllirion serratifolium</i>	1	---	---	---	86	2.3 c
	2	---	---	---	100	4.0 b
	3	---	---	---	100	5.3 b
	4	---	---	---	100	6.9 a
	---	3	---	---	92	4.3 b
	---	---	3	---	78	2.1 c
	---	---	---	3	100	7.2 a
<i>Nolina durangensis</i>	1	---	---	---	100	3.5 c
	2	---	---	---	100	5.3 b
	3	---	---	---	100	8.7 a
	4	---	---	---	100	7.8 a
	---	3	---	---	98	4.9 b
	---	---	3	---	78	2.8 c
	---	---	---	3	100	5.1 b

Continuación de la tabla 1.

<i>Nolina longifolia</i>	1	---	---	---	83	2.9 c
	2	---	---	---	92	4.2 c
	3	---	---	---	92	5.7 c
	4	---	---	---	100	7.7 b
	---	3	---	---	75	3.3 c
	---	---	3	---	50	1.0 d
	---	---	---	3	92	9.8 a
<i>Nolina parviflora</i>	1	---	---	---	50	1.7 c
	2	---	---	---	50	2.2 c
	3	---	---	---	80	2.5 c
	4	---	---	---	90	2.9 c
	---	3	---	---	100	9.2 a
	---	---	3	---	40	1.7 c
	---	---	---	3	100	7.6 b

¶ Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

En cuanto al tipo de citocinina, en las especies del género *Beaucarnea*, las mejores respuestas se observaron siempre en los tratamientos con BA. Sin embargo, en *Dasyllirion* y *Nolina*, algunos tratamientos con 2iP y MT mostraron una eficiencia similar a la BA (Tabla 1). Cabe recalcar que estas citocininas no habían sido reportadas en especies de la familia Nolinaceae. Sin embargo, de acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, estas pueden considerarse como una alternativa viable al uso de la BA.

Además del aspecto cuantitativo que representa el número de brotes generados por explante, es importante considerar aspectos cualitativos como el grado de diferenciación y la morfología de los mismos. En este sentido, se observaron diferencias cualitativas entre las citocininas empleadas y con las concentraciones probadas en el trabajo. BA (Figura 1A, E, I y M) genera en la mayoría de las especies un número más alto de brotes, pero las hojas de éstos muestran una talla menor. Por el contrario, 2iP (Figura 1B, F, J y N) genera un menor número de brotes, pero estos alcanzan tallas mayores debido al desarrollo de las hojas. MT (Figura 1D, H, L y P) muestra en este sentido un efecto intermedio entre la BA y la 2iP. Por su parte, TDZ (Figura 1C, G, K y O), que es una citocinina sintética de alta actividad, usada sobre todo en especies leñosas (Huetteman y Preece, 1993), genera brotes con hojas curvas y deformes, y en menor cantidad con respecto a las tres primeras. Esto quiere decir que

este compuesto tiene efectos no deseables en las especies de nolináceas y en la concentración probada.

Por el contrario, en algunas especies de *Agave* se ha visto que el TDZ resulta más eficiente para la generación de brotes respecto a otras citocininas (Dominguez-Rosales *et al.*, 2008). Estos efectos diferentes de las citocininas probadas pueden estar relacionados con el hecho de que si bien a todos estos compuestos se les clasifica dentro de este grupo por su actividad fisiológica; su naturaleza química y origen es diferente. BA y MT son citocininas aromáticas, la primera sintética y la segunda natural. 2iP es una citocinina natural de origen isoprenoide y TDZ es una citocinina sintética cuya naturaleza química es una fenilurea que fue descrita inicialmente como un herbicida defoliante (Lu, 1993; Strnad, 1997).

DISCUSIÓN

El enraizamiento de los brotes generados *in vitro* ocurrió tanto en medio basal como en medio adicionado con carbón activado (Tabla 2, Figura 2A). En el género *Beaucarnea* la eficiencia de enraizamiento fue notablemente mayor en el medio con carbón activado, y alcanzó valores entre 63 y 75%. Osorio-Rosales y Mata-Rosas (2005) ya habían reportado el uso de medio basal con carbón activado para el enraizamiento de brotes en dos especies del género *Beaucarnea*, con eficiencias de entre 80% y 100%. En los

géneros *Dasyllirion* y *Nolina*, las eficiencias de enraizamiento observadas en este trabajo fueron más altas, entre 83% y 100%, respecto al género *Beaucarnea*, y no se observó una diferencia tan clara entre el medio sin carbón activado y el que lo contenía.

La supervivencia de las plantas generadas ya en condiciones *ex vitro* osciló de manera general entre el 75 y el 100% (Tabla 2, Figura 2B-E). Sólo la especie *Nolina durangensis* mostró valores inferiores al 50%. En todos los casos se utilizó el mismo protocolo de adaptación y el

mismo sustrato, por lo que es probable que los requerimientos de esta especie en cuanto a este último punto sean diferentes. Otros autores (Osorio-Rosales y Mata-Rosas, 2005) reportan supervivencia de entre 80% y 100% para plantas del género *Beaucarnea* generadas *in vitro*. Se ha visto que el desarrollo *ex vitro* de las plantas generadas en el marco de este trabajo es aparentemente normal (Figura 2). En el caso de las especies de *Beaucarnea*, el engrosamiento del tallo característico de este género comienza a ser evidente a partir de los cuatro meses de desarrollo en invernadero (Figura 2C).



Figura 1. Brotes de nolináceas generados *in vitro*. Brotes de *Dasyllirion leiophyllum* generados en medio basal con diferentes citocininas: 3 mg L⁻¹ de BA (A), 2iP (B), TDZ (C) y MT (D); brotes de *Dasyllirion longissimum* generados en medio basal con diferentes citocininas: 3 mg L⁻¹ de BA (E), 2iP (F), TDZ (G) y MT (H); brotes de *Nolina longifolia* generados en medio basal con diferentes citocininas: 3 mg L⁻¹ de BA (I), 2iP (J), TDZ (K) y MT (L); y brotes de *Nolina parviflora* generados en medio basal con diferentes citocininas: 3 mg L⁻¹ de BA (M), 2iP (N), TDZ (O) y MT (P). Barra = 10 mm.

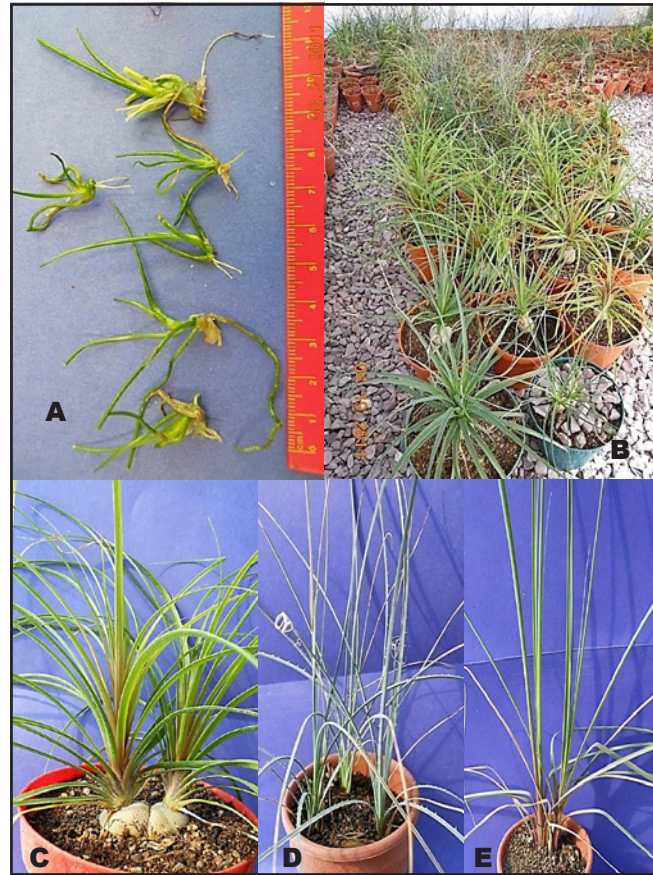


Figura 2. Plantas de nolináceas generadas *in vitro*. (A) Brotes de *Dasyllirion lucidum* enraizados *in vitro*; (B) aspecto general de algunas de las nolináceas generadas *in vitro* creciendo en invernadero. (C) Plantas generadas *in vitro* de *Beaucarnea recurvata*, (D) de *Dasyllirion lucidum* y (E) de *Nolina longifolia*.

Tabla 2. Evaluación del enraizamiento de los brotes generados *in vitro* y de la supervivencia *ex vitro* de las plantas producidas en diez especies de nolináceas

Especie	Medio MS al 50%		Medio MS con 2 g L ⁻¹ de carbón activado	
	Enraizamiento (%)	Supervivencia <i>ex vitro</i> (%)	Enraizamiento (%)	Supervivencia <i>ex vitro</i> (%)
<i>Beaucarnea goldmanii</i>	34	88	75	95
<i>Beaucarnea gracilis</i>	14	83	63	91
<i>Beaucarnea recurvata</i>	23	75	69	83
<i>Dasyllirion leiophyllum</i>	95	85	100	89
<i>Dasyllirion longissimum</i>	100	75	100	87
<i>Dasyllirion lucidum</i>	92	98	97	100
<i>Dasyllirion serratifolium</i>	90	87	96	75
<i>Nolina durangensis</i>	77	44	86	43
<i>Nolina longifolia</i>	75	71	83	96
<i>Nolina parviflora</i>	90	100	95	100

CONCLUSIONES

Se desarrollaron procedimientos para la propagación masiva *in vitro* de 10 especies de tres géneros de la familia Nolinaceae. Con estos protocolos fue posible generar más de nueve brotes por explante en seis de las especies estudiadas, esto en un plazo de 60 d. La respuesta de las otras cuatro especies trabajadas fue menor. Sin embargo, dado que es posible utilizar los brotes generados como explantes para nuevos ciclos de propagación, es factible establecer sistemas de producción continua con una tasa de multiplicación de tipo exponencial. En cuanto a las citocininas probadas, BA resultó ser la más eficiente con los mejores resultados en

seis de las especies analizadas. Por su parte, 2iP y MT fueron las más eficientes en dos especies cada una. Los brotes generados enraizaron satisfactoriamente en medio basal con carbón activado, y la tasa de supervivencia en invernadero de las plantas generadas *in vitro* fue superior al 80%, con la única excepción de *Nolina duranguensis*, en donde fue sólo un poco superior al 40%.

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Aguascalientes por las facilidades brindadas para la realización de este trabajo. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca para estudios de Maestría otorgada a CFMM.

LITERATURA CITADA

- ARCE-MONTOYA, M., RODRÍGUEZ-ÁLVAREZ, M., HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, J., ROBERT, M. L., Micropropagation and field performance of *Yucca valida*. *Plant Cell Reports*, 25: 777-783, 2006.
- CARDEL, C., RICO-GRAY, V., GARCÍA-FRANCO, J. G., THIEN, L. B., Ecological Status of *Beaucarnea gracilis*, an Endemic Species of the Semiarid Tehuacán Valley, México. *Conservation Biology*, 11: 367-374, 1997.
- DOMÍNGUEZ-ROSALES, M. S., ALPUCHE-SOLÍS, A. G., VASCO-MÉNDEZ, N. L., PÉREZ-MOLPHE-BALCH, E., Efecto de citocininas en la propagación *in vitro* de agaves mexicanos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31: 317-322, 2008.
- FLORES GARCÍA, A., ÁLVAREZ MOCTEZUMA, J. G., RODRÍGUEZ DE LA O, J. L., CORONA AMBRIS, A., Respuestas organogénicas *in vitro* de *Nolina parviflora* (H. B. K.) Hemsl. *Foresta Veracruzana*, 11: 25-32, 2009.
- GOLUBOV, J., MANDUJANO, M. C., ARIZAGA, S., MARTÍNEZ-PALACIOS, A., KOLEFF, P., Inventarios y conservación de Agavaceae y Nolinaceae. En: Colunga-García Marín, P., A. Larqué-Saavedra, L.E. Eguiarte y D. Zizumbo-Villarreal (Eds.). *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves*. Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C. Mérida, Yucatán, México., pp. 133-152, 2007.
- HUETTEMAN, C. A., PREECE, J. E., Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33: 105-111, 1993.
- IRISH, M., IRISH, G., *Agaves, Yuccas and related plants*. USA: Timber Press Inc., 312 pp., 2000.
- LU, C. Y., The use of thidiazuron in tissue culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 29: 92-96, 1993.
- MURASHIGE, T., SKOOG, F., A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-479, 1962.
- OSORIO-ROSALES, M. L., MATA-ROSAS, M., Micropropagation of endemic and endangered Mexican species of ponytail palms. *Hortscience*, 40: 1481-1484, 2005.
- PENCE, V. C., Evaluating costs for the *in vitro* propagation and preservation of endangered plants. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 47: 176-187, 2011.
- POINAR, H. N., KUCH, M., SOBOLIK, K. D., BARNES, I., STANKIEWICZ, A. B., KUDER, T., SPAULDING, W. G., BRYANT, V. M., COOPER A., PÄÄBO, S., A molecular analysis of dietary diversity for three archaic Native Americans. *PNAS* 98:4317-4322, 2001.
- RAMÍREZ-MALAGÓN, R., BORODANENKO, A., PÉREZ-MORENO, L., SALAS-ARAIZA, M. D., NUÑEZ-PALENIUS, H. G., OCHOA-ALEJO, N., *In vitro* propagation of three Agave species used for liquor distillation and three for landscape. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 94: 201-207, 2008.
- SAMYN, G. L. J., *In Vitro* Propagation of Ponytail Palm: Producing Multiple-shoot Plants. *Hortscience*, 28: 225, 1993.
- SAMYN, G. L. J., Micropropagation of *Beaucarnea recurvata* Lem. Syn. *Nolina recurvata* (Lem.) Hemmmsl. (Ponytail palm). In: Bajaj, Y. P. S. (Ed.). *Biotechnology in Agriculture and Forestry vol. 40. High-Tech and Micropropagation VI*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, pp. 264-275, 1997.
- STRNAD, M., The aromatic cytokinins. *Physiologia Plantarum*, 101: 674-688, 1997.