

Karla Sugay Moreno Martínez y Kelly Maribel Monja Mio



Cultivo *in vitro* de agaves



Por lo general, asociamos al agave con el tequila y el mezcal, bebidas mexicanas conocidas internacionalmente. Sin embargo, la importancia de estas plantas va más allá. El cultivo *in vitro* es una alternativa biotecnológica para dar solución a diversos problemas relacionados con su aprovechamiento, además de ser una base para el mejoramiento genético de estas especies.

Características

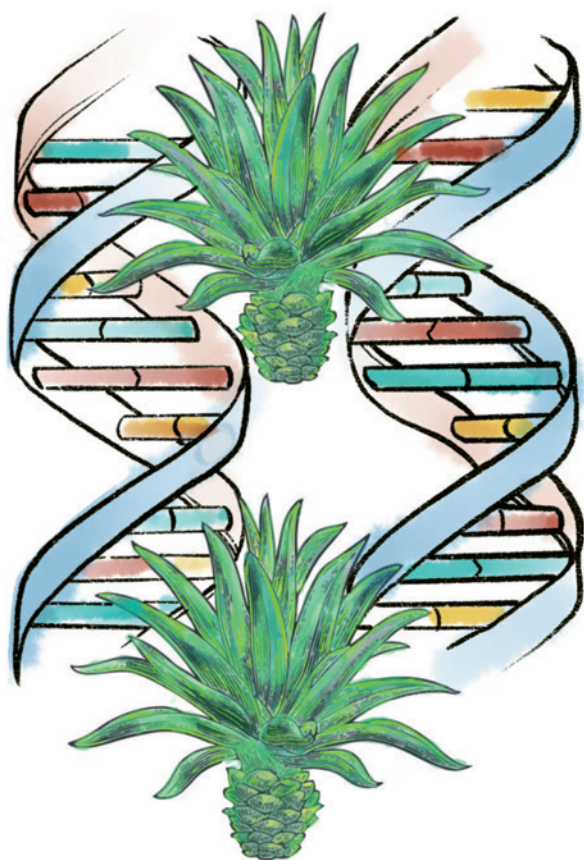
Desde hace varios años se han dedicado múltiples estudios científicos a los agaves, pues su existencia es de suma importancia para nuestro país. Estas plantas se distribuyen desde el sur de Canadá, con presencia en México, Centroamérica, islas del Caribe y hasta el norte de Sudamérica. Existen aproximadamente 211 especies de este género, de las cuales 75% se encuentran en el territorio mexicano, donde existe una amplia diversidad.

Los agaves poseen la característica de adaptarse a diferentes condiciones de temperaturas y prolongados periodos de sequías; por ello, son capaces de crecer en regiones con climas áridos y semiáridos (con muy baja humedad). Lo anterior se debe principalmente a que cuentan con un metabolismo ácido crasuláceo (CAM, por sus siglas en inglés); esto es, una especialización fisiológica que les permite reducir la pérdida de agua, ya que estas plantas abren sus **estomas** por la noche cuando las temperaturas son bajas y los mantienen cerrados durante el día. Otro factor que determina su crecimiento en diferentes zonas del país es la altitud. El mayor número de especies de agave se ha registrado entre los 1 000 y 2 000 metros sobre el nivel del mar; geográficamente, son abundantes en la península de Baja California, en Sonora y en la región del altiplano o Mesa Central.

Las hojas de estas plantas se desarrollan alrededor del tallo en forma de roseta. Sus colores pueden variar dependiendo de la especie, aunque por lo general se puede apreciar entre un tono verde pálido y un azul grisáceo; además, presentan bordes espinosos y una espina al final de cada hoja que puede llegar a medir

Estomas

Poros formados por células especializadas, que se encuentran en la epidermis de las hojas; éstos permiten el intercambio de gases y evitan la pérdida de agua.



varios centímetros. El tallo, comúnmente conocido como piña, es un órgano donde se almacenan los carbohidratos de la planta. También se presentan otras adaptaciones, como hojas suculentas, cutículas gruesas, ceras epicuticulares y raíces superficiales.

La reproducción de los agaves varía según sea la especie; algunas pueden reproducirse de forma sexual y asexual, mientras que otras sólo cuentan con un medio de reproducción para propagarse. La reproducción sexual se logra gracias a la polinización de las semillas del escapo floral, la cual se lleva a cabo por la acción de algunos insectos y animales nocturnos, como los murciélagos. Por otro lado, la reproducción asexual tiene dos mecanismos en los agaves: la formación de bulbillos en el escapo floral y el desarrollo de hijuelos en los rizomas (tallos subterráneos).

Por último, una de las características principales de estas plantas es que tienen un ciclo de vida largo, el cual, dependiendo de la especie, puede variar entre 10 y 25 años.

Aprovechamiento

Los principales productos que se obtienen a partir de los agaves son las bebidas alcohólicas y las fibras. Sin embargo, estas especies también son utilizadas como fuente de alimento, de saponinas e inulinas (**agavinas**) y como plantas ornamentales.

Para la producción de bebidas alcohólicas, se requiere un proceso para obtener las concentraciones de azúcares que se almacenan en la parte de las plantas conocida como piña. Entre las especies más utilizadas se encuentran *Agave tequilana* y *A. angustifolia*, para la producción de tequila y mezcal, respectivamente, las cuales, con el paso del tiempo, se han vuelto bebidas emblemáticas, por lo que cuentan con la denominación de origen. Sin embargo, hay más especies, como *A. cupreata*, *A. potatorum* y *A. americana*, entre otras, que también se utilizan como materia prima para la producción de mezcal.

Por otro lado, las fibras naturales se obtienen a partir de las hojas de *A. sisalana*, *A. fourcroydes* y del híbrido H11648 (del cual hablaremos más adelante). Estas fibras se aprovechan para la producción de cordeles, sacos y sogas, entre otros. La península de Yucatán se distingue por la producción de fibra obtenida principalmente de la especie *A. fourcroydes*, conocida como henequén (véase la Figura 1).

Agavinas

Carbohidratos constituidos por polímeros de fructosa; se encuentran en los agaves y pueden ser utilizados como prebióticos.



Figura 1. Fibras obtenidas de las hojas de *A. fourcroydes* (henequén) en la península de Yucatán.

■ **Problemas**

■ A pesar de la gran importancia de los agaves para nuestro país, existen pocos estudios enfocados en el mejoramiento y la conservación de este cultivo. Los programas de mejoramiento genético en cualquier especie vegetal tienen como objetivo principal la aplicación de principios biológicos para poder aprovechar al máximo la variabilidad genética que existe entre las especies de plantas, lo cual se realiza mediante la vía sexual, con cruza y **retrocruzas**. En los agaves, estos programas son difíciles de desarrollar debido a sus largos ciclos de vida y a la compleja manipulación de las polinizaciones, por la forma de la planta y el tamaño de su inflorescencia, que puede ser mayor a 9 m en algunas especies.

En ciertos casos, cuando el agave se propaga de forma asexual, existe el riesgo de que estos clones sean susceptibles a enfermedades si la planta madre también lo es. Un ejemplo es la especie *A. tequilana*, en la cual se ha observado la pérdida de variabilidad genética, lo que la ha hecho vulnerable ante un cambio de su entorno. En cuanto a otras especies, existe una deforestación masiva de los individuos silvestres, debido a una alta demanda para la producción de bebidas alcohólicas. Tal es el caso de *A. cupreata*; esta planta suele ser tomada del campo antes de su floración y usarse para la producción del mezcal, por lo que su reproducción se ve afectada. Además, existe una gran demanda de material por parte de la industria, que requiere alternativas para la obtención de individuos de calidad sin que ello signifique depredar ni afectar las poblaciones naturales de estas especies.

■ **Cultivo *in vitro***

■ El cultivo *in vitro* se refiere a un conjunto de técnicas que consisten en cultivar un fragmento vegetal en un recipiente, bajo condiciones controladas y asépticas, con el objetivo de obtener plantas de calidad y libres de microorganismos. Una de las aplicaciones del cultivo *in vitro* es la micropropagación de individuos seleccionados o individuos *elite*, llamados así porque son elegidos según las características que se desean (resistentes a enfermedades, mayor tamaño de hojas, contenido de azúcares, entre otras).

Retrocruza

Cruzamiento entre un individuo de la primera generación con otro individuo de la generación parental.

Explante

Fragmento vegetal (segmentos de hoja, tallo, semilla, etc.) de la planta donadora, el cual será utilizado para iniciar un cultivo *in vitro*.

Brote adventicio

Estructura monopolar (solo presenta la parte apical) que se origina en el explante y mantiene conexión con el tejido donador.

Embrión somático

Estructura bipolar; es decir, que presenta ápice apical (que origina la parte aérea de la planta) y ápice radicular (que origina la raíz). No mantiene conexión con el explante.

Clona

Se refiere a todos los brotes obtenidos del explante de una misma planta.

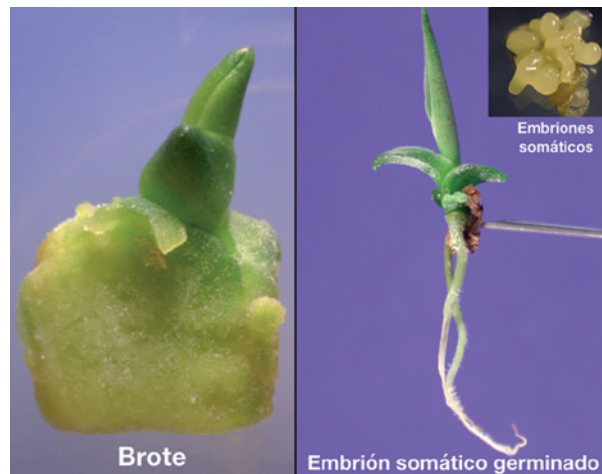


Figura 2. Fotografía de un brote y un embrión somático germinado de *A. fourcroydes*.

A partir de un **explante**, las plántulas *in vitro* pueden ser obtenidas mediante el cultivo de brotes preformados (cultivo de yemas) o mediante dos rutas morfogénicas: la organogénesis (formación de **brotes adventicios**) y la embriogénesis somática (formación de **embriones somáticos**). Este conjunto de técnicas representa una gran solución para los problemas mencionados anteriormente (véase la Figura 2).

■ **¿Cómo se obtiene una clona de agave *in vitro*?**

■ La obtención de una **clona** de agave *in vitro* (en condiciones de laboratorio) y su aclimatación para transferirla a un ambiente *ex vitro* (en condiciones naturales) requiere un proceso para traer material del campo al laboratorio, y luego regresar este material del laboratorio al campo (véase la Figura 3). Este proceso se puede describir utilizando como modelo la vía organogénica.

■ **Del campo al laboratorio**

■ Para obtener una clona *in vitro*, lo primero es ir al campo y seleccionar una planta madre que cumpla con ciertas características para su aprovechamiento. Los hijuelos de los rizomas de la planta seleccionada serán llevados al laboratorio, ya que son plantas

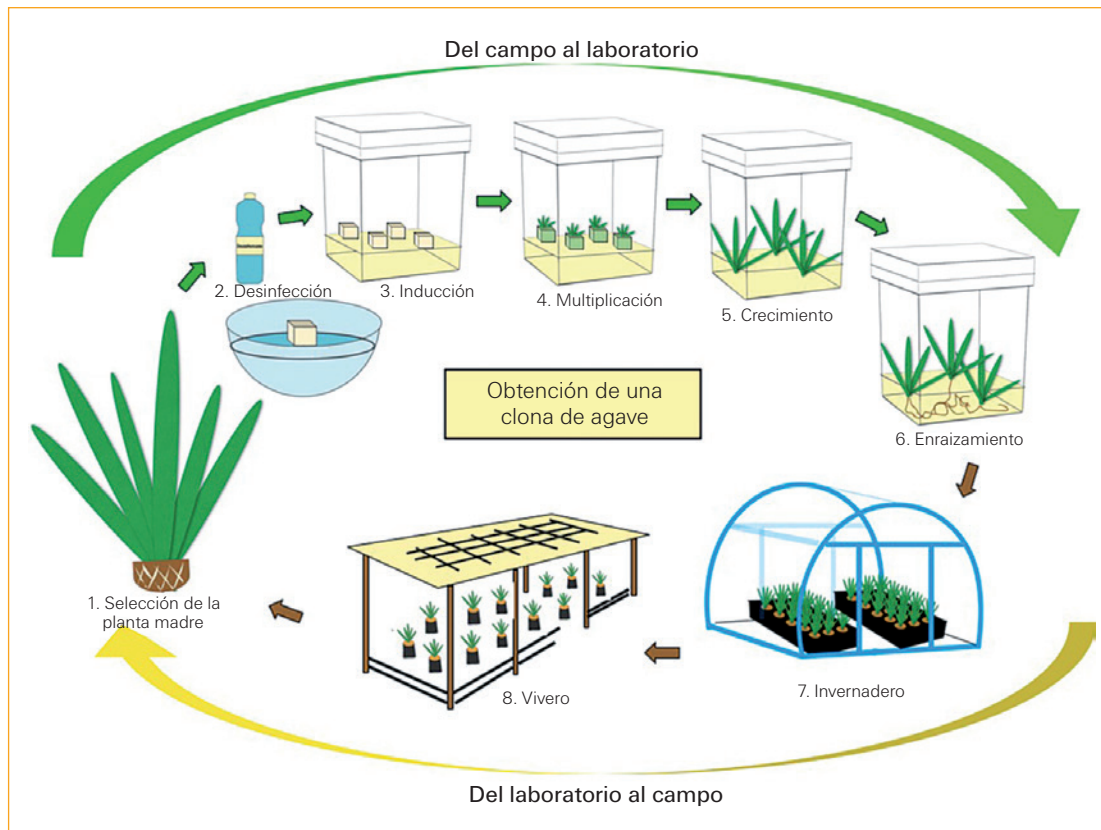


Figura 3. Proceso para la obtención de una clona de agave mediante la vía organogénica: 1) selección de la planta madre; 2) desinfección del explante; 3) inducción; 4) multiplicación; 5) crecimiento; 6) enraizamiento; 7) aclimatación en invernadero; 8) aclimatación en vivero para su regreso al campo.

jóvenes y genéticamente iguales a la planta madre, pues éstos surgen de la reproducción asexual.

A partir de los tallos de los hijuelos previamente seleccionados, se puede aprovechar una gran fuente de tejido meristemático (tejido encargado del crecimiento de la planta). El tejido obtenido debe ser desinfectado en soluciones químicas para reducir el riesgo de contaminación; el tejido que haya sido dañado en el proceso de desinfección se eliminará, y sólo quedará un pequeño cubo de tejido meristemático, denominado explante.

Ahora bien, una vez que se obtienen los explantes, es necesario cultivarlos en un recipiente con un medio de cultivo (una solución nutritiva con gelificante) y reguladores de crecimiento específicos (sustancias que actúan sobre el desarrollo de las plántulas), los cuales serán una vía para estimular la formación de brotes. Es importante incubar los explantes en condiciones específicas durante algunas

semanas hasta que se formen los nuevos brotes. La obtención de brotes varía debido a muchos factores, ya sea por la especie o por algunas condiciones en las que se tomó el explante.

Llegará el momento en que los brotes deban multiplicarse de forma significativa. Es aquí cuando serán cambiados a un medio fresco (subcultivo) para alcanzar el volumen de plantas que se desea propagar. Los pequeños brotes serán colocados en medios de cultivo y se incubarán durante algunas semanas hasta alcanzar el número deseado. Así como los brotes deben multiplicarse, también es importante que alcancen un tamaño adecuado, lo cual se logra incubándolos en un cuarto de cultivo con condiciones controladas que contribuyan a su desarrollo. Hasta aquí llegamos a la mitad del proceso, justo cuando el tamaño de las plántulas es el deseado; lo que sigue es inducir a la formación de raíces, con ayuda de medios de cultivo adecuados.

Del laboratorio al campo

Una vez que las plántulas *in vitro* han sido sometidas a la formación de la raíz, estarán preparadas para adaptarse a vivir en condiciones *ex vitro*, es decir, fuera del contenedor donde se encontraban y, a partir de ahora, en condiciones naturales. Esta fase no es muy fácil para las plantas, ya que durante el proceso de micropropagación tuvieron todas aquellas condiciones que necesitaban para sobrevivir en un cultivo *in vitro*; en cambio, en un cultivo *ex vitro*, la supervivencia dependerá de ellas mismas, pues ahora las condiciones de su crecimiento ya no serán controladas, estarán expuestas a diversos patógenos y tendrán que realizar fotosíntesis, entre otros cambios.

Una fase importante antes de llevarlas al campo es la aclimatación, la cual se realiza en invernaderos mediante la regulación de algunas condiciones de luz y de humedad. Después de unas semanas, las plantas estarán preparadas para su cultivo en un vivero, pero ya bajo condiciones similares a las del campo. Si nuestras plantas de agave logran sobrevivir y se encuentran sanas, entonces el proceso de micropropagación ha sido exitoso y las plantas estarán listas para regresar al campo (véase la Figura 4).

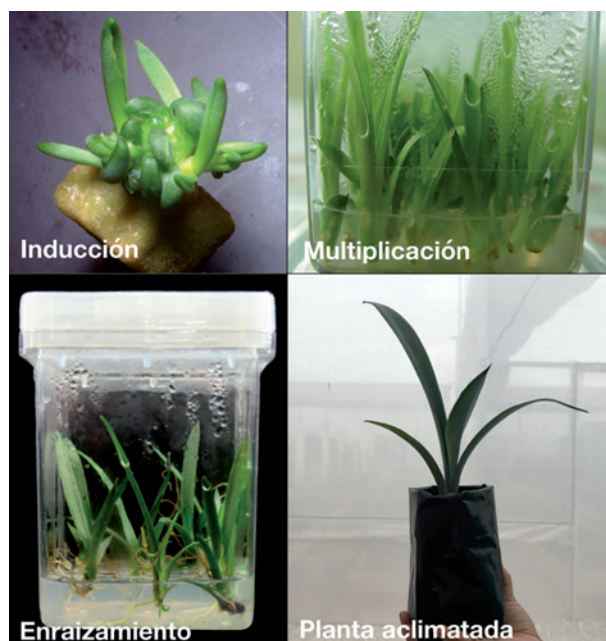


Figura 4. Fotografías de plantas de agaves en sus diferentes etapas de cultivo *in vitro*.

■ **Mejoramiento genético de los agaves**

Como ya se mencionó, el agave es una planta con características muy peculiares, que hacen complicada la existencia de programas para su mejoramiento genético. En la actualidad, sólo existe un programa de mejoramiento realizado con éxito en los agaves, el cual se basó en la cruce de diferentes especies para obtener plantas resistentes, con hojas de mayor tamaño y sin espinas, para mejorar la manipulación durante la obtención de fibras. La cruce que tuvo mayor efectividad en el comportamiento y desarrollo de la planta se derivó de una retrocruza de (*A. amaniensis* × *A. angustifolia*) × *A. angustifolia*, y el resultado fue llamado híbrido H11648, el más conocido y utilizado hasta la fecha para la producción de fibras.

Mediante las técnicas del cultivo *in vitro*, las plantas se están mejorando genéticamente desde el momento en el que se toma como punto de partida una planta *elite*, lo que podríamos denominar un mejoramiento genético por selección para su posterior micropropagación. En este proceso se pueden utilizar técnicas como la organogénesis y la embriogénesis somática para la clonación de individuos seleccionados. Además, estas dos vías de regeneración de plantas, en combinación con otras técnicas, como la transformación genética (introducción de uno o varios genes), la inducción de poliploides (obtención de individuos con mayor contenido cromosómico), la variación genética inducida por mutación (generación de cambios en la estructura génica), entre otras, pueden permitir la obtención de plantas mejoradas genéticamente que sean resistentes a enfermedades y que tengan mayor vigorosidad. En algunas especies de agave se han realizado estudios de transformación genética que emplean la embriogénesis somática y la inducción de poliploides mediante la organogénesis, con fines de mejoramiento genético. Sin embargo, aún falta mucho por estudiar y avanzar en este campo.

En resumen, tomando en cuenta que los agaves son plantas de ciclo de vida largo y de gran interés económico, el cultivo de tejidos representa una buena alternativa biotecnológica para la generación de una gran cantidad de plántulas de alta calidad



a partir de individuos seleccionados que pueden ser aprovechados por el sector industrial, lo cual evitará la depredación de poblaciones naturales. Además, es una gran herramienta para posibles programas de mejoramiento genético.

Karla Sugey Moreno Martínez

Instituto Tecnológico de Mérida.
karlasugey.morenom@gmail.com

Kelly Maribel Monja Mio

Centro de Investigación Científica de Yucatán.
kellymabel@hotmail.com

Referencias específicas

- García Mendoza, A. J. (2007), "Los agaves de México", *Ciencias*, 87:14-23.
- García Mendoza, A. J. *et al.* (2017), "Agave", en M. Gschaedler y A. Christine (coords.), *Panorama del aprovechamiento de los agaves en México*, México, AgaRed.
- Robert, M. L., J. L. Herrera-Herrera, E. Castillo, G. Ojeda, M. A. Herrera-Alamillo (2006), "An efficient method for the micropropagation of Agave species", *Methods in Molecular Biology*, 318(1):165-178.
- Robert, M. L., J. L. Herrera-Herrera, M. A. Herrera-Alamillo, A. Quijano y U. Balám (2004), *Manual for the in vitro culture of Agaves. Technical paper No 38*, Vienna, United Nations Industrial Development Organization.