



## Micropropagación de *Vachellia* spp. como una alternativa para la reforestación de zonas desérticas en México

### Micropropagation of *Vachellia* spp. as an alternative for the reforestation of desert areas in Mexico

 Crescencio Urías-García<sup>1</sup>,  Sandra Pérez-Álvarez<sup>1\*</sup>,  Cesar Marcial Escobedo-Bonilla<sup>2</sup>,  
 María Esther González-Vega<sup>3</sup>,  María Antonia Flores-Córdoba<sup>4</sup>,  
 Sergio Guerrero-Morales<sup>1</sup>,  Abdón Palacios-Monarez<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Chihuahua, Km 2.5, carretera Delicias-Rosales, campus Delicias, CD. Delicias, Chihuahua, México. CP 33000

<sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional CIIDIR Unidad Sinaloa. Blvd Juan de Dios Batiz Paredes 250, colonia San Joachin, Guasave, Sinaloa, México. CP 81101

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (INCA), carretera San José-Tapaste, km 3½, Gaveta Postal 1, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba. CP 32 700

<sup>4</sup>Universidad Autónoma de Chihuahua., Av. Pascual Orozco s/n, Campus 1, Santo Niño, Chihuahua, Chih, México. CP 31350

**RESUMEN:** La explotación irracional de especies nativas de zonas áridas y semiáridas de México, en particular el huizache (*Vachellia* spp.), creó la necesidad de realizar trabajos de investigación que contribuyan a la reforestación de dichas zonas. Las vainas de *Vachellia* spp. se han caracterizado por su valor nutricional y uso en rumiantes; además, generalmente las semillas presentan problemas de germinación en condiciones naturales, debido a su cubierta dura e impermeable que impide el paso del agua. Esto es una problemática que se puede solventar a través del uso de la micropropagación. Esta tecnología ha permitido la obtención de miles de plántulas libres de enfermedades y con características idénticas a la planta que les dio origen y, hasta el momento, no existe una amplia investigación en la temática que incluya diversidad de especies del género *Vachellia* L.; alguno de los pocos ejemplos es el caso de la inducción eficiente de callos de la especie *Vachellia macracantha*, inducción de brotes y multiplicación de *Acacia auriculiformis*, propagación *in vitro* de *Acacia chundra* y del híbrido *Acacia mangium* y *A. mangium* × *A. auriculiformis* hybrids, entre otras metodologías. Los métodos de escarificación (física, química y mecánica) interrumpen la dormancia de las semillas y al colocarlas en un medio de cultivo adecuado (macro y micronutrientes, sacarosa, reguladores del crecimiento) se han obtenido grandes producciones en corto tiempo. El objetivo de esta Reseña bibliográfica fue recopilar los resultados más relevantes sobre el cultivo de tejidos vegetales en especies del género *Vachellia* L.

**Palabras clave:** biotecnología, cultivo de tejidos, especies nativas.

**ABSTRACT:** The irrational exploitation of native species of arid and semi-arid areas of Mexico, in particular the huizache (*Vachellia* spp.), created the need to carry out research work that contributes to the reforestation of these areas. *Vachellia* spp. pods have been characterized by their nutritional value and use in ruminants, in addition to the fact that generally the seeds present germination problems under natural conditions, due to their hard and impermeable cover that prevents the passage of water. This is a problem that can be solved through the use of micropropagation. This technology has made it possible to obtain thousands of disease-free seedlings with characteristics identical to the plant that gave them origin, and so far there is no extensive research on the subject that includes diversity of species of the genus *Vachellia* L., some of the

\*Autor para correspondencia: [spalvarez@uach.mx](mailto:spalvarez@uach.mx)

Recibido: 28/06/2021

Aceptado: 26/11/2021

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

**Contribución de los autores:** **Conceptualización:** Crescencio Urías-García y Sergio Guerrero-Morales. **Investigación:** Crescencio Urías-García y Sandra Pérez-Álvarez. **Supervisión:** Sandra Pérez-Álvarez y María Esther González-Vega. **Escritura del borrador inicial:** Sandra Pérez-Álvarez, Cesar Marcial Escobedo-Bonilla y María Antonia Flores-Córdoba. **Escritura y edición final:** Sandra Pérez-Álvarez y María Esther González-Vega.

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



few examples are the case of the efficient induction of callus of the species *Vachellia macracantha*, induction of shoots and multiplication of *Acacia auriculiformis*, *in vitro* propagation of *Acacia chundra* and the hybrid *Acacia mangium* and *A. mangium* × *A. auriculiformis* hybrids, among other methodologies. Scarification methods (physical, chemical and mechanical) interrupt the dormancy of the seeds and by placing them in a suitable culture medium (macro and micronutrients, sucrose, growth regulators), large productions have been obtained in a short time. The aim of this Bibliographic Review was to compile the most relevant results on plant tissue culture in species of the genus *Vachellia* L.

**Key words:** biotechnology, plant tissue culture, arid and semi-arid zones.

## INTRODUCCIÓN

En muchos países, combatir la desertificación equivale a impulsar el desarrollo, dada la importancia de los recursos naturales para el sistema productivo y el grado de deterioro en el que se encuentran. Si bien no existe un diagnóstico certero de la situación de desertificación y degradación de tierras en América Latina, la percepción es que dichos procesos son muy graves y afectan a los diferentes ecosistemas y países en varios grados, profundizando la situación de desigualdad y pobreza. En el período comprendido de 1990 a 2005, América Latina perdió 69 millones de hectáreas de bosques, lo que representa el 7 % de la cobertura forestal de la región (1). Haciendo un simple cálculo sobre esta base, y si no se aplican políticas restrictivas estrictas, poco más de 200 años bastarían para deforestar toda la América Latina.

En el marco de la Evaluación de los Recursos Forestales Mundiales (FRA por sus siglas en inglés), por la FAO, se informó para México una pérdida neta de superficie forestal de 190,000 ha/año, entre el 1990 y 2000; de 136,000 ha/año entre el 2000 y 2010; de 92,000 ha/año entre el periodo de 2010 y 2015; y finalmente, una tasa de deforestación de 127,770 ha/año para el periodo 2015-2020 (2).

Un ecosistema forestal típico comprende cuatro capas: árboles, arbustos, pastos y microsustrato. La desaparición de uno de ellos trastorna todo el sistema, alterando las relaciones entre flora y fauna por la pérdida de especies, que a largo plazo resulta en daños al suelo, vegetación e incluso a los cultivos establecidos en la zona. La eliminación de parte de la cubierta vegetal nativa también reduce las posibilidades de recolección de agua y producción de vapor de agua; así, la aridez del terreno aumenta, las precipitaciones en la zona disminuyen y la desertificación aumenta (3). Es por ello que la reforestación es una actividad prioritaria, no solo en México, sino también en toda la América Latina, y según (4) el género *Acacia* L. (actualmente conocido como *Vachellia* L.) es uno de los más plantados debido a su gran cantidad de especies.

El género *Vachellia* L. cuenta con, aproximadamente, 1300 especies, ampliamente distribuidas en los trópicos del mundo. En México, se reconocen alrededor de 84 especies nativas, de las cuales 30 son endémicas y, la mayoría, se localizan en regiones áridas y semiáridas del país (5).

Los usos más frecuentes de las especies del género son: forrajero, medicinal, combustible, mercerías y maderas. De las 30 especies endémicas de México, 11 se encuentran en categoría de preocupación menor, 10 en categoría vulnerable, 6 en casi amenazada, 2 con datos diferentes y

1 como especie amenazada (5). En las zonas áridas y semiáridas del país, los recursos forestales como mezquite (*Prosopis* sp.), huizache (*Vachellia* sp.) y ahuehuete (*Taxodium mucronatum* C. Lawson 1851) son de gran importancia, debido a la variedad de uso que se les da, ya sea para la explotación y obtención de madera, carbón, artesanías o para la alimentación de pequeños rumiantes en pastoreo (6).

Las diferentes especies de *Vachellia* spp., generalmente, presenta problemas de germinación de las semillas en condiciones naturales, ya que posee una cubierta demasiado dura e impermeable que impide el paso del agua (7), por lo que la biotecnología es una poderosa herramienta para solventar esta problemática.

El cultivo de tejidos de especies arbóreas ofrece un medio rápido para producir material de plantación clonal, la producción de biomasa leñosa, la reforestación y la creación de bancos de germoplasma para la conservación. En general, las plantas leñosas son difíciles de regenerar *in vitro*, pero se han obtenido logros, específicamente, en árboles de la familia *Fabaceae*, por ejemplo, *Dalbergia latifolia* Roxb (8), *Acacia mangium* (9,10). Existen diversos informes exitosos sobre el desarrollo de plántulas a partir de callos obtenidos de brotes de plántulas, de yemas cotiledonales y explantes nodales (8,11,12). La micropropagación de diferentes especies de *Acacia* se ha informado por varios investigadores (13-16).

El cultivo *in vitro* asegura que se cuente con una gran cantidad de explantes, en mínimos espacios y poco tiempo (17).

Las células vegetales (meristemáticas) son totipotenciales, lo que significa que, en condiciones adecuadas, darán lugar a una planta completa con las características de la planta madre. Las ventajas que tiene esta tecnología, con respecto a la agricultura convencional son: asegura un suministro continuo de plantas con calidad y rendimiento uniforme; producción rápida y en corto tiempo; no se ve afectada por variaciones estacionales y geográficas, ni por factores ambientales; es posible producir nuevos compuestos que no se encuentran normalmente en la planta madre; es independiente de interferencias políticas (18).

Por todo lo planteado, esta reseña tiene como objetivo realizar una revisión de los resultados más relevantes sobre la biotecnología, específicamente, el cultivo de tejidos vegetales en especies del género *Vachellia* L. como árboles con potencialidades para la reforestación de zonas desérticas (áridas y/o semiáridas), en México.

## DESARROLLO

### ***Vachellia* spp., generalidades, usos y aplicaciones**

La familia *Fabaceae* se distribuye ampliamente en diversas regiones del planeta, cuenta con, aproximadamente, 500 géneros y alrededor de 17 000 especies, se caracteriza por sus frutos en forma de vaina (legumbre), la cual puede liberar o no las semillas (dehiscentes o indehiscentes); presenta una diversidad de formas de vida: árboles, arbustos, hierbas, plantas rastreras o trepadoras; comprende un gran número de plantas útiles, especialmente, en lo que se refiere a la alimentación y a la producción de maderas (19).

Dentro de esta familia existe la subfamilia *Mimosoideae*, compuesta por más de 1300 especies, que se distribuyen en forma natural en todos los continentes, con la excepción de Europa. El género *Vachellia* L. es el segundo más numeroso en la familia (después de *Astragalus*), cuenta con, aproximadamente, 1 200 especies de arbustos y árboles, ampliamente distribuidas en los trópicos del mundo. Se trata del único género dentro de la tribu *Acacieae* y posee unas 890 especies en Australia y, aproximadamente, 200 en América (20).

La mayoría de las plantas provenientes de la familia *Fabaceae* se les considera especies multipropósito, debido a que de ellas se pueden extraer diversos productos, como hojas para forraje y leña de su tallo. Además, son ampliamente apreciadas por sus semillas y vainas para alimento de ganado y las flores se utilizan para la elaboración de perfumes (21).

El Mezquite y el Huizache son árboles que se pueden encontrar en las zonas cálidas y semidesérticas de México. Ambos árboles pertenecen a la misma familia, por lo que fijan nitrógeno en el suelo y, para realizar esta fijación utilizan unas bacterias llamadas rizobios, que forman pequeños nódulos en las raíces. Las bacterias toman el nitrógeno de la atmósfera y lo transforman para que las plantas puedan utilizarlo. El nitrógeno es uno de los nutrientes principales que necesitan todas las plantas. Estos árboles tienen un papel importante en su ecosistema, tienen uso en la vida diaria y son una fuente rica en proteínas, que antes se consumían en diversas regiones del país (22).

Dentro de las aplicaciones del género se incluyen el uso del follaje de las legumbres, como alimento para ganado y cabras en regiones áridas de México, lo cual constituye una alternativa poco estudiada en la alimentación de rumiantes. En particular, las vainas de huizache se caracterizan por su alto valor nutricional y podrían ser un material idóneo para usarse como fuente de nutrientes para pequeños rumiantes (23). Otros usos incluyen: especies rompevientos; la reforestación de bosques secos y áreas de pastizales degradados; la estabilización de arenas móviles en regiones semiáridas degradadas (24). Además, el perfume obtenido de las flores, conocido como "cassie", se tiene en alta estima (25), lo que ha llevado al cultivo de especies del

género en el sur de Francia y en otras partes del Mediterráneo (26).

Las especies del género *Vachellia* L. endémicas de México y su categoría de riesgo se muestran en la [Tabla 1](#).

De las, aproximadamente, 85 especies de *Vachellia* presentes en México, 35 de estas se distribuyen en los estados fronterizos del norte, 12 en Coahuila (27), 12 en Nuevo León (28) y 11 en el centro de Chihuahua (29). La mayoría de las especies se localizan en áreas de planicie de climas áridos y son parte importante de los matorrales, en el norte de México.

La explotación del huizache ha provocado la disminución de su población en el ecosistema, lo que causa un desequilibrio significativo, ya que al ser refugio y fuente de alimento para otras especies, estas tendrán que emigrar a hábitats diferentes, debido a los procesos de supervivencia o de extinción (30).

En las regiones áridas y semiáridas de México se utiliza el huizache y el mezquite con fines de reforestación, porque son plantas que nutren el suelo (por la fijación de nitrógeno atmosférico) y proporcionan sombra y refugio a varios animales; además, la madera puede utilizarse para construir o como combustible y atraen insectos para polinizar (22).

Las especies del género *Vachellia* L., en ecosistemas desérticos, también son fuente de alimento para las cabras y bajo sus ramas se crea un microambiente característico, que influye de forma positiva sobre la cantidad y variedad de aves, mamíferos y otras plantas con las que forma asociaciones, como el *Agave* sp., *Yucca* sp. y nopal kakanapo (*Opuntia lindheimeri* Engelm) (31).

Resumiendo lo planteado, diversas especies del género *Vachellia* L., como por ejemplo, el huizache, se pueden utilizar con fines de reforestación por ser especies valiosas, de las cuales se pueden utilizar todas sus partes con múltiples usos. El follaje y las vainas son útiles para la alimentación del ganado utilizándose como forraje, especialmente en áreas secas y, además, les proporciona sombra; muchas aves se alimentan de las semillas; las flores proporcionan aceites esenciales para perfumes muy apreciados; las vainas verdes producen una sustancia pegajosa que se utiliza como pegamento y el tronco proporciona una goma que se utiliza como sustituto de la goma arábiga y se está comenzando a comercializar; la corteza y las vainas son útiles para teñir y para la obtención de taninos; la madera tiene múltiples aplicaciones, entre las que se destacan postes, muebles, herramientas y para leña; el árbol sirve de cerco vivo y como especie aromática ornamental. Además, al utilizarse como cubierta en los suelos en zonas con escasez de agua y de nutrientes controla la erosión y proporciona una cobertura de anidación para la vida silvestre. Al mismo tiempo, sus especies fijan el nitrógeno atmosférico, lo que favorece la nutrición de los suelos y aumenta la materia orgánica cuando deja caer sus hojas, mejorando así la estructura del suelo y la subsiguiente infiltración de agua.

**Tabla 1.** Especies del género *Vachellia* endémicas de México, sus usos y categoría de riesgo (5)

Nombre científico	Usos	Categoría de riesgo
<i>Acacia amabilis</i>	Aprovechamiento de resina	Especie amenazada
<i>Acacia anisophylla</i>	Extracción de resina	Vulnerable
<i>Acacia biaciculata</i>		Vulnerable
<i>Acacia bilimekii</i>	Forrajero, combustible, medicinal y en la curtiduría	Preocupación menor
<i>Acacia brandegeana</i>	Forrajera	Preocupación menor
<i>Acacia californicasubsp. californica</i>		Preocupación menor
<i>Acacia californicasubsp. pringlei.</i>	Combustible, medicinal (veterinaria), y en la construcción de casas	Preocupación menor
<i>Acacia cedilloi</i>	Melífera	Vulnerable
<i>Acacia compacta</i>		Vulnerable
<i>Acacia fuscicarpa</i>	Con potencial para extracción de resina	Vulnerable
<i>Acacia gaumeri</i>	Combustible, maderable y durmientes	Preocupación menor
<i>Acacia glandulifera</i>		Vulnerable
<i>Acacia interior</i>		Vulnerable
<i>Acacia janzenii</i>		Datos Deficientes
<i>Acacia kelloggiana</i>		Casi amenazada
<i>Acacia mammifera</i>		Preocupación menor
<i>Acacia mirandae</i>		Casi amenazado
<i>Acacia occidentalis</i>	Maderable	Casi amenazado
<i>Acacia pacensis</i>		Casi amenazado
<i>Acacia parviflora</i>	Producción de resina, como planta fitorremediadora	Preocupación menor
<i>Acacia peninsularis</i>		Casi amenazado
<i>Acacia purpusii</i>		Vulnerable
<i>Acacia reniformis</i>	Maderable, combustible, como uso potencial producción de resina	Preocupación menor
<i>Acacia russelliana</i>		Vulnerable
<i>Acacia saltilloensis</i>		Preocupación menor
<i>Acacia sericea</i>		Vulnerable
<i>Acacia sororia</i>	Potencial para extracción de resina	Datos Deficientes
<i>Acacia subangulata</i>	Combustible y extracción de taninos	Casi amenazado
<i>Acacia villaregalis</i>		Preocupación menor
<i>Acacia willardiana</i>	Planta ornamental	Preocupación menor

## La reforestación de zonas áridas y semiáridas en México

Ya desde el año 2 000, gran parte del territorio mexicano había perdido su cubierta vegetal original y grandes superficies tenían suelos degradados, debido a los procesos de erosión (eólica e hídrica), inundaciones, salinización y contaminación. Además, de la manera acelerada con que se degradan, estos suelos tienen escasa vegetación, baja productividad y no están en vías de recobrar su cubierta vegetal original, por lo que la restauración ecológica es una necesidad para rehabilitarlos e incrementar su productividad (32).

La diversidad de especies vegetales en las zonas áridas es moderada (6 000 especies descritas) (33), y éstas tienen un gran potencial de recursos naturales clasificados como forestales, los que pueden ser aprovechados de manera sostenible, no solo para mejorar los niveles de vida del sector rural, debido a las alternativas que ofrecen, sino también para reforestar dichas áreas. Esta medida mejoraría los suelos, la calidad de vida, e incluso, la disponibilidad de agua, garantizando un uso racional de estos recursos vegetales para evitar actividades como la tala indiscriminada de árboles.

El norte del estado de Chihuahua se caracteriza por un ecosistema desértico compuesto por una variedad de asociaciones vegetales, dentro de las que se encuentran especies xerófilas y micrófilas (34), las cuales crecen en condiciones de luz solar intensa, precipitación escasa y suelos pobres en nutrientes. De acuerdo a lo descrito anteriormente, existen tres tipos de matorrales en la vegetación desértica: matorral mediano subinermes en rocas calizas, matorral desértico crasicale ligado a rocas y suelos de naturaleza ígnea y matorral desértico micrófilo de suelos de aluvión (35).

En México, debido a la elevada inversión que se necesita para la reforestación, los propietarios de los terrenos forestales se niegan a plantar especies que podrían tener tasas de crecimiento muy lento o sufrir altas tasas de mortalidad, razón por la cual se hacen necesarios los estudios sobre el comportamiento de las especies nativas utilizadas en reforestaciones que, además de proporcionar una mayor seguridad contra las adversidades del clima, tienen un alto porcentaje de sobrevivencia, lo cual reduce los insumos para asegurar su mantenimiento y desarrollo (36,37). Investigaciones realizadas demostraron que, mediante la utilización de especies nativas en la

restauración de zonas perturbadas, se puede alcanzar hasta un 95% de sobrevivencia (38).

Las zonas áridas tienen una riqueza de especies vegetales menor que las zonas húmedas y tropicales, aunque en las regiones áridas y semiáridas del norte de México existe una flora vasta y característica, que posee formas de crecimiento especializadas (39). Por esta razón, se debe dar una elevada prioridad al mantenimiento de la biodiversidad en esas zonas, debido a que la pérdida de una especie en una zona árida, significa un porcentaje mayor de pérdida en biodiversidad, al compararse con otras regiones con una riqueza de especies mayor (40).

Algunas investigaciones sobre ecología demuestran que las especies nativas arbustivas ayudan a detener el desgaste del ecosistema en estos ambientes (41). Por una parte, la hojarasca y el follaje de los arbustos disminuyen la velocidad de las gotas de lluvia que impactan el suelo y, por la otra, las raíces y el tronco reducen la capacidad de los distintos agentes climáticos para transportar materiales (42).

Hoy entendemos que la desertificación es un fenómeno complejo, condicionado por eventos climáticos y socioeconómicos; y que hay cuatro factores principales, en México, que aceleran este proceso: falta de vegetación de cobertura, tipo de suelo, clima y disruptores antropogénicos. La reforestación es una de las medidas inmediatas para detener la desertificación, así como el daño a suelos sin cubierta vegetal, el poder contar con árboles que protejan los suelos y que, además, sirvan de sombra y alimento a los animales es primordial para preservar la vida en el planeta.

### El cultivo de tejidos vegetales en el huizache (*Vachellia* spp.)

*Vachellia* spp. son de las especies forestales más plantadas a nivel mundial, y de las más utilizadas en la recuperación de áreas degradadas (43). Actualmente, está jugando un papel, cada vez más importante, en los esfuerzos por sostener el abastecimiento comercial de los productos forestales y, al mismo tiempo, reducir la presión de los ecosistemas de bosques naturales, por todas las utilidades que tienen descritas en el acápite anterior.

La propagación asexual de especies de *Vachellia* ha sido estudiada; sin embargo, persisten aún muchas dificultades, lo cual representa una limitante para la implementación de una silvicultura de precisión en el cultivo de esta especie. La brotación de árboles decapitados, incluso en estados juveniles, es difícil y no es frecuente encontrar en la naturaleza estados juveniles como fuente de material para la propagación vegetativa (establecimiento de clones), por lo que la micropropagación ha sido utilizada como un mecanismo para multiplicar masivamente clones de especies forestales de elevado valor económico (44).

Generalmente, las especies del género pueden reproducirse por semilla (45) pero como se había explicado, estas presentan problemas de germinación en condiciones naturales, debido a la cubierta demasiado dura

e impermeable que impide el paso del agua (7). Las semillas pueden ser sembradas en semilleros y trasplantadas de 6 a 10 días después de la siembra, sin embargo, por este método solo se recupera un 37 % de plántulas (46). Es por ello que, la micropropagación juega un papel primordial para la obtención de plántulas de estas especies y, de esta manera, poder proveer a los viveros forestales de material vegetal suficiente para reforestar zonas desérticas.

La micropropagación puede ser definida como la técnica en la que cualquier parte de un vegetal (raíces, tallo, hojas, semillas o protoplastos), cultivada en un medio de nutrientes artificial, en condiciones asépticas, da lugar a una planta completa (47,48). La primera idea de cultivar una planta individual, en un medio artificial, fue de Haberlandt en 1902, aunque él nunca se dio cuenta de la relevancia de su enfoque, más de 100 años después, esta tecnología sigue siendo una herramienta esencial para las ciencias vegetales (47). El cultivo de tejidos se utiliza para un número cada vez mayor de propósitos, como programas de mejoramiento de cultivos, rescate de embriones, producción de haploides y dihaploides en poco tiempo, conservación y rescate de especies en peligro de extinción (39,49).

Algunas fases para la regeneración de plantas, a partir de explantes aislados, durante el cultivo *in vitro* son (50):

- Selección de la planta, semilla o tejido vegetal
- Establecimiento: desinfección de los explantes, generalmente, con hipoclorito de sodio (NaOCl) y su posterior adaptación al medio de cultivo artificial para la obtención de callos, brotes o embrión somático, según se desee
- Multiplicación: lograr los explantes vegetales suficientes para la regeneración del número de plantas necesarias
- Enraizamiento: formación de raíces en los explantes vegetales
- Aclimatización de las plántulas obtenidas *in vitro* a las condiciones medioambientales *ex vitro* (suelo o algún sustrato inerte)

Sobre el huizache existen muy pocos trabajos de cultivo de tejidos *in vitro*. Se ha trabajado con la propagación *in vitro* de *Acacia mangium* Willd (51), ya que es una especie forestal utilizada por la calidad de la madera y rápido crecimiento. No obstante, el mismo autor menciona que los estudios de propagación clonal son muy pocos. La desinfección la realizó con diferentes concentraciones de NaOCl (0,5; 1,0 y 1,5 %) y antibióticos (Cefalexina, Amoxicilina y Ambramicina, 2 mg mL<sup>-1</sup>); y fueron establecidos en medios de cultivo Murashige & Skoog (MS) (52), con diferentes concentraciones (0; 0,44; 0,88 y 2,22 μM) de 6 BAP (6 Bencilaminopurina). Los datos mostraron que 1,0 % de NaOCl y cefalexina (2 mg L<sup>-1</sup>) permitieron obtener el 67 % de explantes libres de contaminación. El mayor número de brotes promedio lo obtuvieron con el medio MS suplementado con 6 BAP al 2,22 μM.

Para la especie *A. farnesiana* se utilizaron semillas que fueron germinadas en medio 100% MS sin reguladores de crecimiento vegetal (PGR), en algodón saturado con agua destilada estéril y en suelo comercial, y mostraron una germinación del 100 % a los 2 días. Los cotiledones se utilizaron como explantes y se cultivaron en medio MS suplementado con diferentes concentraciones y combinaciones de PGR (6 BAP 0, 4,4 y 6,7  $\mu\text{M}$ , o 6 BAP y ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2, 4-D): 4,4 y 4,5  $\mu\text{M}$ , respectivamente). El mayor número de brotes múltiples fue en medio MS con 4.4  $\mu\text{M}$  de 6 BAP:  $5.42 \pm 0.98$  brotes por explante y el enraizamiento se logró con 17,12  $\mu\text{M}$  de AIA (ácido indolacético) (53).

El mayor número de brotes se obtuvo al utilizar BA (benciladenina) 4,0 CM, concentración muy superior a la kinetina (Kin) para provocar la multiplicación de la especie *A. mangium* (54). El efecto superior de BA sobre la Kin en la organogénesis *in vitro* se ha contabilizado en muchas especies de Acacia (15,55,56). Curiosamente, al suplementar el medio MS con Kin (1 mg  $\text{L}^{-1}$ ) no se logró la regeneración directa de la especie *A. nilotica*, la proliferación permaneció indiferenciada durante un mes, hasta que se utilizó ANA (ácido naftalenacético) (0,6 mg  $\text{L}^{-1}$ ) que, a su vez, indujo la multiplicación de brotes, casi de forma instantánea (57).

Diversas investigaciones informan que la incorporación de auxinas junto con BA al medio de cultivo mejora la frecuencia de diferenciación de las yemas y los brotes, en lugar de utilizar solamente BA, específicamente 2,0  $\mu\text{M}$  BA más 1,0  $\mu\text{M}$  ANA fue una combinación favorable para la organogénesis directa de los brotes de la especie *A. mangium* (54). En estudio similar con la especie *A. auriculiformis*, al medio MS se le adicionó 2 mg  $\text{L}^{-1}$  de Kin y 0,5 mg  $\text{L}^{-1}$  de AIA, exhibiéndose una frecuencia máxima de regeneración de brotes (58). Para la especie *A. ehrenbergiana* (59) utilizaron cotiledones cultivados en medio de cultivo MS y el 90,3 % de los explantes mostraron regeneración con un suplemento de BA (10  $\mu\text{M}$ ) y el número máximo de brotes (7,3) se obtuvieron en el medio de cultivo suplementado con BA y ANA (0,1  $\mu\text{M}$ ). Por lo tanto, en estas especies es relevante la combinación de citoquininas y auxinas para la regeneración eficiente de brotes.

Algunos investigadores trabajaron la micropropagación de la especie *A. mangium*, a partir de semillas o de explantes recolectados del exterior y el proceso se inició en medio de cultivo basal MS suplementado con 4,4  $\mu\text{M}$  BA (60). Los cultivos de los microbrotes producidos por gemación axilar se desarrollaron y mantuvieron mediante subcultivos regulares cada 60 días en medio de cultivo MS fresco, al que se le añadió 2,2  $\mu\text{M}$  BA + 0,1  $\mu\text{M}$  ANA. Este procedimiento mejoró la capacidad organogénica para la multiplicación de brotes por brotación axilar, con tasas de multiplicación promedio de 3-5 cada 2 meses.

Para la propagación de la especie *A. farnesiana*, a partir de la multiplicación de explantes nodales derivados de plantas cultivadas *in vitro*, se utilizó el medio MS suplementado con BA y Kin en diferentes concentraciones

(56). Las concentraciones utilizadas para la iniciación de brotes fueron: de BA (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 mg  $\text{L}^{-1}$ ) y de Kin (0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 mg  $\text{L}^{-1}$ ). El mayor número de brotes fue del 75 % en el medio con BA, con un tamaño promedio de 8,5 cm, mientras que cuando los explantes fueron cultivados en Kin, solo el 55 % de ellos proliferaron. Pasadas cuatro semanas, los brotes extirpados (1-2 cm) se enraizaron en medio MS de concentración media suplementado con 0,5 mg  $\text{L}^{-1}$  de AIB (ácido indolbutírico) y 0,05 mg  $\text{L}^{-1}$  de ANA, obteniéndose como resultado el 90 % de las plántulas enraizadas.

En la especie *A. nilótica* (61) se realizó la micropropagación desde segmentos nodales en un medio de cultivo MS, suplementado con 2,5 mg  $\text{L}^{-1}$  de BA, obteniéndose el mayor promedio de brotes por explante (3,58). En la especie *A. senegal* (62) se informó que la zeatina, que es una citoquinina natural, produce una mejor inducción de brotes múltiples.

Se publicó una investigación que aborda la embriogénesis somática para la obtención de plántulas de *Vachellia* spp. *in vitro*, donde se cultivaron embriones cigóticos inmaduros de las especies *A. farnesiana* y *A. schaffneri* en un medio de cultivo basal semisólido MS suplementado con 2,4-D 9,05  $\mu\text{M}$  y Kin 4,65  $\mu\text{M}$  para inducir callos y los embriones somáticos se produjeron en medios de diferenciación semisólidos sin reguladores de crecimiento o con ácido abscísico (ABA), informándose que la adición de ABA aumentó el porcentaje de embriones que alcanzaron estadios de diferenciación más avanzados (63).

En cuanto a la fase de aclimatización, algunos investigadores han logrado de manera exitosa adaptar las plántulas *in vitro* de especies de *Vachellia* spp. a condiciones *ex vitro*, utilizando diferentes sustratos y condiciones de adaptación y alcanzando porcentajes de supervivencia superiores a 60 %. Las plántulas de la especie *A. chundra* fueron transferidas a suelo arenoso estéril en una proporción 1:1 (suelo de jardín: arena) en macetas de barro y se mantuvieron bajo alta humedad (70 %), en un invernadero con una temperatura de  $30 \pm 2$  °C, obteniendo un 65 % de supervivencia (15). Para la especie *A. ehrenbergiana* (59), utilizaron suelo estéril (Keltech Pvt Ltd., Bangalore) en macetas de plástico para aclimatar las plántulas *in vitro* enraizadas y las mantuvieron a  $24 \pm 2$  °C, con un fotoperiodo de 16 h de luz, regándolas cada tercer día con media concentración de solución salina MS durante 2 semanas, después de 4 semanas, las plantas aclimatadas (80 %) se transfirieron a macetas que contenían suelo de jardín y se mantuvieron en invernadero con luz natural hasta ser transferidas al campo. En un sustrato de cáscara de coco rallada, se obtuvo un porcentaje de supervivencia de las plántulas de *A. auriculiformis* del 90 %, durante la aclimatización en el invernadero, con una temperatura de 25 a 30 °C y humedad relativa de, aproximadamente 80 %, con 50 % de sombra (16). Después del enraizamiento, (12) extrajeron cuidadosamente los explantes de los tubos de cultivo y los trasplantaron directamente en macetas, sobre sustrato de vermiculita mezclada igualmente con arena de río (1:1) y

sobrevivió el 80 % de las plántulas. Porcentajes de sobrevivencia similares fueron obtenidos por (53) al utilizar suelo comercial (Nutrigarden®) en plántulas de las especies *A. farnesiana* y *Prosopis laevigata*.

En esta temática, algunos de los autores de esta revisión (64) trabajaron con semillas de *Vachellia* sp. colectadas en la Zona Norte Urbana de la Ciudad de Chihuahua, en el año 2019 y utilizaron tres tratamientos de escarificación; T1: inmersión en agua caliente (H<sub>2</sub>O) durante 5 minutos (escarificación física); T2: inmersión en ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) durante 20 minutos (escarificación química); T3: inmersión en ácido clorhídrico concentrado (HCL) por 20 minutos (escarificación química); después de la desinfección (hipoclorito de sodio al 2% durante 20 min), las sembraron en un medio Agar-Agua (6.5 g L<sup>-1</sup>) para su germinación. Para la multiplicación de las plántulas *in vitro* utilizaron el medio de cultivo MS (1962), suplementado con sacarosa 30 g L<sup>-1</sup>, phytigel 2,5 g L<sup>-1</sup>, carbón activado 2,5 g L<sup>-1</sup> y diferentes reguladores del crecimiento (T1: 6 BAP 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Kin 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Quitosano 60 mg L<sup>-1</sup>; T2: 6 BAP 1 mg L<sup>-1</sup>, Kin 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Quitosano 60 mg L<sup>-1</sup>; T3: 6 BAP 0,5 mg L<sup>-1</sup>, Kin 0,5 mg L<sup>-1</sup>; T4: 6 BAP 1 mg L<sup>-1</sup>, Kin 0,5 mg L<sup>-1</sup>). Como resultado de la escarificación utilizada se obtuvo, aproximadamente, el 35 % de germinación de las semillas con el tratamiento T2 (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) durante 20 min (Figura 1) y, en la fase de multiplicación los explantes, tuvieron mejor crecimiento y porcentaje de multiplicación en el tratamiento T2 (Figura 2). En este caso, la combinación de dos citoquininas fue esencial para obtener los resultados deseados, con un coeficiente de multiplicación de 3, mientras que, en algunas de las investigaciones presentadas los autores combinan auxinas y citoquininas. Estas combinaciones dependen, en gran medida, del objetivo de la investigación y de la especie.

Varias especies de *Vachellia* spp. han recibido la debida importancia en el cultivo de tejidos de árboles, debido a su probada capacidad de recuperación de tierras baldías y su importancia ecológica y económica. Así, se han empleado técnicas basadas en cultivo de células, tejidos y órganos vegetales en la investigación de árboles forestales para programas exitosos de reforestación y manejo forestal. La relevancia de los métodos de cultivo de tejidos ha ganado impulso para satisfacer las crecientes demandas de biomasa y productos forestales.

Hasta el momento, se han logrado diversas metodologías de micropropagación de especies del género *Vachellia* L., incluyendo la adaptación de las plántulas a condiciones *ex vitro*, pero existe muy poca información en lo referente a la especie *Vachellia farnesiana* y, en general, en todos los casos (todas las especies del género), las investigaciones no son recientes. En el género en estudio, no se ha encontrado información sobre la producción de haploides y solo una investigación abordó la temática de embriones somáticos. Los temas más investigados son la organogénesis directa de diferentes especies, como se ha mostrado en este acápite.

## CONCLUSIONES

- En la actualidad, debido al cambio climático y al uso irracional de recursos finitos como el agua y los suelos, se hace cada vez más necesaria la reforestación y las especies forestales son de gran utilidad, no solo para estos fines, sino también para la liberación de dióxigeno a la atmósfera.
- La literatura disponible actualmente sobre el cultivo de tejidos vegetales de especies del género *Vachellia* L.,



A: T1 (inmersión en H<sub>2</sub>O durante 20 min), B: T2 (inmersión en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado durante 20 min) y C: T3 (inmersión en HCL concentrado durante 20 min)

**Figura 1.** Viabilidad y germinación del cultivo *in vitro* de huizache (*Vachellia* sp.)



T1- 6 BAP 0,5 mg L<sup>-1</sup> + Kin 0,5 mg L<sup>-1</sup> + Quitosano 60 mg L<sup>-1</sup>; T2- 6 BAP 1 mg L<sup>-1</sup> + Kin 0,5 mg L<sup>-1</sup> + Quitosano 60 mg L<sup>-1</sup>; T3- 6 BAP 0,5 mg L<sup>-1</sup> + Kin 0,5 mg L<sup>-1</sup>; T4- 6 BAP 1 mg L<sup>-1</sup> + Kin 0,5 mg L<sup>-1</sup>

**Figura 2.** Explantes de *Vachellia* sp. en los diferentes tratamientos utilizados en la fase de multiplicación (Primer subcultivo)

muestra metodologías completas de muy pocas especies y, la mayoría, no son de los últimos cinco años.

- Un protocolo de cultivo de tejidos vegetales competente debe tener todas las fases necesarias para llevar las plántulas a los viveros, para que luego sean transportadas a las zonas a reforestar

## BIBLIOGRAFÍA

1. Da Ponte E, Fleckenstein M, Leinenkugel P, Parker A, Oppelt N, Künzer C. Tropical forest cover dynamics for Latin America using Earth observation data: a review covering the continental, regional, and local scale. *International Journal of Remote Sensing*. 2015;36(12):3196-242.
2. CONAFOR. Estimación de la tasa de deforestación bruta en México para el periodo 2001-2018 mediante el método de muestreo [Internet]. Jalisco, México; 2020 [cited 13/11/2021] p. 91. Available from: <http://www.gob.mx/conafor/documentos/estimacion-de-la-tasa-de-deforestacion-bruta-en-mexico-para-el-periodo-2001-2018-mediante-el-metodo-de-muestreo?idiom=es>
3. Eltoum MA, Dafalla MS, Ibrahim IS. The Role of Ecological factors in causing land surface desertification, the case of Sudan. *Journal of Agriculture and Ecology Research International*. 2015;4(3):105-16.
4. Martin MP, Woodbury DJ, Doroski DA, Nagele E, Storace M, Cook-Patton SC, et al. People plant trees for utility more often than for biodiversity or carbon. *Biological Conservation*. 2021;261:109224. doi:10.1016/j.biocon.2021.109224
5. Méndez P, Granados S. Antología del Género *Acacia* Mill. en México. [Departamento de Ciencias Forestales]: Autónoma Chapingo; 2017. 108 p.
6. CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). *Acacia farnesiana* [Internet]. México; 2019. Available from: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/906Cordia%20dodecandra.pdf>
7. Rivas-Medina G, González-Cervantes G, Valencia-Castro CM, Sánchez-Cohen I, Villanueva-Díaz J. Morfología y escarificación de la semilla de mezquite, huizache y ahuehuete. *Técnica Pecuaria en México*. 2005;43(3):441-8.
8. Swamy BVR, Himabindu K, Sita GL. *In vitro* micropropagation of elite rosewood (*Dalbergia latifolia* Roxb.). *Plant Cell Reports*. 1992;11(3):126-31. doi:10.1007/BF00232164
9. Monteuis O, Bon M-C. Influence of auxins and darkness on *in vitro* rooting of micropropagated shoots from mature and juvenile *Acacia mangium*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 2000;63(3):173-7. doi:10.1023/A:1010611126950
10. Nanda RM, Das P, Rout GR. *In vitro* clonal propagation of *Acacia mangium* Willd. and its evaluation of genetic stability through RAPD marker. *Annals of forest science*. 2004;61(4):381-6.
11. Tomar UK, Gupta SC. *In vitro* plant regeneration of leguminous trees (*Albizia* spp). *Plant Cell Reports*. 1988;7(6):385-8. doi:10.1007/BF00269518
12. M S-AR, Delgado-Paredes GE, Vásquez-Díaz C, Felipe Z-DS, Rojas-Idrogo C. *In vitro* propagation of *Vachellia macracantha*, an important species of the seasonally dry tropical forest in northern Peru. *International Journal of Research -GRANTHAALAYAH*. 2020;8(11):371-80. doi:10.29121/granthaalayah.v8.i11.2020.250212.
13. Vengadesan G, Ganapathi A, Prem Anand R, Ramesh Anbazhagan V. *In vitro* propagation of *Acacia sinuata* (Lour.) Merr. via cotyledonary nodes. *Agroforestry Systems*. 2002;55(1):9-15. doi:10.1023/A:1020269022363
14. Vengadesan G, Ganapathi A, Anand RP, Selvaraj N. *In vitro* propagation of *Acacia sinuata* (Lour.) Merr. from nodal segments of a 10-year-old tree. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*. 2003;39(4):409-14. doi:10.1079/IVP2003421
15. Rout GR, Senapati SK, Aparajeta S. Micropropagation of *Acacia chundra* (Roxb.) DC. *Hort Sci*. 2008;35(1):22-6.
16. Ismail H, Kumar SM, Aziah MY, Hasnida NH, Nor Aini AS. *In vitro* micropropagation of *Acacia auriculiformis* from selected juvenile sources. *Dendrobiology*. 2016; (75):157-65.
17. Prakash S, Van Staden J. Micropropagation of *Hoslundia opposita* Vahl-a valuable medicinal plant. *South African Journal of Botany*. 2007;73(1):60-3. doi:10.1016/j.sajb.2006.07.001
18. Ramachandra Rao S, Ravishankar GA. Plant cell cultures: Chemical factories of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*. 2002;20(2):101-53. doi:10.1016/S0734-9750(02)00007-1
19. Rzedowski GC de, Rzedowski J. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Pátzcuaro, Michoacán: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad; 2001. 1406 p.
20. Rico-Arce ML. El género acacia (*Leguminosae, Mimosoideae*) en el estado de Oaxaca, México. En: *Anales del Jardín Botánico de Madrid* [Internet]. Real Jardín Botánico; 2000. p. 251-302. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/70671.pdf>
21. Cervantes V, López M, Salas N, Hernández G. Técnicas para propagar especies nativas de selva baja caducifolia y criterios para establecer áreas de reforestación. México DF: Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. 2001;17.21
22. Reynoso V. Mezquite y Huizache, árboles mexicanos que fertilizan nuestro suelo [Internet]. Asociación de Consumidores Orgánicos. 2016 [cited 13/11/2021]. Available from: <https://consumidoresorganicos.org/2016/09/20/mezquite-huizache-arboles-mexicanos-fertilizan-nuestro-suelo/>
23. Velázquez AJ, González Ronquillo M, Bórquez J, Domínguez IA, Perezgrovas R. Composición química y producción de gas *in vitro* de dietas con vainas de *Acacia farnesiana*. *Archivos de zootecnia*. 2011;60(231):637-45.
24. Joshi H. *Silviculture of Indian Trees* [Internet]. Ed.rev.Delhi: Government of India Press. 2010 [cited

- 13/11/2021]. 344 p. Available from: <https://www.indiawaterportal.org/articles/silviculture-indian-trees-a-book-rob-scott-troup>
25. Lawrence BM, Reynolds RJ. Progress in essential oils. *Progress in essential oils*. 1984;9(6):61-71.
  26. Traveset A. Bruchid egg mortality on *Acacia farnesiana* caused by ants and abiotic factors. *Ecological Entomology*. 1990;15(4):463-7. doi:10.1111/j.1365-2311.1990.tb00829.x
  27. Carranza MA, Villareal JA. Leguminosas de Coahuila [Internet]. Buenavista, Saltillo, Coah: UAAAN; 1997. 223 p. Available from: [https://biblioteca.uaaan.mx/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=27936&shelfbrowse\\_itemnumber=51029](https://biblioteca.uaaan.mx/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=27936&shelfbrowse_itemnumber=51029)
  28. Estrada AE, Marroquin JS. Leguminosas en el centro-sur de Nuevo León. Reporte científico número 10. Facultad de Ciencias Forestales, UANL, Linares, NL, México. 1990;258.
  29. Estrada C. AE, Martínez M. A. Legumes from the Central Part of the State of Chihuahua, Mexico. *SIDA, Contributions to Botany*. 2000;19(2):351-60.
  30. Toledo V. Manejo, conservación y restauración de recursos naturales en México: perspectivas desde la investigación científica. México, DF: Siglo XXI; 2006. 378 p.
  31. Granados S, Pérez C. Educación ambiental en ecología e impacto ambiental. Colección, Los veinticinco agropecuarios. México: Secretaría de Educación Pública (SEP); 1995.
  32. Montañó ANM, Monroy A. Conservación ecológica de suelos en zonas áridas y semiáridas de México. *Ciencia y Desarrollo*. 2000;26(154):27-37.
  33. Ramírez MCC. Plantas de importancia económica en zonas áridas y semiáridas de México. *Anais do X Encontro de Geógrafos de América Latina, Universidad de São Paulo*. 2005;3388-407.
  34. Granados-Sánchez D, Sánchez-González A, Granados Victorino RL, Borja de la Rosa A. Ecología de la vegetación del Desierto Chihuahuense. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*. 2011;17(SPE):111-30.
  35. Semarnat. Informe de la Situación del Medio Ambiente en México. Compendio de Estadísticas Ambientales. Indicadores Clave y de Desempeño Ambiental. México, DF: Diario Oficial de la Federación México, DF, México; 2013.
  36. Díaz M. Ecología experimental y ecofisiología: Bases para el uso sostenible de los recursos naturales de las zonas áridas neo-tropicales. *Interciencia*. 2001;26(10):472-8.
  37. Benítez-Badillo G, Pulido-Salas M, Zamora E. Árboles multiusos nativos de Veracruz para reforestación, restauración y plantaciones. Xalapa, Veracruz, México: Instituto de Ecología, A.C., SIGOLFO, CONAFOR; 2004. 288 p.
  38. Foroughbakhch R, Hernández-Piñero JL, Alvarado-Vázquez MA, Céspedes-Cabriales E, Rocha-Estrada A, Cárdenas-Avila ML. Leaf biomass determination on woody shrub species in semiarid zones. *Agroforestry Systems*. 2009;77(3):181-92. doi:10.1007/s10457-008-9194-6
  39. Rzedowski J. Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México; 2006. 504 p.
  40. McNeely JA. Biodiversity in arid regions: values and perceptions. *Journal of Arid Environments*. 2003;54(1):61-70. doi:10.1006/jare.2001.0890
  41. Gutiérrez JR, Squeo FA. Importancia de los arbustos en los ecosistemas semiáridos de Chile: Ecosistemas. 2004;13(1):36-45.
  42. Espinoza GA, Fuentes ER, Molina JD. La erosión: fenómenos naturales y acción del hombre. *Ecología del Paisaje en Chile Central*. Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 1988;53-64.
  43. Tonini H, Halfeld-Vieira B de A. Desrama, crescimento e predisposição à podridão-do-lenho em *Acacia mangium*. *Pesquisa agropecuária brasileira*. 2006;41:1077-82.
  44. Carrizosa M, Serrano C. Sistemas modelo para la micropropagación y conservación de especies forestales. En: *Memorias de IV Congreso "La investigación en la Universidad Javeriana"*. Bogotá (Colombia): Pontificia Universidad Javeriana. 1996. p. 261-72.
  45. Pineda Hernández JG. La *Acacia* negra (*Acacia decurrens*) como alternativa forrajera en el trópico alto andino Colombiano. [Internet]. Universidad Nacional Abierta y a Distancia-UNAD, Escuela de Ciencias Agrícolas y Pecuarias y del Medio Ambiente, Especialización en Nutrición Animal Sostenible; 2017. 90 p. Available from: <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/12275>
  46. Hegde M, Palanisamy K, Yi JS. *Acacia mangium* Willd.-A fast growing tree for tropical plantation. *Journal of Forest and Environmental Science*. 2013;29(1):1-14.
  47. Touchell D, Smith J, Ranney TG. Novel applications of plant tissue culture. En: *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society* [Internet]. 2008. p. 196-9. Disponible en: [http://admin.ipps.org/uploads/58\\_038.pdf](http://admin.ipps.org/uploads/58_038.pdf)
  48. Levitus G, Echenique V, Rubinstein C, Hopp E, Mroginski L. Biotecnología y mejoramiento vegetal II. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina. 2010;258:650.
  49. Abraham A. Agricultural biotechnology research and development in Ethiopia. *African Journal of Biotechnology*. 2009;8(25):7196-204. doi:10.4314/ajb.v8i25
  50. Sharry S. Plantas de Probeta, Manual para la propagación de plantas por cultivo de tejidos *in vitro* [Internet]. 1a ed. Adaptada. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP); 2015 [cited 13/11/2021]. Available from: <http://rid.unrn.edu.ar/handle/20.500.12049/2366>
  51. Torres LA, Suarez IE, Gatti K. Propagación in vitro de *Acacia mangium* Willd. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 2013;11(1):81-7.
  52. Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*. 1962;15(3):473-97.

53. Morales-Domínguez JF, de León DCS-D, Garcidueñas-Piña C, Pérez-Molphe-Balch E. Germination, in vitro propagation and soil acclimatization of *Acacia farnesiana* and *Prosopis laevigata*. South African Journal of Botany. 2019;124:345-9. doi:10.1016/j.sajb.2019.05.034
54. Shahinozzaman M, Faruq MO, Ferdous MM, Azad MAK, Amin MN. Direct organogenesis and plant regeneration from cotyledons of a multipurpose tree, *Acacia mangium* Willd. Current Trends in Biotechnology and Pharmacy. 2013;7(1):511-7.
55. Khalafalla MM, Daffalla HM. In vitro micropropagation and micrografting of gum arabic tree [*Acacia senegal* (L.) Willd]. Int J Sustain Crop Prod. 2008;3(1):19-27.
56. Khalisi AA, Al-Joboury KR. In vitro propagation of *Acacia farnesiana*. Al-Mustansiriya J Sci. 2012;23(3):29-34.
57. Dhabhai K, Batra A. Hormonal regulation impact on regeneration of *Acacia nilotica* L. a nitrogen fixing tree. World Appl Sci J. 2010;11(9):1148-53.
58. Yadav R, Yadav N, Kumar S. An Improved Micropropagation and Assessment of Genetic Fidelity in Multipurpose Medicinal Tree, *Acacia auriculiformis*. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences. 2016;86(4):921-9. doi:10.1007/s40011-015-0550-9
59. Javed SB, Anis M, Khan PR, Aref IM. In vitro regeneration and multiplication for mass propagation of *Acacia ehrenbergiana* Hayne: a potential reclament of denude arid lands. Agroforestry Systems. 2013;87(3):621-9. doi:10.1007/s10457-012-9583-8
60. Monteuis O, Galiana A, Goh D. In Vitro Propagation of *Acacia mangium* and *A. mangium* × *A. auriculiformis*. En: Lambardi M, Ozudogru EA, Jain SM, editores. Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants [Internet]. Totowa, NJ: Humana Press; 2013 [cited 13/11/2021]. p. 199-211. (Methods in Molecular Biology). doi:10.1007/978-1-62703-074-8\_15
61. Abbas H, Qaiser M, Naqvi B. Rapid in vitro multiplication of *Acacia nilotica* subsp. hemispherica, a critically endangered endemic taxon. Pak J Bot. 2010;42(6):4087-93.
62. Badji S, Mairone Y, Ndiaye I, Merlin G, Danthu P, Neville P, et al. In vitro propagation of the gum arabic tree (*Acacia Senegal* (L.) Willd.) 1. Developing a rapid method for producing plants. Plant Cell Reports. 1993;12(11):629-33. doi:10.1007/BF00232813
63. Cañedo-Ortiz BO, Pérez-Reyes ME, Balch EP. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Acacia farnesiana* and *A. schaffneri*. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant. 2000;36(4):268-72. doi:10.1007/s11627-000-0049-8
64. Pérez-Álvarez S, Urías-García C, Licón-Trillo C, Licón-Trillo L, Villareal-Ramírez V, Carrasco-Rivera E. Escarificación y multiplicación in vitro del huizache. Ambiente, Bienestar y Desarrollo en los Desiertos. En 2020 [cited 13/11/2021]. p. 383-9. Available from: <http://econferencias.uacj.mx/ocs/index.php/coloquiodeldesierto/2020>