

Brotos enraizados de *Agave nussaviorum* García-Mend. variando sales inorgánicas, AIB e incubación

Ilse Lizbeth Chávez-Cruz¹
José Raymundo Enríquez-Valle^{1,§}
Gerardo Rodríguez-Ortiz¹
Gisela Virginia Campos-Ángeles¹

1 Programa de Maestría en Ciencias en Productividad en Agroecosistemas-Tecnológico Nacional de México (TecNM)-Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Ex hacienda de Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca. CP. 71230. (ilsejb8@gmail.com; gerardo.rodriguez@voaxaca.tecnm.mx; gisela.ca@voaxaca.tecnm.mx.)

Autor para correspondencia: jose.ev@voaxaca.tecnm.mx.

Resumen

En Oaxaca, México, las poblaciones de *Agave nussaviorum* están disminuyendo y se propone micropropagarlo en complemento al uso de métodos convencionales. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de la concentración de sales inorgánicas y ácido indol-butírico en el medio de cultivo, así como el ambiente de incubación, para enraizar brotes *in vitro*. Brotes cultivados *in vitro* se transfirieron para su enraizado a nueve variantes de medio de cultivo que diferían en concentración de sales inorgánicas del medio de cultivo (60, 80 y 100%) y ácido indol-butírico (0, 0.5 y 1 mg L⁻¹) en un diseño factorial con nueve tratamientos. Durante 28 días, todos los cultivos se incubaron en laboratorio con iluminación led y se evaluó el porcentaje de brotes con raíces. A partir del día 29 la mitad de los cultivos en cada variante de medio de cultivo se separaron para incubarlos durante 21 días expuestos a radiación solar disminuida 40% mediante malla sombra en invernadero, mientras el resto continuó en incubación con lámparas led en laboratorio. Al término del primer periodo, el mayor porcentaje, 83.3% de brotes con raíces, estaban en medio de cultivo con 60% sales inorgánicas y 0.5 mg L⁻¹ de ácido indol-butírico. Al término del segundo periodo todos los brotes tenían raíces adventicias en las condiciones siguientes: medio de cultivo con 60% sales y 0.5 o 1 mg L⁻¹ ácido indol-butírico incubados en laboratorio; medio de cultivo con 60% sales inorgánicas, 1 mg L⁻¹ ácido indol-butírico e incubados en invernadero, medio de cultivo con 100% sales inorgánicas, 0.5 mg L⁻¹ ácido indol-butírico e incubadas en invernadero.

Palabras clave:

Agave nussaviorum, micropropagación, raíces adventicias.



Introducción

Las especies *Agave angustifolia* (Cruz-García *et al.*, 2013), *A. tequilana* (Arzate-Fernández *et al.*, 2016), *A. potatorum* (Molina-Guerrero *et al.*, 2007), *A. americana* var. *oaxacensis* (Pérez-Santiago *et al.*, 2014; Cruz-García *et al.*, 2017) y *A. nussaviorum*, son utilizadas para elaborar bebidas destiladas. Durante el año 2021, en Oaxaca se tuvieron 10 839.57 ha de plantaciones y cosecharon 2 992.19 ha (SIAP, 2021). No hay datos publicados sobre la magnitud de colecta de agaves silvestres.

El *A. nussaviorum*, que en la región Mixteca de Oaxaca se le conoce como papalomé, se utiliza para alimento y en medicina tradicional (García-Mendoza, 2010), pero también para elaborar mezcal. Esta especie se colecta de poblaciones silvestres, por lo que se propone su propagación para establecer plantaciones. El cultivo de tejidos vegetales se aplica en agaves para producir mayor cantidad de plantas en complemento a los procedimientos convencionales de propagación. Y se tienen antecedentes de la micropropagación de *Agave tequilana* (Valenzuela-Sánchez *et al.*, 2006), *A. angustifolia* (Ríos-Ramírez *et al.*, 2017), *A. fourcroydes* (Madrigal *et al.*, 1990), *A. americana* var. *oaxacensis* (Enríquez-Valle *et al.*, 2013) y *A. salmiana* (Silos-Espino *et al.*, 2007).

La propagación *in vitro* comprende cinco etapas: a) preparación de las plantas madre en condiciones higiénicas; b) establecimiento de cultivos asépticos; c) multiplicación de propágulos; d) enraizado de brotes y e) trasplante a contenedores con sustrato para su aclimatación en invernadero (George y Debergh, 2008). Para las etapas b, c y d, se requiere determinar las condiciones de sales minerales, carbohidratos, vitaminas, reguladores de crecimiento en el medio de cultivo y el ambiente de incubación (Puente-Garza *et al.*, 2017).

La calidad de la planta micropropagada influye en el éxito de su aclimatación. En relación con la etapa d, la capacidad de los tejidos para formar raíces adventicias depende de factores endógenos (genotipo, condición fisiológica, etc.) y factores exógenos (sustrato, humedad relativa, temperatura, irradiancia). Para que los brotes formen raíces, éstos se establecen en medios de cultivos (MC) sin reguladores de crecimiento (RC) o con un RC de tipo auxina.

Durante el enraizado *in vitro* de brotes de *A. angustifolia* (Enríquez-Valle *et al.*, 2005) y *A. potatorum* (Bautista-Castellanos *et al.*, 2020) mayor cantidad de brotes formaron raíces, más abundantes y en menos tiempo cuando se establecieron en MC con auxinas. En ambas especies los brotes en MC con las sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962) a 75% tuvieron mejor respuesta de enraizado en comparación con brotes en MC con las sales MS a 100%. Miguel-Luna *et al.* (2013) reportaron que brotes de *A. americana* var. *oaxacensis* establecidos en MC con sales MS a 66%, formaron 7.3 raíces adventicias en promedio, cantidad 15% superior a las raíces formadas en brotes establecidos en MC con sales inorgánicas al 100%.

La concentración de solutos en el MC, principalmente sales inorgánicas y sacarosa determina el potencial osmótico (Ψ) de éste, que influye en la formación, cantidad y crecimiento de las raíces en los brotes, ya que niveles menores a -0.3 MPa inhiben la formación de raíces (Cárdenas-Lara y Villegas-Monter, 2002).

Las plantas propagadas *in vitro* presentan hojas con consistencia herbácea, delgadas, con escaso desarrollo de cutículas, raíces ineficientes, alta densidad estomática y estomas con escaso control de la apertura y cierre. Y cuando estas plantas se extraen del cultivo *in vitro* a un ambiente con menor humedad relativa, presentan dificultades para controlar la pérdida de agua, quedando expuestas a marchitamiento excesivo, además de presentar actividad fotosintética baja (Pospíšilová *et al.*, 2000; Pospíšilová *et al.*, 2007; Sosa-Castillo *et al.*, 2014).

Plantas micropropagadas de *A. americana* var. *oaxacensis*, durante su aclimatación en invernadero sustituyeron varias hojas que habían formado durante su cultivo *in vitro*, por nuevas hojas con características diferentes relacionadas con su ajuste al ambiente *ex vitro* (Cruz-García *et al.*, 2017). Los agaves micropropagados deben poseer características morfológicas y fisiológicas que cuando se extraigan grandes cantidades de plantas de los MC tengan menos dificultades para su adaptación al ambiente *ex vitro*, logrando altos niveles de supervivencia y crecimiento (Miguel-Luna *et al.*, 2013; Enríquez-Valle *et al.*, 2016).

Autores como Pospíšilová *et al.* (1999) describieron que plantas micropropagadas durante las primeras tres a cuatro semanas de aclimatación detienen su crecimiento e incluso reducen su tamaño debido a la senescencia de órganos. Se argumenta que dichas hojas mueren porque no tienen capacidad de hacer cambios relacionados con su ajuste al ambiente *ex vitro*. Lo deseable es que la planta cultivada *in vitro* desarrolle órganos que persistan y sean eficientemente funcionales durante y posterior a la aclimatación. En la micropropagación de *Musa*, Teixeira-da Silva *et al.* (2005) sometieron cultivos *in vitro* de *Musa* y *Cymbidium* en la etapa de enraizado a un proceso de pre-aclimatación o pre-adaptación, al exponerlos a radiación solar disminuida mediante sombra parcial, condiciones ambientales con menor humedad relativa. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la concentración de sales minerales del medio MS y de la auxina AIB en el medio de cultivo, en el enraizado de brotes de *A. nussavium*, así como del ambiente de incubación en las características morfológicas de las plantas.

Materiales y métodos

Obtención de brotes para enraizado

El trabajo se realizó en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales y en un invernadero, en el Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, en el Municipio de Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. Se obtuvieron cultivos *in vitro* de racimos de brotes heterogéneos en tamaño, de *A. nussavium* en la etapa de multiplicación de propágulos.

De cada racimo se seleccionaron los brotes con 3 a 4.5 cm de longitud de la hoja mayor, se separaron individualmente y se establecieron en frascos de 160 cm³ que contenían 20 ml de alguna de las nueve variantes de MC esterilizado y con consistencia de gel, preparados con: agua destilada, 1 mg L⁻¹ tiamina-HCL, 25 g L⁻¹ sacarosa, 100 mg L⁻¹ mio-inositol; sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962) en tres diluciones diferentes (60, 80 y 100%), ácido indol-3-butírico (AIB) en tres concentraciones diferentes (0, 0.5 y 1 mg L⁻¹), el pH ajustado a 5.8 antes de agregar 5.7 g L⁻¹ de agar. Se establecieron dos brotes en cada frasco de cultivo, se colocó la tapa y se selló con polietileno adherente.

Condiciones de incubación

Los primeros 29 días de la etapa de enraizado todos los cultivos se incubaron en laboratorio, expuestos a iluminación LED, a 35 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, en fotoperiodos de 16 h y 8 h de oscuridad, temperatura en el rango de 15-28 °C. Transcurrido ese tiempo, la mitad de los cultivos de cada variante de MC se transfirieron a ambiente de invernadero, para exponerlos durante los restantes 21 días a iluminación con radiación solar disminuida mediante doble capa de malla sombra 40%, mientras que la otra mitad de los cultivos permanecieron en laboratorio con iluminación LED.

Cuando se establecieron los brotes en el medio de enraizado se tomaron datos de altura y número de hojas y diariamente durante los 50 días de esta etapa se registraba los brotes que tuvieran raíces y la cantidad de raíces adventicias. Al término de esta etapa, las plantas se extrajeron del medio de cultivo y se registró la cantidad de hojas desplegadas, la longitud y anchura de la hoja más grande, diámetro del tallo, número de raíces.

El experimento se estableció de acuerdo a un diseño completamente al azar, que en los primeros 29 días de esta etapa fue con arreglo de tratamientos factorial 3 × 3, tres niveles del factor concentración de sales minerales, tres niveles del factor concentración de AIB, y tuvieron nueve tratamientos para los días 30 a 50 de la etapa de enraizado, el arreglo de tratamientos fue factorial de 3 × 3 × 2, que incluyó los niveles de los factores citados y se agregó el factor ambiente de incubación con dos niveles (laboratorio e invernadero), por lo que se tuvieron 18 tratamientos.



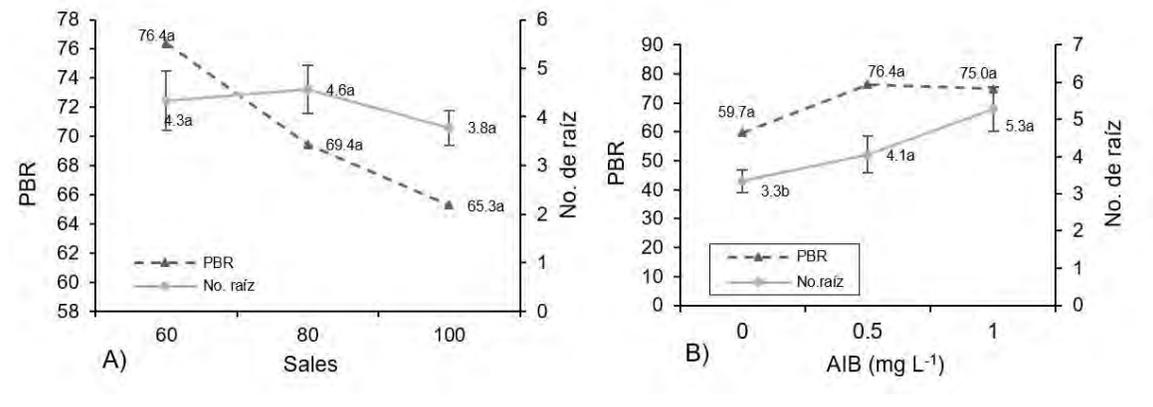
La unidad experimental fue un brote y se tuvieron 12 repeticiones por tratamiento. Para comparar los porcentajes de brotes que formaron raíz, la unidad experimental fue un grupo de cuatro brotes y se tuvieron seis y tres repeticiones por tratamiento, en los días 29 y 50 del experimento, respectivamente. Los datos en porcentaje para su análisis se transformaron a arcoseno. Los datos se sometieron a análisis de varianza y comparación de medias mediante la prueba de Tukey ($\alpha \leq 0.05$).

Resultados y discusión

Etapa de enraizado en condiciones de laboratorio

Al inicio de la etapa de enraizado, los brotes de los diferentes grupos tenían de 3.4 a 4.5 hojas y 3.6 a 4.4 cm de altura, que en cada caso fueron magnitudes no significativamente diferentes, indicando que el material vegetal que se distribuyó en los diferentes tratamientos fue relativamente homogéneo. Cuando transcurrieron ocho días de establecer los brotes en el medio de cultivo se observaron los primeros brotes con raíces adventicias. De los grupos de brotes que se establecieron en las diferentes variantes de MC, cuando transcurrieron 29 días de incubación en condiciones de laboratorio, entre el 58.33% al 83.33% de los brotes tenían raíces (Figura 1A).

Figura 1. En los primeros 29 días de la etapa de enraizado, el porcentaje de brotes (línea discontinua) de *A. nussaviorum* que formaron raíces (PBR) y número de raíces formadas (línea continua) en función de los factores principales, sales minerales (A) y AIB (B).



Los brotes en MC con sales minerales (SM) al 80% y con 1 mg L⁻¹ AIB formaron 7.5 raíces adventicias, tres veces la cantidad de raíces que tuvieron los brotes en MC con SM-100%, sin AIB. Los menores porcentajes de brotes con raíces, fueron aquellos en MC con las sales minerales MS-100% y sin AIB. Ordenando las variables en función de los niveles de factores, el porcentaje mayor de brotes con raíces (PBR) fue en MC con sales SM-60%, y 0.5 mg L⁻¹ AIB, mientras que los brotes con mayor número de raíces fueron en MC con sales SM-60%, y 1 mg L⁻¹ de AIB (Figura 1 B).

En algunos brotes se observaron raíces a los ocho días, mientras que en otros brotes se observaron raíces hasta los 50 días. En otras especies *A. tequilana* (Monja-Mio *et al.*, 2020); *A. angustifolia* en MC con sales inorgánicas MS-50% y 0.025 mg L⁻¹ de 2,4-D (Sánchez *et al.*, 2020) y *A. fourcroydes* (Garriga *et al.*, 2010) se reporta que el 100% de brotes formaron raíces. Asimismo, Bautista-Castellanos *et al.* (2020) reportan que en brotes de *Agave potatorum* Zuc, las raíces adventicias se observaron entre los 13 y 37 días de incubación.

Los brotes que se establecieron en MC con AIB y sales inorgánicas a 75% de concentración, el 95% de éstos formaron raíces adventicias. Los datos del presente estudio coinciden con los trabajos anteriores de que los brotes tuvieron mejor respuesta de formación de raíces adventicias cuando se establecieron en MC con concentraciones bajas (60 u 80%) de sales minerales.

Segundo periodo de enraizado

Transcurridos los 50 días de incubación en la etapa de enraizado, los análisis de varianza (Cuadro 1) mostraron que las concentraciones de sales minerales tuvieron efectos significativos ($p \leq 0.03$) en el número de hojas; los niveles del factor concentración de ácido Indol-3-butírico (AIB), tuvieron efectos significativos en el número de raíces ($p \leq 0.01$) y en la longitud de la raíz ($p \leq 0.03$), mientras que los niveles del factor condición de incubación (CI) tuvieron efectos significativos en altura de las plantas ($p \leq 0.0002$).

Cuadro 1. Análisis de varianza de las características morfológicas de plantas de *A. nussaviorum* a los 50 días de establecer brotes en la etapa de enraizado.

Fuente de variación	GL	Cuadrados medios y significancia					
		PBR	NHF	NRF	ALTF	LR	DT
Trat	17	496.7ns	3.14 ¹	20.97ns	5.06ns	7.12ns	1.66ns
Sales	2	816.6ns	6.68 ¹	13.72ns	0.44ns	1.46ns	2.06ns
AIB	2	516.6ns	1.84ns	67.44 ^{**}	3.85ns	16.55 ¹	0.91ns
CI	1	150ns	5.35ns	28.38ns	45.55 ^{**}	5.8ns	5.44ns
SalesxAIB	4	260.4ns	1.4ns	9.87ns	1.23ns	5.52ns	1.45ns
SalesxCI	2	950ns	0.22ns	3.21ns	4.84ns	6.05ns	3.88ns
AIBxCI	2	0ns	0.36ns	8.5ns	1.78ns	6.06ns	0.85ns
SalesxAIBxCI	4	668.7ns	6.07 ^{**}	25.74ns	3.41ns	8.24ns	0.37ns
Error	198	295.83	1.87	16.49ns	3.15ns	4.97ns	1.63ns
Total	215						
CV (%)			29.31	66.69	26.92	69.81	24.45

FV= fuentes de variación; GL= grados de libertad; CV= coeficiente de variación; AIB= ácido Indolbutírico; CI= condición de incubación; PBR= porcentaje de brotes con raíz (datos transformado arcoseno); NHF= número hoja final; NRF= número de raíces final; LR= longitud de la raíz; ALTF=altura final; DT= diámetro del tallo; ns= no significativo; ¹= significativo ($p > 0.05$); ^{**}= altamente significativo ($p > 0.01$).

La interacción sales minerales-AIB-condiciones de incubación tuvo efecto significativo ($p \leq 0.01$) en el número de hojas. Aguilar-Jiménez y Rodríguez de la O (2018) reportaron que brotes *A. marmorata* cultivados en MC MS al 100%, y con 0.3 o 10 mg L⁻¹ de AIA, formaron en promedio 4.1 y 4.9 raíces adventicias. Mientras que brotes en MC con 3 o 10 mg L⁻¹ de AIA formaron raíces con 8.2 y 9.3 cm de longitud, respectivamente, resaltando la importancia del tipo y concentración de auxina.

Las auxinas inducen la formación y desarrollo de raíces en los brotes y tanto la cantidad y el tipo de auxina, así como la respuesta del explante depende de la especie a trabajar (George *et al.*, 2008). El uso de AIB en medios de cultivo ha demostrado ser eficiente para inducir el enraizado de brotes de *A. potatorum* (Bautista-Castellanos *et al.*, 2020), *A. angustifolia* (Enríquez-Valle *et al.*, 2005) y *Agave americana* (Miguel-Luna *et al.*, 2013).

Al final de la etapa de enraizado de brotes, las plantas tenían de 3.7 a 5.8 hojas, de 2.7 a 7.9 raíces, de 1.2 a 4.9 mm en la longitud de raíces, de 5.6 a 7.9 cm de altura y de 4.7 a 5.8 mm de diámetro de tallo (Cuadro 2). Todos los brotes incubados en laboratorio, en medios de cultivos con sales MS-60% con 0.5 o 1 mg L⁻¹ AIB, tenían raíces.

Cuadro 2. Características de plantas de *A. nussaviorum* al término de 50 días del enraizado de brotes en condiciones diferentes de cultivo e incubación.

SI	AIB (mg L ⁻¹)	CI	BR (%)	NHF	NRF	ALTF (cm)	LR (cm)	DT (mm)
60	0	L	75a	5.8 ± 0.5a	3.8 ± 0.8a	7.9 ± 0.8a	2.8 ± 0.9ab	5.7 ± 0.6a
60	0	In	91.7a	4.8 ± 0.4ab	5.5 ± 1.2a	5.9 ± 0.3a	2.9 ± 0.5ab	5.8 ± 0.4a

SI	AIB (mg L ⁻¹)	CI	BR (%)	NHF	NRF	ALTF (cm)	LR (cm)	DT (mm)
60	0.5	L	100a	4.7 ±0.4ab	7.6 ±1.8a	6.6 ±0.6a	2.6 ±0.3ab	5.3 ±0.3a
60	0.5	In	75a	5.3 ±0.4ab	4.5 ± 1a	6.3 ±0.3a	1.5 ±0.3b	5.3 ±0.3a
60	1	L	100a	4.1 ±0.3ab	6.5 ±1.9a	7.3 ±0.7a	4.1 ±1.7ab	5.2 ±0.2a
60	1	In	100a	5.1 ±0.3ab	7.9 ±1.2a	6.1 ±0.4a	3.3 ±0.5ab	4.9 ±0.3a
80	0	L	75.9a	4.3 ±0.3ab	5.4 ±0.8a	7.1 ±0.4a	4.9 ±0.8a	5 ±0.3a
80	0	In	66.4a	5.4 ±0.5ab	3 ±1.3a	6.7 ±0.5a	1.8 ±0.5ab	5.5 ±0.5a
80	0.5	L	91.7a	5 ±0.3ab	3.3 ±0.5a	6.5 ±0.5a	2.5 ±0.5ab	5.3 ±0.3a
80	0.5	In	91.7a	4.8 ±0.3ab	6.1 ±1.7a	6.3 ±0.6a	2.5 ±0.4ab	5.2 ±0.3a
80	1	L	44.5a	4.3 ±0.3 ab	5.1 ±1.4 a	6.4 ±0.5 a	2.3 ±0.7 ab	5.6 ±0.3a
80	1	In	75a	4.6 ±0.7ab	6.1 ±1.7a	6.1 ±0.6a	2.5 ±0.6ab	5.2 ±0.5a
100	0	L	41.7a	4.2 ±0.4ab	3.6 ±0.7a	6.9 ±0.8a	1.4 ±0.5b	5.5 ±0.5a
100	0	In	83.3a	4.6 ±0.4ab	3.6 ±0.7a	6.5 ±0.3a	2.5 ±0.6ab	4.7 ±0.4a
100	0.5	L	66.7a	3.7 ±0.3b	2.7 ±0.6a	6.9 ±0.5a	1.2 ±0.3b	5.3 ±0.4a
100	0.5	In	100a	4.7 ±0.3ab	7.3 ±0.9a	5.6 ±0.5a	3.2 ±0.2ab	4.4 ±0.2a
100	1	L	66.7a	4.7 ±0.3ab	4.9 ±1.3a	7.9 ±0.4a	2.9 ±0.9ab	5.6 ±0.3a
100	1	In	83.3a	4.3 ±0.5ab	5.5 ±1.1a	5.8 ±0.3a	2.6 ±0.4ab	4.8 ±0.2a

SI= concentración de sales inorgánicas; AIB= ácido indol-butírico; CI= condición de incubación; BR= brotes con raíz (%); L= laboratorio; In= invernadero; NHF= número de hojas final; NRF= número de raíz final; ALTF= altura final; LR= longitud de la raíz; DT= diámetro de tallo; en cada columna, medias con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05). Se presentan los promedios ± error estándar.

Todos los brotes incubados en invernadero, que estuvieron en MC con sales MS-60% y 1 mg L⁻¹ AIB o en MC con sales MS-100% y 0.5 mg L⁻¹ de AIB, formaron raíces adventicias. Enríquez-Valle *et al.* (2016) reportan que 93.6% de brotes de *A. potatozum* establecidos en MC con 50% sales minerales MS y 1 mg L⁻¹ AIB e incubados bajo iluminación fluorescente en laboratorio y radiación solar en invernadero, habían formado raíces a los 28 días de incubación.

Durante la incubación la calidad de luz proporcionada por iluminación artificial influye en las características fisiológicas y morfológicas. En el presente trabajo, la intensidad de luz proporcionada por las lámparas LED fue de 35 μmol m⁻² s⁻¹, sin variación; mientras que los cultivos incubados expuestas a radiación solar disminuida por malla sombra, durante la segunda mitad del periodo de enraizado, la irradiancia fue muy variable que a medio día estuvo en 400 μmol m⁻² s⁻¹, intensidad de luz muy superior y con un espectro de longitudes de onda más amplio, comparada a la iluminación artificial proporcionada en laboratorio.

Las plantas *in vitro* en la etapa de pre-aclimatación, e incubadas en invernadero, cuando transcurrió una semana en esta condición, sus hojas cambiaron de coloración en el envés, pasaron de un tono verde homogéneo a zonas con coloración rojiza que fue tornando a púrpura transcurridas las tres semanas de pre-aclimatación, así mismo las láminas foliares estaban desplegadas, ligeramente cóncavas hacia el haz y presentaban espinas en los bordes, además de tener una apariencia más rígida.

En cambio, las plantas que permanecieron en laboratorio conservaron sus hojas con coloración verde más homogénea y éstas fueron más grandes con pocas espinas en el borde de la lámina foliar. De acuerdo a Peng *et al.* (2008) la coloración rojiza y purpura es debido a la presencia de antocianinas que son metabolitos secundarios que protege a las hojas y al aparato fotosintético de daños provocados por la intensidad de luz alta.

Las características de las plantas debido al ambiente *in vitro* en que se obtienen podría tener consecuencias en la etapa posterior de aclimatación y repercutir en su adaptación en ambiente *ex vitro*. Teixeira-da Silva *et al.* (2005) describen que durante el enraizado de brotes *in vitro* de Musa, se sometieron a condiciones de pre-aclimatación y las plantas así obtenidas desarrollaron mayor vigor, pigmentación, actividad fotosintética, desarrollo de cutícula cerosa.

Las plantas con estas características, cuando se extraen del cultivo *in vitro* y establecen en contenedores con sustrato y ambiente *ex vitro*, se adaptan mejor que las plantas de cultivos *in vitro* incubados todo el tiempo en laboratorio con iluminación artificial. Souza *et al.* (2021) describen que en la micropropagación de *Cattleya warneri* T. Moore, los cultivos *in vitro* incubados en laboratorio tuvieron hojas que fueron 30% menos gruesas, comparadas con las plantas de cultivos incubados en invernadero.

En cultivos *in vitro* de *Vitis vinifera* L. (Li *et al.*, 2017) que fueron expuestos a iluminación de diferentes longitudes de onda: blanca, azul, verde y roja, se demostró que las plantas expresan diferentes grupos de genes, que afectan sus desempeños fisiológicos y morfología. La investigación de Borges *et al.* (2011) reportaron que plantas micropropagadas de *Dendranthema grandiflora* Tzevele cv. Rage a partir de cultivos *in vitro* expuestos a radiación solar en la etapa de pre-aclimatación, presentaron hojas más gruesas, mayor área foliar, alta densidad estomática y raíces más desarrolladas y mejoraron su capacidad fotosintética.

En el presente trabajo, las plantas de *Agave nussavium* que se obtuvieron en medios de cultivo en que se redujo la concentración de sales minerales e incorporó AIB y se incubaron exponiéndolos a radiación solar durante parte del tiempo de enraizado, tuvieron características morfológicas apropiadas que aseguran mayor supervivencia durante la aclimatación *ex vitro*. Además, se disminuyó la cantidad de sales inorgánicas en el medio de cultivo e incubar con radiación solar es una alternativa para disminuir costos de micropropagación.

Conclusiones

Todos los brotes de agave que para su enraizado *in vitro* se establecieron en medios de cultivo con sales inorgánicas a 60%, formaron raíces adventicias, comparados con brotes en medios de cultivo con 80 y 100% de concentración de sales inorgánicas. Los brotes establecidos en medio de cultivo con la auxina AIB formaron mayor cantidad de raíces adventicias que los brotes en medio de cultivo sin auxina. La mejor condición para enraizar brotes de *A. nussavium* fue en medio de cultivo con 60% sales inorgánicas MS y 0.5 o 1 mg L⁻¹ de AIB.

Los brotes incubados en laboratorio desarrollaron mayor altura que los brotes incubados en invernadero, pero éstas últimas desarrollaron hojas más gruesas y rígidas, pigmentación púrpura en el envés, características morfológicas que facilitarían su adaptación en ambiente *ex vitro*. Por tanto, el proceso de pre-aclimatación en invernadero es recomendable puesto que mejora la calidad de las plantas *in vitro*.

Bibliografía

- 1 Aguilar-Jiménez, D. y Rodríguez de la O, J. L. 2018. Micropropagación y aclimatación de Maguey Pitzometl (*Agave marmorata* Roetzl) en la mixteca poblana. Revista Colombiana de Biotecnología. 20(2):124-131. Doi: 10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.77084.
- 2 Arzate-Fernández, A. M.; Piña-Escutia, J. L.; Norman-Mondragón, T. H.; Reyes-Díaz, J. I.; Guevara-Suárez, K. L. y Vázquez-García, L. M. 2016. Regeneración de agave mezcalero (*Agave angustifolia* Haw.) a partir de embriones somáticos encapsulados. Revista Fitotecnia Mexicana. 39(4):359-366.
- 3 Bautista-Castellanos, A. I.; Enríquez-Valle, J. R.; Velasco-Velasco, V. A. and Rodríguez-Ortiz, G. 2020. Enraizado de brotes *in vitro* y aclimatación de plantas de *Agave potatorum* Zucc. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios. 7(3):1-13. Doi: <https://doi.org/10.19136/era.a7n3.2618>.
- 4 Borges, D. I.; Oliveira, M. C.; Dos Santos-Penoni, E.; Pereira-De Padua T. R.; Tavares-Braga, F. and Pasqual, M. 2011. Micropropagation of chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora* Tzevele cv. rage) under natural and artificial light in different concentration of the culture media. Plant Cell Cult Microprop. 7(1):1-8.

- 5 Cárdenas-Lara, A. y Villegas-Monter, A. 2002. Potencial osmótico del medio de cultivo con diferentes componentes para la propagación *in vitro*. Revista Fitotecnia Mexicana. 25(2):213-217.
- 6 Cruz-García, H.; Campos-Ángeles, G. V.; Enríquez-Valle, J. R.; Velasco-Velasco, V. A. y Rodríguez-Ortiz, G. 2017. Senescencia foliar en plantas micropropagadas de *Agave americana* durante su aclimatación. Revista Mexicana de Ciencias Agrícola. 8(2):381-391.
- 7 Cruz-García, H.; Enríquez-Valle, J. R.; Velasco-Velasco, V. A.; Ruiz-Luna, J.; Campos-Ángeles, G. V. y Aquino-García, D. E. 2013. Nutrimientos y carbohidratos en plantas de *Agave angustifolia* Haw. y *Agave karwinskii* Zucc. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 4(6):1161-1173.
- 8 Enríquez-Valle, J. R.; Carrillo-Castañeda, G. y Rodríguez, O, J. L. 2005. Sales inorgánicas y ácido indolbutírico en el enraizado *in vitro* de brotes de *Agave angustifolia*. Revista Fitotecnia Mexicana. 28(2):175-178.
- 9 Enríquez-Valle, J. R.; Antonio-Luis, K. L.; Rodríguez-Ortiz, G. and Campos-Ángeles, G. V. 2016. Effect of culture medium and incubation on the characteristics of micropropagated agave plants. Ciencia e Investigación Agraria. 43(2):26-272.
- 10 Enríquez-Valle, J. R.; Estrada-Silias, A.; Rodríguez-Ortiz, G.; Velasco-Velasco, V. A. y Campos-Ángeles, G. V. 2013. Sustrato y dosis de fertirriego en la aclimatación de vitroplantas de *Agave americana* var. *Oaxacensis*. Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias Uncuyo. 45(2):341-348. Doi: 10.4067/S0718-16202016000200009.
- 11 García-Mendoza, A. 2010. Revisión taxonómica del complejo *Agave potatorum* Zucc. (Agavaceae): nuevos taxa y neotipificación. Acta Botánica Mexicana. 91:71-93.
- 12 Garriga, C. M.; González, O, G.; Alemán, G. S.; Abreu C. E.; Quiroz B. K.; Caligari, P. D. S. and García-González, R. 2010. Management of auxin cytokinin interactions to improve micropropagation protocol of henequen (*Agave fourcroydes* Lem.). Chilean Journal of Agricultural Research. 70(4):545-551.
- 13 George, E. F. and Debergh, P. C. 2008. Micropropagation: uses and methods. *In*: plant propagation by tissue culture. Ed. Springer. Dordrecht. 29-64 pp.
- 14 George, E. F.; Hall, M. A. and De-Klerk, G. J. 2008. Plant growth regulators I: Introduction; auxins, their analogues and inhibitors in: Plant propagation by tissue culture 3rd Ed. The Background. Springer. 175-204 pp.
- 15 Li, C. X.; Xu, Z. G.; Dong, R. Q.; Chang, S. X.; Wang, L. Z.; Khalil-Rehman, M. and Tao, J. M. 2017. An RNA-Seq analysis of grape plantlets grown *in vitro* reveals different responses to blue, green, red led light and white, fluorescent light. Frontiers in Plant Science. 8(78):1-16. Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00078>.
- 16 Madrigal, L. R.; Pineda, F. E. and Rodríguez, O. J. L. 1990. Agave. *In*: handbook of plant cell culture. Ammirato, P. V.; Evans, D. A.; Sharp, W. R. and Bajaj, Y. P. S. Ed. McGraw-Hill Publishing Company. New York, USA. 206-227 pp.
- 17 Miguel-Luna, M. E.; Enríquez-Valle, J. R.; Velasco-Velasco, V. A.; Villegas-Aparicio, Y.; Carrillo-Rodríguez, J. C. y Rodríguez-Ortiz, G. 2013. Composición del medio de cultivo y la incubación para enraizar brotes de Agave. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 4(6):1151-1159.
- 18 Molina-Guerrero, J. A.; Botello-Álvarez, J. E.; Estrada-Baltazar, A.; Navarrete-Bolaños, J. L.; Jiménez-Islas, H.; Cárdenas-Manríquez, M. y Rico-Martínez, R. 2007. Compuestos volátiles en el mezcal. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 6(1):41-550.
- 19 Monja-Mio, K. M.; Olvera-Casanova, D.; Herrera-Herrera, G.; Herrera-Alamillo, M. A.; Sánchez-Teyer, F. L. and Robert, M. L. 2020. Improving of rooting and *ex vitro* acclimatization phase of *Agave tequilana* by temporary immersion system (BioMINT™).

- In vitro* Cellular & Developmental Biology Plant. 56:662-669. <https://doi.org/10.1007/s11627-020-10109-5>.
- 20 Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15(3):473-497.
 - 21 Peng, M.; Hudson, D.; Schofield, A.; Tsao, R.; Yang, R.; Gu, H.; Bi, Y. and Rothstein, S. J. 2008. Adaptation of Arabidopsis to nitrogen limitation involves induction of anthocyanin synthesis which is controlled by the NLA gene. *Journal of Experimental Botany*. 59(11):2933-2944. Doi: 10.1093/jxb/ern148.
 - 22 Pérez-Santiago, R.; Enríquez-Valle, J. R.; Castañeda-Hidalgo, E.; Velasco-Velasco, V. A.; Rodríguez-Ortiz, G. y Campos-Ángeles, G. V. 2014. Dosis de fertirriego durante la aclimatización de plantas de *Agave americana* micropropagadas. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*. 1(1):20-27.
 - 23 Pospíšilová, J.; Synková, H.; Haisel, D. and Semorádová, S. 2007. Acclimation of plantlets to *ex vitro* conditions: effects of air humidity, irradiance, CO₂ concentration and abscisic acid (a review). *Acta Horticulturae*. 748:29-38.
 - 24 Pospíšilová, J.; Ticha, I.; Kadleček, P.; Haisel, D. and Plzánková, Š. 1999. Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biologia Plantarum*. 42(4):418-479.
 - 25 Pospíšilová, J.; Haisel, D.; Synková, H.; #atský, J.; Wilhelmová, N.; Plzánková, Š.; Procházková, D. and Šrámek, F. 2000. Photosynthetic pigments and gas exchange during *ex vitro* acclimation of tobacco plants as affected by CO₂ supply and abscisic acid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 61:125-133.
 - 26 Puente-Garza, C. A.; Meza-Miranda, C.; Ochoa-Martínez, D. and García-Lara, S. 2017. Effect of *in vitro* drought stress on phenolic acids, flavonols, saponins, and antioxidant activity in *Agave salmiana*. *Plant Physiology and Biochemistry*. 115:400-407. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.04.012>.
 - 27 Ríos-Ramírez, S. C.; Enríquez-Valle, J. R.; Rodríguez-Ortiz, G. and Ruíz-Luna, J. 2017. Benzylaminopurine and indol-3 acetic acid concentration in *in vitro* proliferation of *Agave angustifolia* adventitious shoots. *Ciencia e Investigación Agraria*. 44(3):285-294. Doi: 10.7764/rcia.v44i3.1810.
 - 28 Sánchez, A.; Coronel-Lara, Z.; Gutiérrez, A.; Vargas, G.; Coronado, M. L. y Esqueda, M. 2020. Aclimatación y trasplante de vitroplantas de *Agave angustifolia* Haw. en condiciones silvestres. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 11(7):1593-1605.
 - 29 Silos-Espino, G.; González-Cortés, N.; Carrillo-López, A.; Guevara-Lara, F.; Valverde-González, M. E. and Paredes-López, O. 2007. Chemical composition and *in vitro* propagation of *Agave salmiana* "Gentry". *Journal of Horticultural Science & Biotechnol.* 82(3):355-359. Doi: <http://dx.doi.org/10.1080/14620316.2007.11512242>.
 - 30 SIAP. 2021. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola 2013 en México. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México. <https://www.gob.mx/siap>
 - 31 Sosa-Castillo, M.; Alemán-García, S.; Pérez-Hernández, Y.; Abreu-Cruz, E.; Sosa-Castillo, D. y Gonzales-Oramas, G. 2014. Caracterización de la lámina foliar de plantas de *Agave fourcroydes* Lem. obtenidas por propagación asexual. *Biotecnología Vegetal*. 14(1):37-44.
 - 32 Souza, F. L.; Leal, G. A.; Silva, C. V.; Moura-Assis, F. A. M.; Walter, R.; Massi, F. T.; Rangel-Silva, J.; Amaral, G. G.; Pereira, R. W.; Vendrame, W. A. and Campostrini, E. 2021. Better light spectral quality and thermal amplitude inside the greenhouse stimulate growth and improve acclimatization of *in vitro* grown *Cattleya warneri* T. Moore. *In vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*. 57:883-896. Doi: <https://doi.org/10.1007/s11627-021-10162-8>.

- 33 Teixeira-da Silva, J. A.; Dam, D. T. G. and Tanaka, M. 2005. *In vitro* acclimatization of banana and Cymbidium. *International Journal of Botany*. 1(1):41-49. Doi: 10.3923/ijb.2005.41.49.
- 34 Valenzuela-Sánchez, K. K.; Juárez-Hernández, R. E.; Cruz-Hernández, A.; Olalde-Portugal, V.; Valverde, M. E. and Paredes-López, O. 2006. Plant regeneration of *Agave tequilana* by indirect organogenesis. *In vitro Cellular Developmental Biology-Plant*. 42(4):336-340. Doi: 10.1079/IVP2006788.



Brotos enraizados de *Agave nussaviorum* García-Mend. variando sales inorgánicas, AIB e incubación

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista mexicana de ciencias agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 June 2024
Date accepted: 01 October 2024
Publication date: 08 January 2025
Publication date: Nov-Dec 2024
Volume: 15
Issue: 8
Electronic Location Identifier: e3205
DOI: 10.29312/remexca.v15i8.3205

Categories

Subject: Artículo

Palabras clave:

Palabras clave:

Agave nussaviorum
micropropagación
raíces adventicias

Counts

Figures: 1

Tables: 2

Equations: 0

References: 34

Pages: 0