

**Cruz Gutiérrez Esmeralda Judith¹, Gómez Reyes Luis Alberto¹,**¹Centro Nacional de Recursos Genéticos-INIFAP. Boulevard de la Biodiversidad No. 400, Tepatitlán de Morelos Jalisco, C.P. 4600.

cruz.esmeralda@inifap.gob.mx

Palabras clave: *Agave tobalá*, *in vitro*, *médios de cultivo líquidos*.

Introducción

México es considerado centro de origen de diferentes especies de plantas vasculares (Sierra et al, 2014), siendo el género *Agave* uno de los más representativos, con 136 especies de las 197 reportadas (Rosales et al. 2008). Como lo menciona García (2007), culturalmente en México los agaves tienen gran importancia, ya que han sido utilizados con diferentes fines desde épocas prehispánicas, ya sea como fuente alimentos y bebidas, combustibles, fibras textiles, o simplemente como ornato. El *Agave Tobalá* (*Agave potatorum* Zucc.), es una de las especies mayormente utilizadas para la producción del mezcal y fibras de uso industrial, por lo que sufre de una excesiva extracción de sus áreas naturales de forma indiscriminada (Aguirre y Eguiarte, 2013). Al ser una especie involucrada en procesos productivos, se tiene la necesidad de nuevas alternativas para su reproducción, sobre todo por formar parte de aquellas que son extraídas de sus poblaciones naturales. El uso de tecnologías tales como el cultivo de tejidos *in vitro*, misma que presenta diversas ventajas contra los sistemas de propagación convencionales, es una alternativa para la propagación masiva de especies de interés (Amaro, 2018). El objetivo de esta investigación fue obtener un protocolo para la propagación de tejidos *in vitro* de *agave tobalá*.

Materiales y métodos

El experimento se desarrolló en el laboratorio de cultivo *in vitro* y crioconservación de tejido vegetal del Centro Nacional de Recursos Genéticos del INIFAP. Se utilizaron material establecidos en condiciones asépticas, libres de patógenos y de reguladores de crecimiento (Figura 1).



Figura 1. Plántulas de agave tobalá utilizadas en el experimento de propagación. **Figura 2. Tejidos de agave tobalá obtenidos en SIT sin oxidación.**

Para la evaluación, se utilizó un sistema de inmersión temporal (SIT) marca RITA®, aplicando dos periodos de inmersión, uno cada 24 horas y otro cada 12, con un tiempo de duración de un minuto cada inmersión. Se evaluaron tres concentraciones de Kinetina (0.5 mg L⁻¹, 1 mg L⁻¹ y 1.5 mg L⁻¹), obteniendo 8 tratamientos en total (Cuadro 1), considerando dos testigos, sin reguladores de crecimiento.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados

TRATAMIENTO	CONCENTRACIÓN DE KINETINA	DE	PERIODO DE INMERSIÓN
1	0.5 mg L ⁻¹		1 minuto cada 24 horas
2	1 mg L ⁻¹		1 minuto cada 24 horas
3	1.5 mg L ⁻¹		1 minuto cada 24 horas
4	0.5 mg L ⁻¹		1 minuto cada 12 horas
5	1 mg L ⁻¹		1 minuto cada 12 horas
6	1.5 mg L ⁻¹		1 minuto cada 12 horas
7	--		1 minuto cada 12 horas
8(Testigo)	--		1 minuto cada 24 horas

Se establecieron 5 repeticiones en cada tratamiento y se evaluó el experimento durante 60 días, las variables evaluadas fueron número de nuevos brotes por explante y oxidación. Los resultados fueron analizados mediante una prueba de Tukey ($\alpha=0.05$). Se utilizó un diseño experimental completamente al azar.

Resultados y discusión

Los resultados obtenidos, muestran que los tratamientos con inmersión cada 12 horas, tuvieron mejores resultados respecto a los tratamientos con inmersión cada 24 horas, ya que muestran una mayor cantidad de nuevos brotes generados por explante (Cuadro 2). No existe una diferencia significativa entre las concentraciones de Kinetina al realizar inmersiones cada 12 horas (Cuadro 2). Por otro lado, al realizar las inmersiones cada 24 horas, el promedio de brotes generados aumenta relativamente al incremento de la concentración de Kinetina, siendo la mayor concentración igual, significativamente hablando, a los tratamientos con 12 horas de inmersión (Cuadro 2). Tal como lo menciona Ordoñez (2019), los ciclos de inmersión pueden influir significativamente en las respuestas de los tejidos, siendo un factor importante al utilizar sistemas de inmersión temporal.

Cuadro 2. Efecto del tiempo de inmersión y concentración de kinetina en el número de brotes y oxidación del tejido de agave tobalá.

Tratamiento	No. Brotes	Oxidación
1	4.4000 b	1.0000 a
2	5.2000 ab	1.0000 a
3	5.6000 a	1.0000 a
4	5.6000 a	1.0000 a
5	6.0000 a	1.0000 a
6	6.0000 a	1.0000 a
7	2.4000 c	1.0000 a
8	2.2000 c	1.0000 a

Letras distintas en la misma columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $\alpha=0.05$); n = 5.

Los bajos índices de oxidación son una de las ventajas que se tiene al utilizar Sistemas de inmersión temporal, ya que el intercambio gaseoso propicia la prevención de oxidación fenólica al liberar compuestos volátiles hacia el exterior del biorreactor (Camposano, 2019; Nolasco, 2020), mejorando así la calidad de las vitroplantas obtenidas.

Conclusiones

La propagación de *Agave tobalá* en Sistemas de inmersión temporal es favorecida al emplear ciclos de inmersión de 1 minuto cada 12 horas, utilizando una concentración entre 1 mg L⁻¹ y 1.5 mg L⁻¹ de Kinetina. La oxidación en tejidos de *Agave tobalá* propagados en sistema de inmersión temporal, no es un factor que perjudique el proceso.

Referencias

- 1- Aguirre-Dugua, X., & Eguiarte, L. E. (2013). Genetic diversity, conservation and sustainable use of wild *Agave cupreata* and *Agave potatorum* extracted for mezcal production in Mexico. *Journal of Arid Environments*, 90, 36-44.
- 2- Amaro, M. R. (2018). Cultivo *in vitro*: alternativa al cultivo tradicional de plantas medicinales.
- 3- Camposano Jaramillo, M. I., & Ibarra Ayala, C. O. (2019). Desarrollo de un prototipo de sistema de inmersión temporal utilizando *Nicotiana tabacum* como modelo experimental.
- 4- García Mendoza, A. (2007). Los agaves de México. *Ciencias*, (087).
- 5- Nolasco Jáuregui, F. E. (2020). Propagación *in vitro* de *Agave angustifolia*, *A. karwinskii* y *A. parrasana* en sistemas de inmersión temporal (BITs).
- 6- Ordoñez Castillo, F. M. (2019). Efectos antioxidantes de moringa oleifera lam en vitroplantas de banano clon williams en sistemas de inmersión temporal rita®.
- 7- Rosales, M. S. D., Jiménez, M. D. L. L. G., Gómez, C. R., Valles, C. Q., de León, S. D. D., Ordaz, S. J. M., & Balch, E. P. M. (2008). El cultivo *in vitro* como herramienta para el aprovechamiento, mejoramiento y conservación de especies del género *Agave*. *Investigación y Ciencia*, 16(41), 53-62.
- 8- Sierra, C. L. J., Ramírez, J. S., Cortés-Calva, P., Cámara, A. B. S., Dávalos, L. I. Í., & Ortega-Rubio, A. (2014). México país megadiverso y la relevancia de las áreas naturales protegidas. *Investigación y ciencia*, 22(60), 16-22.