

RELACIÓN FENOTÍPICA ENTRE PLANTAS DE *Agave tequilana* PROVENIENTES DE MICROPROPAGACIÓN Y DE PROPAGACIÓN CONVENCIONAL POR HIJUELOS

Moisés Martín Morales Rivera, Martha Isabel Torres Morán* y Lino De la Cruz Larios

Instituto de Manejo y Aprovechamiento de Recursos Fitogenéticos. Departamento de Producción Agrícola. CUCBA. Universidad de Guadalajara. Km. 15.5 Carretera a Nogales, Zapopan Jalisco, México. CP 45110. Tel: (33)3777-1150 ext. 3032.

* isabel.torres@cucba.udg.mx

Introducción

La industria del tequila en el estado de Jalisco, representa además del acopio de divisas provenientes de la exportación del producto, la generación de empleos en las tequileras e ingresos para productores del agave azul con el que debe ser elaborada la bebida. El cultivo tradicional del agave, iniciaba a partir de plantas que se propagaban por hijuelos que producían las plantas adultas que eran establecidas en el campo, sin embargo, en la última década del pasado siglo, la falta de planeación del cultivo de esta planta y la aparición de la enfermedad causada por *Fusarium spp* y *Erwinia spp*, causaron gran escasez de hijuelos, por lo cual se propusieron alternativas biotecnológicas para la producción de plantas libres de enfermedades y facilitar la planeación de las plantaciones. Como resultado de estas acciones, se produjeron miles de plantas a través de cultivo de tejidos, mismas que fueron adquiridas por industriales del tequila. Una vez establecidas en campo, las plantas provenientes de micropropagación presentaban fenotipos que no concordaban con el de las plantas certificadas como *A. tequilana* Weber variedad azul, que según la Norma Oficial Mexicana NOM-006SCFI-1993 es la única que debe ser utilizada para producir tequila. Debido a esto, la producción de las llamadas vitro-plantas se encontró con la no aceptación por parte de algunos productores e industriales a pesar de las ventajas que esto representaba.

El objetivo de este trabajo fue comparar las características morfológicas de plantas provenientes de micropropagación, con plantas propagadas en forma convencional por hijuelo y efectuar un análisis estadístico que permita ponderar la magnitud de las diferencias fenotípicas que se presentan en las plantas producidas por ambos métodos de propagación.

Materiales y métodos

Se realizaron mediciones de características morfológicas en plantas que fueron producidas por micropropagación (Agaves/micropropagados) y producidas por hijuelo de rizoma (Agaves/hijuelo), ambas poblaciones con tres años de edad. Los Agaves/micropropagados fueron obtenidos *in vitro* por el método reportado por Robert y col. (1992) utilizando medio Murashige y Skoog como base y 2,4-D más citocininas como reguladores de crecimiento. Los Agaves/hijuelo fueron producidos por el método convencional de propagación por medio de los hijuelos de rizoma que producen en campo las plantas madre. Se obtuvieron datos de un total de 200 plantas para cada una de las poblaciones. Se realizó un muestreo en campo en forma sistemática considerando plantas con competencia completa entre y dentro de surcos o hileras. Las variables

estudiadas fueron: Altura de planta (AP), Diámetro de tallo (DT), Número de hojas (NH), Longitud de hoja (LH), Ancho de hoja (AH), Color de planta (CP), Número de espinas en 10 cm (NE) y Área foliar (AF). Se estableció una escala ordinal para la estimación del color, donde 1=verde/amarillo, 2=verde medio, 3=verde intenso, 4=verde/azul y 5=azul característico de la variedad tequilana.

Con los datos obtenidos, se realizó la descripción de las poblaciones mediante los estadísticos: Media, Moda, Desviación estándar y Rango tanto para Agaves/micropropagados, como para Agaves/hijuelo.

Las relaciones fenotípicas entre los materiales se establecieron con base en análisis de Componentes Principales (ACP). Se efectuó un análisis de agrupamiento donde las similitudes se calcularon utilizando la media de cada grupo de plantas a través de ambientes, para todos los caracteres. Como medida de similitud entre plantas se usó el coeficiente de correlación $r_{ij} = (\sum_k x_{ki} x_{kj}) / (\sum_k x_{ki}^2 \sum_k x_{kj}^2)^{1/2}$, donde i, j correspondieron a los tipos de propagación i y j, mientras que k corresponde a la variable k-ésima. Los valores de r_{ij} (correlación) fueron calculados después de la estandarización de las variables a media= cero y varianza= 1. Con los valores de r_{ij} , se llevó a cabo un análisis de agrupamiento con el método Promedio de Grupo (UPGMA) usando el programa NTSYS 2.0 (Rohlf, 1993).

Los resultados del análisis de Componentes Principales se presentan en gráficas Biplot, tal como lo describe Sánchez (1995). Los elementos más importantes en la interpretación del Biplot, son la dirección y longitud de los vectores-variable, el ángulo entre vectores y la proximidad espacial entre los genotipos. Los vectores más largos involucran variables de mayor importancia en las primeras dos dimensiones, mientras que el ángulo entre vectores refleja correlación. Los valores relativos de las variables para un tipo de propagación particular se pueden ver proyectando el punto de dicho genotipo sobre el vector-variable. Los puntos localizados en sentido opuesto a la dirección del vector tendrán los menores valores para esa variable.

Resultados y discusión

Descripción estadística. Los resultados obtenidos del cálculo de los estadísticos media, moda, desviación y rango, se presentan en el Cuadro 1 para ambas poblaciones estudiadas. De acuerdo a estos resultados, se encontraron diferencias fenotípicas (variabilidad morfológica) dentro de cada población así como entre plantas. Los datos muestran que las diferencias básicas en la morfología de estos agaves, reside en el porte de las plantas, ya que los Agaves/hijuelo son plantas de menor altura, tallos más anchos, mayor número de hojas, hojas más largas y menos anchas en relación al lote de Agaves/micropropagados. Las medidas de desviación estándar para cada variable, muestran que ambas son poblaciones relativamente homogéneas en sus características morfológicas. Cabe destacar que el mayor diámetro de tallo (media= 29.7) se presenta en los Agaves/hijuelo a tres años de su plantación, esto indica que el ensanchamiento en la base de la hoja de estos agaves, puede deberse a mayor acumulación de carbohidratos en esa zona, lo cual es muy importante en la producción de la bebida, puesto que es la parte de la planta que se cosecha para la elaboración del tequila. Sin embargo, en contraste, se calculó una mayor área foliar en los Agaves/micropropagados (1471.5 cm²) que puede permitir que durante los años que faltarían para la madurez de la planta, este tipo de agave sea más eficiente fotosintéticamente y se logre acumular una cantidad mayor de

azúcares. La variable Número de espinas (NE) es también una característica diferencial de las poblaciones, en donde los Agaves Micropropagados presentan mayor número de éstas por 10 cm de hoja.

Cuadro 1. Descripción estadística de dos poblaciones de *A. tequilana*, propagadas por hijuelo y por micropropagación.

Variable	Agaves	Media	sd	Moda	Lm	Li	Rango
Altura de planta	Micropropagado	117.1	18.2	115.0	161.0	57.0	104.0
	Hijuelo	128.3	15.7	140.0	168.0	79.0	89.0
Diámetro de tallo	Micropropagado	24.8	5.1	26.0	38.0	5.0	33.0
	Hijuelo	29.7	8.2	22.0	64.0	18.0	46.0
Número de hojas	Micropropagado	70.8	19.0	64.0	108.0	9.0	99.0
	Hijuelo	83.6	15.2	76.0	124.0	23.0	101.0
Longitud de hoja	Micropropagado	84.7	12.3	87.0	110.0	31.0	79.0
	Hijuelo	95.2	10.7	90.0	150.0	62.0	88.0
Ancho de hoja	Micropropagado	8.8	1.6	9.0	19.0	2.5	16.5
	Hijuelo	8.3	1.3	8.0	12.0	5.0	7.0
Color de planta	Micropropagado	3.7	1.2	3.0	5.0	1.0	4.0
	Hijuelo	5.0	0.0	5.0	5.0	5.0	0.0
Espinas en 10 cm	Micropropagado	10.8	3.1	12.0	23.0	3.0	20.0
	Hijuelo	8.7	1.1	9.0	13.0	6.0	7.0
Área foliar (cm²)	Micropropagado	757.8	210.3	900.0	1634.0	162.5	1471.5
	Hijuelo	799.8	180.5	810.0	1350.0	400.0	950.0

Sd= Desviación st, Lm= Límite máximo, Li= Límite inferior

El color característico de la variedad certificada por el Consejo Regulador del Tequila como *A. tequilana* Weber var azul, se encontró en la totalidad de las plantas producidas por hijuelo, en contraste con los Agaves/micropropagados, que en promedio obtuvieron el color clasificado como 4=verde/azul.

Relaciones fenotípicas. De acuerdo con el análisis de los Componentes Principales (ACP) que se muestran en el Cuadro 2, para la población Agaves/micropropagados, dos componentes representaron 72% de la variabilidad observada (Figura 1); el Componente 1 explicó 57% de la variación total y fue definido por las variables Área foliar, Altura de planta, Longitud de hoja, Ancho de hoja y Diámetro de tallo. El Componente 2 explicó el 15% de la variación total y lo integraron las variables Color de planta, Número de espinas en 10 cm y Diámetro de tallo.

Para la población Agaves/hijuelo, se presenta su ACP gráficamente en la Figura 2. Los primeros dos componentes explicaron 70% de la variación total; el Componente 1 representó el 53% de la variación total y está definido por las variables Área foliar, Longitud de hoja, Altura de planta, Ancho de hoja y Diámetro de tallo. El Componente 2 representó el 17% de la variación total y se integró con las variables Número de espinas en 10 cm, Número de hojas y Ancho de hoja.

Las Figuras 1 y 2 muestran las distribuciones individuales de las plantas estudiadas de la población Agaves/micropropagados y Agaves/hijuelo respectivamente. En ambas figuras se muestra variabilidad entre los individuos y la correlación entre las variables estudiadas. Este análisis corrobora las diferencias encontradas con la estadística descriptiva, en el sentido de que la diferencia principal puede ser observada en el porte de las plantas, agrupando de nuevo las variables AP, NH y AH.

Cuadro 2. Vectores característicos (CP) para dos poblaciones de *A. tequilana*

Variable	Agaves/micropropagados		Agaves/hijuelo		Total de poblaciones	
	C1	C2	C1	C2	C1	C2
Altura de planta	0.41	0.13	0.42	-0.40	0.43	-0.16
Diámetro de tallo	0.35	0.25	0.17	-0.67	0.29	-0.46
Numero de hojas	0.34	-0.29	0.37	0.18	0.37	0.11
Longitud de hoja	0.41	0.10	0.48	-0.21	0.44	-0.12
Ancho de hoja	0.39	-0.12	0.40	0.50	0.31	0.59
Color de planta	0.12	0.79	0.00	0.00	0.20	-0.52
Espinas en 10 cm.	-0.25	0.43	-0.09	-0.05	-0.27	0.07
Área foliar	0.44	-0.03	0.51	0.23	0.44	0.34

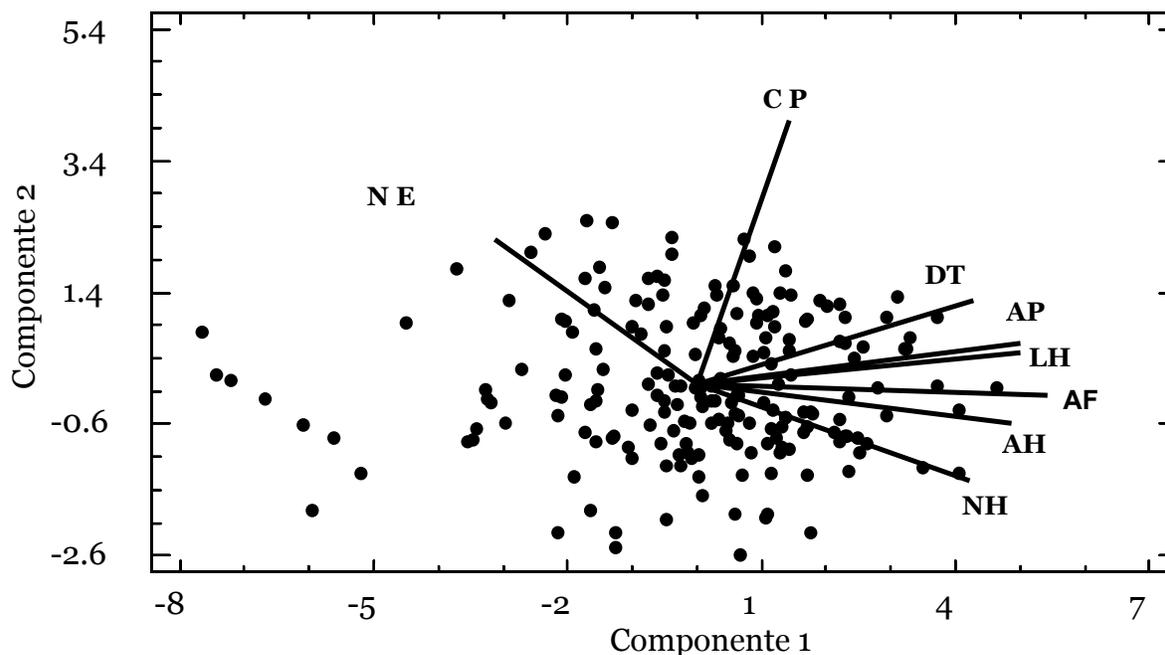


Figura 1. Componentes principales para la población Agaves/micropropagados

El análisis conjunto de las dos poblaciones, permite inferir que los fenotipos de ambas poblaciones difieren en muchos aspectos. Fenotípicamente las plantas presentan diferencias explicadas en un 68% por dos Componentes (Figura 3); el Componente 1 explicó 51% de la variación total y fue definido por Área foliar, Longitud de hoja, Altura de planta y número de hojas. El Componente 2 explicó el 17% de la variación total y lo

integraron las variables Ancho de hoja y Número de hojas. Los resultados anteriores concuerdan con los promedios de Altura de Planta y variación entre plantas reportados por Rodríguez-Garay y col. (2008) para agaves tequileros provenientes de hijuelos de rizomas.

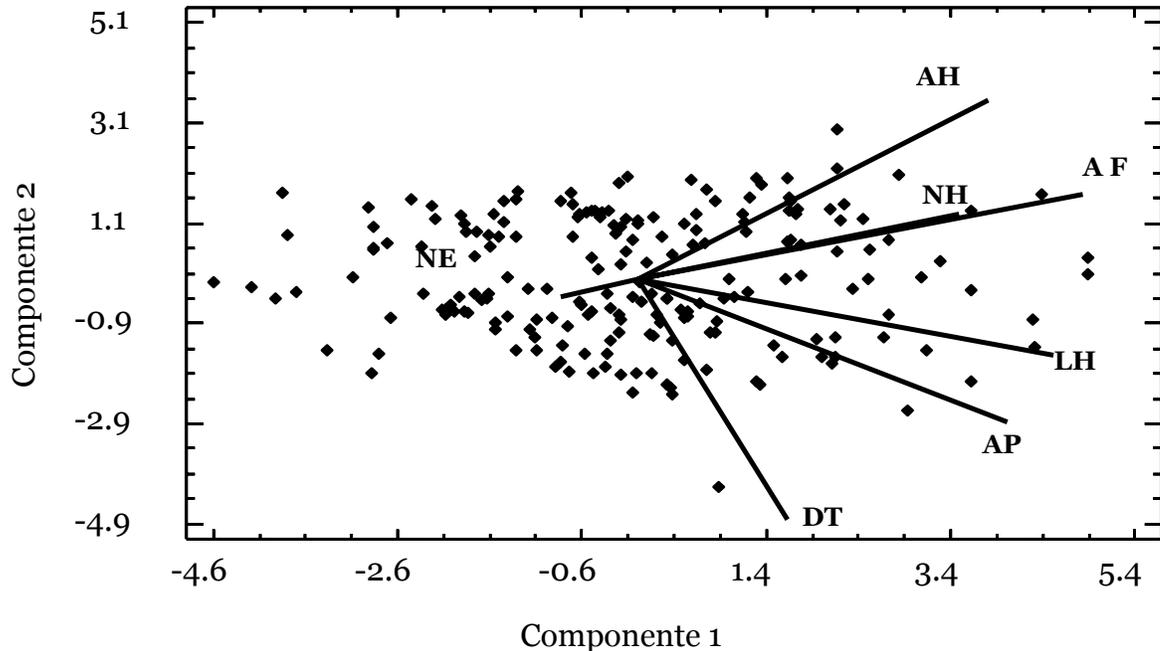


Figura 2. Componentes principales para la población Agaves/hijuelo

La Figura 3, evidencia las diferencias entre las dos poblaciones ya que permite observar la posición espacial de los individuos con respecto a los Componentes calculados. La variabilidad encontrada es menor en la población de Agaves/hijuelo, ya que se encuentran grupos de plantas que poseen los mismos valores en las variables medidas y el análisis estadístico las ubica en el mismo punto en la gráfica (Figura 2).

La diferencia fenotípica que puede apreciarse en campo, es un motivo de desconfianza en los productores de agave, ya que un factor importante es el color de la planta

Las diferencias encontradas en el presente estudio, pueden ser explicadas por la presencia de variación somaclonal en los Agaves/micropropagados, que es una respuesta de la planta al estrés que sufre durante el proceso de micropropagación y que produce cambios permanentes o aparentes en el fenotipo e incluso en el genotipo de las plantas. Es importante destacar que existen reportes de aneuploidía y poliploidía en plantas provenientes de micropropagación, lo cual se traduce en un fenotipo atípico para la especie que se esté propagando (Torres-Morán y col., 2006).

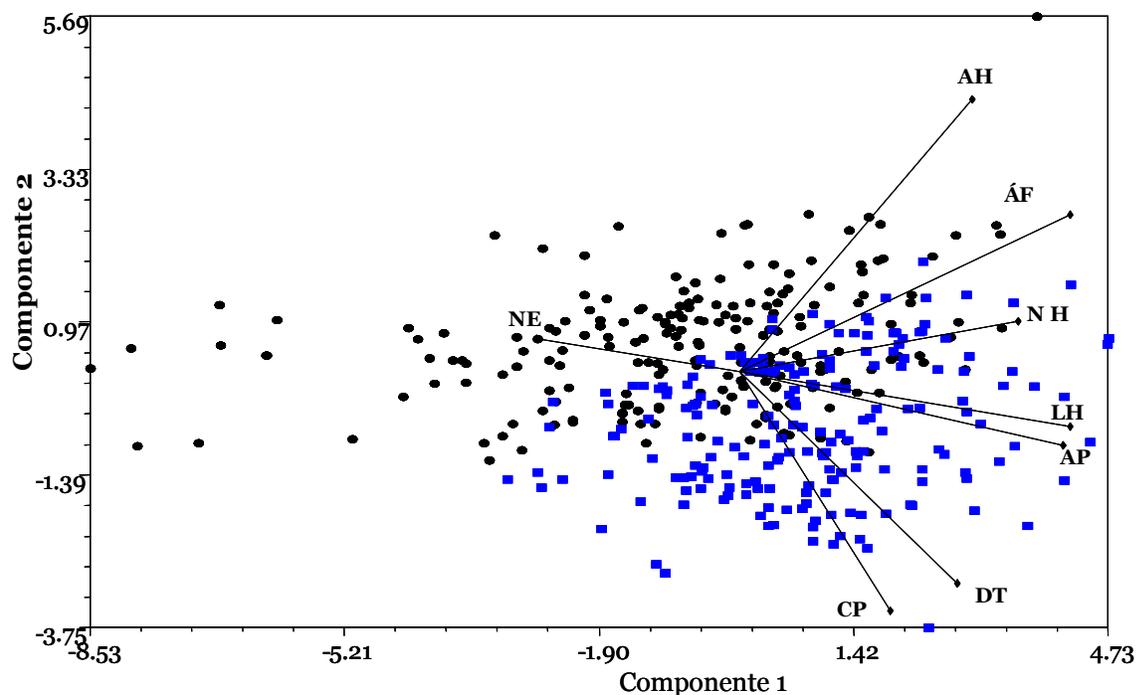


Figura 3. Componentes principales para dos poblaciones de *Agave tequilana* Weber variedad azul (● Agaves/micropropagados, ■ Agaves/hijuelo).

Conclusiones y perspectivas

Los resultados obtenidos en el presente estudio, muestran que existe una variación fenotípica entre y dentro de poblaciones de agave producidas por diferentes métodos de propagación. Se encontró que la Población propagada por hijuelos es más homogénea en las variables fenotípicas estudiadas. Por otra parte, con base en el Análisis de Componentes Principales (ACP), el Área foliar Longitud de hoja, Altura de planta y Número de hojas fueron las variables con mayor valor descriptivo de la variabilidad fenotípica entre los materiales provenientes tanto de micropropagación como de hijuelos.

Bibliografía

- Robert, M.L., J.L. Herrera, J.L. Chan y F. Contreras.** 1992. Micropropagation of *Agave* spp. En: Bajaj, Y.P.S. (ed.) *Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Vol. 19. High-Tech and Micropropagation III.II.9 Springer-Verlag, Berlin. pp 306-329.
- Rodríguez-Garay, B., J.A. Lomelí-Senci3n B., E. Tapia-Camposa, A. Guti3rrez-Mora, J. Garc3a-Galindo, J.M. Rodr3guez-Dom3nguez, D. Urbina-L3pez, I. Vicente-Ram3rez.** 2008. Morphological and molecular

diversity of *Agave tequilana* Weber var. Azul and *Agave angustifolia* Haw. var. Lineño, Ind. Crops Prod. doi:10.1016/j.indcrop.2008.05.007

Rohlf. 1993. NTSYS-PC. Numerical taxonomy and multivariate analysis system, Exeter software. Inc.

Sánchez, G. J.J. 1995. El análisis biplot en la clasificación. Rev. Fit. Mex. 18: 188-203.

Torres-Morán M.I., M.M. Morales Rivera, F. Santacruz Ruvalcaba y A. Rodríguez García. 2006. Micropropagación por organogénesis *in vitro* de *Agave tequilana* Weber Variedad Azul. Universidad de Guadalajara. ISBN 970-27-0928-8. pp 89.

