



## Short Note [Nota Corta]

# Efecto del ácido n-1-naftilftalámico y 6-bencilaminopurina en la formación de raíces y la inducción de nuevos brotes en *Agave* spp.†

## [Effect of n-1-naphthylphthalamic acid and 6-benzylaminopurine on root formation and the induction of new shoots in *Agave* spp.]

Bebeto Garcia-Rojas<sup>1</sup>, Amaury Martín Arzate-Fernández<sup>1\*</sup>,  
Jesús Ignacio Reyes-Díaz<sup>1,2</sup> and Tomás Héctor Norman-Mondragón<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Autónoma del Estado México (UAEMéx), Carretera Toluca-Ixtlahuaca Km 11.5, Municipio Toluca, Estado de México, México, C. P.

50200. Email: [amaury1963@yahoo.com.mx](mailto:amaury1963@yahoo.com.mx)

<sup>2</sup>Dirección de Procesos Alimentarios y Química Área Biotecnología. Unidad Académica de Capulhuac. Universidad Tecnológica del Valle de Toluca (UTVT). Calle s/n, 611 Oriente de, Méx. Colonia Lomas de San Juan Municipio, Capulhuac de Mirafuentes, México. C. P. 52700.

\*Corresponding author

### SUMMARY

**Background.** The *Agave* genus is of great importance due to its ancestral use as a source of various products, which highlights the need to ensure its propagation. To achieve this, it is essential to understand the development of apical meristems, key structures in the formation of plant architecture. Thus, 6-Benzylaminopurine (6-BAP) acts as an endogenous cytokinin, stimulating buds and lateral roots, while n-1-naphthylphthalamic acid (NPA) functions as an auxin inhibitor affecting its transport in different organs. This knowledge is crucial to understand how these plant growth regulators influence the development of agave plants. **Objective.** To evaluate the effect of n-1-naphthylphthalamic acid and 6-benzylaminopurine on root formation and the induction of new shoots in *Agave salmiana* and *A. angustifolia*. **Methodology.** Seven treatments with different concentrations of NPA and 6-BAP were applied to two *Agave* species in acclimatization chambers and semi-hydroponic systems. **Results.** The results showed that *Agave* species responded variably in terms of root development. Furthermore, both NPA and 6-BAP, applied individually and in combination, were able to suppress apical dominance and stimulate the sprouting of new lateral buds. **Implications.** The findings of this research suggest the potential of these treatments as a method to improve multiplication rates and also provide an example of the interaction between auxins and cytokinins in the maintenance of meristems. **Conclusions.** The effect of NPA and 6-BAP treatments on root development was highly variable, while they were highly effective in the formation of new shoots.

**Key words:** n-1-naphthylphthalamic acid; 6-benzylaminopurine; shoot apical meristem; root apical meristem; *Agave*.

### RESUMEN

**Antecedentes.** El género *Agave* es de gran importancia debido a su uso ancestral como fuente de diversos productos, lo que resalta la necesidad de asegurar su propagación. Para ello, es fundamental comprender el desarrollo de los meristemos apicales, estructuras clave en la formación de la arquitectura de la planta. De esta manera, la 6-bencilaminopurina (6-BAP) actúa como una citoquinina endógena, estimulando las yemas y las raíces laterales, mientras que el ácido n-1-naftilftalámico (NPA) funciona como un inhibidor de auxinas afectando su transporte en los diferentes órganos. Este conocimiento es crucial para entender cómo estos reguladores de crecimiento vegetal influyen en el desarrollo de las plantas de agave. **Objetivo.** Evaluar el efecto del ácido n-1-naftilftalámico y 6-bencilaminopurina en la formación de raíces y la inducción de nuevos brotes en *Agave salmiana* y *A. angustifolia*. **Metodología.** Se aplicaron siete tratamientos con diferentes concentraciones de NPA y 6-BAP en ambas especies de *Agave* en cámaras de aclimatación y en sistemas semi-hidropónicos. **Resultados.** Los resultados mostraron que las especies de *Agave* respondieron de manera variable en cuanto al desarrollo de las raíces. Además, tanto el NPA como

† Submitted December 5, 2024 – Accepted October 17, 2025. <http://doi.org/10.56369/tsaes.6049>



Copyright © the authors. Work licensed under a CC-BY 4.0 License. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

ISSN: 1870-0462.

ORCID = A.M. Arzate-Fernández: <http://orcid.org/0000-0001-8603-0099>

la 6-BAP, aplicados individualmente y en combinación, lograron suprimir la dominancia apical y estimular la brotación de nuevas yemas laterales. **Implicaciones.** Los hallazgos de esta investigación sugieren el potencial de estos tratamientos como método para mejorar las tasas de multiplicación, y también ofrecen un ejemplo de la interacción entre auxinas y citoquininas en el mantenimiento de los meristemas. **Conclusiones.** El efecto de los tratamientos con el NPA y la 6-BAP en el desarrollo de la raíz fue muy variable, mientras que en la formación de nuevos brotes mostraron gran efectividad.

**Palabras clave:** ácido n-1-naftilftalámico; 6-bencilaminopurina; meristemo apical de brote; meristemo apical de raíz; *Agave*.

## INTRODUCCIÓN

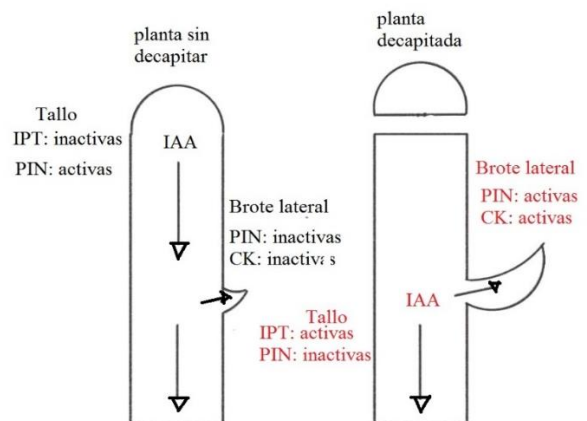
El género *Agave* (Asparagaceae), originario y altamente diversificado en México, cuenta con cerca de 200 especies distribuidas en todo el mundo (García-Mendoza, 2002). Desde la época prehispánica, hace al menos 2,500 años, los agaves han sido una fuente fundamental de productos para diversas necesidades humanas, incluyendo alimentos, medicinas, fibras, producción de bebidas alcohólicas y fermentadas, entre otros (Colunga-García y Zizumbo-Villarreal, 2007). La reproducción y el desarrollo sostenible de este género son cruciales para asegurar la continuidad de estos productos, sin embargo, debido a su ciclo de vida tan largo y a su naturaleza semélpara, que lleva a la muerte de la planta después de la floración, la reproducción del *Agave* enfrenta desafíos significativos (García-Mendoza, 2002; MacNeill *et al.*, 2023).

El material vegetal para la propagación de *Agave* puede obtenerse por vías sexuales, como la germinación de semillas, o asexuales, mediante hijuelos, bulbillos, y brotes laterales (Arizaga y Ezcurra, 1995; Trejo *et al.*, 2024). Por otra parte, el *Agave*, al igual que en otras plantas, posee dos ejes de crecimiento conocidos como meristemas, este crecimiento es controlado por los meristemas apicales de brote (SAM), los cuales originan el tallo y las hojas, y por los meristemas apicales radiculares (RAM), que forman la raíz (Azizi *et al.*, 2015; Ch *et al.*, 2015). Estas estructuras son reguladas principalmente por las hormonas citoquininas y auxinas, las cuales juegan un papel central en la regulación del crecimiento y desarrollo vegetal (Schaller *et al.*, 2015). La interacción entre estos reguladores de crecimiento (Figura 1), así como su concentración, señalización y transporte, determina su efecto en la homeostasis de la planta y en el desarrollo de la dominancia apical y radicular (Azizi *et al.*, 2015).

En este sentido, inhibidores de auxinas, como el ácido n-1-naftilftalámico (NPA), han demostrado ser útiles para estudiar el transporte polar de auxinas, teniendo impacto en el desarrollo de la raíz, la dominancia apical y la venación foliar (Teale y Palme, 2018; Nongmaithem *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2023a).

Por otro lado, sustancias exógenas como la 6-bencilaminopurina (6-BAP), una citoquinina sintética,

ha sido utilizada para inducir brotación, formación de yemas axilares, dominancia apical y desarrollo radicular (Mesa *et al.*, 2002; Cárdenas-Aquino *et al.*, 2023).



**Figura 1. Modelo de las interacciones entre auxina (IAA) y citoquinina (CK) en el control de la dominancia apical.** Cuando la planta mantiene su ápice de meristemo la expresión de las proteínas PIN-FORMED (PIN) está activa controlando el transporte basipetal de IAA en el tallo y reprimiendo la enzima adenosina fosfato-isopentiltransferasa (IPT) que controla la biosíntesis de CK. Cuando ocurre la decapitación del ápice de meristemo las proteínas PIN disminuyen su expresión en el tallo mientras que la IPT se activa redirigiendo la biosíntesis de CK a los brotes laterales hasta que las PIN se activan reestableciendo el transporte basipetal de IAA. (Modificado de Buchanan *et al.*, 2015).

A pesar de estos avances, existen pocos registros sobre los efectos de las citoquininas y los inhibidores de auxinas en el desarrollo de los meristemas apicales en plantas con metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM), siendo nulos los estudios en el género *Agave*. Por lo tanto, es de gran importancia investigar cómo estos compuestos afectan el desarrollo de los meristemas en estas especies para optimizar la formación de raíces y la inducción de brotes, y de esta manera mejorar las estrategias de propagación garantizando la conservación de estas especies y contribuyendo a un manejo sustentable de ellas.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto del ácido n-1-naftilftalámico (NPA) y la 6-bencilaminopurina (6-BAP) en la formación de raíces e inducción de nuevos brotes en dos especies de *Agave*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Preparación de reactivos

Se utilizó el ácido n-1-naftilftalámico (NPA) (Al-tec Soluciones para Cromatografía) y 6-bencilaminopurina (6-BAP) (Phytotechlab), ambos con una pureza del 99%. Para la preparación de las soluciones, el NPA se disolvió en dimetilsulfóxido (DMSO) y el 6-BAP en etanol, ajustando las concentraciones finales a 100  $\mu\text{M}$  y 200  $\mu\text{M}$  y 10  $\mu\text{M}$  y 20  $\mu\text{M}$ , respectivamente. Como adherente, se empleó DAP-PLUS (Química Sagal), cuyo ingrediente activo es diluido en agua destilada, utilizado de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las soluciones fueron preparadas bajo condiciones de asepsia y almacenadas a 4°C hasta su uso.

Para evaluar el efecto del NPA y la 6-BAP en la formación de raíces y la inducción de nuevos brotes en plantas de *Agave*, se realizaron dos experimentos bajo dos condiciones de crecimiento completamente diferentes, a fin de hacer un comparativo entre ambos procedimientos:

### Experimento 1. Plantas de *Agave* crecidas en cámaras de aclimatación y espuma fenólica

#### Material vegetal

El material vegetal utilizado en este experimento provino de semillas de *Agave salmiana* (especie pulquera) y de *A. angustifolia* (especie mezcalera). Las semillas fueron desinfectadas con una solución de Peróxido de Hidrógeno al 3% por 24 h y enjuagadas con agua destilada estéril, posteriormente fueron germinadas en una mezcla de *peat moss*, fibra de coco y perlita en proporción 1:1:1, previamente esterilizada en autoclave a 121°C por 15 minutos.

Las plántulas emergidas se cultivaron durante 4-5 meses en condiciones de invernadero, a una temperatura media de 15.3°C, hasta alcanzar una altura promedio de 10 cm.

Para la obtención de explantes, se eliminaron las raíces y se cortaron las hojas a una longitud uniforme de 5 cm y un promedio de dos a tres hojas. Éstos fueron trasplantados en charolas de unicel, utilizando *microplugs* de espuma fenólica como soporte inerte, y se colocaron en cámaras de aclimatización (tipo microtúnel) dentro del invernadero, por un periodo de 2 meses más. Las cámaras mantuvieron una humedad relativa entre 50% y 90% y una temperatura media de

22°C, los explantes fueron fertilizados semanalmente con solución Steiner al 50%.

### Diseño experimental y tratamientos

El experimento se estructuró bajo un diseño de bloques completos al azar, con siete tratamientos (Tabla 1) aplicados a dos especies de *Agave*, utilizando 20 repeticiones por tratamiento considerando a cada tratamiento por especie como unidad experimental. Los tratamientos consistieron en distintas concentraciones de ácido n-1-naftilftalámico (NPA) y 6-bencilaminopurina (BAP) así como una mezcla de los dos, aplicados mediante un atomizador profesional de 500 mL, utilizando DAP-PLUS como agente adherente. Las aplicaciones se realizaron de forma foliar cada 2 semanas durante un período de un mes iniciando desde el trasplante.

Se evaluó el porcentaje de supervivencia 3 semanas después de iniciar los tratamientos. En el desarrollo del meristemo apical radicular (RAM) se consideraron las variables, número total de raíces formadas y la longitud de la raíz más larga al final del experimento 2 meses después del trasplante.

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante un ANOVA, seguido de la prueba de comparaciones múltiples de Tukey ( $P \leq 0.05$ ), utilizando el paquete estadístico de Microsoft Excel. Previamente, se verificaron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas (homocedasticidad) para asegurar la validez de los análisis.

### Experimento 2. Plantas de *Agave* crecidas en sistemas semi-hidropónicos

#### Material vegetal

Se utilizaron semillas de *A. salmiana* y *A. angustifolia*, las cuales fueron germinadas en una mezcla esterilizada compuesta por *peat moss*, fibra de coco y perlita en proporción, en una proporción 1:1:1. Después de 8 semanas, las plantas obtenidas, con una altura media de 5 cm, fueron trasplantadas a vasos de polietileno de 12 oz con perforaciones en la base, rellenos con tepojal como sustrato, cernido con una malla de 0.5  $\text{cm}^2$ . Posteriormente todas las plántulas fueron crecidas en sistemas semi-hidropónicos tipo NFT (*Nutrient Film Technique*), utilizando solución nutritiva Steiner al 50% como fertilizante.

### Diseño experimental y tratamientos

El experimento se estructuró bajo un diseño de bloques completos al azar, empleando tres sistemas semi-hidropónicos independientes, cada uno con capacidad para 40 plantas, cada una considerada una unidad experimental. Se evaluaron ambas especies (*A.*

*salmiana* y *A. angustifolia*), bajo tres tratamientos: aplicación del ácido n-1-naftilftalámico (NPA), y aplicación de la 6-bencilaminopurina (6-BAP), y la combinación de ambos compuestos. Se usaron las mismas dosis descritas con anterioridad. Se asignaron seis repeticiones al testigo (sin tratamiento) y siete repeticiones a cada uno de los tratamientos descritos.

Las aplicaciones de los reguladores de crecimiento se realizaron de forma mensual, entre agosto y octubre de 2023. La evaluación del desarrollo del meristemo apical del brote (SAM) y la emisión de hijuelos se observó a los 4 y 7 meses posteriores al inicio del experimento (Figura 3). No se evaluó el porcentaje de supervivencia ya que las plantas trasplantadas no se les eliminó la raíz y tampoco se les cortó las hojas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Experimento 1. Plantas de *Agave* crecidas en cámaras de aclimatación y espuma fenólica

Efecto sobre la supervivencia

Los tratamientos aplicados mostraron diferencias significativas en la supervivencia de las dos especies de *Agave* evaluadas. Se observó que *A. angustifolia* obtuvo la mejor tasa de supervivencia en la mayoría de los tratamientos, alcanzando un 81% en promedio (Tabla 1). En contraste, en *A. salmiana* se pudo observar las tasas de supervivencia más bajas, especialmente en los tratamientos combinados con NPA y 6-BAP. En el tratamiento T6 (NPA 200 µM + 6-BAP 20 µM) se observó la tasa de supervivencia más baja para ambas especies, con un descenso notable en comparación con otros tratamientos (Tabla 1) evidenciando el efecto negativo que tuvo este tratamiento en el desarrollo de los explantes que fueron trasplantados y colocados en las cámaras de aclimatización.

Efecto sobre el desarrollo del RAM

Longitud de raíz

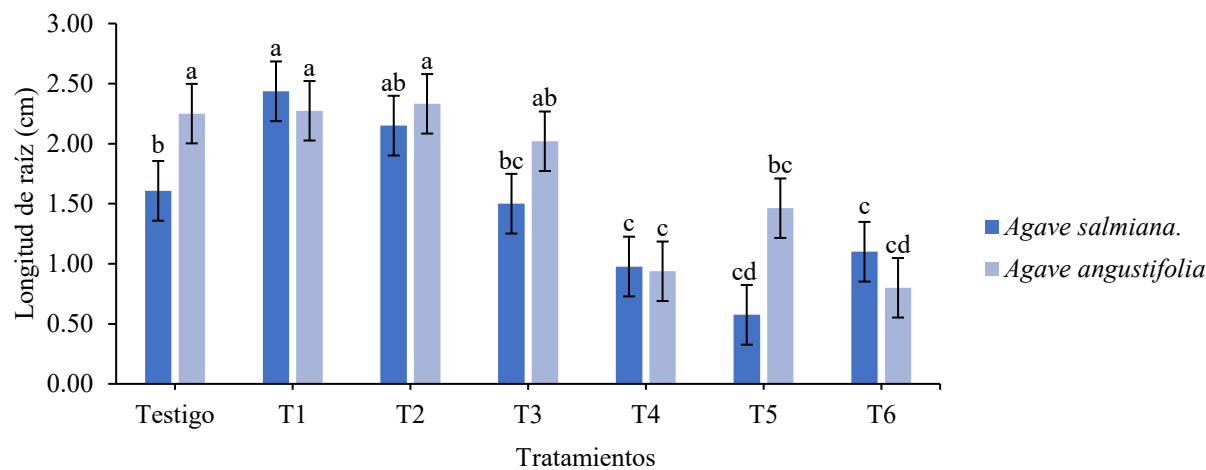
El efecto NPA y 6-BAP en la longitud de raíz varió significativamente entre los tratamientos evaluados. Los mejores tratamientos fueron aquellos en los que se utilizó NPA siendo la concentración de 100 µM (T1) en *Agave salmiana* la que superó significativamente al testigo (Figura 2). Este efecto positivo se ha reportado en el enraizamiento de esquejes de otras especies de Crasuláceas como, *Bryophyllum daigremontianum*, *B. calycinum*, *Kalanchoe blosfeldiana* and *K. tubiflor* donde el NPA no afectó el crecimiento de las raíces cuando fue agregado en pasta de lanolina alrededor del tallo, tanto cerca del ápice como debajo de las hojas (Saniewski *et al.*, 2014). Además, en otros estudios con *Arabidopsis thaliana*, el NPA fue el único de los inhibidores que no disminuyó la elongación de las raíces, esto es debido a que no redujo el contenido de auxinas en la zona de elongación demostrando que sólo se afecta el transporte de auxinas y no su biosíntesis local (Oono *et al.*, 2003). En *A. angustifolia* el NPA no mostró diferencias significativas con el testigo (Figura 2), pero igual que en *A. salmiana*, el crecimiento de la raíz no se vio afectada.

El efecto de 6-BAP sobre la longitud de raíz fue notable cuando se aumentó la dosis (T4) en comparación con el T3, donde mostró una disminución en la longitud de la raíz en las dos especies, aunque la diferencia no fue significativa en los tratamientos con *A. salmiana* (Figura 2). Este efecto puede explicarse por el hecho de que altas concentraciones de citoquininas inhiben el desarrollo radicular y pueden inducir la formación de raíces amorfas (Hussein *et al.*, 2017). Los tratamientos donde se aplicó una combinación de los dos compuestos se vio reducida significativamente la longitud de la raíz principal esto podría deberse al bajo contenido de auxina provocado por el NPA y la perturbación que causan las citoquininas en la formación de auxinas locales (Jing y Strader, 2019; Zhang *et al.*, 2023b).

Tabla1. Efecto del ácido n-1-naftilftalámico (NPA) y la 6-bencilaminopurina (6-BAP) en el porcentaje de supervivencia en dos especies de *Agave*, crecidas en cámaras de aclimatación y espuma fenólica.

Tratamiento	Concentración	<i>Agave salmiana</i>	<i>Agave angustifolia</i>
Porcentaje de supervivencia			
Testigo	NPA 0 µM + 6-BAP 0µM	70%	90%
T1	NPA 100 µM	70%	95%
T2	NPA 200 µM	90%	95%
T3	6-BAP 10 µM	75%	75%
T4	6-BAP 20 µM	65%	80%
T5	NPA 100 µM + 6-BAP 10 µM	60%	80%
T6	NPA 200 µM + 6-BAP 20 µM	30%	55%
Media ± Error estándar		65.71 ± 6.93% b	81.42 ± 5.31% a

Nivel de significancia (p= 0.05).



**Figura 2.** Efecto del ácido n-1-naftilftalámico (NPA) y la 6-bencilaminopurina (6-BAP) en la longitud de raíz (cm) en dos especies de *Agave*, crecidas en cámaras de aclimatación y espuma fenólica. Las mismas letras no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).

**Número de raíces laterales**

El efecto del tratamiento con NPA en la formación de raíces laterales mostró un aumento en el número de raíces (Tabla 2), como se observa en el T1 (100  $\mu$ M NPA) donde las dos especies evaluadas superaron al testigo esto da pauta para su uso ya que mejora la ramificación de la raíz, aunque las diferencias no fueron significativas. Este hallazgo es consistente con estudios previos en donde sugieren que el NPA puede inducir la formación de raíces laterales al inhibir el transporte de auxinas, facilitando una mayor ramificación de la raíz principal (Nongmaithem *et al.*, 2020; Varas *et al.*, 2023). Esto, puede deberse a las diferencias en la capacidad de las plantas para desarrollar raíces principales y adventicias, como se observó en *Bryophyllum marnierianum* (Kalanchoë), donde las plántulas fueron insensibles al NPA mientras que las raíces adventicias de los esquejes fueron inhibidas (Kulka, 2008). En este experimento también se observó que mientras se aumenta la concentración de NPA en *A. salmiana* existe una mayor formación de raíces, contrario al menor desarrollo de raíces laterales en el (T2) para *A. angustifolia* que concuerda con estudios en *Arabidopsis thaliana*, donde el NPA promovió una raíz principal larga pero un menor número de raíces laterales (Oono *et al.*, 2003).

En cuanto a las citoquininas (Tabla 2), en el T4 con 6-BAP se observó un menor número de raíces laterales en comparación con el T3, lo que es consistente con estudios que documentan que altas concentraciones de citoquininas inhiben la formación de raíces laterales (Cárdenas-Aquino *et al.*, 2023); este efecto sugiere que, aunque las citoquininas pueden promover la formación de brotes, su exceso puede interferir con el desarrollo radicular y en la formación de raíces

laterales (Azizi *et al.*, 2015; Jing y Strader, 2019). La variabilidad en el efecto del T5 y T6 en las especies de *Agave* puede deberse a las diferencias intrínsecas entre especies y el cómo éstas responden al efecto que ejerce el NPA y la 6-BAP en los niveles de auxina (Schaller *et al.*, 2015; Jiménez-Muñoz *et al.*, 2016), como se observó en *A. salmiana* donde al aumentar la concentración de los dos compuestos se favoreció el número de raíces, contrariamente a lo que sucedió en *A. angustifolia* en donde con dosis altas se redujo el número de raíces laterales (T6).

**Tabla 2.** Efecto del ácido n-1-naftilftalámico (NPA) y la 6-bencilaminopurina (6-BAP) en el número de raíces laterales en dos especies de *Agave*, crecidas en cámaras de aclimatación y espuma fenólica.

Tratamientos	Número de raíces laterales	
	<i>Agave salmiana</i>	<i>Agave angustifolia</i>
Testigo	0.93 <sup>de</sup>	1.11 <sup>bc</sup>
T1	1.21 <sup>cd</sup>	1.21 <sup>b</sup>
T2	1.44 <sup>bc</sup>	1.16 <sup>b</sup>
T3	1.80 <sup>a</sup>	1.80 <sup>a</sup>
T4	1.00 <sup>d</sup>	0.56 <sup>d</sup>
T5	1.25 <sup>bc</sup>	1.13 <sup>b</sup>
T6	1.67 <sup>ab</sup>	0.91 <sup>c</sup>
Media	1.48	1.72
Desviación estándar	±0.65	±0.65

Dentro de una columna, las mismas letras no son significativamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ).



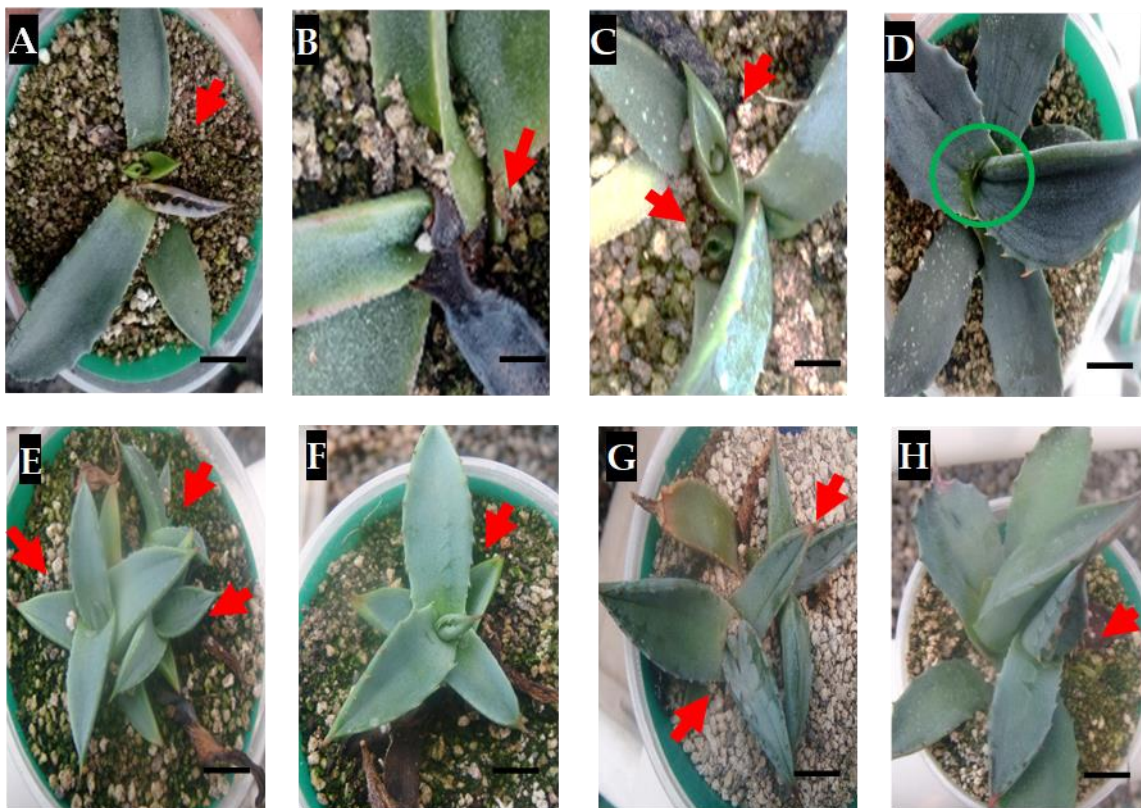
## Experimento 2. Plantas de *Agave* crecidas en sistemas semi-hidropónicos

### Efecto sobre el desarrollo del SAM y formación de hijuelos

El efecto del NPA y la 6-BAP en el meristemo apical del brote (SAM) varió entre las especies evaluadas. En *A. salmiana*, en los tratamientos con NPA se reprimió el SAM (Figura 3 A), observándose necrosis del ápice foliar, pero se presentó el crecimiento de una yema lateral (brote axilar), sólo en una planta y en la concentración de 100  $\mu\text{M}$  de NPA. Después de 7 meses, la planta madre murió, lográndose observar tres brotes axilares (Figura 3 E). En uno de los casos, se observó la supresión completa del SAM sin necrosis del tejido, esto se apreció de manera visual al no presentar ápice de crecimiento (Figura 3 D), lo que coincidió con estudios que sugieren que el NPA inhibe el transporte de auxinas del meristemo provocado por proteínas transportadoras específicas como las *PIN*, afectando el transporte basipetal y eliminando la dominancia apical, permitiendo de esta manera que se active la aparición de yemas laterales como se muestra

en la (Figura 3 H) donde, 3 meses después de la eliminación de ápice de crecimiento, se observó el crecimiento de un brote axilar (Abraham Juárez *et al.*, 2015; Teale y Palme, 2018; Nongmaithem *et al.*, 2020; Abas *et al.*, 2021).

Por otro lado, los tratamientos con 6-BAP en *A. salmiana* mostraron efectos similares al NPA, se pudo observar necrosis en las hojas y represión del SAM, lo que estimuló la brotación de brotes axilares, solo para el tratamiento con 20  $\mu\text{M}$  de BAP (Figura 3 B). De igual manera que el NPA, la 6-BAP provocó la muerte de la planta madre dejando sólo al brote axilar (Figura 3 F). Esto concuerda con Roman *et al.* (2016) en donde, con las concentraciones más altas de 10  $\mu\text{M}$  de 6-BAP, se reportó el mayor porcentaje y tamaño de los brotes en rosa. Esto podría explicarse por el efecto que la citoquinina tiene sobre la difusión de auxinas mediadas por transportadores de eflujo de auxinas de la familia *PIN* promoviendo la organogénesis a través de la enzima adenosina fosfato-isopentiltransferasa (IPT) en yemas laterales, después de la decapitación del meristemo apical (Arizaga y Ezcurra, 1995; Azizi *et al.*, 2015).



**Figura 3.** Efecto del ácido n-1-naftilftalámico (NPA) y la 6-bencilaminopurina (6-BAP) en la formación de hijuelos y la dominancia apical en plantas de *Agave salmiana*, 4 meses después de la primera aplicación. A) NPA con dosis de 100  $\mu\text{M}$ ; B) 6-BAP con 20  $\mu\text{M}$ ; C) NPA con 200  $\mu\text{M}$ + 6-BAP 20  $\mu\text{M}$ ; y D) NPA con 100  $\mu\text{M}$ . E), F), G) y H), 7 meses después de la primera aplicación. Las flechas de color rojo señalan la formación de brotes laterales (hijuelos axilares) y el círculo verde señala la ausencia de ápice de crecimiento (eliminación de la dominancia apical). Barra =1cm.

La interacción entre el NPA y la 6-BAP mostró un efecto complementario en la formación de dos hijuelos axilares en *A. salmiana*, sólo para una planta en el tratamiento con 200  $\mu$ M de NPA y 20  $\mu$ M de BAP, además de la represión del SAM (Figura 3 C). Aunque contrario a los otros tratamientos, la planta madre no murió, pero sí se vio reducido notablemente su crecimiento, a diferencia de sus hijuelos axilares (Figura 3 G). Esto podría explicarse porque el NPA inhibe la dominancia apical, mientras que el 6-BAP estimula la activación de yemas laterales, lo que incrementa la tasa de multiplicación individual y la producción de nuevas plantas (Roman *et al.*, 2016; Espinoza-González *et al.*, 2022).

Por otra parte, en *A. angustifolia*, el NPA, en ambas concentraciones, causó deformación de las hojas (Figura 4 A), pero no afectó la dominancia apical del

meristemo, lo que podría atribuirse a la forma en que los compuestos penetran y se transportan a través de las células de la hoja que varían en la conformación de las fibrillas de celulosa (Jiménez-Muñoz *et al.*, 2016; Bejines-Ramos y González-Eguiarte, 2017), así como también puede deberse a otros factores intrínsecos de la especie, siendo necesario hacer nuevas investigaciones para entender los mecanismos que influyen en su reproducción. Por otro lado, en el tratamiento con 6-BAP se observó bifurcación y fusión de hojas (Figura 4 B), probablemente debido a una alta proliferación celular (Azizi *et al.*, 2015). La combinación de ambos compuestos replicó los efectos observados individualmente (Figura 4 C), sin que se observara formación de hijuelos, similar a otros estudios previos donde se reportó que en *A. cupreata* tiene una reproducción sólo de manera sexual (Alejandro-Torres, 2022; Ch *et al.*, 2015).



**Figura 4.** Efecto del ácido n-1-naftilftalámico (NPA) y la 6-bencilaminopurina (6-BAP) en la formación de hijuelos y la dominancia apical en plantas de *Agave angustifolia*, 7 meses después de la primera aplicación. A) NPA con 100  $\mu$ M B) 6-BAP con 20  $\mu$ M; C) NPA con 100  $\mu$ M+ 6-BAP 10  $\mu$ M. Las flechas de color rojo señalan las deformaciones de las hojas. Barra =1cm.

## CONCLUSIONES

El ácido n-1-naftilftalámico (NPA) no mostró efectos adversos sobre la longitud ni el número de raíces tanto en *Agave salmiana* y como en *A. angustifolia*; por el contrario, en varios tratamientos se observó un incremento tanto en la longitud como en la cantidad de raíces formadas. Resulta particularmente relevante que, en lo referente al desarrollo del meristemo apical radicular (RAM), las raíces no evidenciaron sensibilidad negativa frente a la aplicación de NPA en comparación con el testigo. Este hallazgo resalta la necesidad de profundizar en el estudio del papel de los reguladores de crecimiento vegetal en la diferenciación y desarrollo de raíces primarias, laterales y adventicias.

En cuanto a la 6-bencilaminopurina (6-BAP), se observó que las bajas concentraciones favorecieron la formación de raíces laterales; sin embargo, a dosis más elevadas su efecto fue inhibitorio, lo que subraya la

importancia de establecer rangos de concentración más específicos para cada especie.

Respecto al meristemo apical de brote (SAM), tanto el NPA como la 6-BAP, resultaron eficaces en la supresión de la dominancia apical y en la inducción de la formación de yemas laterales. La combinación de ambos compuestos produjo los efectos más pronunciados en la emisión de hijuelos en *A. salmiana*, especialmente a los 4 meses de iniciado el tratamiento, lo que sugiere su potencial aplicación como estrategia para incrementar la tasa de multiplicación vegetativa en esta especie.

Estos resultados proporcionan una base científica para la optimización de las prácticas de cultivo y propagación en especies del género *Agave*, con implicaciones relevantes tanto para su producción comercial como para su conservación. Se recomienda que futuras investigaciones profundicen en la caracterización de las respuestas especie-específicas y

en las interacciones sinérgicas entre distintos reguladores de crecimiento, a fin de mejorar la eficiencia de los sistemas de propagación *in situ* y *ex situ*.

### Acknowledgements

The authors would like to thank the Autonomous University of the State of Mexico and the Faculty of Agricultural Sciences for lending their facilities, and special thanks to the team at the Plant Molecular Biology Laboratory.

**Funding.** This research is part of the project “Production of *Agave* spp. plants from an in vitro germplasm bank” with code 6624/2022/CIP, funded by the Autonomous University of the State of Mexico.

**Conflict of interest.** The authors declare that there is no conflict of interest associated with the results of this publication.

**Compliance with ethical standards.** The authors declare that this research was supervised by the Internal Bioethics Committee of the Autonomous University of the State of Mexico, under the authorization of project 6624/2022/CIP.

**Data availability.** The data presented in this study are available on request from the corresponding author ([amaury1963@yahoo.com.mx](mailto:amaury1963@yahoo.com.mx)).

**Author contribution statement (CRediT).** **B. Garcia-Rojas** – Funding acquisition, conceptualization, methodology, writing–review and editing, formal analysis. **A.M. Arzate-Fernández** – Resources, funding acquisition, conceptualization, writing–review and editing. **J.I. Reyes-Díaz** – Formal analysis -writing - review and editing. **T.H. Norman-Mondragón** – Writing - review and editing.

### REFERENCES

- Abas, L., Kolb, M., Stadlmann, J., Janacek, D.P., Lukic, K., Schwechheimer, C., Sazanov, L.A., Mach, L., Friml, J. and Hammes, U.Z., 2021. Naphthylphthalamic acid associates with and inhibits PIN auxin transporters. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118(1), p. e2020857118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2020857118>
- Abraham Juárez, M.J., Hernández Cárdenas, R., Santoyo Villa, J.N., O'Connor, D., Sluis, A., Hake, S., Ordaz-Ortiz, J., Terry, L. and Simpson, J., 2015. Functionally different PIN proteins control auxin flux during bulbil development in *Agave tequilana*. *Journal of Experimental Botany*, 66(13), pp. 3893–3905. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv191>
- Alejandro-Torres, E.O., 2022. *Producción de brotes meristemáticos en bajas concentraciones de citocininas para la propagación in vitro de tomate, Solanum lycopersicum*. [bachelorThesis] La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena, 2022. Available at: <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/7538> [Accessed 22 May 2025].
- Arizaga, S. and Ezcurra, E., 1995. Insurance against reproductive failure in a semelparous plant: bulbil formation in *Agave macroacantha* flowering stalks. *Oecologia*, 101(3), pp. 329–334. <https://doi.org/10.1007/BF00328819>
- Azizi, P., Rafii, M.Y., Maziah, M., Abdullah, S.N.A., Hanafi, M.M., Latif, M.A., Rashid, A.A. and Sahebi, M., 2015. Understanding the shoot apical meristem regulation: A study of the phytohormones, auxin and cytokinin, in rice. *Mechanisms of Development*, 135, pp. 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.mod.2014.11.001>
- Bejines Ramos, G. and González Eguiarte, D.R., 2017. Vías de penetración de un fertilizante foliar en *Agave tequilana* Weber var. Azul. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(4), pp. 985–991. <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i4.22>
- Buchanan, B.B., Gruissem W., and L. Jones R., 2015. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*, 2nd Edition. Oxford: American Society of Plant Biologist.
- Cárdenas-Aquino, M.D.R., Camas-Reyes, A., Valencia-Lozano, E., López-Sánchez, L., Martínez-Antonio, A. and Cabrera-Ponce, J.L., 2023. The Cytokinins BAP and 2-iP Modulate Different Molecular Mechanisms on Shoot Proliferation and Root Development in Lemongrass (*Cymbopogon citratus*). *Plants*, 12(20), p. 3637. <https://doi.org/10.3390/plants12203637>
- Ch, A.-A., Iracheta-Donjuan, L., Martínez-Aguilar, J., López-Gómez, P. and Barrios-Ayala, A., 2015. Morphological characterization of endemic *Agave cupreata* species of Mexico. *Phyton*, 84(1), pp. 148–162. <https://doi.org/10.32604/phyton.2015.84.148>



- Colunga-García, P. and Zizumbo-Villarreal, D., 2007. Tequila and other Agave spirits from west-central Mexico: current germplasm diversity, conservation and origin. *Biodiversity and Conservation*, 16(6), pp. 1653–1667. <https://doi.org/10.1007/s10531-006-9031-z>
- Espinoza González, J., Bustamante González, A. and Cedeño García, G., 2022. Efectos Del Tamaño De Cormo Y Bencilaminopurina Sobre La Proliferación Del Plátano En Dos Ambientes De Propagación. *Ciencia y Agricultura*, [online] 19(1). <https://doi.org/10.19053/01228420.v19.n1.2022.13905>
- García-Mendoza, A., 2002. Distribution of agave (Agavaceae) in México.
- Hussein, H. a. A., Sharaf El-Din, M.N., Kasem, M.M. and Lotfy, E.A., 2017. Influence of Some Plant Growth Substances on Shoot and Root Initiations of Chrysanthemum Explants in Vitro. *Journal of Plant Production*, 8(1), pp. 71–76. <https://doi.org/10.21608/jpp.2017.37816>
- Jiménez Muñoz, E., Prieto-García, F., Prieto Méndez, J., Acevedo Sandoval, O.A. and Rodríguez Laguna, R., 2016. Caracterización fisicoquímica de cuatro especies de agaves con potencialidad en la obtención de pulpa de celulosa para elaboración de papel. *DYNA*, 83(197), p. 232. <https://doi.org/10.15446/dyna.v83n197.52243>
- Jing, H. and Strader, L.C., 2019. Interplay of Auxin and Cytokinin in Lateral Root Development. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), p. 486. <https://doi.org/10.3390/ijms20030486>
- Kulka, R.G., 2008. Hormonal control of root development on epiphyllous plantlets of Bryophyllum (*Kalanchoe*) marnierianum: role of auxin and ethylene. *Journal of Experimental Botany*, 59(9), pp. 2361–2370. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern106>
- MacNeill, B.N., Ortiz-Brunel, J.P., Rodríguez, A., Ruiz-Sánchez, E., Navarro-Moreno, J., Hofford, N.P. and McKain, M.R., 2023. Floral Diversity and Pollination Syndromes in *Agave* subgenus *Manfreda*. *Integrative And Comparative Biology*, 63(6), pp. 1376–1390. <https://doi.org/10.1093/icb/icad118>
- Mesa, D., Romero, A. and Cruz, A.M., 2002. Estudio de diferentes concentraciones de bencilaminopurina (BAP) en la micropropagación in vitro de la *Leucaena leucocephala* vc Perú. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 36(3), pp. 271–274.
- Nongmaithem, S., Devulapalli, S., Sreelakshmi, Y. and Sharma, R., 2020. Is naphthylphthalamic acid a specific phyto tropin? It elevates ethylene and alters metabolic homeostasis in tomato. *Plant Science*, 291, p. 110358. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2019.110358>
- Oono, Y., Ooura, C., Rahman, A., Aspúria, E.T., Hayashi, K., Tanaka, A. and Uchimiya, H., 2003. *p*-Chlorophenoxyisobutyric Acid Impairs Auxin Response in Arabidopsis Root. *Plant Physiology*, 133(3), pp. 1135–1147. <https://doi.org/10.1104/pp.103.027847>
- Roman, H., Girault, T., Barbier, F., Péron, T., Brouard, N., Pěňčík, A., Novák, O., Vian, A., Sakr, S., Lothier, J., Le Gourrierc, J. and Leduc, N., 2016. Cytokinins Are Initial Targets of Light in the Control of Bud Outgrowth. *Plant Physiology*, 172(1), pp. 489–509. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00530>
- Saniewski, M., Góraj, J., Węgrzynowicz-Lesiak, E., Miyamoto, K. and Ueda, J., 2014. Differential effects of auxin polar transport inhibitors on rooting in some Crassulaceae species. *Acta Agrobotanica*, 67(2), pp. 85–92. <https://doi.org/10.5586/aa.2014.028>
- Schaller, G.E., Bishopp, A. and Kieber, J.J., 2015. The Yin-Yang of Hormones: Cytokinin and Auxin Interactions in Plant Development. *The Plant Cell*, 27(1), pp. 44–63. <https://doi.org/10.1105/tpc.114.133595>
- Teale, W. and Palme, K., 2018. Naphthylphthalamic acid and the mechanism of polar auxin transport. *Journal of Experimental Botany*, 69(2), pp. 303–312. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx323>
- Trejo, L., Soriano, D., Romano-Grande, E., Sánchez-Carmona, B. and Dávila-Navarro, D.E., 2024. Diversity of reproductive characters, seed set, and viability of *Agave* seeds used for pulque production and their wild relatives in Tlaxcala, Mexico. *Genetic Resources and*

- Crop Evolution*, 71(6), pp. 2877–2903.  
<https://doi.org/10.1007/s10722-023-01803-5>
- Varas, E., Valladares, S., Vielba, J., Vidal, N. and Sánchez, C., 2023. Expression of CsSCL1 and Rooting Response in Chestnut Leaves Are Dependent on the Auxin Polar Transport and the Ontogenetic Origin of the Tissues. *Plants*, 12(14), p. 2657.  
<https://doi.org/10.3390/plants12142657>
- Zhang, S., Qiu, L., Zheng, Y., Wang, W., Zhao, H. and Yang, D., 2023a. Comparative transcriptome analysis reveals the regulatory effects of exogenous auxin on lateral root development and tanshinone accumulation in *Salvia miltiorrhiza*. *Planta*, 258(2), p. 33.  
<https://doi.org/10.1007/s00425-023-04193-1>
- Zhang, Y., Guo, C., Hu, J., Liu, F., Fu, S., Guo, X., Chen, Q., Zhang, L., Zhu, L. and Hou, X., 2023b. Effects of 6-Benzylaminopurine Combined with Prohexadione-Ca on Yield and Quality of *Chrysanthemum morifolium* Ramat cv. Hangbaiju. *Agriculture*, 13(2), p. 444.  
<https://doi.org/10.3390/agriculture13020444>