

**FERTILIZACIÓN DURANTE LA ACLIMATAción EN INVERNADERO DE PLANTAS DE  
*Agave potatorum* MICROPROPAGADAS**

**[FERTILIZATION DURING THE ACLIMATION IN THE GREENHOUSE OF *Agave potatorum*  
MICROPROPAGATED PLANTS]**

**José Raymundo Enríquez-del Valle<sup>1§</sup>, Gerardo Rodríguez-Ortiz<sup>1</sup>, Vicente Arturo Velasco-Velasco<sup>1</sup>,  
Edmundo López-Hernández<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Ex hacienda de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México C.P. 71230. México. <sup>2</sup>Lic. en Biología. Empresario independiente. §Autor para correspondencia: (jose.ev@voaxaca.tecnm.mx).

**RESUMEN**

Se obtuvieron *in vitro* 198 plantas de *Agave potatorum* Zucc, que se trasplantaron a macetas de 195 cm<sup>3</sup> con sustrato perlita y colocaron durante 60 días en invernadero en donde recibieron riegos por microaspersión intermitente, 10 seg cada 12 min de las 11:0 a 15:0 h. Hubo seis grupos de 33 plantas, que diariamente después del riego por nebulización, cada grupo se fertirrigaba a nivel de sustrato con alguna dilución (5, 20, 40, 60, 80 o 100%) de la solución nutritiva= SN, de Steiner, una vez al día. Durante los días 61 al 90, las plantas estuvieron en vivero expuestas a radiación solar plena, sin recibir riego por micro-aspersión, pero si fertirriego a nivel sustrato. Transcurridos 90 días se cuantificaron las plantas sobrevivientes y su tamaño. Todas las plantas sometidas a las diferentes dosis de fertirriego se adaptaron y crecieron, pero la magnitud de crecimiento estuvo relacionada directamente con la dosis de fertirriego, por lo que las plantas fertirrigadas con la SN a 5% y las plantas fertirrigadas con la SN a 100% de concentración de nutrimentos tuvieron 7.7 y 10 hojas; 53 y 108 cm<sup>2</sup> de área foliar; 0.68 y 1.38 g de peso seco total, respectivamente.

**Palabras clave:** crecimiento de agave, micropropagación, nutrición vegetal, propagación clonal.

**ABSTRACT**

One hundred and ninety eight *Agave potatorum* Zucc plants were obtained *in vitro* and these were transplanted into 195 cm<sup>3</sup> pots with perlite substrate and placed for 60 days in a greenhouse where they received intermittent micro-sprinkling irrigations, 10 sec every 12 min from 11:0 to 15:0 h. There were six groups of 33 plants, which daily after micro-sprinkling, each group was fertirrigated at the substrate level with some dilution (5, 20, 40, 60, 80 or 100%) of the nutrient solution= NS, of Steiner's formulation, once a day. During days 61 to 90, the plants were in the nursery exposed to full solar radiation, without receiving irrigation by micro sprinkling, although the plants continued to receive fertigation at the substrate level. After 90 days, the surviving plants and their size were quantified. All the plants subjected to the different doses of fertigation were acclimatized and grew, but the magnitude of growth was directly related to the dose of fertigation, so that the plants fertirrigated with the NS at 5% and the plants fertigated with the NS at 100% nutrient concentration had 7.7 and 10 leaves; 53 and 108 cm<sup>2</sup> of leaf area; 0.68 and 1.38 g of total dry weight, respectively.

**Indexwords:** clonal propagation, growth of agave, micropropagation, plant nutrition.

## INTRODUCCIÓN

El *Agave potatorum* es una especie silvestre o escasamente cultivada de gran importancia en las comunidades de la sierra sur del estado de Oaxaca. Esta especie que crece en terrenos con pendiente, suelos someros, pedregosos, es monocárpica, ya que una planta produce flores y frutos sólo una vez en su vida, después de lo cual muere. Una planta adulta en etapa previa a desarrollar sus flores y frutos acumula gran cantidad de carbohidratos de tipo fructano en su tallo. Y debido a este contenido de azúcares en el tallo, las plantas adultas son colectadas para usar el tallo como materia prima para la elaboración artesanal de una bebida destilada denominada mezcal (Molina-Guerrero *et al.*, 2007). Los campesinos cortan la inflorescencia al inicio de su desarrollo, de dos a seis meses antes de cosechar la planta adulta, para promover la acumulación de azúcares en el tallo, por lo que se evita su reproducción y la continuidad de las poblaciones silvestres que están disminuyendo (Pérez y Casas, 2007; Aguirre-Dugua y Eguiarte, 2013). Debido al déficit de abastecimiento de materia prima de esta especie para elaborar mezcal, así como al aumento en la demanda de esta bebida, grupos de campesinos iniciaron desde mediados de la década de 1990's la propagación mediante semilla de esta especie y establecen pequeñas plantaciones (Enríquez-del Valle, 2008; Enríquez-del Valle *et al.*, 2016b).

Sin embargo, la cantidad de plantas que se producen mediante semilla no compensa la cantidad de plantas que se cosechan y las expectativas de abastecimiento futuro de materia prima, por lo que se propone la propagación *in vitro* de esta especie como técnica complementaria a las convencionales (Domínguez *et al.*, 2008). La micropropagación, consiste en la propagación asexual de plantas utilizando las técnicas de cultivo de tejidos vegetales. La propagación mediante cultivo de tejidos vegetales posibilita inducir en tejidos somáticos, procesos de división celular y morfogénesis, como es la producción de brotes y raíces; y de una manera más sobresaliente la producción de embriones somáticos. Cuando las plantas micropropagadas son transferidas de *in vitro* a macetas con sustrato y condiciones de aclimatación, se pretende que todas sobrevivan y adapten al nuevo ambiente, asumiendo cambios morfológicos y fisiológicos relacionados a la adaptación, además, de reiniciar el crecimiento. Por lo que se requiere que las plantas pasen por un proceso de aclimatación durante el cual desarrollen estructuras resistentes a la exposición a las condiciones ambientales *ex vitro* (Papaphotiou *et al.*, 2003).

La aclimatación es la etapa final necesaria en todos los esquemas de micropropagación, donde las plantas se adaptan a las nuevas condiciones ambientales tales como, menor humedad relativa, mayor intensidad de luz, la temperatura fluctuando en rangos mayores que en el ambiente *in vitro* y constante estrés de resistencia a enfermedades. Entre los cambios que ocurren en las plantas para su adaptación se incluye el desarrollo de la cutícula, incremento de ceras epicuticulares, y efectiva regulación estomática de la transpiración (Pospíšilová *et al.*, 2007). Para el buen desarrollo de las plantas éstas deben recibir abastecimiento adecuado de nutrimentos, ya sea contenidos en el sustrato o proporcionados mediante fertilizantes. Los sustratos en que se establezcan las plantas micropropagadas para su aclimatación deben poseer adecuada porosidad para retener humedad, pero drenar exceso de agua y permitir la aireación de las raíces. El material perlita que se usa como sustrato en contenedores en que se establezcan plantas hortícolas y plantas micropropagadas durante su aclimatación, consiste de partículas que en conjunto tienen una densidad aparente de 0.105 g cm<sup>-3</sup>, presenta una porosidad total de 85-96%, con 49-61% de porosidad de aireación y 35% de porosidad de retención de humedad (Anicua-Sánchez *et al.*, 2008; Blok y Wever, 2008). La perlita presenta estabilidad física, pues su capacidad de retención de agua y aireación no cambian mucho en el periodo que permanece la planta en este sustrato (Verhagen, 2009).

Dependiendo de las características del sustrato en que se establezca una planta, la cantidad de nutrimentos que se deban aplicar en fertilización varía, de tal manera que los sustratos que sean mezclas con alta proporción de material orgánico, como la turba, la aportación de nutrimentos mediante fertilizantes es menor a lo que se debe aplicar a plantas que se establecen en sustratos con alta proporción de materiales inertes. La perlita siendo un material inerte se puede usar como único componente del sustrato, pero el

abastecimiento de nutrimentos mediante soluciones nutritivas debe ser diariamente y se requiere definir la dosis de nutrimentos a aplicar. Por lo que, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la adaptación y crecimiento de plantas de *Agave potatorum* micropropagadas, que establecidas en macetas con sustrato perlita para su aclimatación en invernadero, se abastecieron con diferentes diluciones de una solución nutritiva.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de cultivos vegetales, en donde se tienen cultivos *in vitro* de *Agave potatorum*, en etapa de multiplicación de propágulos, y posteriormente en invernadero de aclimatación, del área de propagación vegetal del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca.

### Proliferación de brotes

Para el incremento de la cantidad de brotes en la etapa citada, éstos se establecieron en recipientes de vidrio de 145 cm<sup>3</sup> que contenían 20 mL de medio de cultivo, con consistencia de gel preparado con las sales inorgánicas MS (Murashige y Skoog, 1962), 0.4 mg L<sup>-1</sup> de Tiamina-HCl, 100 mg L<sup>-1</sup> de myo-inositol, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarosa, 1 mg L<sup>-1</sup> de N<sup>6</sup>-bencilaminopurina; el pH ajustado a 5.8, antes de agregar 5.6 g L<sup>-1</sup> de agar. Los cultivos asépticos se incubaron durante dos meses en que se les proporcionó iluminación fluorescente, a 2000 lux en fotoperiodos de 16 horas y 8 horas de oscuridad, la temperatura en el rango de 18 a 28 °C. Durante el tiempo señalado ocurrió la formación de más brotes heterogéneos en tamaño, en racimos en una base común de callo y fragmentos de tallo con los que se inició el cultivo. Para continuar con la multiplicación de propágulos, en condiciones asépticas proporcionadas en una campana de aire filtrado de flujo laminar horizontal, el uso de cajas *petri* de vidrio esterilizadas, pinzas y bisturí metálicos que se esterilizaban frecuentemente al exponerlos a flama, los racimos de 8 a 15 brotes se extraían del recipiente de cultivo, se colocaban sobre la caja *petri* de vidrio esterilizada y se separaban en racimos de tres a cuatro brotes. Cada racimo de brotes se establecía en un recipiente de vidrio, 145 cm<sup>3</sup> que contenía 20 mL de medio cultivo de composición similar que el subcultivo anterior, se tapaba y sellaba el frasco para colocarlo en el área de incubación.

### Enraizado de brotes

Cuando se obtuvieron suficientes brotes *in vitro* que se requerían para el presente trabajo, los brotes que su hoja más grande tenía entre 3.5 y 4 cm en tamaño, se separaron individualmente para establecer tres brotes en cada frasco de cultivo de 145 cm<sup>3</sup>, que contenía 20 mL de medio de cultivo esterilizado con consistencia de gel, preparado con las sales inorgánicas MS, 0.4 mg L<sup>-1</sup> de tiamina-HCl, 100 mg L<sup>-1</sup> de myo-inositol, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarosa, 1 mg L<sup>-1</sup> de la auxina ácido indol-3-butírico (AIB) y 5.6 g L<sup>-1</sup> de agar. Ya que se establecieron los brotes en el medio de cultivo descrito, se colocó la tapa, se selló la unión del frasco y tapa con polietileno adherente, y los cultivos se colocaron en el área de incubación, donde se le proporcionaron durante 30 días condiciones similares que en la etapa de multiplicación de propágulos. En esta etapa se esperaba inducir el enraizado de los brotes, en su preparación para trasplante al sustrato.

### Transferencia de plantas a macetas con sustrato y ambiente de aclimatación

Transcurridos los 30 días de la etapa de enraizado de brotes, se tuvieron 198 plantas obtenidas *in vitro* que se extrajeron de los frascos de cultivo, sus raíces se enjuagaron para eliminar medio de cultivo adherido y se establecieron individualmente en macetas de 195 cm<sup>3</sup> con sustrato perlita. Las plantas en macetas se colocaron en invernadero durante 60 días para su aclimatación, en mesas de concreto de 1.2 m de ancho, 12 m de longitud y 0.9 m de altura. A las plantas se les aplicaba riego mediante nebulización intermitente de 10 segundos cada 12 min, de las 11:00 a las 15:00 h y posterior al periodo de riego por nebulización, las plantas se fertilizaban a nivel de sustrato con 10 mL de solución nutritiva. El total de 198 plantas se separó

en seis grupos de 33 plantas, para fertirrigar cada grupo con sólo alguna dilución (5, 20, 40, 60, 80 y 100%) de la concentración de nutrimentos de la solución universal de Steiner (1984). La solución Steiner a 100% contiene en mg L<sup>-1</sup>: 166.42 N, 30.68 P, 276.44 K, 182.34 Ca, 49.09 Mg, 111.01 S, 1.33 Fe, 0.62 Mn, 0.11 Zn, 0.44 B, 0.020 Cu, 0.048 Mo. A partir del día 61 y hasta el día 90 de aclimatación las plantas se colocaron en vivero en donde estuvieron expuestas a radiación solar plena y ya no se les aplicaba riego por nebulización, pero si fertirriegos a nivel de sustrato.

### **Variables evaluadas**

Al inicio de la aclimatación se seleccionaron ocho plantas de cada tratamiento en las que se cuantificó el número de hojas, la longitud de la hoja más grande y la altura hasta nivel del cogollo, mediante una escala con aproximación a 0.1 cm; el diámetro y altura del tallo, mediante un vernier, con aproximación a 0.1 cm. Transcurridos 90 días se tomaron datos de las variables citadas y, además, el volumen de la raíz, al sumergir ésta en una cantidad conocida de agua en probeta de 10 mL, con aproximación hasta 0.1 mL; el peso fresco de la raíz, del tallo, de las hojas y el peso fresco total, se obtuvieron al pesarlos en una balanza analítica con capacidad de 160 g y precisión de 0.1 mg.

Para calcular el área foliar de cada planta, las hojas se desprendieron del tallo, y acomodaron en un acetato para fotocopiarlas. Las imágenes de fotocopia de las hojas se recortaron y pesaron en balanza analítica. Una pieza de papel de la misma calidad que el de las fotocopias, de un área conocida (4 cm<sup>2</sup>) se pesó en la balanza analítica. El peso de esta pieza se dividió entre su área para obtener una constante en g cm<sup>-2</sup>. El área foliar de una planta se obtuvo al multiplicar la constante, por el peso de los recortes de fotocopia de sus hojas (g). Después de obtener los pesos frescos de las partes de cada planta, su tallo, hojas y raíz se pusieron por separado en bolsas de papel y colocaron en estufa de secado a 50 °C durante 10 días para después cuantificar su peso seco en la balanza analítica con precisión de 0.1 mg. El peso seco total de la planta se obtuvo al sumar, los pesos secos de raíz, tallo y las hojas.

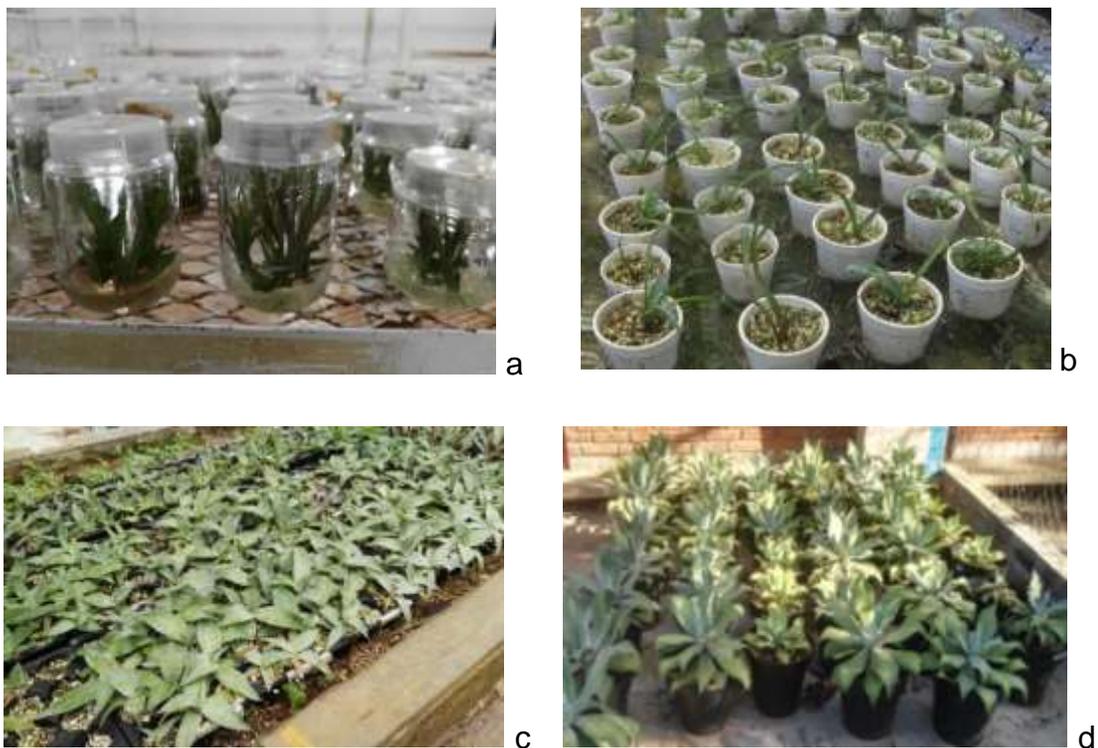
La unidad experimental fue una planta y se usaron ocho repeticiones por tratamiento. El experimento se estableció de acuerdo con un diseño completamente al azar. Los datos se sometieron al análisis de varianza y la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ) para comparación de medias. Para la rutina de análisis estadístico se usó el programa Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2004).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En un proceso de micropropagación vegetal, la etapa de aclimatación de las plantas es importante, en la que se asegura que la mayor cantidad de éstas sobreviva y conserve calidad morfológica y fisiológica (Rohr *et al.*, 2003; Papaphotiou *et al.*, 2003). El abastecimiento de nutrimentos y principalmente de nitrógeno es importante, pues se demostró en plantas de sorgo obtenidas de semilla (Zhao *et al.*, 2005), y en plantas de olivo (*Olea europea* L.) de un año de edad (Boussadia *et al.*, 2010) que el nivel de abastecimiento de N estuvo relacionado positivamente con la magnitud de desarrollo del área foliar, contenidos de N y clorofila en las hojas, y con la fotosíntesis neta, características que influyen sobre la fijación de C y la acumulación de biomasa. Pues se tiene documentado en muchas especies cultivadas que un déficit de abastecimiento de nitrógeno influye en reducción de la fotosíntesis, ya que más de la mitad del N foliar se localiza en el aparato fotosintético.

Cuando las plantas de *Agave potatorum* micropropagadas se transfirieron de *in vitro* a *ex vitro*, éstas tenían en promedio seis hojas angostas (Figura 1b y 1c), la hoja más grande tenía 5.6 cm de longitud, y 8.4 cm<sup>2</sup> de área foliar; el tallo de 0.58 cm de diámetro. Las plantas tenían 5.1 raíces, con volumen de raíz de 0.12 cm<sup>3</sup>.

En diversas especies de *Agave* se han aplicado procedimientos de micropropagación y obtenido plantas que se han transferido a condiciones *ex vitro*. En el caso de *A. fourcroydes*, plantas obtenidas *in vitro* se establecieron en macetas con sustrato de las cuales el 94% de estas plantas se adaptó, aunque no se describió el ambiente de aclimatación y las características de las plantas al término de esta etapa (Garriga-Caraballo *et al.*, 2010). Se logró la adaptación de entre el 96 a 98% de las plantas micropropagadas de *A. vera-cruz* cuando se transfirieron a macetas con sustrato que fue una mezcla de suelo-arena y abono (Tejavathi *et al.*, 2007). Se obtuvo la adaptación de 100% de plantas micropropagadas de *A. tequilana*, aunque no se describen sustrato y condiciones de aclimatación (Valenzuela-Sánchez *et al.*, 2006). Enríquez-del Valle *et al* (2016b) propagaron *A. potatorum in vitro*, y cuando Bautista-Castellanos et al (2020) micropropagaron *A. potatorum*, las plantas se transfirieron a charolas divididas en cavidades de 90 cm<sup>3</sup> con sustrato que tenía 33.3% turba y 66.7% perlita.



**Figura 1.** Micropropagación de *Agave potatorum* Zucc; a) área de incubación de cultivo *in vitro*; b) vista general del área de aclimatación; c) plantas con 60 días de aclimatación; d) plantas de *Agave potatorum* Zucc producidas *ex vitro* de un año.

El total de plantas se separaron en tres lotes, para fertirrigarlas durante 90 días con alguna dilución (25, 50 o 100%) de solución nutritiva, SN, de la formulación Steiner (1984). Cuando transcurrió ese periodo, del 87 a 97% de las plantas sobrevivió, y las plantas fertirrigaron con la SN a 50%, fueron las que alcanzaron tamaño mayor. Abreu *et al.* (2007) comentan que la técnica de cultivo de tejidos es eficiente para producir gran cantidad de plantas, pero se requiere mejorar los protocolos de aclimatación para lograr que la mayor parte de las plantas se adapten al ambiente *ex vitro*, por lo que evaluaron la aclimatación de diversos grupos de plantas micropropagadas de *A. fourcroydes*, que se transfirieron a macetas con un sustrato preparado con zeolita y pulpa fermentada de henequén, y fueron sometidas a diversos periodos (0, 15, 30, 45 y 60 días) de aclimatación en casa de cultivo, en que imperaban condiciones de humedad relativa alta (90-80%), radiación solar disminuida a 30% (558-668  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Transcurrido el periodo citado para cada grupo, las plantas se ubicaron durante una semana en otra zona, expuestas a mayor radiación solar (1303 a 1602

μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>). Posterior a dichos periodos, las plantas se establecieron en vivero en donde se evaluaron durante 180 días. En los grupos de plantas que permanecieron 15 días en la primera etapa de aclimatación, y las plantas que permanecieron al menos 30 días en la etapa de casa de cultivo con alta humedad relativa y radiación solar disminuida, al término de la etapa de vivero se adaptó el 60% y 90% de las plantas, respectivamente.

En el presente trabajo se obtuvieron *in vitro* plantas de *A. potatorum* siguiendo la secuencia de las etapas siguientes: 1) el establecimiento de cultivos asépticos; 2) la multiplicación de propágulos, mediante la inducción de la formación de brotes múltiples; 3) la separación de los brotes y su establecimiento en medios de cultivo para inducir que formaran raíces adventicias; 4) la transferencia de las plantas de las condiciones *in vitro* a macetas con sustrato de perlita, y colocándolas en condiciones de invernadero 60 días, y en vivero durante 30 días. Cuando habían transcurrido 90 días de la etapa 4, en las diversas condiciones de fertilización, todas las plantas se adaptaron. Sin embargo, los análisis de varianza mostraron que las dosis de fertilización tuvieron efecto significativo diferente ( $Pr \leq 0.05$ ) sobre la cantidad de hojas que desarrollaron las plantas durante este periodo de adaptación (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Resumen de análisis de varianza de características de plantas de *Agave potatorum* micropropagadas que durante 90 días de aclimatación se fertirrigaron a dosis diferentes de nutrimentos.

Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrados medios y significancia				
		NH	INH	GT (cm)	AC (cm)	AF (cm <sup>2</sup> )
DF	5	6.0208*	8.770 *	0.0187 ns	0.0769 *	3341.8305**
Error	42	2.1875	1.062	0.0089	0.0177	464.1379
Total	47					
Cuadrados medios y significancia						
		PF_raíz	PF_tallo	PF_hojas	PF_total	VR
DF	5	0.6718 ns	0.0185*	171.38**	175.04**	0.7232 ns
Error	42	0.5084	0.0060	14.68	19.11	0.5817
total	47					
Cuadrados medios y significancia						
		PS_tallo	PS_raíz	PS_hojas	PS_total	
DF	5	0.0003 ns	0.0018 ns	0.4097**	0.4572**	
Error	42	0.0001	0.0024	0.0425	0.0671	

total 47

DF = dosis de fertilización, NH = número de hojas, INH = incremento en número de hojas, GT = grosor del tallo, AC = altura del cogollo, AF = área foliar, PF = peso fresco, VR = volumen de la raíz, PS = peso seco. \*significativo ( $\alpha=0.05$ ); \*\*significativo ( $\alpha=0.01$ ); ns = no significativo.

Las plantas en todas las condiciones de fertirriego habían incrementado en número de hojas (INH); la altura de la planta (AT) y el peso fresco del tallo, y tuvo efecto diferente significativo ( $Pr \leq 0.01$ ) sobre el peso fresco foliar y total, el peso seco foliar y total, así como en el área foliar (AF) (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Características de las plantas de *Agave potatorum* que durante 90 días en la etapa de aclimatación se fertirrigaron a dosis diferentes de nutrientes.

DF (%)	PA (%)	NH	LH (cm)	VR (cm <sup>3</sup> )	AT (cm)
5	100	7.75 b	11.25 a	1.54 a	0.66 b
20	100	8.5 ab	10.43 a	1.95 a	0.68 b
40	100	9.25 ab	11.00 a	1.36 a	0.61 b
60	100	9.50 ab	11.25 a	1.91 a	0.76 ab
80	100	9.87 ab	11.68 a	1.18 a	0.69 ab
100	100	10 a	11.70 a	1.62 a	0.89 a

	AC (cm)	AF (cm <sup>2</sup> )	PF_hojas (g)	PF_total (g)	GT (cm)
5	4.63 a	53.08 c	5.46 c	7.30 c	0.62 a
20	4.50 a	72.19 bc	10.78 bc	12.84 bc	0.64 a
40	3.97 a	72.52 bc	10.61 bc	12.45 bc	0.62 a
60	4.56 a	98.28 ab	14.16 ab	16.69 ab	0.69 a
80	4.77 a	93.24 ab	15.95 ab	17.56 ab	0.58 a
100	4.81 a	108.07 a	18.64 a	20.54 a	0.71 a

	PS_hojas (g)	PS_raíz (g)	PS_tallo (g)	PS_total (g)
5	0.50 c	0.14 a	0.039 a	0.68 c
20	0.74 bc	0.15 a	0.035 a	0.93 bc
40	0.72 bc	0.14 a	0.035 a	0.90 bc
60	0.90 ab	0.17 a	0.041 a	1.12 ab

80	0.96 ab	0.13 a	0.039 a	1.14 ab
100	1.16 a	0.16 a	0.052 a	1.38 a

DF=dosis de fertilización, PA=plantas adaptadas (%), NH = número de hojas, LH = longitud de hojas, VR = volumen de la raíz, AT = altura del tallo, AC = altura del cogollo, AF = área foliar, PF = peso fresco, GT = grosor del tallo, PS = peso seco. En cada columna valores con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey, 0.05).

Conforme las plantas se fertirrigaron con dosis mayor de nutrimentos éstas fueron más grandes). Varias condiciones ambientales en invernadero son importantes para lograr la aclimatación de plantas de agave micropropagadas: humedad relativa, temperatura, sustrato, intensidad de luz; pero el abastecimiento nutrimental puede influir para que las plantas se adapten en menor tiempo y reinicien crecimiento, en preparación para su transferencia a vivero. Enríquez-del Valle *et al.* (2013) reportaron resultados similares con plantas de *Agave americana* micropropagadas que se establecieron en macetas con algún sustrato inerte, ya sea arena o perlita, y condiciones de aclimatación en invernadero, las que se adaptaron y mostraron crecimiento vigoroso cuando recibieron fertirriego durante 84 días. Posteriormente, Enríquez-del Valle *et al.* (2016a) reportaron que plantas micropropagadas-aclimatadas de *A. potatorum* se establecieron en vivero para evaluar su crecimiento en respuesta al abastecimiento nutrimental.

*Agave potatorum* Zucc en condiciones de campo, desarrolla hojas anchas. Las plantas que se obtienen mediante cultivo de tejidos vegetales, presentan hojas largas y angostas, incluso las primeras que se forman durante los 70 días de aclimatación. Transcurrida esta etapa, las plantas micropropagadas-aclimatadas se establecen en vivero, expuestas a radiación solar plena, y cuando han transcurrido tres meses de crecimiento *ex vitro* las plantas muestran hojas más anchas (Figura 1c).

## CONCLUSIONES

Plantas de *Agave potatorum* Zucc micropropagadas que se transfirieron a macetas con sustrato perlita y ambiente de invernadero para su aclimatación, todas se adaptaron. Conforme las plantas micropropagadas recibieron dosis crecientes de fertilización durante los 90 días de aclimatación, al término de dicho periodo éstas mostraron crecimiento adicional en peso fresco foliar, peso fresco total, pesos seco foliar, peso seco total y el área foliar. Las plantas que recibieron las dosis de fertilización más alta tuvieron, 1.3 veces la cantidad de hojas, 1.45 veces la altura del tallo, 1.66 veces el peso fresco del tallo, 3.41 veces peso fresco foliar, 2.81 veces el peso fresco total, 2.32 veces el peso seco foliar, 2.02 veces el peso seco total, 2.03 veces el área foliar y 3.3 veces el incremento del número de hojas, respecto a las plantas que recibieron la dosis más baja (5%). Las plantas fertirrigadas a 100% de la solución nutritiva, desarrollaron área foliar, peso seco foliar, peso seco total, y número de hojas, magnitudes superiores a las mostradas por las plantas fertirrigadas con las dosis del 5, 20, 40, 60 y 80% de la solución nutritiva.

## LITERATURA CITADA

- Abreu, E., G. González, G. Rodríguez-Ortiz, P. Rodríguez, R. Domech, R. y M. Garriga. 2007. Evaluación de vitroplantas de henequén (*Agave fourcroydes* Lem) durante la fase de aclimatización. *Cultivos Tropicales*, 28(1): 5-11. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1932/193215858001>.
- Aguirre-Dugua, X. and L.E. Eguiarte. 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. <http://dx.doi.10.1016/j.jaridenv.2012.10.018>.
- Anicua-Sánchez, R., M.C. Gutiérrez-Castorena and P. Sánchez-García. 2008. Physical and micromorphological properties of organic and inorganic materials for preparing growing media. *Acta Horticulturae*, 779: 577-582. <http://dx.doi.10.17660/ActaHortic.2008.779.74>

- Bautista-Castellanos, A.I., J.R. Enríquez-del Valle, V.A. Velasco-Velasco y G. Rodríguez-Ortiz. 2020. Enraizado de brotes *in vitro* y aclimatación de plantas de *Agave potatorum* Zucc. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 7(3): e2618. <http://dx.doi.org/10.19136/era.a7n3.2618>.
- Blok, C. and G. Wever. 2008. Experience with selected physical methods to characterize the suitability of growing media for plant growth. *Acta Horticulturae*. 779: 239-249. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.779.29>.
- Boussadia, O., K. Steppe, H. Zgallai, S. Ben El Hadj, M. Braham, R. Lemeur and M.C. Van Labeke. 2010. Effects of nitrogen deficiency on leaf photosynthesis, carbohydrate status and biomass production in two olive cultivars 'Meski' and 'Koroneiki'. *Scientia Horticultura*. 123: 336-342. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scientia.2009.09.023>.
- Domínguez, R.M., J.M.L. González, G.C. Rosales, V.C.D. Quiñones, de L.S. Delgadillo, O.S.J. Mireles y Molphe, B. E.P. 2008. El cultivo *in vitro* como herramienta para el aprovechamiento, mejoramiento y conservación de especies del género *Agave*. *Investigación y Ciencia*. 16(041): 53-62. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=674/67404109>.
- Enríquez-del Valle, J.R. 2008. La propagación y crecimiento de agaves. Fundación Produce Oaxaca A.C. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. Oaxaca, México. 46 p.
- Enríquez-del Valle J.R., A. Estrada-Silias, G. Rodríguez-Ortiz, V.A. Velasco-Velasco and G.V. Campos-Ángeles. 2013. Sustrato y dosis de fertirriego en la aclimatización de vitroplantas de *Agave americana* var. *oaxacensis*. *Rev. FCA UNCUYO*. 45(2): 341-348. Disponible en: <http://revista.fca.uncu.edu.ar>.
- Enríquez-del Valle, J.R., K.H. Antonio-Luis, G. Rodríguez-Ortiz and G.V. Campos-Ángeles. 2016a. Effect of culture medium and incubation on the characteristics of micropropagated agave plants. *Cien. Inv. Agr*, 43(2): 263- 272. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202016000200009>.
- Enríquez-del Valle, J.R., S.E. Alcara-Vázquez, G. Rodríguez-Ortiz, M.E. Miguel-Luna and C. Manuel-Vázquez. 2016b. Fertirriego en vivero a plantas de *Agave potatorum* Zucc micropropagadas-aclimatizadas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 7(5): 1167-1177. <http://dx.doi.org/10.29312/remexca.v7i5.240>.
- Garriga-Caraballo, M., O.G. González, G.S. Aleman, C.E. Abreu, B.K. Quiroz, P.D.S. Caligari and R. García-González. 2010. Management of auxin-cytokinin interactions to improve micropropagation protocol of henequen (*Agave fourcroydes* Lem). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70(4): 545- 551. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392010000400003>.
- Molina-Guerrero, J.A., J.E. Botello-Álvarez, A. Estrada-Baltazar, J.L. Navarrete-Bolaños, H. Jiménez-Islas, M. Cárdenas-Manríquez y R. Rico-Martínez. 2007. Compuestos volátiles en el mezcal. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 6(1): 41-50. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62060106>.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant*. 15: 473-497. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>.
- Papaphotiou, M., S. Hatzilazarou, T. Syros, A. Economou and G. Sovatzoglou. 2003. Acclimatization of *Callistemon* sp. microplants in fog as influenced by shading. *Acta Hort*. 616: 151-155. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.616.15>.
- Pérez, N. E. and A. Casas. 2007. Use, extraction rates and spatial availability of plant resources in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico: The case of Santiago Quiotepec, Oaxaca. *Journal of Arid Environments*. 70:356-379. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.12.016>.
- Pospišilová J., H. Synková, D. Haisel and S. Semorádová. 2007. Acclimation of plantlets to *ex vitro* conditions: Effects of air humidity, irradiance, CO<sub>2</sub> concentration and abscisic acid (a Review). *Acta Hort*. 748: 29-38. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2007.748.2>.
- Rohr, R., I. Iliev, A. Scaltsoyiannes and P. Tsoulpha. 2003. Acclimatization of micropropagated forest trees. *Acta Hort*. 616: 59-69. <http://dx.doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.616.3>.
- SAS Institute Inc. 2004. SAS/STAT 9.1 User's guide. SAS Institute, Cary, NC. USA. 4979 p.

- Steiner, A.A. 1984. The universal nutrient solution. Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Congress on Soilless Culture International Soc. For Soilless Culture. ISOSC. Wageningen, The Netherlands. pp. 633-649.
- Tejavathi, D.H, M.D. Rajanna, R. Sowmya and K. Gayathamma. 2007. Induction of somatic embryos from cultures of *Agave vera-cruz* Mill. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant. 43(5):423-428. <http://dx.doi.10.1007/s11627-007-9088-8>.
- Valenzuela-Sánchez, K.K., R.E. Juárez-Hernández, A. Cruz-Hernández, V. Olalde-Portugal, M.E Valverde and O. Paredes-López. 2006. Plant regeneration of *Agave tequilana* by indirect organogenesis. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 42(4):336-340. <http://dx.doi.10.1079/IVP2006788>.
- Verhagen, J.B.G.M. 2009. Stability of growing media from a physical, chemical and biological perspective. Acta Hort, 819: 135-141. <http://dx.doi.10.17660/ActaHortic>. 2009. 819.12.
- Zhao, D., K.R. Reddy, V.G. Kakani and V.R. Reddi. 2005. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis, and hyperspectral reflectance properties of sorghum. Europ. J. Agronomy, 22: 391-403. <http://dx.doi.10.1016/j.eja.2004.06.005>.