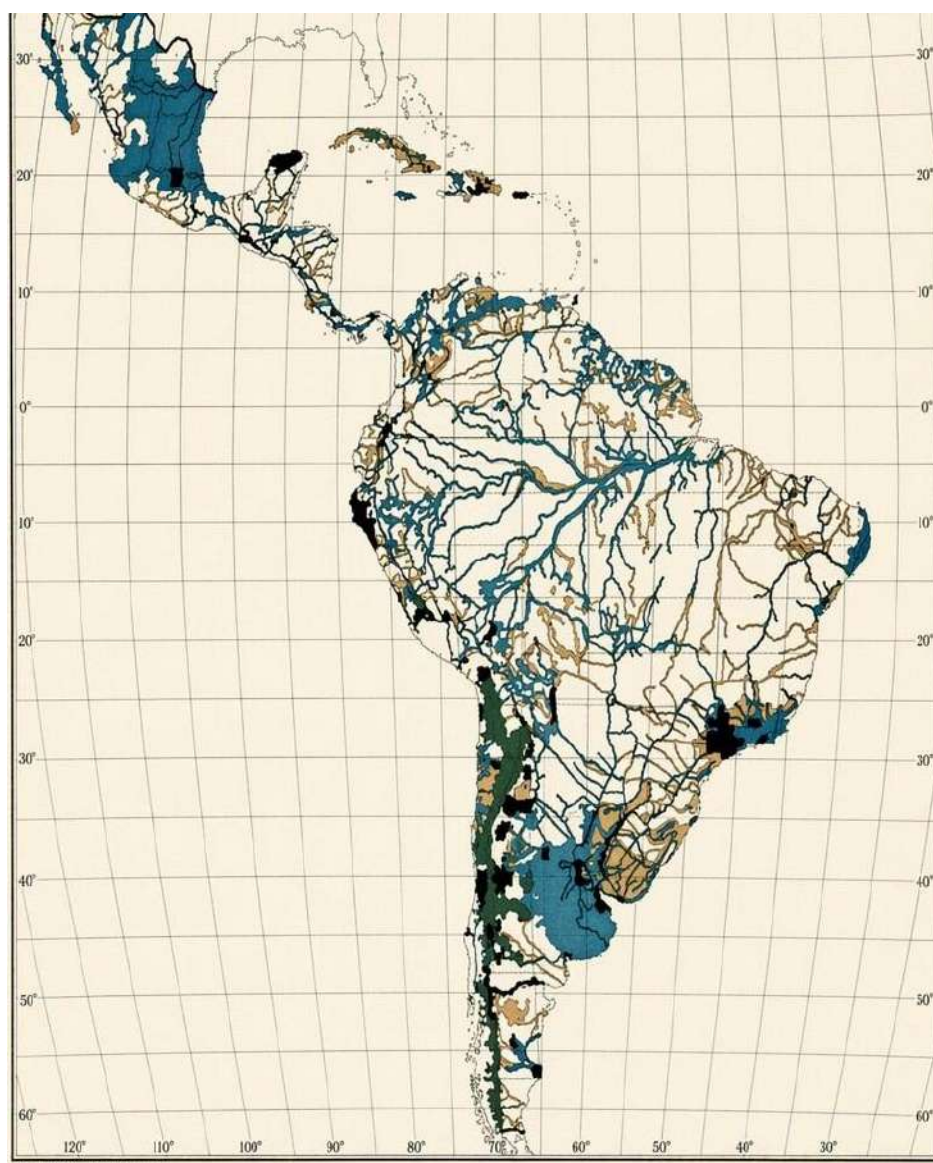


Revista Latinoamericana de Difusión Científica



Volumen 8 - Número 15
Julio – Diciembre 2026
Maracaibo – Venezuela

Agentes contaminantes presentes en la propagación de agaves utilizando Sistema de Inmersión Temporal (SIT) con medio enriquecido

DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.21382404>

Erson Alfredo Castañeda Méndez*

Gisela Muro Pérez**

Jaime Sánchez Salas***

Abby Ixchel Ortiz Sánchez****

Jorge Sáenz Mata*****

Luis M. Valenzuela Nuñez*****

RESUMEN

Dentro de la familia Asparagaceae, se encuentra el género *Agave*, distribuido en todo el continente americano. Los procesos semi-automatizados de propagación con el uso de biorreactores reducen la mano de obra y aumenta el rendimiento en masa biológica y mejora la calidad de plantas. En este estudio se muestran distintos tratamientos de asepsia aplicado a pencas y meristemos de *Agave pintilla*, *Agave nickelsiae*, *Agave duranguensis* y *Agave tequilana*. El sistema se conformó por una estantería (con dos niveles asignados a los explantes y dos niveles para los recipientes con los medios). El medio de cultivo fue Murashige and Skoog, adicionado con una porción de sacarosa y estabilizante orgánico con un fotoperiodo de 18/6 h. Posteriormente se diseccionaron los explantes y se colocaron en cada uno de los tratamientos de desinfección. Se aplicó una factorial de 4x3, donde se evaluó la respuesta de los cortes y meristemos, se realizó un ANOVA para determinar el mejor tratamiento. Entre los pliegues y la dermis de *A. tequilana* y *A. duranguensis* se alojan esporas hidrófilas que sobreviven a los lavados previos a su inclusión *in vitro* dando pie a la presencia de *Fusarium* y *Cladosporium*. *A. pintilla* y *A. nickelsiae* presentaron mayor resistencia contra agentes contaminantes por tener una dermis lisa y cerosa. El uso de jabón lavatrastes (tratamiento 1 y 6) es una opción viable para controlar la presencia de agentes contaminantes.

PALABRAS CLAVE: Micropropagación, Resistencia, Asepsia, Desinfección.

*Estudiante del programa de Maestría Ciencias en Biodiversidad y Ecología de la FCB de la Universidad Juárez del Estado de Durango, UJED, México. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3694-1833>. E-mail: ersonbiot@gmail.com

**Investigadora. Dra. en Ciencias en Manejo de Recursos Naturales. FCB de la UJED. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6390-7257>. E-mail: giselamuro@ujed.mx

***Investigador. Dr. en Ciencias en Manejo de Recursos Naturales. FCB de la UJED. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2578-3668>. E-mail: j.sanchez@ujed.mx

****Investigadora. Dra. en Ciencias en Ciencias Agrarias. Tecnológico Nacional de México, Campus Instituto Tecnológico del Valle del Guadiana, Durango. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0542-9482>. E-mail: ixchel.os@vguadiana.tecnm.mx

*****Investigador. Dr. en Ciencias en Ciencias en Biología Molecular. FCB de la UJED. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9958-9676>. E-mail: jsaenz_mata@ujed.mx

*****Investigador. Dr. en Ciencias en Biología Vegetal Forestal de la FCB de la UJED. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3385-3005>. E-mail: luisvn70@hotmail.com

Recibido: 10/04/2026

Aceptado: 02/06/2026

Contaminants Present in the Propagation of Agaves Using Temporary Immersion System (TIS) With Enriched Medium

ABSTRACT

Within the Asparagaceae family there is the genus *Agave*, distributed throughout the American continent. Semi-automated propagation processes using bioreactors reduce labor, increase biomass yield, and improve plant quality. This study shows different aseptic treatments applied to the leaves and meristems of *Agave pintilla*, *Agave nickelsiae*, *Agave duranguensis* and *Agave tequilana*. The system consisted of a shelving unit (with two levels assigned to the explants and two levels for the containers with the media). The medium was Murashige and Skoog, supplemented with a portion of sucrose and organic stabilizer. The incubation process was with a photoperiod of 18/6 h. The explants were then dissected and placed in each of the disinfection treatments. A 4 x 3 factorial design was applied, where the response of the cuts and meristems was evaluated, and an ANOVA was performed to determine the best treatment. Hydrophilic spores are found between the folds and dermis of *A. tequilana* and *A. duranguensis*, surviving the washings prior to their in vitro inclusion, giving rise to the presence of *Fusarium* and *Cladosporium*. *A. pintilla* and *A. nickelsiae* showed greater resistance against contaminants due to having a smooth, waxy dermis. The use of dish soap (treatment 1 and 6) is a viable option to control the presence of contaminants.

KEYWORDS: Micropropagation, Resistance, Asepsis, Disinfection.

Introducción

Dentro de la familia *Asparagaceae*, se encuentra el género *Agave*, distribuido en todo el Continente Americano, desde el norte de California (Estados Unidos), hasta el sur como Paraguay (*Gentry*. 1982). Se utiliza el tallo, flor y frutos como fuente de alimento, bebida, medicina, adornos, fibras, combustibles y fertilizantes. Además, el escapo floral y sus fibras se aplican en la construcción de casas, como implementos agrícolas y las flores son muy valoradas en la alimentación humana, (*García-Mendoza, et al.* 2007), se consideran especies de importancia social, económica y ecológica, que prosperan en diversos ecosistemas y altitudes, siendo su centro de origen el continente americano. A través de los años se ha elaborado “mezcal” a partir del *Agave*, que por sus carbohidratos tiene distinción en olor y sabor, el cual ha ganado un lugar por su consumo en los últimos veinte años, su demanda en el mercado aumenta con el tiempo, por lo que su

E. A. Castañeda Méndez // Agentes contaminantes presentes en la propagación de agaves ...5-20
comercialización es a nivel mundial (Crespo González *et al.*, 2013). Lo que ha provocado una notable disminución de sus poblaciones naturales, aunque no se encuentra documentada.

Se han desarrollado distintos tipos de propagación de éste género partiendo de esqueje y por semilla, pero debido a su largo tiempo de madurez (8 a 10 años), se ha buscado otro tipo de reproducción para optimizar su desarrollo de una forma más eficiente, por lo que en las dos últimas décadas se han aplicado diversas técnicas de micropropagación en Agaves, en la búsqueda de distintos medios que logren este objetivo (Godoy & Núñez, 2015; Torres *et al.* 2015).

La micropropagación o los cultivos *in vitro* son un medio de propagación asexual utilizada como alternativa para la producción de gran número de plantas (Paredes, *et al.* 2013; Monja-Mio *et al.*, 2015); por segmentos provenientes del tallo (tejido meristemático) aséptico, se presenta la totipotencialidad de sus células y tejidos, midiendo las condiciones del medio de cultivo preparado con sales minerales, vitaminas, carbohidratos y reguladores de crecimiento (Kehie, *et al.* 2012). Los procesos semi-automatizados de propagación con el uso de biorreactores reducen la mano de obra, llamado sistema de inmersión temporal (SIT), aumenta el rendimiento en masa biológica y mejora en calidad las plantas (Peñate *et al.* 2007). Gracias a los avances tecnológicos se han desarrollado técnicas innovadoras aplicando SIT, dando una mejora al método tradicional de micropropagación, ya que con este se logra una semi-automatización para una producción de gran escala, dando beneficios de producción alta por la calidad y cantidad del producto, permitiendo la reducción de problemas fisiológicos y también ayuda a la reducción de gastos (Bello Bello *et al.*, 2019).

Por lo que aplicar un SIT en la micropropagación del género *Agave* debe ser un paso a la mejora de su cultivo debido a la demanda que se encuentra en estado creciente (Basail *et al.*, 2013), reduciendo así el interés por la extracción ilegal de los ejemplares; ya que éstas especies se encuentran en la NOM-059-SEMARNAT-2010 en la categoría de amenazadas (Peñate *et al.*, 2007) actualizando las técnicas ya conocidas como el cultivo *in vitro* en sólido, validando su eficacia en cuestión de número de plántulas o brotes exitosos. El objetivo de este estudio fue determinar los agentes contaminantes en la propagación de *A. pintilla*, *A. nickelsiae*, *A. durangensis* y *A. tequilana* mediante el sistema de inmersión temporal (SIT) adicionado.

1. Materiales y métodos

Material vegetal. El material vegetal utilizado fue *Agave pintilla*, *A. nickelsiae*, *A. durangensis* y *A. tequilana*. El estudio se realizó en el laboratorio de Botánica y herbario JAAA de la Facultad de Ciencias Biológicas-UJED.

Montaje del SIT. El biorreactor con la técnica de *Ebb-Flow*, formado por un frasco de vidrio de 890 ml conectado a otro igual, se llenó con 300 ml de medio MS adicionado con regulador de crecimiento vegetal, situando en el recipiente superior los explantes (Etienne & Berthouly, 2002; Ruiz-Leza *et al.* 2007; Arredondo 2019). Todo el material se lavó con cloro comercial CLORALEX® al 7% y fue esterilizado en autoclave durante 20 minutos a 121°C (Castillo *et al.* 2020). El sistema se conformó por una estantería, (con dos niveles asignados a los explantes y dos niveles para los recipientes con los medios, alternados cada sección; para los niveles de los frascos se tenían integradas dos lámparas de marca comercial de 120 V, con las que se apoyó el fotoperiodo temporizado a 18h-luz/6h-obscuridad. El sistema inyecta aire con un compresor *Trupper* de fuente de poder independiente de 500w con salida de 12V, lo cual da la suficiente presión para la función del complejo (Debnath, 2017).

Cuarentena de plantas madre. Las plantas madre se colocaron en una cuarentena dentro del laboratorio de Botánica para llevar el cuidado y observación del material vegetal para cerciorarse de que no sean portadoras de hongos o bacterias, y que se encuentren en buenas condiciones (Roca & Mroginski, 1991).

Preparación de medios de cultivo. Para la preparación del medio de cultivo Murashige and Skoog (1962) al 50%, se utilizó el medio MS a una dosis de 4.4 g/L el cual provee los siguientes nutrientes esenciales para los cortes siendo macronutrientes (100 mg/L), MgSO₄ (50 mg/L), Fe EDTA (20 mg/L), micronutrientes (1 mg/L) y vitaminas (1 mg/L). (Roca & Mroginski, 1991). Adicionándole una porción de 30 g/L de sacarosa y seguido a la adición de 1 ml/L de estabilizante orgánico, se midió y reguló el nivel de pH de la solución para establecerse en un rango de 5.7-5.8 con NaOH (Roca & Mroginski, 1991).

Condiciones de incubación. *Agave pintilla*, *Agave nickelsiae*, *Agave duranguensis* y *Agave tequilana* se incubaron a 24±2°C en condiciones ambientales durante 14 días antes de ser transferidos a un fotoperiodo de 18/6 h, utilizando iluminación natural acompañada

E. A. Castañeda Méndez // Agentes contaminantes presentes en la propagación de agaves ...5-20
de lámparas Led como en Godoy y Núñez (2015), quien realizó un estudio con *Agave tequilana* Weber var. *azul*.

Intervalos de activación del SIT. Se aplicó un tiempo de inmersión de un minuto con una frecuencia de cada 12 horas (durante 30 días). Los biorreactores son frascos gemelos con caída por gravedad también conocido como Ebb-Flow.

Etapas de micropropagación por SIT. Etapa 0. Para la selección de la planta madre, estas fueron aisladas y vigiladas cada dos días para verificar su salud, y se fumigaron con Praletrina 1.00 g/kg Fenotrina 1.25 g/kg y fungicida: N-(triclorometiltio) ciclohex-4-en-1,2-dicarboximida (CAPTAN®) para salvaguardar la calidad de la misma como en Jiménez & Abdelnour 2018.

Establecimiento o inducción de cultivos. Tras la cuarentena se llevaron las plantas al laboratorio de Botánica de la FCB-UJED, donde se cortaron los meristemos dentro de una campana de flujo laminar, para que sean el punto de origen de las primeras plántulas, pero por ser *Agaves*, se seccionaron hasta donde las hojas dejan de tener una definición de su tallo central (Roca & Mroginski, 1991; Sigarroa-Rieche *et al.* 2011).

Establecimiento de cultivos en SIT. Por cada especie se diseccionaron dieciséis láminas, las cuales se acomodaron cuatro de ellas en un frasco con tres repeticiones por cada conjunto y el control. Después de 45 días se incubaron, los segmentos ganglionares derivados de brotes adventicios que se cultivaron 30 días en diferentes medios de cultivo líquidos con inmersión parcial aplicando un sistema de biorreactor Ebb-and-Flow de 300 ml (Tisserat & Vandercook, 1985; Ducos *et al.*, 2008).

Desinfección del explante. Se llevaron a cabo distintas metodologías en cuanto a la desinfección del explante debido a la diversa respuesta de necrosis y contaminación de los explantes:

Tratamiento 1. Desinfección de explante con jabón para trastes. Se recolectaron pencas de *Agaves* maduros tras pasar por una cuarentena en invernadero. Las pencas se sumergieron en etanol al 70% (v/v) durante 1 min y en cloro comercial al 10% y 5% (hipoclorito de sodio a 6-7%) durante 20 min y 10 min, respectivamente, seguido a enjuagarse tres veces con agua estéril, se realizaron los respectivos cortes dentro de la campana de flujo laminar y fueron introducidas a medio semisólido MS ajustado a un pH de 5.8 para su estabilización de 14 días para su posterior ubicación dentro del SIT (Roca & Mroginski, 1991).

Tratamiento 2. Desinfección de explante con jabón, alcohol y cloro. Se recolectaron pencas de Agaves maduros después de una cuarentena en invernadero. Las pencas tuvieron el mismo proceso de desinfección como el tratamiento 1 (con etanol, cloro y agua estéril).

Tratamiento 3. Desinfección de explante con plata coloidal. Las plantas fueron cortadas de las puntas de las pencas eliminando las espinas y partes más duras, enseguida se lavaron con jabón comercial antibacterial 3 min enjuagadas con agua corriente, seguido a una inmersión en fungicida CAPTAN 1 g/L 2 min con enjuague de agua esterilizada (todo se trabajó dentro de la campana de flujo laminar a partir de esta sección), inmersión en nanopartículas de plata MICRODIN 15 min con enjuague de agua esterilizada y por último 1 min en alcohol al 70%, se realizaron los respectivos cortes y se introdujeron al medio semisólido MS ajustado a un pH de 5.8 para su estabilización de 14 días (Arano-Avalos et al., 2020).

Tratamiento 4) Desinfección de meristemos con fungicida. Se utilizó de testigo la especie violeta africana (*Saintpaulia ionantha*), repartiendo de la misma forma 16 cortes en 4 frascos para su posterior medición.

Tratamiento 5) Desinfección de meristemos con cloro. Se les realizó un enjuague con agua corriente para retirar tierra de las pencas y raíces, seguido de un corte de espinas; aplicando el método de Ubilla Navarro et al. 2016, se sumergieron en jabón neutro 4% durante 20 minutos, posteriormente se enjuagaron con agua estéril, y después se colocaron en una inmersión en solución de formaldehído 1% con cloro 5% y dos gotas de tween, para continuar con tres enjuagues con agua estéril para eliminar residuos, 20 minutos en fungicida al 0.5% y por último 30 minutos en antibiótico al 1%, se cortaron las orillas con bisturí para eliminar zonas con posibles quemaduras químicas y se introdujeron a recipientes con medio semi-sólido MS ajustado a un pH de 5.8 con observación continua durante 14 días para su introducción al SIT.

Tratamiento 6) Desinfección de meristemos con fungicida y jabón. A partir de Agaves pequeños, se les realizó un enjuague intenso con agua corriente para retirar tierra de pencas y raíces, seguido de un corte de sus espinas; aplicando el método de Ubilla Navarro et al (2016), se sumergieron en jabón neutro 4% durante 20 minutos y se enjuagan con agua estéril, posteriormente se colocaron en una inmersión en solución de formaldehído 1% con cloro 5% y dos gotas de tween, tres enjuagues con agua estéril para eliminar residuos, 20

E. A. Castañeda Méndez // Agentes contaminantes presentes en la propagación de agaves ...5-20 minutos en fungicida al 0.5% y por último 30 minutos en antibiótico al 1%, se cortaron las orillas con bisturí para eliminar zonas con posibles quemaduras químicas y se introdujeron a recipientes con medio semisólido MS ajustado a un pH de 5.8 con observación continua durante 14 días para su introducción al SIT.

Diseccción del material vegetal. Para el establecimiento del material vegetal, los explantes provienen de cortes realizados entre la hoja y tallo de los Agaves, retirando la penca central, para llegar a un cilindro de 3cm de altura aproximadamente, dependiendo del tamaño de la planta (Roca y Mroginski, 1991).

Aislamiento e identificación de agentes contaminantes. Se identificaron los recipientes con crecimiento de agentes contaminantes y se les tomó una muestra a cada uno con un asa bacteriológica para realizarles la siembra en placas Petri con agar PDA (papa dextrosa) y se incubaron por tres días a condiciones de 22° C con un fotoperiodo de 18/6. Cada tercer día se hizo una siembra nueva tomando muestra de cada colonia bacteriana u de hongo que se presentará hasta completar el aislamiento del organismo por placa. Se realizaron tinciones con azul de metileno, safranina y verde malaquita para la observación en microscopio a 40x y 100x para identificar características morfológicas y realizar la identificación de familia en compilación a las características macroscópicas en placa, procedimiento en base el manual de laboratorio de Leslie & Summerell (2006) y Herrera et al (1998).

Identificación de agentes contaminantes por PCR. La extracción de ADN se realizó con el método descrito por Ferdous *et al.* 2012, donde el único paso extra fue en el caso de los hongos, donde se tomó la colonia completa para congelarse a -70° C con nitrógeno seguido a una maceración, tras esto se aplicó el mismo procedimiento para hongos y bacterias con las muestras obtenidas suspendidas en 1.5 ml de agua destilada estéril, se centrifugó a 12,000 rpm durante 1 minuto, decantando el sobrenadante y repitiendo hasta quedar con una pastilla de muestra. Se agregaron 300 µl del buffer CTAB 2X y se agitó en vortex. En termoblock se estableció a 65°C por 40 min, seguido a enfriarse a temperatura ambiente. Se añadieron 300 µl de cloroformo y agitaron en vortex. Se centrifugó 5 minutos a 13,000 rpm y se pasó la fase acuosa a tubos limpios. Se añadieron 300 µl de isopropanol frío y mezcló en vortex, guardándose en refrigerador 15 min. Se centrifugó a 13,000 por 5 minutos y se decantó el isopropanol. Se agregaron 300 µl de etanol frío al 70%. Se centrifugó por 3 minutos y se decantó el etanol. Se dejó secar la pastilla a temperatura

E. A. Castañeda Méndez // Agentes contaminantes presentes en la propagación de agaves ...5-20
ambiente para evaporar residuos de etanol. Se agregó agua miliQ dependiendo del tamaño de la pastilla y finalmente se almacenó a 4° C.

Ciclos de PCR. Se elongaron los materiales genéticos en dos primers distintos, 16 para bacterias e ITS 5-6 para hongos (Tapia *et al*, 2006) por PCR con CTAB 2X y en Termociclador de punto final modelo Miniamp Plus.

Análisis estadístico. Diseño experimental. Se aplicó una factorial de 4 x 3, en la que se evaluó la respuesta de los cortes y meristemos a los lavados, con un orden totalmente al azar, teniendo tres tratamientos y cuatro grupos con cuatro individuos cada uno. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA), prueba de Tuckey, incluido a una comparación directa entre cada grupo y especie para determinar el mejor tratamiento. Los explantes viables son aquellos que pasan a la siguiente etapa ya que no presentan contaminación o necrosis que afecte su desarrollo. Los explantes que presentaron quemaduras son aquellos que tuvieron una coloración café oscura en los primeros dos días posteriores a sus cortes como quemaduras químicas (lo que impide su desarrollo). Los explantes que presentaron una necrosis alta, fueron aquellos que tuvieron una coloración marrón o amarillo intenso.

2. Resultados

Respuesta a tratamientos de desinfección. Se realizaron distintas metodologías en cuanto a la desinfección de los explantes debido a la distinta respuesta obtenida tras su aplicación, ya que al no existir reportes de estas especies es necesaria la búsqueda de un tratamiento específico.

Tratamiento 1. Jabón para trastes. Pasados los 14 días de establecimiento en medio MS, se obtuvo un registro de respuesta a la desinfección previa a su introducción al SIT, donde se tenía como objetivo llegar a los 16 individuos viables por especie, por lo que previniendo el efecto de necrosis, se realizaron mayor número de cortes.

Identificación de agentes contaminantes. Se realizó una identificación fisionómica de organismos contaminantes donde se encontraron bacilos y hongos fitopatógenos.

Identificación de agentes contaminantes molecularmente. De acuerdo a De Souza *et al*, (2004) y Cornejo (2006), se confirmó la presencia del material genético de hongos en los geles de agarosa en los 600-580 Pb. De igual manera Ramírez-Rojas *et al*, (2016) identificaron bacterias aisladas de plantas ornamentales producidas *in vitro* como es el caso del presente estudio. El material genético se aisló, purificó y secuenció por PCR,

E. A. Castañeda Méndez // Agentes contaminantes presentes en la propagación de agaves ...5-20
depositados en GenBank y analizados por blast de 16s para bacterias y 5-6 ITS en hongos
(Fig. 1).

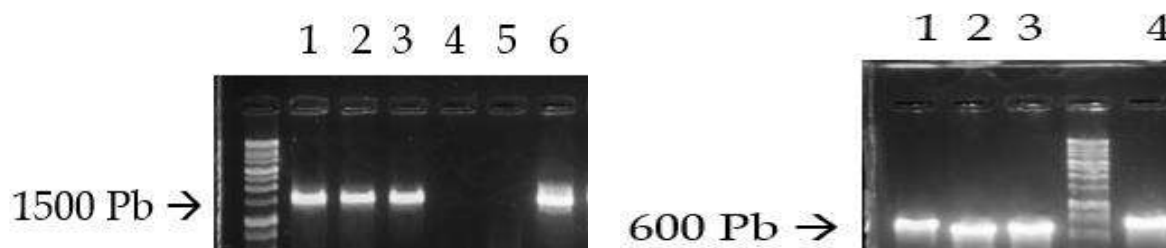


Fig. 1. Análisis electroforético en agarosa al 1%. (Izquierda) Amplificación de material genético en bacterias y (derecha) Amplificación de material genético de hongos.

Tabla 1. Identificación de la secuenciación.

Especie	No. en gel	Identificación	Máxima identidad
<i>A. tequilana</i>	1	<i>Enterobacter</i> spp. 16S Ribosomal RNA	98.87%
<i>A. duranguensis</i>	2	<i>Staphylococcus epidermis</i> 16S Ribosomal RNA	99.00%
<i>A. nickelsiae</i>	3	<i>Enterobacter pseudoroggenkampii</i> 16S Ribosomal RNA	98.58%
<i>A. duranguensis</i>	6	<i>Pantoea</i> spp. 16S Ribosomal RNA	99.64%
<i>A. duranguensis</i>	1	<i>Fusarium solani</i> ITS 5 – 6	99.64%
<i>A. tequilana</i>	2	<i>Fusarium martii</i> ITS 5 – 6	96.58%
<i>A. pintilla</i>	3	<i>Fusarium oxysporum</i> ITS 5 – 6	95.19%
<i>A. duranguensis</i>	4	<i>Cladosporium cladosporioides</i> ITS 5 – 6	100.00%

En cuanto a bacterias, las que se presentaron llegan a tener distinto efecto sobre plantas, tal lo demuestra Hernández *et al.* (2015) con el género *Enterobacter* comprobando su efecto en el desarrollo vegetativo y rendimiento de plantas de maíz; Orozco-Martínez (2020) prueba en sus estudios cómo distintas plantas tienen actividades microbianas contra *Staphylococcus epidermis*, pero no se tiene registro de su presencia en plantas, ya que es patógena en humanos, por otro lado Elvia *et al.* (2008) concluyeron que *Pantoea* spp. es capaz de solubilizar compuestos de fósforo con beneficio nutrimental para plantas. Por parte del género *Fusarium* se tienen distintas características por las cuales se puede identificar, ya que es un hongo de importancia fitológica produciendo marchitamientos vasculares,

manchas, pudrición de raíces, tallos, frutos, granos y semillas. Cuenta con un gran número de plantas hospedantes y en específico la especie *Fusarium oxysporum* ocasiona una de las mayores amenazas económicas por su capacidad de atacar cultivos agrícolas y provocar la muerte debido a su crecimiento endófito y la generación de colonias como mencionan Nelson (1990), Torres (2000) y Leslie & Summerell (2006); por otro lado Santos-Jiménez *et al.* (2022) y Nabor-Romero *et al.* (2018) coincidieron en la especie *Cladosporium cladosporioides* como un hongo de importancia agrícola, ya que su presencia produce la pudrición de frutos creando colonias y “cáscaras secas” sobre los mismos impidiendo su venta y consumo.

El Biorreactor de inmersión por gravedad creado por Escalona, *et al.* 1999 se dice que la mayor ventaja es el bajo costo y la capacidad variable, sólo que es mayor el grado de contaminación de los explantes, lo cual se vio en la ejecución del presente estudio. Matis en el 2019, crea el Biorrecator tipo Matis, el cual es de mayor capacidad a comparación con el RITA y se tiene mayor manejo de explantes, sólo que el costo es más elevado, sin embargo, basándose en el modelo Matis, se creó un sistema de 24 biorreactores con capacidad de albergar de 1 hasta 6 explantes cada uno, con una capacidad de 144 plántulas. Dentro del ámbito de la micropropagación existen distintos métodos y sistemas, los cuales llevan una constante actualización con fin de reducir tiempos y costos, sin embargo, cada técnica lleva sus modificaciones dependiendo de las especies con las que se vaya a trabajar, por lo que se utiliza un protocolo distinto para cada una, en caso de iniciar desde la etapa 0, es diferente a iniciar desde la etapa 1 partiendo desde un banco de germoplasma como lo compara Domínguez *et al.*, 2010 con plántulas de *Agave* obtenidas de un banco utilizando callos ya estériles listos para introducirse a tratamientos sin un riesgo elevado de agentes externos. Nobrega *et al.*, 2015 aplicó distintos métodos de limpieza para *Agaves* por su complejidad de inducción a *in vitro*, por lo que realizó la comparación de inmersión a distintas concentraciones de bactericida y fungicida, donde destacó el tratamiento con 0,5% de fungicida y 1% de bactericida después de su tratado con jabón y cloro, donde se reportó que a estas concentraciones se obtuvo sólo un 10% de contaminación, sin embargo, en el presente estudio este porcentaje fue igual de 10%, pero al dejar pasar 10 días más, la presencia de agentes contaminantes incrementó hasta 90%.

Ziqi Guo *et al.* (2023) realizaron un primer reporte de *Enterobacter roggenkampii* ocasionando necrosis en plantas de tomate, por lo que este seria la segunda ocasión donde

E. A. Castañeda Méndez // Agentes contaminantes presentes en la propagación de agaves ...5-20
se encuentra esta bacteria causando problemas de esta índole. Seguido de Aguado-Santacruz *et al.* (2022) realizaron el primer reporte de la microbiota de *Agave salmiana* encontrando diversos géneros de bacterias que coinciden con el presente estudio como *Enterobacter*, *Bacillus* y *Pseudomonas*.

Conclusiones

Entre los pliegues y la dermis de *A. tequilana* y *A. duranguensis* se alojan esporas hidrofóbicas que sobreviven a los lavados previos a su inclusión *in vitro* dando pie a la presencia de agentes contaminantes (*Fusarium* y *Cladosporium*). La persistencia de agentes contaminantes post-lavado se debe a la capacidad de crecimiento endofítico de los hongos y bacterias presentes. *A. pintilla* y *A. nickelsiae* presentaron mayor resistencia contra agentes contaminantes posiblemente por tener una dermis lisa y cerosa. El uso de jabón lavatrastes (Tratamiento 1 y 6) es una opción viable para controlar la presencia de agentes contaminantes. La presencia del género *Fusarium* en tejidos de *Agaves* impidió la continuación de su manejo debido a la condición saprófita-endófito que produce necrosis.

Referencias

- Aguado-Santacruz, G.A., Aguado-Rodríguez, D.L., Moreno-Gómez, B., Arroyo-González, D., Centeno-Jamaica, D., Aguirre-Mancilla, C. & García-Moya, E. 2022. Endomicrobiota bacteriana de agave pulquero (*Agave salmiana*). Aislamiento, frecuencia e identificación molecular. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 45(2), 243-250. <https://doi.org/10.35196/rfm.2022.2.243>.
- Arano-Avalos, S., Gómez-Merino, F.C., Mancilla-Álvarez, E., Sánchez-Páez, R. & Bello-Bello, J.J. 2020. An efficient protocol for commercial micropropagation of malanga (*Colocasia esculenta* L.) using temporary immersion. *Scientia Horticulturae*, V.261. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108998>.
- Arredondo Ramírez, C. A., Arellano Ostoa, G., Ayala de la Vega, J., & Aguilar Juárez, I. 2019. Propuesta de diseño y automatización de biorreactor para sistemas de inmersión temporal. *CIBA Revista Iberoamericana De Las Ciencias Biológicas y Agropecuarias*, 8(15), 72-88. <https://doi.org/10.23913/ciba.v8i15.88>.
- Basail Pérez, Mi., Medero Vega, V., Torres Delgado, M., López Torres, J., Santos Pino, A., Rayas Cabrera, A., Bauta Toledo, M., Beovidez García, Y. & Ortega Ortiz, A. 2013. Nueva alternativa para la micropropagación en inmersión temporal del cultivar de plátano vianda. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 15(1), 98-107.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012334752013000100010&lng=en&tlng=es.

Bello-Bello, J.J., Cruz-Cruz, C.A. y Pérez-Guerra, J. C. 2019. A new temporary immersion system for commercial micropropagation of banana (*Musa paradisiaca* cv. Grand Naine). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 55(3):313-320. DOI: <http://doi.org/10.1007/s11627-019-09973-7>.

Castillo Ontaneda, A.L., Moreno Herrera, A., García Batista, R.M. 2020. Eficiencia del sistema de inmersión temporal frente al método de propagación convencional *in vitro*. *Revista Metropolitana de Ciencias Aplicadas*, 3(2), 173-182. <https://doi.org/10.62452/9dq60d52>.

Cornejo Rivas P.E., 2006. Influencia de la cobertura vegetal sobre la diversidad de y estructura de las comunidades de hongos micorrízicos y sus efectos en la estabilización de suelos degradados. Facultad de Ciencias. Granada, España. 92-97

Crespo González, Marcos R., González Eguiarte, Diego R., Rodríguez Macías, Ramón, Rendón Salcido, Luis Alberto, del Real Laborde, José Ignacio, & Torres Morán, José Pablo. (2013). Evaluación de la composta de bagazo de agave como componente de sustratos para producir plántulas de agave azul tequilero. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 4(8), 1161-1173. Recuperado en 05 de marzo de 2026, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342013000800004&lng=es&tlng=es.

De Souza, F. A., Kowalchuk, G. A., Leeflang, P., van Veen, J. A., & Smit, E., 2004 PCR-denaturing gradient gel electrophoresis profiling of inter-and intraspecies 18S rRNA gene sequence heterogeneity is an accurate and sensitive method to assess species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi of the genus *Gigaspora*. *Applied and environmental microbiology*, 70(3), 1413-1424. <https://doi.org/10.1128/aem.70.3.1413-1424.2004>.

Debnath, S.C. 2017. Temporary immersion and stationary bioreactors for mass propagation of true-to-type highbush, half-high, and hybrid blueberries (*Vaccinium spp.*). *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 92(1), 72-80. ISSN 1462-0316. <https://doi.org/10.1080/14620316.2016.1224606>.

Domínguez, G., López-Corrales, M., Romano, Y., Gil, M., Pérez, F. & Osuna, M.D. 2010. Caracterización mediante marcadores moleculares de variedades autóctonas mallorquinas de higuera para su incorporación al Banco de Germoplasma de la Finca La Orden. *Actas de Horticultura*, 55, 265-266. https://www.researchgate.net/publication/298069015_CARACTERIZACION_DE_VARIEDADES_DE_HIGUERA_PROSPECTADAS_EN_LA_SIERRA_DE_GATA_CACERES_PARA_SU_INCORPORACION_AL_BANCO_DE_GERMOPLASMA_DEL_CENTRO_DE_INVESTIGACION_'LA_ORDEN-VALDESEQUERA'_BADAJOZ

Ducos, J. P., Terrier, B., Courtois, D. & Pétiard, V. 2008. Improvement of plastic-based disposable bioreactors for plant science needs. *Phytochemistry Reviews*, 7(3), 607-613.

E. A. Castañeda Méndez // Agentes contaminantes presentes en la propagación de agaves ...5-20

Elvia J. C., Ortega-Rodés, P. & Ortega, E., 2008. La inoculación de plantas con *Pantoea sp.*, bacteria solubilizadora de fosfatos, incrementa la concentración de P en los tejidos foliares. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10(1), 111-121.

Escalona, M., Lorenzo, J.C., González, B., Daquinta, M., González, J.L., Desjardins, Y. & Borroto, C.G. 1999. Pineapple (*Ananas comosus* L.) micropropagation in temporary immersion systems. *Plant cell reports*, 18(9), 743-748. <https://doi.org/10.1007/s002990050653>.

Etienne, H. & Berthouly, M. 2002. Temporary immersion systems in plant micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. vol. 69, no 3, 215-231. ISSN 1573-5044. <https://doi.org/10.1023/A:1015668610465>.

Ferdous, J., Hanafi, M.M., Rafii, M.Y. & Muhammad, K. 2012. A quick DNA extraction protocol: Without liquid nitrogen in ambient temperature. *African Journal of Biotechnology*, 11(27), 6956-6964.

García-Mendoza, A., Jacques-Hernández C. and Salazar Bravo Á., 2007. Una nueva especie de *Agave*, subgénero *littaea* (Agavaceae) de Tamaulipas, México. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, vol. 1, no. 1, pp. 79-84. JSTOR, <http://www.jstor.org/stable/41971388>. Accessed 10 Mar. 2023.

Gentry, H.S. 1982. Agaves of continental North America. p. 573. Tucson, AZ: The University of Arizona Press.

Godoy Díaz, C.G. & Núñez Palenius, H.G. 2015. Micropropagación de *Agave durangensis* en un sistema de inmersión temporal (SIT). Jóvenes en la ciencia, 1(2), 60-65. Recuperado a partir de <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/308>

Hernández, F., Velásquez, K., Carreño, C., Gonzales, H.L., Estela, C. & Altamirano, C., 2015. Efecto de enterobacterias en el desarrollo vegetativo de *Zea mays* en invernadero. *UCV-Hacer*, 4(1) 10-19. <https://revistas.ucv.edu.pe/index.php/ucv-hacer/article/view/678>.

Herrera, T., Ulloa, M., Ruiz Oronoz, M. 1998. El reino de los hongos: micología básica y aplicada. Fondo de Cultura Económica. 552 pp.

Jiménez-Bonilla, V. & Abdelnour-Esquivel, A. 2018. Protocolo de micropropagación de arándano nativo de Costa Rica (*Vaccinium consanguineum*). *Revista Tecnología en Marcha*, 31(1), 144-159.

Kehie M, Kumaria S, Tandon P. 2012. In vitro plantlet regeneration from nodal segments and shoot tips of *Capsicum chinense* Jacq. cv. Naga King Chili. 3 Biotech. 2(1):31-35. DOI: 10.1007/s13205-011-0025-5.

Monja-Mio K. M., Barredo Pool F., Herrera Herrera G., EsquedaValle M., Manuel L. R. 2015. Development of the stomatal complex and leaf surface of *Agave angustifolia* Haw.

E. A. Castañeda Méndez // Agentes contaminantes presentes en la propagación de agaves ...5-20

'Bacanora' plantlets during the *in vitro* to *ex vitro* transition process, *Scientia Horticulturae*, 189, 32-40. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.03.032>

Leslie, J.F. & Summerell, B.A. 2006. *Fusarium* laboratory workshops-A recent history. *Mycotoxin Research*, 22(2), 73-74. <https://doi.org/10.1007/BF02956766>.

Matis R. 2019. Obtenido de <http://www.bioreactor-matis.com/es/presentacion/>

Murashige, Toshio. & Skoog, Folke. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, vol. 15, no 3, pp. 473-497. ISSN 0031-9317. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.

Nabor-Romero, O., Silva-Valenzuela, M., Rojas-Martínez, R. I. & Garza-García, R., 2018. First report of *Cladosporium cladosporioides*, a fungus that causes rot in zapote mante fruits in Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(2), 356-362. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1712-1>.

Nelson, P. E. 1990. Taxonomy of fungi in the Genus *Fusarium* with emphasis on *Fusarium oxysporum*. 27-35.

Nobrega, F.M.S., da Cunha Soares, T., de Melo, A.S., & Carvalho, J.M.F.C. 2015. Desinfestação de rebentos de sisal para utilização *in vitro*. *Revista Univap*, 21(37), 43-49. <https://doi.org/10.18066/revistaunivap.v21i37.291>.

Orozco-Martínez, J., Lira-Saade, R., Jiménez-Estrada, M., Ávila-Acevedo, J.G., Serrano-Parrales, R. & Hernández-Delgado, T. 2020. Plantas medicinales de Oaxaca, México: Etnobotánica y actividad antibacteriana. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 19(2), 221-235. <https://doi.org/10.37360/blacpma.20.19.2.14>.

Paredes, G., Peña, C., & Jadán, M. 2013. Obtención de embriones en fase cotiledonar de Café Robusta (*Coffea canephora*) con el empleo de un sistema de inmersión temporal, mediante la técnica de embriogénesis somática a partir de segmentos foliares. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 34(1), 63-83. <http://www.remcb-puce.edu.ec/index.php/remcb/article/view/236>

Peñate, L., Concepción, O., Aragón, C., Rodríguez, R., González-Olmedo, J., Escalona, M., Cid, M. & Pina, D. 2007. Evaluación del efecto de tres condiciones de cultivo *in vitro* en la calidad de plántulas de caña de azúcar propagadas en Biorreactores de Inmersión Temporal. *Biotecnología Vegetal*. <https://agris.fao.org/agris-search.do?recordID=DJ20220227629>.

Ramírez-Rojas, S., Osuna-Canizalez, F.D.J., García-Pérez, F., Canul-Ku, J., Palacios-Talavera, A., Hernández-Romano, J. y Landa-Salgado, P. 2016. Identificación molecular de bacterias asociadas a plantas ornamentales producidas *in vitro*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 34(2), 173-183. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1511-3>.

E. A. Castañeda Méndez // Agentes contaminantes presentes en la propagación de agaves ...5-20

Roca, W.M. & Mroginski, L.A. 1991. Cultivo de tejidos en la agricultura: fundamentos y aplicaciones (No. 151). ISBN 958-9183-15-8. *Centro Internacional de Agricultura Tropical*. Cali, Colombia. pp. 1039.

Ruíz-Leza, H., Rodríguez-Jasso, R., Rodríguez-Herrera, R., Contreras-Ezquivel, J., & Aguilar, C. 2007. Diseño de biorreactores para la fermentación en medio sólido. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, pp:6-8.

Santos-Jiménez, J.L., Montebianco, C.D.B., Barreto-Bergter, E., Rosa, R.C.C. & Vaslin, M.F.S. 2022. Effect of a fungal glycoprotein on scab control caused by *Cladosporium herbarum* in passion fruit plants. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 44(4). <https://doi.org/10.1590/0100-29452022002>.

Sigarroa-Rieche, A.K. & García-Delgado, C.L. 2011. Establecimiento y multiplicación *in vitro* de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth.) variedad sin espinas, mediante ápices meristemáticos. *Acta Agronómica*, Palmira, v.60, n.4, pp. 347-354. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012028122011000400007&lng=en&nrm=iso>. access on 05 Mar. 2026.

Tapia Tussell R., Lappe P., Ulloa M., Quijano-Ramayo A., Cáceres Farfán M., Larqué Saavedra A., Pérez Brito D. 2006. A rapid and simple method for DNA extraction from yeasts and fungi isolated from *Agave fourcroydes*. *Molecular Biotechnology*, 33(1): 67-70. <https://doi.org/10.1385/MB:33:1:67>.

Tisserat, B. & Vandercook, C.E. 1985. Development of an automated plant culture system. *Plant cell, tissue and organ culture*, 5(2), 107-117.

Torres, G.A. 2000. Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. *Agronomía colombiana*, 17(11-22).

Torres I., Casas A., Vega E., Martínez-Ramos y Delgado-Lemus A. 2015. Population dynamics and sustainable management of mescal *Agaves* in Central Mexico: *Agave potatorum* in the Tehuacán-Cuicatlán Valley. *Economic Botany*, 69(1): 26-41. <https://doi.org/10.1007/s12231-014-9295-2>

Ubilla Navarro E.L. 2016. Propagación *in vitro* de banano (*Musa acuminata*) variedades Gros Michel y Williams a partir de meristema. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano-Honduras. 23 p.

Ziqi Guo, Yaolong Mai, Qiaoping Mo, Jiali Liang, Xiaoyu Qi, Suju Yue, Guoping Wang, and Shujie Feng. 2023. First Report of *Enterobacter roggenskampii* and *E. cloacae* Complex sp. Causing Tomato Pith Necrosis in Guangdong Province, China. *Plant Disease*, 107:7, 221. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-22-1783-PDN>

Conflicto de interés

Los autores de este manuscrito declaran no tener ningún conflicto de interés.

Declaración ética

Los autores declaran que el proceso de investigación que dio lugar al presente manuscrito se desarrolló siguiendo criterios éticos, por lo que fueron empleadas en forma racional y profesional las herramientas tecnológicas asociadas a la generación del conocimiento.

Copyright

La **Revista Latinoamericana de Difusión Científica** declara que reconoce los derechos de los autores de los trabajos originales que en ella se publican; dichos trabajos son propiedad intelectual de sus autores. Los autores preservan sus derechos de autoría y comparten sin propósitos comerciales, según la licencia adoptada por la revista.

Licencia CreativeCommons

Esta obra está bajo una Licencia CreativeCommons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional

