

Contaminación microbiana en etapas de propagación *in vitro* de *Agave angustifolia* Haw.

Fátima Manuel-Zárate¹
José Raymundo Enríquez-del Valle^{1,5}
Alfonso Vásquez-López²
Gerardo Rodríguez-Ortiz¹
Vicente Arturo Velasco-Velasco¹

1 Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Ex hacienda Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México. CP. 71230.

2 Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional-Unidad Oaxaca. Calle Hornos núm. 1003, colonia Noche Buena, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México. CP. 71230.

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

Resumen

Cuando los tejidos de tallo de *Agave angustifolia* se establecen *in vitro* ocurre frecuentemente contaminación microbiana, por lo que se evaluó el uso de antibióticos para resolver este problema. El objetivo de este trabajo fue determinar el porcentaje de tejidos de tallo que se establecen asépticos y con respuesta morfogénica en tres situaciones: 1) durante el establecimiento *in vitro* (etapa I); 2) en explantes que en la etapa I ocurrió organogénesis con formación de brotes, pero estaban contaminados con bacterias, y éstos se trataron con antibióticos para eliminar contaminación; y 3) en brotes adventicios asépticos obtenidos en etapa I y transferidos al medio de multiplicación de propágulos (etapa II). Se evaluaron los porcentajes de cultivos asépticos, tejidos viables y respuesta organogénica. Los resultados mostraron que solo entre 3.68 y 8.73% de los tejidos de tallo se lograron asépticos durante la etapa I. Pero, al aplicar antibióticos a brotes ya formados pero contaminados por bacterias en esta etapa, se recuperó la asepsia en 52.5% de los cultivos. Por otro lado, los brotes adventicios que fueron asépticos desde la etapa I y se trasladaron al medio de multiplicación (etapa II) mantuvieron la asepsia en un 89.88%, todos fueron viables y mostraron formación de nuevos brotes. Estos resultados indican que el tratamiento con antibióticos en tejidos de tallo ya inducidos es una estrategia efectiva para rescatar cultivos contaminados y que la transferencia de brotes asépticos a la etapa de multiplicación permite mantener cultivos asépticos con respuesta morfogénica.

Palabras clave:

antibióticos, contaminación microbiana, microorganismos, organogénesis.



Introducción

El género *Agave* de la familia *Asparagaceae* incluye numerosas especies adaptadas a condiciones áridas. Estas especies son importantes económica y culturalmente, ya que de ellas se obtienen azúcares, fibras, bebidas alcohólicas y otros productos (Domínguez-Rosales, 2008). En México, según el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2019), los cultivos de agave se cultivan en 120 000 ha, distribuidas en 363 municipios de 15 entidades federativas, de las cuales el 14.6% se destina a la producción de mezcal. Las entidades con mayor superficie de agaves mezcaleros son Oaxaca (55.4%), Guanajuato (14.9%) y Guerrero (8.7%).

En 2024, Oaxaca reportó 11 774.9 ha cultivadas con agaves (DGSIA, 2024), de las cuales el 80% corresponde a *A. angustifolia* Haw. conocido comúnmente como 'espadín' (Jarquín-Rosales *et al.*, 2022), siendo esta especie la principal materia prima para elaborar mezcal. La reproducción sexual de esta especie es poco y se recurre a la propagación asexual, principalmente mediante hijuelos de rizoma (Domínguez-Rosales, 2008).

El cultivo de tejidos vegetales (CTV) ofrece una alternativa de propagación asexual eficiente, que permite obtener plantas vigorosas, sanas, genéticamente uniformes y rejuvenecidas en corto tiempo (Fortes y Pais, 2000; Zeng *et al.*, 2007). En agaves, la micropropagación se basa en la activación de meristemas axilares o en la morfogénesis adventicia y *de novo* (Robert *et al.*, 1992; Enríquez-del Valle, 2008; Millán-Soto *et al.*, 2016; Sánchez *et al.*, 2020). El protocolo general consta de cinco etapas (George y Debergh, 2008; Enríquez-del Valle, 2008; Ríos-Ramírez *et al.*, 2018): 0) selección de plantas sobresalientes y su preparación en vivero (sanidad y condición fisiológica óptima); 1) establecimiento aséptico del explanto; 2) multiplicación de propágulos; 3) enraizamiento de brotes; y 4) aclimatación de plantas micropropagadas en invernadero.

Se ha reportado la propagación *in vitro* de varias especies de *Agave*, incluyendo *A. tequilana* (Morales *et al.*, 2015), *A. fourcroydes* (Abreu *et al.*, 2016) y *A. angustifolia* (Miguel-Luna *et al.*, 2013; Ríos-Ramírez *et al.*, 2018). En CTV se presentan situaciones a resolver: Alta contaminación microbiana (hongos y bacterias endófitas latentes) que puede causar pérdidas del 30 al 70% de los cultivos (Enjalric *et al.*, 1988; Leifert y Waites, 1992; Leifert y Cassells, 2001), oxidación fenólica de los tejidos cortados (Azofeifa, 2009), respuesta diferencial según genotipo, tipo y edad del explante, y condición fisiológica, presencia de bacterias endófitas asintomáticas (Pérez-Pazos *et al.*, 2023). Los medios de cultivo ricos en nutrientes favorecen el crecimiento de microorganismos contaminantes (Altan *et al.*, 2010).

Con el fin de optimizar el protocolo de micropropagación, en el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos específicos: 1) evaluar la cantidad de explantes de tallo que logran establecerse de manera aséptica y con respuesta morfogenética en la etapa I (establecimiento); 2) determinar la eficiencia del uso de antibióticos para erradicar microorganismos en explantes contaminados durante la etapa I; y 3) cuantificar la proporción de cultivos de brotes que mantienen su asepsia al ser transferidos de la etapa I a la etapa II (multiplicación). De esta manera, se buscó contribuir al desarrollo de un protocolo robusto y reproducible que permitió la producción masiva de plantas seleccionadas, sanas para el establecimiento de plantaciones comerciales de agave mezcalero de alta productividad y calidad.

Material y métodos

Lugar de trabajo y material vegetal. La investigación se realizó en el vivero y el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca, en Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México. Se utilizaron tres tipos de material vegetal: 1) de plantas en vivero se obtuvieron tejidos de tallo para establecerlos asépticos *in vitro*; 2) brotes adventicios en cultivos *in vitro* contaminados; y 3) brotes adventicios en cultivos asépticos *in vitro*.

Obtención y establecimiento de explantes de tallo

Tratamientos 1 y 2. Plantas micropropagadas de *Agave angustifolia* Haw. de 2-5 años, creciendo en vivero, estuvieron durante seis meses en macetas de 5 dm³ con sustrato de arena, fertirrigadas cada cuatro días con solución Steiner (50%) y asperjadas dos veces/semana con Benomilo® y Oxitetraciclina®. Los tallos se extrajeron, se eliminaron hojas y raíces y se desinfectaron en laboratorio según: tratamiento 1 (tallos de plantas de 2 años): lavado con solución detergente 0.1% (15 min), champú 0.2% v/v (5 min), Oxitetraciclina® 0.1% (20 min), hipoclorito de sodio 0.6% (15 min), 3-5 enjuagues con agua esterilizada. Tratamiento 2 (tallos de plantas de cuatro años): lavado con solución detergente 0.1% (15 min), champú 0.2% v/v (5 min), hipoclorito de sodio 0.6% (15 min), cinco enjuagues con agua esterilizada.

En condiciones de la cámara de aire filtrado de flujo laminar horizontal, el uso de herramientas de disección esterilizadas, los tallos se cortaron en secciones de 1.5 × 1.5 × 0.3 cm y se cultivaron en medio MS (Murashige y Skoog, 1962) complementado con: vitaminas (piridoxina, tiamina, ácido nicotínico 0.2 mg L⁻¹ cada una), sacarosa 25 g L⁻¹, inositol 0.1 g L⁻¹, ácidos ascórbico y cítrico 0.05 g L⁻¹ cada uno, BAP 1 mg L⁻¹, AIA 0.15 mg L⁻¹. El pH se ajustó a 5.8 antes de agregar agar 6 g L⁻¹. Se distribuyeron 20 ml a cada frasco de 145 cm³, se colocó la tapa de polipropileno y se esterilizaron en autoclave durante 15 min a 120 °C y 1.2 kg cm⁻². Los tallos se cortaron asépticamente en secciones de 1.5 × 1.5 × 0.3 cm y se establecieron en el medio de cultivo. Se colocó la tapa y selló con polietileno adherente, para incubarlos durante 10 semanas expuestos a iluminación LED (35 μmol m⁻² s⁻¹), fotoperiodo 16/8 h luz/oscuridad y temperatura 15-29 °C.

Subcultivo de brotes adventicios asépticos (tratamiento 3). Racimos de 3-5 brotes adventicios asépticos obtenidos por organogénesis se separaron en grupos de 2-3 brotes y se subcultivaron en el medio de cultivo similar, para inducir el desarrollo de brotes, bajo similares condiciones de incubación.

Recuperación de brotes de cultivos contaminados (tratamiento 4). Brotes adventicios contaminados por bacterias se extrajeron del cultivo *in vitro* y desinfectaron con etanol 70% (15 s), se secaron con papel esterilizado y se establecieron en medio MS gelificado que contenía cloranfenicol 100 mg L⁻¹ y ampicilina 100 mg L⁻¹. Se incubaron en las mismas condiciones que los demás tratamientos (Ríos-Ramírez *et al.*, 2018).

Diseño experimental

El experimento se estableció según un diseño completamente al azar. Se establecieron 724 cultivos *in vitro*, distribuidos así: T1, 190 cultivos; T2, 159 cultivos; T3, 336 cultivos; T4, 45 cultivos. Que, para evaluar los porcentajes de cultivos asépticos y contaminados, de cada tratamiento se tuvieron 5, 6, 36 y 6 repeticiones, respectivamente. Y cada repetición con 13 a 14 cultivos.

Las variables evaluadas fueron: (%) contaminación, (%) de cultivos asépticos viables (aumento de volumen debido a divisiones celulares, cambio de pigmentación de color amarillo muy claro a verde, debido a clorofila; cambio de textura de liso a granulado, debido a posibles iniciales de brotes) y % de cultivos viables en que hubo formación de brotes. Los datos en porcentajes se transformaron con arcsen (\sqrt{x}), el resto de los datos se analizó sin transformar. Se realizó Anova y prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) y para las rutinas de análisis estadísticos se usó el paquete computacional SAS ver. 9.4 (2019).

Resultados y discusión

En *Agave angustifolia* se ha reportado su micropropagación con descripción de todas las etapas desde el manejo de las plantas durante la etapa 0 en vivero y las posteriores de cultivo *in vitro*: establecimiento de cultivos asépticos, multiplicación de propágulos mediante formación de brotes adventicios, enraizado de los brotes, la transferencia de las plantas micropropagadas a sustrato e invernadero para su aclimatación (Ríos-Ramírez *et al.*, 2018). También se ha descrito el desarrollo de las plantas en vivero hasta que tienen tamaño para su transferencia a campo. En 1987 en

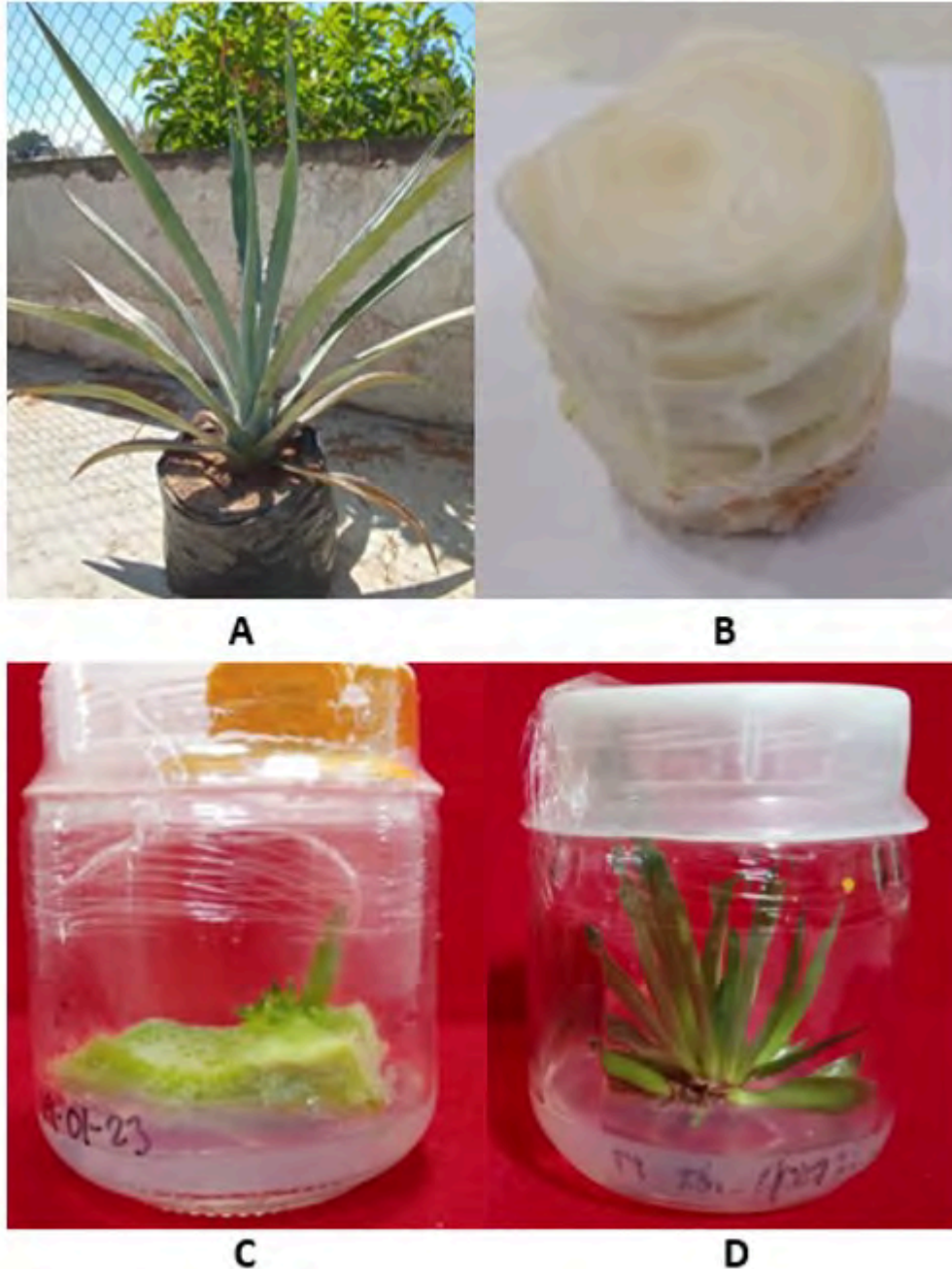
Oaxaca, México, se establecieron las primeras ocho mil plantas micropropagadas en cultivos en campo y se cosecharon de 7 a 9 años después, para su uso como materia prima para la agroindustria de mezcal (Enríquez-del Valle, 2008).

La experiencia muestra que es posible evaluar modificaciones en las diversas etapas del procedimiento para aumentar su eficiencia. Y el presente trabajo fue para reducir los niveles de contaminación en la etapa I. Abreu *et al.* (2016) al propagar *A. fourcroydes* usaron antibióticos en el medio de cultivo, hasta 50 mg L⁻¹ de Ticarcilina y hasta 100 mg L⁻¹ de Cefotaxima, que inhibieron el crecimiento de bacterias contaminantes. Mientras que para cultivos *in vitro* de *A. tequilana*, Obledo-Vázquez *et al.* (2004) incorporaron al medio de cultivo un extracto comercial de toronja (citricidal®), como alternativa al uso de antibióticos.

La Figura 1 muestra la condición de las plantas en la etapa 0 en vivero (Figura 1a), los tallos que se llevaron de vivero a laboratorio (Figura 1b), tejidos de tallo que en la etapa I se establecieron en medio de cultivo (Figura 1c) y brotes adventicios que se formaron en tejidos de tallo, vía organogénesis (Figura 1d).



Figura 1. Micropropagación de *A. angustifolia*. a) planta en vivero en la etapa 0; b) tallo que se llevó al laboratorio; c) explanto de tallo de incubación 30 días *in vitro*, su coloración tornó a verde, como muestra de viabilidad y a los 50 días se observaron pequeños brotes; y d) racimo de brotes adventicios formados en tejidos de tallo.



Cuando el cultivo *in vitro* inicia a partir de tejidos del tallo, que es una estructura de la planta que en vivero está en estrecho contacto con el suelo y en sus tejidos hay poblaciones de microorganismos endógenos, la eficiencia de tratamientos para eliminar microorganismos es limitada. Ríos-Ramírez *et al.* (2018) reportaron que, al micropropagar *A. angustifolia*, en la etapa I, entre 38.7 y 83.4% de los cultivos se contaminó, mientras que López-Acevedo *et al.* (2018) reportan que 29.8% de los tejidos de tallo que establecieron *in vitro*, resultaron asépticos, viables, con formación de brotes adventicios.

En los trabajos citados, así como en el presente, se coincide con Debergh y Maene (1981) sobre la importancia de la etapa 0 de manejo previo de las plantas en vivero, para reducir la incidencia de contaminación de tejidos vegetales cuando se establezcan *in vitro*. Los análisis de varianza (Cuadro 1) muestran que las etapas de propagación tuvieron diferencias de efecto altamente significativas ($p \leq 0.01$) en los porcentajes de cultivos que se obtuvieron asépticos, de cultivos contaminados, de cultivos que se obtuvieron viables, y efectos significativos ($p \leq 0.05$) en la cantidad de brotes formados en los explantos.

Cuadro 1. Resumen de análisis de varianza de porcentajes de cultivos asépticos, contaminados, cultivos viables y número de brotes.

FV	GL	Arcsen aséptico (%)	Arcsen contaminados (%)	Arcsen viables (%)	NB
Trat	3	9 980**	10 633**	10 679.91**	0.77*
Error	49	256.13	164.21	123.09	0.17
Total	52				

FV= fuentes de variación; GL= grados de libertad; Trat= tratamiento, Arcsen= arco seno; NB= número de brotes; *= valor de F significativo ($p \leq 0.05$); **= valor de F altamente significativo ($p \leq 0.01$); ns= valor de F no significativo ($p > 0.05$).

Obtención de tejidos de tallo de plantas en vivero para el establecimiento de cultivos asépticos

Conforme los tejidos de agave son de edad mayor se dificulta cortarlos debido a que sus fibras tienen paredes celulares de grosor mayor en comparación a tejidos de tallos jóvenes. Así también aumenta la probabilidad de tener en sus tejidos microorganismos endófitos, por lo que se tomó en cuenta este factor. Durante los primeros 10 días de incubación de cultivos de la etapa I, se diagnosticaron los microorganismos contaminantes de los géneros *Fusarium* y *Aspergillus*, así como bacterias gram negativas, en los tejidos cultivados *in vitro*, las evidencias muestran que del total de tejidos de tallo de agave que se establecieron *in vitro*, solo el 3.68% y 8.73% de los tejidos de tallo en el tratamiento 1 y en el tratamiento 2, se lograron asépticos, respectivamente.

Sin embargo, algunos cultivos de tejidos de tallo que se contaminan se mantienen viables y ocurrió la organogénesis de brotes, por lo que estos tejidos de tallo se sometieron al tratamiento 4 y en 52% de éstos se logró eliminar los microorganismos (Cuadro 2).

Cuadro 2. Cultivos *in vitro* de tejidos de tallo contaminados o asépticos, y formación de brotes adventicios.

Tratamiento	Aséptico (%)	C (%)	CAV (%)	NBN
1) etapa I	3.68 ±3.6 d	96.32 ±3.68 a	11.12 ±11.12 c	0.4 ±0.4 b
2) etapa I	8.73 ±7.14 c	91.27 ±7.14 b	57.33 ±29.78 b	1.33 ±0.66 a
3) etapa II	89.88 ±1.68 a	10.12 ±1.68 d	100 ±0 a	1.07 ±0.04 a
4) etapa II	52.5 ±13.76 b	47.5 ±13.76 c	100 ±0 a	1 ±0 a

T1= explantos de plantas de dos años y T2= explantos de plantas de cinco años, para el establecimiento de cultivos asépticos; T3= brotes de cultivos asépticos; T4= brotes obtenidos *in vitro*, contaminados, que se desinfectaron superficialmente y establecieron en medio de cultivo con antibióticos; C= porcentajes de contaminados; CAV= porcentajes asépticos viables; NBN= número de brotes nuevos. Los datos muestran el promedio ±error estándar. En cada columna promedios con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).



Discusión

La contaminación microbiana en la etapa I se debió a microorganismos endógenos presentes en los tejidos del tallo, aun cuando se les aplicaron ya que los fungicidas y antibióticos aplicados en vivero (etapa 0). La desinfección superficial empleada resultó ineficaz contra estos contaminantes internos, pues los desinfectantes actúan superficialmente. Se descarta contaminación por manipulación inadecuada, esterilización deficiente de materiales o medios de cultivo. Similarmente, Sánchez-Cuevas y Salaverría (2004) señalan que en fresa la pubescencia y el contacto con el suelo favorecen la presencia de endófitos difíciles de eliminar al establecer cultivos *in vitro*.

Brotos adventicios provenientes de cultivos asépticos

Al lograr cultivos de tejidos de tallo en la etapa I, asépticos y viables, en los que ocurrió la formación de brotes, éstos se transfirieron a nuevo medio de cultivo. Transcurridas ocho semanas el 89.88% de cultivos mantuvo su condición de asepsia, el 100% fueron viables y en todos ocurrió la formación de 1.07 nuevos brotes en promedio (Cuadro 2). El porcentaje alto de cultivos viables, en que ocurrió formación de nuevos brotes, en la etapa II, es debido a que los materiales vegetales ya no se someten al procedimiento de desinfección superficial, pues dicho procedimiento que en la etapa I se aplicó a los tejidos vegetales para eliminar microorganismos, también daña al material vegetal.

Brotos adventicios en cultivos contaminados

Cuando en la etapa I, ocurrió la organogénesis de brotes adventicios a partir de tejidos de tallo, pero estos cultivos estaban contaminación por bacterias, se extrajeron del medio de cultivo para someterlos al tratamiento 4, que incluyó la desinfección superficial y entonces se establecieron en un medio de cultivo para inducir organogénesis, pero que además contenía los antibióticos cloranfenicol 100 mg L⁻¹ y ampicilina 0.1 g L⁻¹. Transcurridos 20 días de incubación el 52.5% ya no mostraban crecimiento de hongos o bacterias, significativamente (Tukey, 0.05) menor en comparación a la contaminación de cultivos en la etapa I. En ensayos previos a este experimento se determinaron las dosis de antibióticos usadas en el tratamiento 4. Cuando las sustancias cloranfenicol y ampicilina se agregaron al medio de cultivo en concentraciones mayores a las que se indican como efectivas, produjeron fitotoxicidad, ocurriendo necrosis en los tejidos.

Conclusiones

En cultivos *in vitro* de *Agave angustifolia*, el nivel de contaminación microbiana varía según la etapa de propagación. En la etapa I, la mayoría de las contaminaciones (91.2-96.3%) provienen de microorganismos endógenos presentes en los tejidos del tallo, que no se eliminan con fungicidas, antibióticos en vivero ni desinfección superficial. Sin embargo, en brotes adventicios ya formados pero contaminados por bacterias, un tratamiento adicional de desinfección más establecimiento en medio de cultivo con antibióticos permitió recuperar el 52.5% de los explantos como asépticos.

La procedencia del material vegetal es clave para el éxito de la propagación *in vitro*. Cuando se partió de cultivos asépticos en la etapa I y se subdividieron los racimos de brotes para la etapa II (multiplicación de propágulos), la contaminación se redujo drásticamente a solo 10.1%, todos los cultivos permanecieron viables y se obtuvo formación de nuevos brotes.

Agradecimientos

Los datos del artículo se obtuvieron por el apoyo de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), México, a la primera autora con una beca nacional para estudios de posgrado.

Bibliografía

- 1 Abreu, E.; Sosa-Castillo, M.; Ascunce-Sol G. y González, G. 2016. Efecto de antibióticos en la propagación *in vitro* de *Agave fourcroydes* Lem. *Biotecnología Vegetal*. 16(1):31-36. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/507>.
- 2 Altan, F.; Bürün, B. and Sahin, N. 2010. Fungal contaminants observed during micropropagation of *Lilium candidum* L. and the effect of chemotherapeutic substances applied after sterilization. *African Journal of Biotechnology*. 9(7):991-995.
- 3 Azofeifa, A. 2009. Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agronomía Mesoamericana*. 20(1):153-175. <https://archivo.revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/4990/4799>.
- 4 Cruz-Hernández, H.; Enríquez-Valle, J. R.; Velasco-Velasco, V. A.; Ruiz-Luna, J.; Campos-Ángeles, G. V. y Aquino, D. E. 2013. Nutrientes y carbohidratos en plantas de *Agave angustifolia* Haw. y *Agave karwinskii* Zucc. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 6(4):1161-1173. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v4nspe6/v4spe6a8.pdf>.
- 5 Debergh, P. C. and Maene, L. J. 1981. A Scheme for commercial propagation of ornamental plants by tissue culture. *Scientia Horticulturae*. 14(4):335-345. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(81\)90047-9](https://doi.org/10.1016/0304-4238(81)90047-9).
- 6 DGSIA. 2024. Dirección General del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola. <https://nube.agricultura.gob.mx/cierre-agricola/>.
- 7 Domínguez-Rosales, M. S.; González-Jiménez, M. L.; Rosales-Gómez, C.; Quiñones-Valles, C.; Delgadillo, D. S.; Mireles-Ordaz, S. J. y Pérez-Molphe, B. E. 2008. El cultivo *in vitro* como herramienta para el aprovechamiento, mejoramiento y conservación de especies del género agave. *Investigación y Ciencia*. Universidad Autónoma de Aguascalientes. 41:53-62. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6104556>.
- 8 Enjalric, F.; Carron, M. P. and Lardet, L. 1988. Contamination of primary cultures in tropical areas: the case of *Hevea brasiliensis*. *Acta Horticulturae*. 225:57-66. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1988.225.6>.
- 9 Enríquez-Valle, J. R. 2008. La propagación y crecimiento de agaves. Fundación Produce Oaxaca, AC. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO). Oaxaca. México. ISBN: 978-607-00. 46 p.
- 10 Fortes, A. M. and Pais, M. S. 2000. Organogenesis from internode-derived nodules of *Humulus lupulus* var. Nugget (Cannabaceae): histological studies and changes in the starch content. *American Journal of Botanic*. 87(7):971-979. <https://doi.org/10.2307/2656996>.
- 11 George, E. F. and Debergh, P. C. 2008. Micropropagation: uses and methods. *In*: George, E. F.; Hall, M. and De Klerk, G. *Plant propagation by tissue culture*. 3er Ed. The Background. Springer. 29-64 pp.
- 12 González-González, L. R.; García-Pérez, M. I. B.; Gutiérrez, L. K. y García, A. 2007. Obtención de azúcares fermentables a partir de inulinasas inmovilizadas por el método del sol-gel. *Rev. Cienc. Tecnol*. 6(6):106-111.
- 13 Jarquín-Rosales, D.; Enríquez-Valle, J. R.; Alpuche-Osorno, J. J.; Rodríguez-Ortiz, G.; Martín, M. P. and Campos-Ángeles, G. V. 2022. The effects of fertirrigation and *Azospirillum brasilense* inoculation on photosynthetic compounds of *Agave angustifolia*. *Australian Journal of Crop Science*. 16:162-168. Doi: <http://doi.org/10.21475/ajcs.22.16.01.p3280>.
- 14 Leifert, C. and Cassells, A. C. 2001. Microbial hazards in plant tissue and cell cultures. *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*. 37(2):133-138. <https://doi.org/10.1007/s11627-001-0025-y>.

- 15 Leifert, C. and Waites, W. M. 1992. Bacterial growth in plant tissue culture media. *Journal of Applied Bacteriology*. 72:460-466. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1992.tb01859.x>.
- 16 Leifert, C.; Ritchie, J. Y. and Waites, W. M. 1991. Contaminants of plant tissue cultures. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 37(2):133-138. <https://doi.org/10.1007/BF00303371>.
- 17 López-Acevedo, L.; Merino-Pérez, Y. E.; Enríquez-Valle J. R.; Rodríguez-Ortiz, G. and Lagunas-Sánchez, Z. C. 2018. Organogénesis *in vitro* en tejidos de tallo de *Agave marmorata* y *Agave angustifolia*. *Revista Mexicana de Agroecosistemas*. 5(2):20-27. <https://revistaremaeitvo.mx/index.php/remae/article/view/165>.
- 18 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. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v4nspe6/v4spe6a7.pdf>.
- 19 Millán-Soto, G.; Gutiérrez, A.; Esqueda, M.; Gardea, A.; Tiznado, M. and Orozco, J. A. 2016. Respiratory metabolism of *Agave angustifolia* Haw. Clonal lines at different temperatures. *Plant Cell Tissue Organ Cult.* 125(1):71-80. <https://doi.org/10.1007/s11240-015-0930-0>.
- 20 Morales-González, B. and Núñez-Palenius, H. G. 2015. Micropropagación de *Agave tequilana* Weber variedad Azul 'El coronel' en un sistema de inmersión temporal (SIT). *Jóvenes en la Ciencia*. 1(2):77-82. <http://repositorio.ugto.mx/handle/20.500.12059/2307>.
- 21 Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A Revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15(3):473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- 22 Obledo-Vázquez, E. N.; Flores-Verduzco, N. y Cervantes-Martínez, J. 2004. Detección del efecto de un extracto vegetal antimicrobiano sobre plantas de agave (*Agave tequilana* Weber var. azul) Cultivadas *in vitro* utilizando fluorescencia inducida por láser (LIF). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 22(3):328-332. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61222302.pdf>.
- 23 Pancaningtyas, S. 2015. Study on the presence and influence of phenolic compounds in callogenesis and somatic embryo development of cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Pelita Perkebunan*. 31(1):14-20.
- 24 Pérez-Pazos, J.; Rosero, A.; Cardinale, M. and Gámez, R. 2023. Development of control strategies for bacteria and fungi associated with a micropropagated new cultivar of orange-fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* cv. Agrosavia-Aurora). *Hortic. Environ. Biotechnol.* 64:859-875. <https://doi.org/10.1007/s13580-023-00521-2>.
- 25 Ríos-Ramírez, S. C.; Enríquez-Valle, J. R.; Rodríguez-Ortiz, G.; Ruíz-Luna, J. and Velasco-Velasco, V. A. 2018. *In vitro* formation of adventitious shoots on culinary tissue of physiologically contrasting *Agave angustifolia* plants. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 30(1):285-294.
- 26 Robert, M. L.; Herrera, J. L.; Chan, J. L. and Contreras, F. 1992. Micropropagation of *Agave* spp. *In: Bajaj, Y. P. S. Ed. Biotechnology in agriculture and forestry*. 19. Springer-Verlag. 306-329 pp. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-07770-2-19>.
- 27 Sánchez, A.; Coronel-Lara, Z.; Gutiérrez, A.; Vargas, G.; Coronado, M. L. y Esqueda, M. 2020. Aclimatación y trasplante de vitro plantas de *Agave angustifolia* Haw. en condiciones silvestres. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas*. 11(7):1593-1605. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i7.2403>.
- 28 Sánchez-Cuevas, J. L. y Salaverría, J. 2004. Control de la oxidación y la contaminación en el cultivo *in vitro* de fresa (*Fragaria x ananassa* Duch). *Revista Científica UDO Agrícola*. 4(1):21- 26. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2221549>.
- 29 SAS/ETS 9.4. 2019. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA.

- 30 SIAP. 2019. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola>.
- 31 Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil*. 15:134-154.
- 32 Zeng, F.; Zhang, X.; Cheng, L.; Hu, L.; Zhu, L.; Cao, J. and Guo, X. 2007. A draft gene regulatory network for cellular totipotency reprogramming during plant somatic embryogenesis. *Genomics*. 90:620-628.



Contaminación microbiana en etapas de propagación *in vitro* de *Agave angustifolia* Haw.

Journal Information
Journal ID (publisher-id): remexca
Title: Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas
Abbreviated Title: Rev. Mex. Cienc. Agríc
ISSN (print): 2007-0934
ISSN (electronic): 2007-9934
Publisher: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias

Article/Issue Information
Date received: 01 December 2025
Date accepted: 01 March 2026
Publication date: 01 February 2026
Publication date: Feb-Mar 2026
Volume: 17
Issue: 2
Electronic Location Identifier: e4251
DOI: 10.29312/remexca.v17i2.4251

Categories

Subject: Artículos

Palabras clave:

Palabras clave:

antibióticos
contaminación microbiana
microorganismos
organogénesis

Counts

Figures: 1
Tables: 2
Equations: 0
References: 32