

Embriogénesis somática: Una alternativa para el cultivo masivo del maguey pulquero *Agave salmiana* var. *salmiana*

Blanca Vianey Angeles Vázquez, Yuridia Mercado Flores, Abisai García Mendoza, Benjamín Rodríguez Garay, Miguel Angel Anducho Reyes, Jorge Álvarez Cervantes

B. Angeles¹, Y. Mercado¹, A. García², B. Rodríguez³, M. Anducho^{1*}, J. Álvarez¹

¹Universidad Politécnica de Pachuca, Posgrado en Biotecnología

²Instituto de Biología UNAM

³Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ)

* anducho@upp.edu.mx

Abstract

Agave salmiana var. *salmiana* is the most representative agave species in the state of Hidalgo. However, due of their various uses, overexploitation, plant growth time (10 to 12 years), genetic deterioration by asexual propagation and lack of good agricultural practices, have caused unfavorable economic and ecological effects. For this reason, techniques are being developed for the massive production of vegetable material, with appropriate genetic characteristics, allowing them to adapt at the environmental conditions of each region. An alternative for the conservation of this species is the cultivation of plant tissues, by means of somatic embryogenesis for the mass culture of *Agave salmiana* var. *salmiana* to conserve this species and take advantage of its biotechnological uses.

Sobre-explotación, propagación, producción masiva

1 Introducción

En México el género *Agave* es un recurso natural, en donde existen 159 especies, la mayoría endémicas. Destacando entre estas el maguey pulquero (*Agave salmiana*), el cual se adapta a diferentes condiciones ambientales tales como baja precipitación, climas fríos y suelos infértiles; factores ambientales presentes en los estados de San Luis Potosí, Zacatecas, Tlaxcala, Hidalgo, Puebla y Estado de México (García-Mendoza, 2007). En estos estados su cultivo y aprovechamiento data desde la época precolombina, en donde varias familias dependían económicamente de él. Su aprovechamiento no se limita únicamente a la obtención de bebidas alcohólicas; su uso en actividades agrícolas radica en su capacidad para coadyuvar en la retención de agua así como en la conservación del suelo, problema grave en el territorio mexicano; en el aspecto culinario el agave tiene múltiples usos, lo que ha provocado la explotación clandestina e irracional de esta especie a fin de obtener su cutícula para la elaboración del mixiote, lo que significa un inconveniente para los productores de maguey en las diferentes regiones de cultivo, por el daño que se ocasiona a la planta (Morales y col., 2014; Puente-Garza y col., 2015).

La sobreexplotación, el tiempo de crecimiento de las plantas (10 a 12 años), la pérdida genética por la propagación asexual y la falta de cultura agrícola para el manejo y conservación del agave son un problema actual, por tal razón, se están buscando nuevas técnicas para la obtención masiva de material vegetal, con características genéticas, que permitan su adaptación a condiciones ambientales de cada región, para así mejorar el aprovechamiento integral de esta planta y favorecer el ingreso económico a los productores de agave. El cultivo de tejidos vegetales puede ser una herramienta biotecnológica de gran ayuda para conservar esta especie y aprovechar sus diversos usos (Domínguez y col., 2008).

2 El género *Agave*

Taxonómicamente el género *Agave* (del griego *αγαυή*, ‘noble’ o ‘admirable’) (Gentry, 2004), se ubica dentro de las Agaváceas y es el más importante de la familia de las Asparagaceae, en donde se encuentran plantas perenes, suculentas, monocotiledóneas y xerófilas, las cuales presentan cambios morfológicos que les han permitido sobrevivir en ambientes desérticos (García-Mendoza, 2007) tales como: la presencia de estomas los cuales se abren durante la noche y absorben dióxido de carbono (CO₂) evitando así la pérdida de agua. Además, su metabolismo es ácido crasuláceo (CAM), lo que le permite tener menores requerimientos de agua en comparación con las plantas C3 y C4 (Fijan el carbono directo del CO₂ y lo incorporan al ciclo del Calvin). Mientras que la mayoría de las plantas absorben y fijan el dióxido de carbono durante el día, en las plantas CAM lo realizan durante la noche (Winter y col., 2008; Kant, 2010).

Éste género está constituido por 200 especies en el continente americano de las cuales 159 existen en México, que corresponde al 75% del total (García-Mendoza, 2012). Su distribución del *Agave* en el territorio mexicano es altamente asimétrica, existen regiones donde se localiza mayor cantidad de especies que en otras, su incidencia va de climas áridos a semiáridos con altitudes entre 1000 y hasta 3500 metros sobre el nivel del mar (norte-sur del país) (García-Mendoza, 2007).

Las especies de *Agave* que producen mayores ingresos en México pertenecen a los representado por *Agave americana*, *A. atrovirens*, *A. mapisaga* y *A. salmiana*, siendo esta última la más utilizada para la producción de pulque (Ortiz-Basurto y col., 2008). La producción de estas plantas en México representa 3.681 hectáreas con un posible valor comercial potencial de \$ 100 millones de dólares (Puente-Garza y col., 2015).

2.1 *Agave salmiana*

Crece en forma de rosetas densas a laxas, con una altura entre 2.0 a 2.8 metros y diámetro de 2.0 a 5.0 metros, presentando por individuo de 30 hasta 70 hojas. Las Hojas son suculentas en forma erecta a recurvadas que miden de largo 1.0–2.2 m y de ancho 20 a 35 cm, con coloración verde opaco, verde claro o hasta verde-amarillento, éstas se encuentran dentadas con dientes que miden de 0.5-2.0 cm de largo y 1.0–2.0 cm de ancho, son color pardo oscuro, grisáceos a negruzcos (Figura 4.1) (García-Mendoza, 2012). De acuerdo a Gentry, (2004) se reconocen cuatro categorías intraespecíficas de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck var. *angustifolia*, *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp *crassispina*, *Agave salmiana* var. *ferox*, *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck var. *salmiana*.

Figura 4.1 *Agave salmiana* conocido en la comunidad como “manso”, ejemplar del municipio de San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo



Fuente: Fotografía tomada el 7 de mayo del 2017, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo

2.2 Ciclo de vida de *Agave salmiana*

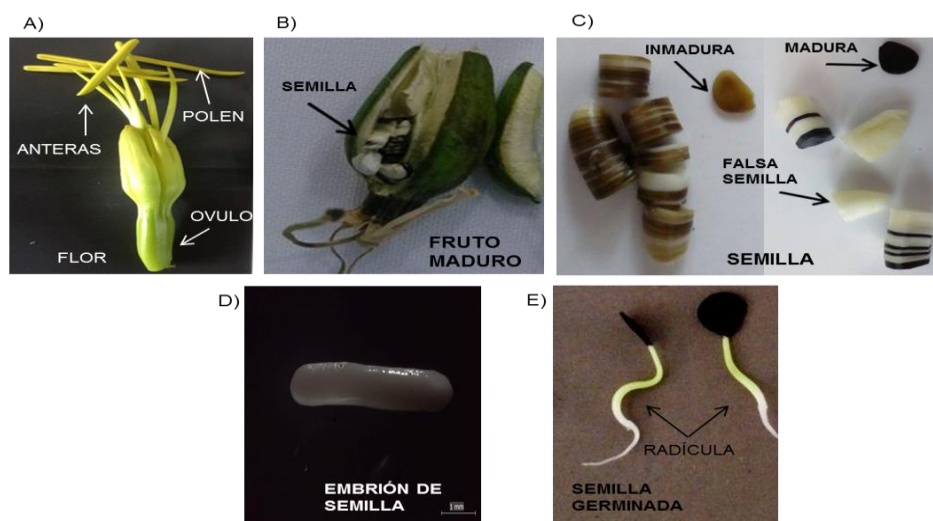
El ciclo de vida de los agaves comprende aproximadamente una década en todas las especies, estos se reproducen de forma sexual y asexual.

2.2.1 Reproducción sexual

Se lleva a cabo por la polinización, mediante agentes externos abióticos como el agua y el viento o bióticos como animales vertebrados principalmente por murciélagos nectarívoros *Leptonycteris yerbabuena*, *L. nivalis* y *Choeronycteris mexicana* y en menor grado, insectos diurnos y nocturnos, los cuales polinizan el estigma de la flor, como las abejas, realizando la transferencia del polen desde los sacos polínicos de las anteras, hasta el estigma en las angiospermas de la flor (Figura 4.2 A) (Aguado, Fererer y Viñuela, 2015). Los agaves son plantas angiospermas, las cuales han desarrollado una amplia gama de mecanismos morfológicos y fisiológicos para aumentar o restringir la polinización y han coevolucionado frecuentemente con los polinizadores (Bewley y col., 2012). La reproducción sexual del *Agave* es necesaria para mantener la estructura y la dinámica de las poblaciones, aumentando la variabilidad genética de estas (Ramírez Tobías y col., 2012).

Posterior a la polinización se realiza la fecundación del ovulo y finalmente la formación de semilla (Figura 4.2 B, C). Las semillas germinan (Figura 4.2 D, E) dando origen a una nueva planta la cual crecerá y después de cierto tiempo de maduración (aproximadamente 5 años) se prepara para reproducirse sexualmente (8 y 13 años), provocando la muerte de la planta, ya que destina un máximo de recursos para la construcción de su enorme escapo floral (Figura 4.3). A este tipo de reproducción se le conoce como semélpara o monocárpica, la cual es poco común en las plantas con flores y se hipotetiza que pudo haber evolucionado debido a la altura de la inflorescencia, lo que la hace más atractiva para los polinizadores (García-Mendoza, 2007).

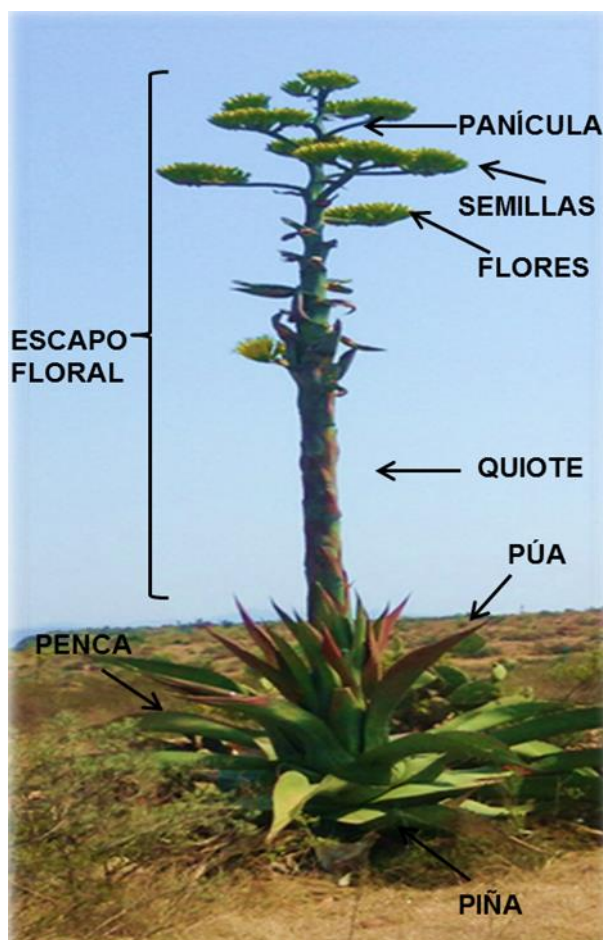
Figura 4.2 Flor, semilla y embrión de *Agave*. A) Partes de Flor, B) Fruto maduro, C) Semilla, D) Embrión de semilla, E) Semilla germinada.



Fuente: Elaborada Agosto del 2017, por el Dr. Jorge Álvarez Cervantes

El desarrollo de una semilla comprende en general tres fases principales que con frecuencia se traslapan: a) diferenciación y formación del embrión, b) Acumulación de sustancias de reserva, c) fase de maduración y deshidratación (Herrera y col., 2006; Bewley y col., 2012). En algún momento de su desarrollo las semillas angiospermas se compone generalmente de: (1) el embrión que es el resultado de la fertilización del núcleo de la célula en el saco embrionario por el núcleo masculino, (2) el endospermo que surge de la fusión de dos núcleos polares de la célula central del saco embrionario, (3) el perispermo (desarrollo de la parte central del embrión) y (4) la testa, una capa de la semilla que muy a menudo es la única barrera protectora entre el embrión y el ambiente externo, por lo cual su composición varía constantemente (Herrera y col., 2006).

Figura 4.3 El maguey y sus partes



Fuente: Elaborada Agosto del 2017, Maguey pulquero de la zona de San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo México

2.2.2 Estudios en semilla de *Agave*

Las semillas almacenan fuentes de reserva de alimentos necesarios para el crecimiento de la planta, estos suelen ser carbohidratos, aceites, proteínas, alcaloide, lectinas, oligosacáridos de la familia de la fitina y la rafina, dichos compuestos no tienen un lugar de almacenamiento fijo y se distribuyen de forma desigual (Bewley y col., 2012). Hasta el momento no está determinada la composición de la semilla de agave, solo se ha realizado un estudio por Vázquez Díaz y col., (2011) donde se mencionan las características tales como peso (mg), longitud (mm) y anchura (mm) de las semillas de tres variantes de *Agave salmiana* presentes en el estado de San Luis Potosí. Además, evaluaron el porcentaje de hojas cotiledonares en tres estaciones de siembra: verano de 2008, otoño del 2008 y verano de 2009, empleando una mezcla de suelo agrícola y tezontle en proporción 3:1, con textura migajón arcillo arenoso, pH 7.7, con 6.2 % de materia orgánica, sembrando a una profundidad aproximada de 1 cm, aplicando un sistema de riego automático y dentro de un invernadero. Demostrando que el porcentaje de obtención de hojas cotiledonares no rebasó el 80 % en un período que se extendió hasta 60 días.

Ramírez Tobías y col., (2012) determinaron la temperatura óptima de germinación de ocho especies mexicanas de agave con importancia económica. Las temperaturas evaluadas fueron: 10, 15, 20, 25, 35 y 40 °C en total obscuridad en un período de 312 horas. Determinando que el mayor porcentaje de germinación de semillas *A. salmiana* fue a 25 °C con un 85 % de germinación y que las temperaturas de 10, 35 y 40 °C son parcialmente letales para este proceso.

Ramírez Tobías y col., (2016) mencionan que la germinación de semillas de *Agave salmiana* con baja disponibilidad de agua empleando una temperatura constante de 25 °C en obscuridad, obtiene rendimientos entre el 85 y 100 % en un intervalo de tiempo de 80 a 180 horas, concluyendo que la germinación de estas plantas esta moderadamente afectada por la baja disponibilidad de agua. Puente-Garza y col., (2016) realizaron la germinación de *Agave salmiana in vitro*, dándole cuatro tratamientos diferentes a las semillas: sin escarificación, escarificación química, escarificación mecánica, escarificación química y mecánica. Para su posterior cultivo en un medio sólido Murashige y Skoog (MS) con temperatura de 27 °C y fotoperiodos 12:12. Teniendo como resultado que el mejor tratamiento fue la escarificación mecánica con un porcentaje de germinación del 90 % en 4 días.

En general se ha observado que el proceso de germinación depende de las características intrínsecas de la semilla como el tamaño, el origen, tiempo de latencia por mencionar algunos y de los factores extrínsecos entre los que destacan la temperatura, luz, oxígeno y la disponibilidad de agua (Bewley y col., 2012). Estos parámetros externos pueden ser modificados para disminuir el tiempo de germinación, aumentar la tasa y capacidad de este proceso (Ramírez Tobías y col., 2012).

2.2.3 Reproducción Asexual

La reproducción asexual en agaves se realiza gracias a la capacidad de la planta para producir clones en diferentes partes de la roseta, conocidos como hijuelos, también se puede realizar su dispersión por esqueje, es decir un trozo de una de sus hojas puede ser separada y si cae en tierra apropiada puede enraizar y dar un nuevo individuo. Este sistema se empleó en gran medida para su dispersión por Europa (García-Mendoza, 2007). Los hijuelos se desarrollan en la base de la planta, o mediante estolones emergen a alguna distancia de la planta madre, producen raíces y, con el tiempo, crecen de manera independiente. Los hijuelos interfoliarios se originan entre las hojas de la roseta y se desarrollan cuando se desprenden de la planta madre o ésta muere. La producción de clones es un mecanismo que permite a las plantas una mayor capacidad de ampliar su área de distribución (Figura 4.4).

Figura 4.4 *Agave salmiana* con hijuelos en la periferia de la roseta



Fuente: Fotografía tomada el 7 de mayo del 2017, Universidad Politécnica de Pachuca, Zempoala Hidalgo, México

2.3 Cultivo vegetal alternativa para la obtención de agaves

Algunos factores que impiden la multiplicación masiva de agave por métodos convencionales son las bajas tasas de reproducción asexual y reproducción sexual limitada por problemas de polinización y viabilidad de las semillas. Además, estos mismos factores limitan las posibilidades de mejoramiento de las especies cultivadas (Domínguez y col., 2008). Aunado a esto, la sobreexplotación y el creciente mercado de los productos obtenidos del maguey conlleva a buscar alternativas que nos permitan generar material vegetal en menor tiempo y mayor cantidad en comparación con las condiciones ambientales, una alternativa muy atractiva es la generación de plantas a través de cultivos vegetales (Calva, 2005). La mayoría de los trabajos en esta área son mediante la propagación *in vitro* de algunas especies del género *Agave*. La regeneración *in vitro* se ha alcanzado a través de la obtención de brotes a partir de meristemos axilares localizados en el segmento basal de las plantas, o bien a través de organogénesis o embriogénesis somática indirecta, es decir, a partir de tejido calloso generado también *in vitro* (Domínguez y col., 2008).

El cultivo de tejidos vegetales se lleva a cabo utilizando cualquier parte de la planta (célula, tejido u órgano), manipulando condiciones controladas de crecimiento (temperatura, fotoperiodos, humedad) y bajo condiciones anoxigénicas es posible poder generar un individuo completo, esto se debe a la totipotencia de las células, ya que tienen la información genética necesaria para formar a una planta. Uno de los factores más importantes a considerar en el cultivo de tejidos vegetales son los medios de cultivo sólidos y líquidos, los cuales deben contener principalmente minerales, vitaminas, fitorreguladores, fuente de carbono, hormonas. (Núñez-Paleniús y Ochoa-Alejo, 1999). Para poder realizar este proceso existen diferentes técnicas de regeneración *in vitro* tales como: organogénesis y embriogénesis somática.

2.3.1 Organogénesis

La organogénesis se define como el desarrollo de órganos a partir de tejidos meristemáticos o no meristemáticos. Esta técnica de cultivo de tejido vegetales es un conjunto de procesos que engloban la regulación de la división celular, la expansión celular, la diferenciación del tipo de célula y tejido (De Smet, 2013). En esta técnica las células que tienen el papel de progenitores se estimulan a manera de acelerar la división de la célula para que se formen los meristemoides a partir de los cuales se presentará el crecimiento y desarrollo de los brotes (Mroginski y col., 2010). La organogénesis es altamente influenciada por fitohormonas tales como las auxinas y las citocininas (Bohn-Courseau, 2010).

2.3.2 Embriogénesis somática

Este sistema de regeneración ha sido ampliamente usado como herramienta para la propagación clonar y el desarrollo de protocolos para el mejoramiento de plantas a través de la genética celular somática y de la transformación genética (Gutiérrez-Mora y col., 2012; Melanie y col., 2016). Se le llama embriogénesis somática a la capacidad que tienen ciertas células para formar embriones bajo condiciones específicas de cultivo *in vitro* (Rao, 1996; Jiménez, 2005). Sus etapas de desarrollo son las siguientes:

Inducción

Es el proceso de conversión de una célula somática a una célula proembrionígenica. Se considera que los factores determinantes para que suceda este proceso son: genotipo, grado de diferenciación de las células del explante, fitohormonas (auxinas) y el aislamiento celular (Rodríguez-Garay y col., 2000; Gutiérrez-Mora y col., 2012; Jiménez, 2005).

Histodiferenciación

En esta etapa las masas de células proembriogénicas se diferencian formando embriones somáticos mediante una división y diferenciación celular simultáneas. Durante esta etapa los embriones somáticos pasan una serie de estadios intermedios muy similares a los que ocurren en la embriogénesis cigótica. En las dicotiledóneas estos estadios son: globular, corazón y torpedo, mientras que en las monocotiledóneas son: globular, coleoptilar y escutelar (Melanie y col., 2016).

Maduración

Es la fase de maduración de un embrión somático para que adquiera la capacidad de germinar, ocurre básicamente una elongación celular sin división (Gutiérrez-Mora y col., 2012).

Germinación

Es el proceso de elongación y reactivación metabólica de un embrión somático maduro para convertirse en una plántula. Debido a la naturaleza independiente de los embriones somáticos, esta vía de regeneración *in vitro* tiene algunas ventajas: 1) Se pueden producir grandes cantidades de embriones somáticos. 2) Escalar el sistema de producción en un cultivo en suspensión es relativamente fácil. 3) La manipulación de los embriones producidos puede hacerse de forma independiente, pues representan una autonomía con respecto al tejido madre. 4) Pueden ser encapsulados para ser utilizados como semillas sintéticas (Bapat y Mhatre, 2005).

La embriogénesis somática se puede llevar a cabo de dos formas, cuando los embriones somáticos se desarrollan a partir de células individuales dentro de un explante (embriogénesis directa) y cuando la diferenciación de los embriones es precedida por la proliferación de un tejido calloso (embriogénesis indirecta) (Martin y Madassery, 2005). Los embriones somáticos tienen la capacidad de formar embriones secundarios, a este fenómeno se le llama embriogénesis repetitiva. Para que el proceso de repetición ocurra es necesario que se suprima el desarrollo independiente, esto ocurre en presencia de auxinas, originando que los embriones no crezcan o maduren, las células continúan dividiéndose y pueden aumentar de tamaño o dividirse en embriones adicionales (Gutiérrez-Mora y col., 2012; Pagnussat y col., 2009).

Algunos de los factores que pueden influir en el establecimiento de la embriogénesis repetitiva son el nitrógeno inorgánico (amonio y bajas concentraciones de nitrato) y el nitrógeno orgánico (glutamina, prolina). La embriogénesis somática en *Agave salmiana* ha sido poco estudiada, solo un artículo de Flores-Benitez y col., (2008) han reportado que una combinación de la auxina, ácido naftalenacético y la citoquinina 6-Bencilaminopurina propiciaron la formación de callos y finalmente la producción de embriones, esto con el fin de transformar genéticamente a esta especie. Sin embargo, no se exploraron otras auxinas que se han reportado en especies como *Agave tequilana*. En la tabla 2.1 se muestra lo que se ha desarrollado en embriogénesis somática respecto a diferentes especies de *Agave*.

Actualmente en la Universidad Politécnica de Pachuca (UPPachuca) en colaboración con el Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) y la Red Temática Mexicana Aprovechamiento Integral Sustentable y Biotecnología de los Agaves (AGARED), se está realizando un protocolo de embriogénesis somática en suspensión celular para la propagación *in vitro* de *Agave salmiana* var. *salmiana* utilizando a embriones cigóticos como explantes. Esto permitirá obtener un mayor número de plántulas en menor tiempo, ayudando a la recuperación y conservación de este agave en las regiones donde su sobreexplotación ha provocado una deforestación, debido a los diferentes usos.

Hasta el momento se han obtenido embriones cigóticos como producto de la polinización cruzada *in vitro* de diferentes agaves muestreados en los municipios de El Arenal, El Cardonal y San Agustín Tlaxiaca del estado de Hidalgo. En la Figura 4.5 se muestra la formación de embriones somáticos de *Agave salmiana* utilizando como explante embriones cigóticos (resultados parciales).

Figura 4.5 Callo en medio sólido con la formación de embriones somáticos (Barra=0.5 mm)



Fuente: Fotografía tomada el 12 de septiembre del 2017, en un estereoscopio Leica EZ4 HD

Tabla 4.1 Reguladores de crecimiento utilizados para la inducción de embriogénesis somática en *Agave spp*

Especie	Explante	Respuesta	Medio + PGR	Fuente
<i>victoria-reginae</i>	Hojas <i>in vitro</i>	ES Directa	MS + 0.3 2,4-D	(Rodríguez-Garay, Gutiérrez-Mora, y Acosta-Dueñas, 1996)
<i>sisalana</i>	Tallos <i>in vitro</i>	ES Indirecta	MS + 0.25 2,4-D + 1.0 BAP	(Nikam, Bansude, y Aneesh, 2003)
<i>victoria-reginae</i>	Segmento de tallo de plantas de semillero	ES Indirecta	MS + 0.52 2,4-D	(Martínez-Palacios y col., 2003)
<i>salmiana</i>	Hojas <i>in vitro</i>	ES Indirecta	MS + 0.5 NAA + 1.1 BAP	(Flores-Benítez y col., 2007)
<i>tequilana</i>	Hojas <i>in vitro</i>	ES Indirecta	MS + 2.0 2,4-D + 0.3 BAP	(Portillo y col., 2007)
<i>vera-cruz</i>	Hojas <i>in vitro</i>	ES Indirecta	MS + 1.0 NAA + 0.2 ZEA	(Tejavathi y col., 2007)
<i>angustifolia</i>	Embrión zigótico	ES Indirecta	MS + 3.0 2,4-D + 1.0 BAP	(Arzate-Fernández y Mejía-Franco 2011)
<i>tequilana</i>	Hojas <i>in vitro</i>	ES Indirecta	MS + 3.0 2,4-D + 0.3 BAP SH + 3.0 2,4-D + 0.3 BAP	(Rodríguez-Sahagún y col., 2011)
<i>fourcroydes</i>	Tallos <i>in vitro</i>	ES Directa	MS + 0.5 DIC MS + 0.5 PIC	(Monja-Mio y Robert 2013)
<i>sisalana</i>	Bulbillos	ES Indirecta	MS + 3.0 2,4-D + 20.0 BAP	(Santos Carneiro y col., 2014)

PGR Regulador de crecimiento de plantas; **ES** embriogénesis somática; **2,4 D** 2,4-Diclorofenoxiacético; **BAP** 6-Benzylaminopurine; **NAA** Naftalenoacético; **ZEA** Zeatina; **DIC** Dicamba; **PIC** Picloram; **MS** Murashige y Skoog; **SH** Schenk y Hildebrandt.

Fuente: Tomada de Rodríguez-Garay, B. (2016)

La obtención masiva de *Agave salmiana* con características controladas y en menor tiempo permitirá la reforestación en zonas geográficas en las que naturalmente se desarrollan, de esta forma se podrá tener un mejor aprovechamiento de los diferentes usos que se le pueden dar a esta planta, como se muestran en la tabla 4.2.

Tabla 4.2 Uso del maguey pulquero *Agave salmiana*

Concepto	Uso	Parte de la planta
Alimenticio	Aguamiel	Piña de maguey
	Pulque	Aguamiel fermentada
	Dulces, mermeladas y tostadas	Aguamiel
	Mixiote	Penca
	Gualumbo	Flor o quiote
	Jugo dulce	Quiote
	Atoles	Aguamiel
	Jarabe o miel	Aguamiel concentrada
	Mezcales	Piña del agave
Condimento o comida	Pulque	Aguamiel fermentada
	aguardiente	Pulque destilado
	Miel	Aguamiel concentrada
	Vinagre	Aguamiel fermentada
	Gusanos blancos	Pencas
	Gusanos rojos	Raíces
	Sal de gusano	Piña
	Postre	Quiote asado, piña horneada
	Saborizante de tamales y pan	Aguamiel y piña
Tortilla	Quiote	
Tejido y vestuario	Hilos para costales, bolsas, mantas, telas, lazos, cuerdas para instrumentos musicales, cuerdas para arcos de caza, redes de pesca.	Fibras de las pencas
Construcción	Vigas	Quiote seco
	Aditivo para mezclas	Baba de la penca
	Jabón para ropa	Raíces y pencas
Uso doméstico	Recipiente para agua	Piña
	Recipiente para comida	Penca
Ornato	Adornos de navidad	Maguey completo
	Juguetes para niños	semillas
Agrícola	Deslinde de terrenos	Maguey completo
	Abono	Cenizas de pencas y piñas secas
	Protección contra la erosión	Maguey completo
Forraje	Alimento para animal	Residuos de pulque y pencas
Productos biotecnológicos	Fructanos	Aguamiel
	Pulque enlatado	Aguamiel fermentada
	Bioetanol	Azúcares de piña y penca
	Prebióticos y probióticos	Aguamiel
	Carbón activado	Piña y pencas
	Saborizantes	Pencas
	Inulina	Aguamiel

Fuente: Modificado de: Ramírez Pompa y Gentry, 1982; Morales y col., 2014

3 Conclusiones

La aplicación de técnicas de cultivo de tejido vegetal basadas en sistemas de cultivo *in vitro*, parece ser una opción fiable que puede aumentar la densidad de las poblaciones de agaves. Con esta perspectiva, la embriogénesis somática puede ser una alternativa para el cultivo masivo de *Agave salmiana* teniendo como ventaja el medio líquido para formar una suspensión celular de callos embriogénicos más homogéneos.

4 Agradecimiento

Agradecimiento a la Red Temática Mexicana Aprovechamiento Integral Sustentable y Biotecnología de los Agaves (AGARED) así como al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada a la alumna I. B. Blanca Vianey Angeles Vázquez, para el desarrollo del proyecto de la Maestría en Biotecnología en la Universidad Politécnica de Pachuca (UPPachuca).

5 Referencias

- Aguado, L. O., Fereres Castiel, A., y Viñuela Sandoval, E. (2015). La polinización de las plantas. En Guía de campo de los polinizadores de España, Ed.; Mundi-Prensa: Madrid, España, 2017, 1-6.
- Arzate-Fernández, A. M., y Mejía-Franco, R. (2011). Capacidad embriogénica de callos inducidos en ejes embrionarios cigóticos de *Agave angustifolia* Haw. Revista Fitotecnia Mexicana, 34(2), 101-106.
- Bapat, V. A., y Mhatre, M. (2005). Bioencapsulation of somatic embryos in woody plants. In: Jain S.M., Gupta P.K. (eds) Protocol for Somatic Embryogenesis in Woody Plants. Forestry Sciences, vol 77. Springer, Dordrecht
- Bewley, J. D., Bradford, K., y Hilhorst, H. (2012). Structure and Composition. In: Seeds: physiology of development, germination and dormancy. Ed.; Springer Science and Business Media; New York, 1-25.
- Bewley, J. D., y Black, M. (2012). Physiology and Biochemistry of Seeds in Relation to Germination: Volume 2: Viability, Dormancy, and Environmental Control, Ed.; Springer Science and Business Media: Berlin, Heidelberg, 1-59.
- Bohn-Courseau, I. (2010). Auxin: a major regulator of organogenesis. Comptes Rendus Biologies, 333(4), 290-296.
- Calva Calva, G., y Pérez Vargas, J. (2005). Cultivo de células y tejidos vegetales: fuente de alimentos para el futuro. Revista Digital Universitaria, 6(11), 1-16.
- De Smet, I. (2013). Plant Organogenesis: Methods and Protocols, Eds.; Springer: New York, 23-104.
- Domínguez Rosales, M. S., González Jiménez, M. D. L. L., Rosales Gómez, C., Quiñones Valles, C., Delgadillo Díaz de León, S., Mireles Ordaz, S. J., y Pérez Molphe Balch, E. (2008). El cultivo in vitro como herramienta para el aprovechamiento, mejoramiento y conservación de especies del género *Agave*. Investigación y Ciencia, 16(41),53-62.
- Flores-Benítez, S., Jiménez-Bremont, J. F., Rosales-Mendoza, S., Argüello-Astorga, G. R., Castillo-Collazo, R., y Alpuche-Solís, Á. G. (2007). Genetic transformation of *Agave salmiana* by *Agrobacterium tumefaciens* and particle bombardment. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 91(3), 215-224.

- García-Mendoza, A. J. (2007). Los *Agaves* de México. *Ciencias* (087): 14-23.
- García-Mendoza, A. J. (2012). México, país de magueyes. *La jornada del campo*, No. 53. Obtenido de <http://www.jornada.unam.mx>. Consultada en febrero del 2017.
- Gentry, H. S. (2004). *Agaves* of Continental North America. North America: University of Arizona Press:125-186.
- Gutiérrez-Mora, A., González-Gutiérrez, A.G., Rodríguez-Garay, B., Ascencio-Cabral, A., Li-Wei, L. (2012). Somatic embryogenesis: Some useful considerations. In *Embryogenesis*, Ed.; K. Sato: Croatia, 2012, 229-248.
- Herrera, J., Ramiro, A., Guevara, E., y Jiménez, V. (2006). Germinación y crecimiento de la planta. Volumen 4. Costa Rica: Universidad de Costa Rica:5-30.
- Jiménez, V. M. (2005). Involvement of plant hormones and plant growth regulators on in vitro somatic embryogenesis. *Plant Growth Regulation*, 47(2-3), 91-110.
- Kant, P. (2010). Could *Agave* be the Species of Choice for Climate Change Mitigation? Institute of Green Economy: 1-5. New Delhi: India.
- Martin, K. P., y Madassery, J. (2005). Direct and indirect somatic embryogenesis on cotyledon explants of *Quassia amara* L., an antileukaemic drug plant. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 41(1), 54-57.
- Martínez-Palacios, A., Ortega-Larrocea, M. P., Chávez, V. M., y Bye, R. (2003). Somatic embryogenesis and organogenesis of *Agave victoriae-reginae*: Considerations for its conservation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 74(2), 135-142.
- Melanie, L.H., Sacco de Vries y Koltunow, A.M.G. (2016). A Comparison of In Vitro and In Vivo Asexual Embryogenesis. In *In Vitro Embryogenesis in Higher Plants*, Eds.; Germanà, M.A. y Lambardi M, 2016, 3-23.
- Monja-Mio, K. M., y Robert, M. L. (2013). Direct somatic embryogenesis of *Agave fourcroydes* Lem. through thin cell layer culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 49(5), 541-549.
- Morales Flores, A., Hidalgo Castañeda, E., Pérez Sánchez, F. J., Aguilar Romero, L., y Luna Ruiz, J. (2014). Mecanismos de conservación y uso del maguey pulquero *Agave salmiana* en el altiplano mexicano.
- Mroginski, L., Sansberro, p., y Flaschland E. (2010). Capítulo 1: Establecimiento de cultivo de tejidos vegetales. En: *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal II*, Eds.; Levitus, G., Echenique, V., Rubinstein, C., Hopp, E., y Mroginski, L, 12-65.
- Narváez Suárez, A. U., Martínez Saldaña, T., y Jiménez Velázquez, M. A. (2016). El cultivo de maguey pulquero: opción para el desarrollo de comunidades rurales del altiplano mexicano. *Revista de Geografía Agrícola*, (56),33-44.
- Nikam, T. D., Bansude, G. M., y Aneesh Kumar, K. C. (2003). Somatic embryogenesis in sisal (*Agave sisalana* Perr. ex. Engelm). *Plant cell reports*, 22(3), 188-194.

- Núñez-Paleniús, H. G., y Ochoa-Alejo, N. (1999). In vitro mass cultivation of cells and tissues. In: Molecular Biotechnology for Plant Food Production, Ed.; Paredes-López O.; Irapuato México, 89-110.
- Ortiz-Basurto, R. I., Pourcelly, G., Doco, T., Williams, P., Dornier, M., y Belleville, M. P. (2008). Analysis of the main components of the aguamiel produced by the maguey-pulquero (*Agave mapisaga*) throughout the harvest period. Journal of agricultural and food chemistry, 56(10), 3682-3687.
- Pagnussat, G. C., Alandete-Saez, M., Bowman, J. L., y Sundaresan, V. (2009). Auxin-dependent patterning and gamete specification in the Arabidopsis female gametophyte. Science, 324(5935), 1684-1689.
- Portillo, L., Santacruz-Ruvalcaba, F., Gutiérrez-Mora, A., y Rodríguez-Garay, B. (2007). Somatic embryogenesis in *Agave tequilana* Weber cultivar azul. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 43(6), 569-575.
- Puente-Garza, C. A., Gutiérrez-Mora, A., y García-Lara, S. (2015). Micropropagation of *Agave salmiana*: Means to Production of Antioxidant and Bioactive Principles. Frontiers in plant science, 6,1026.
- Ramírez Pompa y Gentry. (1982). El maguey “Arbol de las maravillas”. Editado por el Museo Nacional de Culturas Populares. México.
- Ramírez Tobías, H. M., Peña Valdivia, C.B., Aguirre R, J., Reyes Agüero, J. A., Sánchez Urdaneta, A. B., y Valle G.S. (2012). Seed germination temperatures of eight Mexican *Agave*. Plant species biology, 27 (2): 124-137.
- Ramírez Tobías, H. M., Niño Vázquez, R., Aguirre Rivera, J. R., Flores, J., De-Nova Vázquez, J. A. y Gálvez, R. J. (2016). Seed viability and effect of temperature on germination of *Agave angustifolia* subsp. tequilana and *A. mapisaga*; two useful *Agave* species. Genetic Resources and Crop Evolution, 63(5), 881-888.
- Rao, K. S. (1996). Embryogenesis in flowering plants: recent approaches and prospects. Journal of biosciences, 21(6), 827-841.
- Richards, A. J. (2003). Apomixis in flowering plants: an overview. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences, 358(1434), 1085-1093.
- Rodríguez-Garay, B., Gutiérrez-Mora, A., y Acosta-Dueñas, B. (1996). Somatic embryogenesis of *Agave victoria-reginae* Moore. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 46(1):85-87
- Rodríguez-Garay, B., Santacruz-Ruvalcava, F., Loera-Quezada, M., y Gutiérrez-Mora, A. (2000). Embriogénesis sexual y somática en plantas. Horticultura Mexicana,8, 104-110.
- Rodríguez-Garay, B. (2016). Somatic Embryogenesis in *Agave* spp. In Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications, Eds.; Loyola-Vargas, V., y Ochoa-Alejo, N. 2016, 267-282.
- Rodríguez-Sahagún, A., Acevedo-Hernández, G., Rodríguez-Domínguez, J. M., Rodríguez-Garay, B., Cervantes-Martínez, J., y Castellanos-Hernández, O. A. (2011). Effect of light quality and culture medium on somatic embryogenesis of *Agave tequilana* Weber var. Azul. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 104(2), 271-275.

Santos Carneiro, F., de Oliveira Domingos Queiroz, S. R., Rodriguez Passos, A., Neves do Nascimento, M., y Souza dos Santos, K. (2014). Embriogênese somática em *Agave sisalana* Perrine: indução, caracterização anatômica e regeneração. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 44(3), 294-303.

Tejavathi, D. H., Rajanna, M. D., Sowmya, R., y Gayathamma, K. (2007). Induction of somatic embryos from cultures of *Agave vera-cruz* Mill. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 43(5), 423-428.

Vázquez Díaz, E., García Nava, J., Peña Valdivia, C., Ramírez Tobías, H., y Morales Ramos, V. (2011). Seed size, emergence and seedling development of maguey (*Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 34(3), 167-173.

Winter, K., Garcia, M., y Holtum, A. M. (2008). On the nature of facultative and constitutive CAM: environmental and developmental control of CAM expression during early growth of *Clusia*, *Kalanchoe*, and *Opuntia*. *Journal of Experimental Botany*, 59(7):1829-1840.