



Terra Latinoamericana

ISSN: 2395-8030

Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C.

Ramírez-Gottfried, Ricardo Israel; Puente-Valenzuela, Cristo Omar; Chávez-Simental, Jorge Armando; Espinosa-Palomeque, Bernardo; García-Carrillo, Mario; Guillén-Enríquez, Reyna Roxana; González-Cervantes, Guillermo

Extracto de vermicompost como medio basal en la etapa de multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Dasyliiron cedrosanum*

Terra Latinoamericana, vol. 39, e997, 2021, Enero-Diciembre
Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo A.C.

DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.997>

Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57366066054>








- Cómo citar el artículo
- Número completo
- Más información del artículo
- Página de la revista en redalyc.org



Sistema de Información Científica Redalyc
Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal
Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso
abierto

Extracto de vermicompost como medio basal en la etapa de multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Dasyilirion cedrosanum*

Vermicompost extract as a basal medium in the *in vitro* multiplication and rooting stage of *Dasyilirion cedrosanum*

Ricardo Israel Ramírez-Gottfried¹ , Cristo Omar Puente-Valenzuela² ,
Jorge Armando Chávez-Simental³ , Bernardo Espinosa-Palomeque⁴ , Mario García-Carrillo¹ ,
Reyna Roxana Guillén-Enríquez⁵  y Guillermo González-Cervantes^{2*} 

¹ Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Periférico Raúl López Sánchez y Carretera Santa Fe s/n, colonia Valle Verde. 27010 Torreón, Coahuila, México.

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Margen Derecha Canal Sacramento km 6.5. 35120 Gómez Palacio, Durango, México.

³ Autor para correspondencia (gonzalez.guillermo@inifap.gob.mx)

⁴ Instituto de Silvicultura e Industria de la Madera de la Universidad Juárez del Estado de Durango. Blvd. Guadiana #501, fraccionamiento Ciudad Universitaria. 34120 Durango, Durango, México.

⁵ Universidad Tecnológica de Escuinapa. Camino al Gausimal s/n, al noroeste de la Ciudad, colonia Centro. 82400 Escuinapa de Hidalgo, Sinaloa, México.

⁶ Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico de Torreón. Carretera Torreón-San Pedro km 7.5, ejido Ana. 27170 Torreón, Coahuila, México.

RESUMEN

Dasyilirion cedrosanum es una especie nativa del desierto Chihuahuense y de importancia económica para la producción de alcohol, esto ha generado su saqueo y deforestación. En la técnica de micropropagación el medio basal Murashige y Skoog (MS) es el más utilizado, este medio basal incrementa los costos a nivel comercial. El objetivo de este trabajo fue comparar el medio MS con un medio basal orgánico elaborado a partir de un extracto de vermicompost (EV) en las etapas de multiplicación y enraizamiento de *D. cedrosanum*. Se establecieron semillas en medio MS para su germinación, posteriormente las plántulas obtenidas se utilizaron como explantes secundarios para la etapa de multiplicación. En la etapa de multiplicación se evaluaron siete tratamientos, en un diseño completamente al azar con 10 repeticiones. Se compararon un testigo (medio MS) y seis concentraciones de EV (30, 25, 20, 15, 10 y 5 mL L⁻¹). En los resultados obtenidos la mayor formación de brotes se obtuvo en el tratamiento testigo (8.25 brotes por explante), en los tratamientos base EV el que generó la mayor cantidad de brotes fue la concentración de 25 mL L⁻¹ (3 brotes por explante), no se encontraron

diferencias significativas entre el testigo y la concentración de 25 mL L⁻¹ en las variables número y longitud de hoja. En la etapa de enraizamiento no se presentó diferencia significativa entre tratamientos en el número de raíces. El tratamiento de medio MS y 10 mL L⁻¹ de EV resultaron estadísticamente iguales en largo de raíz (6.53 y 5.99 cm) respectivamente, la concentración de 10 mL L⁻¹ de EV superó al MS en el ancho de raíz (1.13 mm). El medio a base de EV a una concentración de 10 mL L⁻¹ se puede utilizar para sustituir completamente el medio MS en la etapa de enraizamiento de *D. cedrosanum*.

Palabras clave: medio químico, medio orgánico, micropropagación, sotol.

SUMMARY

Dasyilirion cedrosanum is a native species of the Chihuahuan Desert that is economically important for alcohol production, which has caused its looting and deforestation. In the micropropagation technique, the Murashige and Skoog (MS) basal medium is the most widely used, this basal medium increases costs at the commercial level. The objective of

Cita recomendada:

Ramírez-Gottfried, R. I., Puente-Valenzuela, C. O., Chávez-Simental, J. A., Espinosa-Palomeque, B., García-Carrillo, M., Guillén-Enríquez, R. R. y González-Cervantes, G. (2021). Extracto de vermicompost como medio basal en la etapa de multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Dasyilirion cedrosanum*. *Terra Latinoamericana*, 39, 1-11. e997. <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.997>

Recibido: 23 de junio de 2020. Aceptado: 07 de julio de 2021.

Artículo. Volumen 39, agosto de 2021.

this work was to compare the MS medium with an organic basal medium made from a vermicompost extract (EV) in the multiplication and rooting stages of *D. cedrosanum*. Seeds were established in MS medium for germination. Then, the seedlings obtained were used as secondary explants for the multiplication stage. In the multiplication stage, seven treatments were evaluated under a completely randomized design with 10 replications. A control (MS medium) and six EV concentrations (30, 25, 20, 15, 10 and 5 mL L⁻¹) were compared. Our results showed the highest sprout formation in the control treatment (8.25 sprouts per explant). Whereas in the EV base treatments, the 25 mL L⁻¹ concentration exhibited the highest number of sprouts (3 sprouts per explant). It is worth noting that no significant differences were found between the control and the 25 mL L⁻¹ concentration treatments in terms of the number of variables and leaf length. In the rooting stage, there was no significant difference between treatments in the root number. The MS medium and 10 mL L⁻¹ of EV was not statistically different according to root length (6.53 and 5.99 cm, respectively), the 10 mL L⁻¹ concentration of EV surpassed the MS in root width (1.13 mm). The EV based medium at a concentration of 10 mL L⁻¹ can be used to completely to replace the MS medium in the rooting stage of *D. cedrosanum*.

Index words: *chemical medium, organic medium, micropropagation, sotol.*

INTRODUCCIÓN

En el desierto Chihuahuense que se extiende por los estados de Coahuila, Chihuahua y Durango de la República Mexicana, existe una gran distribución de plantas del género *Dasyllirion*. Estas plantas se caracterizan por ser perennes, dioicas, poseen escapos florales delgados con sexo bien definido se presentan como macho o hembra, el tallo es corto, fibroso, robusto y en parte subterráneo. Sus hojas son arrosetadas, coriáceas, fibrosas y usualmente con espinas marginales, además, crecen en suelos gravosos, con buen drenaje en las laderas (Reyes-Valdés, Benavides, Ramírez y Villarreal, 2012; Ríos-Camey, López, Méndez, Ramírez y Aguirre, 2018). Las plantas del género *Dasyllirion* son materia prima de productos de interés para el ser humano, su mayor importancia

económica radica en su uso para la elaboración de una bebida alcohólica conocida como “sotol”, la cual cuenta con denominación de origen para estos estados (Hernández-Quintero, Reyes, Mendoza, Gómez y Rodríguez, 2015; Palacios-Romero, Rodríguez, Razo y Jiménez, 2019; Rodríguez, García, Quiahua y Reyes, 2019). La demanda nacional e internacional de esta bebida ha aumentado en los últimos años, de este género de plantas solo tres especies son capaces de producir esta bebida alcohólica *D. cedrosanum*, *D. duranguensis* y *D. wheeleri* (De la Garza-Toledo *et al.*, 2008; Cruz-Requena *et al.*, 2013). La colecta de la planta ocurre en su hábitat natural lo que provoca su sobreexplotación. Por consecuencia, estas zonas están abatidas y las empresas que se dedican a la producción de alcohol tienen cada vez más problemas para adquirir la planta, el método de producción de plantas tradicional consiste en germinar semillas y trasplantar a bolsas de polietileno con sustratos, estos procesos son lentos y no optimizan de manera adecuada la semilla (Palacios-Romero *et al.*, 2019).

Para reforestar y conservar el germoplasma de *D. cedrosanum*, en esos hábitats sobre explotados, durante años se ha investigado diferentes técnicas de germinación de esta especie (Vargas, 2009; Reyes-Valdés, Benavides, Ramírez y Villarreal, 2013).

Una de las técnicas como alternativa para la conservación y multiplicación de *D. cedrosanum* es la micropropagación de cultivo *in vitro* desarrollada para la producción masiva de plantas, entre las ventajas principales está que permite la producción de plantas libres de enfermedades en un periodo corto de tiempo (Cañal, Rodríguez, Fernández, Sánchez y Majada, 2001; Chávez *et al.*, 2010). Esta es una herramienta de gran importancia en biotecnología para incrementar poblaciones vegetales de interés, así como para elaborar y extraer productos de origen natural (Torroba, Paccapelo, Aguilera y Mazzola, 2008; Jiménez-Martínez, Franco, Gutiérrez, González y Castañeda, 2011). En micropropagación por cultivo de tejidos, el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) es el más utilizado para numerosas especies (Murashige y Skoog, 1962; Niedz y Evens, 2007; Flores-Hernández, Robledo y Jimarez, 2017). Sin embargo, en diversos estudios se ha reportado la búsqueda de alternativas al medio MS, con la finalidad de disminuir los costos de producción a nivel comercial. Una opción sería utilizar medios orgánicos (Montenegro-Juárez, Rojas, Quevedo y Delgado, 2014).

La Comarca Lagunera es una de las principales cuencas lecheras de México, la cual, concentra la mayor parte de la producción de leche de origen bovino, con un promedio de 423 000 cabezas de ganado que representan alrededor de 20% del hato nacional. La producción anual estimada de estiércol es de 619 000 toneladas de materia seca (Figueroa, Núñez, Reta y Flores, 2015). Estos desechos son una fuente de contaminación para el ambiente y cuerpos de agua, pero existen alternativas para su reutilización como es la aplicación de técnicas de vermicompostaje para la elaboración de humus, extractos y lixiviados (López-Martínez *et al.*, 2016; Santiago-López *et al.*, 2016; Zamora, Castro, Wang, Arauz y Uribe, 2017). El extracto o té de vermicompost es una infusión preparada a base de humus y agua, en una proporción que varía de 1:3 a 1:200 y que se incuba por un periodo de tiempo definido. Se puede producir de forma anaeróbica o aeróbica, esta última mediante el burbujeo continuo de aire (Zamora *et al.*, 2017).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue comparar el medio tradicional MS con un medio basal orgánico a base de extracto de vermicompost a diferentes concentraciones, en las etapas de multiplicación y enraizamiento en micropropagación de *D. cedrosanum*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología NOA en la ciudad de Torreón, Coahuila y en el Laboratorio Nacional de Agua, Suelo y Planta del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de Gómez Palacio, Durango.

Material Vegetal

Las semillas de la especie *D. cedrosanum* utilizadas en esta investigación fueron proporcionadas por la Unidad de Manejo para la Conservación de la Vida Silvestre del Museo del Desierto ubicado en la ciudad de Saltillo, Coahuila.

Elaboración del Extracto de Vermicompost

La elaboración del extracto de vermicompost (EV) consistió en dos etapas, primero se obtuvo el humus y

después se preparó el EV. Para la obtención del humus se construyó un cajón de madera de 1 m de largo, 0.50 m de ancho y 0.50 m de profundidad, el cual se cubrió con geomembrana de polietileno, se instaló un tubo de PVC de 1 m de largo y 1 pulgada de diámetro para actuar como dren en la parte inferior del cajón. Se aplicaron 200 kg de estiércol seco de bovino en el cajón, posteriormente se agregó agua corriente hasta obtener un 70±5% de humedad, los riegos se suministraron diariamente para mantener el porcentaje de humedad, enseguida se agregaron 3.50 kg de lombriz roja californiana (*Eisenia fetida*) y se mezclaron con el estiércol, se dejaron durante 75 días, al final de este tiempo se obtuvo el humus de lombriz (material sólido dentro del cajón). La preparación del EV fue realizada de acuerdo a indicaciones de Ochoa *et al.* (2009) y consistió en la utilización de 2 kg de humus, se emplearon cinco filtros de tela de manta en los cuales se introdujeron 400 g del humus; los filtros cerrados y amarrados se colocaron en un bidón con 10 L de agua destilada, se agregaron 20 g de azúcar (sacarosa) cada 72 h. Para la oxigenación se colocó una bomba de aire (Aqua Jet®, México) la cual se conectó a los bidones para introducir aire y generar oxigenación con el fin de activar bacterias; este proceso se mantuvo durante 21 días. El líquido obtenido se pasó por papel filtro y se depositó en botellas de plástico con capacidad 1 L las cuales se mantuvieron en refrigeración dentro de laboratorio hasta el momento de su uso.

Análisis de las Propiedades Químicas de vermicompost (EV)

Para este análisis se usaron dos muestras de EV, una sin esterilizar y otra esterilizada. Esto se realizó para comparar si las propiedades químicas varían con la esterilización que se realiza al preparar medio basal. La muestra esterilizada se trató mediante la técnica de calor húmedo (autoclave) durante 30 min a 115 °C y 1 atm de presión según las indicaciones metodológicas de Pérez-Uz, de Silóniz, Torralba y Vázquez (2010). Después se tomó 1 mL de cada muestra y se sometieron a digestión húmeda con ácido nítrico (HNO₃) y ácido perclórico (HClO₄) en una relación 2:1 hasta la desaparición total de la materia orgánica sobre un plato a una temperatura de 120 °C. Las muestras se filtraron y aforaron a 50 mL con agua destilada. El análisis de los componentes se realizó por espectroscopia de absorción atómica (Perkin Elmer Analyst 700®, U.S.A.). El pH y

conductividad eléctrica se determinaron por medio de un medidor tipo mesa (Ohaus®, U.S.A.) directamente en el líquido del extracto de vermicompost.

Etapas de Establecimiento

En esta etapa se utilizaron 300 semillas, las cuales primero fueron separadas de sus brácteas. Para el proceso de asepsia, la semilla se colocó en un frasco de vidrio con agua corriente, 0.25 mL de jabón líquido neutro (Faga Lab®, México) y en agitación magnética por 5 min, posteriormente se pasaron a una solución con fungicida (Captan®, México) 2 g L⁻¹ y en agitación magnética durante 5 min. Entre cada proceso se realizó un enjuague con abundante agua corriente. Dentro de una campana de flujo laminar (ESCO®, Singapur), se sumergieron las semillas en una solución de alcohol al 70% durante 3 min y posteriormente se enjuagaron con agua destilada. Se introdujeron en una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 10% durante 10 min y se enjuagaron con agua destilada estéril. Para la siembra se colocaron cinco semillas por frasco en un medio de cultivo MS para un total de 60 frascos, estos se trasladaron a una cámara de crecimiento con ambiente controlado y climatización artificial a una temperatura de 26±2 °C y 80% de luz solar natural durante 30 días.

Etapas de Multiplicación

Las plántulas obtenidas del establecimiento de semillas se utilizaron como fuente de explantes secundarios. Dentro de la campana de flujo laminar se eliminaron las raíces y una porción de sus hojas dejando plántulas de 2.0 cm. Para esta etapa se establecieron siete tratamientos con 10 repeticiones; el tratamiento T1 fue el testigo que corresponde al medio MS, los tratamientos T2, T3, T4, T5, T6 y T7 consistieron en diferentes concentraciones de EV sin esterilizar (30, 25, 20, 15, 10 y 5 mL L⁻¹) respectivamente diluidos con agua destilada, en esta etapa se adicionó a los tratamientos 1 mg L⁻¹ de bencilaminopurina (BAP) y 0.20 mg L⁻¹ de ácido indolacético (AIA) para promover la formación de brotes (Villavicencio, Cano y Juárez, 2007), el pH de los tratamientos fue ajustado a 5.70±0.10 utilizando hidróxido de sodio (NaOH) y ácido clorhídrico (HCl) al 2%, como agente gelificante se utilizó agar bacteriológico. En frascos de vidrio con tapa de aluminio y capacidad de 118 mL, se vertieron

30 mL de cada tratamiento para posteriormente esterilizarlos en autoclave. Se colocaron dos explantes por frasco, estos se introdujeron en la cámara de incubación descrita anteriormente y el medio de cultivo se renovó cada cuatro semanas durante 12 semanas, finalizado este tiempo se realizó la evaluación de los brotes obtenidos.

Etapas de Enraizamiento

Los brotes obtenidos de la etapa de multiplicación se trasvasaron a frascos con medio de cultivo de su respectivo tratamiento para iniciar el proceso de enraizamiento. En esta etapa se utilizaron los mismos tratamientos y repeticiones que en la etapa de multiplicación, pero únicamente se agregó a cada tratamiento 0.20 mg L⁻¹ de AIA para promover la formación de raíz (Villavicencio *et al.*, 2007). Se colocaron en la cámara de incubación durante 45 días para posteriormente evaluar la cantidad y características morfológicas de las raíces obtenidas.

Análisis de Imagen

La toma de datos y medición de las variables morfológicas se realizó por medio de imágenes obtenidas mediante una cámara digital (Olympus®, U.S.A.) con sensor óptico CCD de 4.10 megapíxeles. Se colocó papel milimétrico sobre la base de digitalización bajo la lente del microscopio para usarlo como guía de medición y tomarla de referencia para la calibración del software. Todas las imágenes se capturaron a la misma distancia para obtener un igual número de píxeles y área del papel milimétrico con el objetivo de utilizar la misma calibración, las fotografías fueron capturadas a completa oscuridad (González-Cervantes, Villanueva, Orona y Sánchez, 2005; Chávez-Simental, González, Arreola, Ortiz y Loera, 2016). El tratamiento de las imágenes se realizó con el software analizador (Image Pro Plus® versión 4.5, U.S.A.).

Análisis Estadístico

El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar con una prueba de comparación de medias de Tukey ≤ 0.05 para detectar diferencias estadísticas entre tratamientos utilizando el paquete estadístico SAS versión 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades Químicas del Extracto de Vermicompost (EV)

Los extractos y lixiviados de vermicompost se pueden usar como promotores orgánicos de crecimiento vegetal (Calero, Quintero, Pérez, González y González, 2019), en el análisis de las muestras de EV de este trabajo se encontraron macro y micro nutrientes esenciales que estimulan el desarrollo de las plantas.

El proceso de esterilización afectó ocho propiedades químicas (Cuadro 1), presentando una ligera disminución en la concentración de compuestos, nitrógeno total, nitrógeno nítrico (N-NO_3), hierro (Fe), cobre (Cu), boro (B), azufre (S), ácidos húmicos y fúlvicos. Sin embargo, algunas propiedades presentaron un incremento con respecto a la muestra sin esterilizar entre ellas calcio (Ca), magnesio (Mg), potasio (K), fósforo (P), nitrógeno amoniacal (N-NH_4), zinc (Zn), manganeso (Mg) y carbón orgánico. Las variables que se mantuvieron estables fueron sodio

Cuadro 1. Propiedades químicas del extracto de vermicompost (EV).

Table 1. Vermicompost extract (EV) chemical properties.

Propiedades químicas	EV sin esterilizar	EV esterilizado
Macroelementos		
Calcio [Ca (%)]	0.51	0.54 ↑
Magnesio [Mg (%)]	0.09	0.10 ↑
Potasio [K (%)]	0.14	0.15 ↑
Sodio [Na (%)]	0.03	0.03
Fósforo [P (%)]	0.02	0.02
Nitrógeno total (%)	0.54	0.35 ↓
Nitrógeno nítrico [N-NO_3] (mg L^{-1})	183.00	99.40 ↓
Nitrógeno amoniacal [N-NH_4] (mg L^{-1})	51.62	62.61 ↑
Microelementos		
Hierro [Fe (mg L^{-1})]	1262.91	1215.48 ↓
Zinc [Zn (mg L^{-1})]	25.36	31.37 ↑
Manganeso [Mn (mg L^{-1})]	50.60	53.36 ↑
Cobre [Cu (mg L^{-1})]	5.81	4.23 ↓
Boro [B (mg L^{-1})]	102.93	97.68 ↓
Azufre [S (mg L^{-1})]	6.53	6.08 ↓
Salinidad y sodicidad		
pH	4.00	4.00
CE (dS m^{-1})	10.00	10.00
Otras determinaciones		
Ácidos húmicos (%)	0.11	0.06 ↓
Ácidos fúlvicos (%)	0.11	0.10 ↓
Materia orgánica (%)	3.93	3.93
Carbón orgánico (%)	2.28	2.31 ↑

Propiedades químicas del extracto de vermicompost utilizado durante la etapa de multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *D. cedrosanum*; % = contenido expresado en porcentaje; EV = extracto de vermicompost; dS m^{-1} = deciSiemens por metro. ↑ = aumento; ↓ = disminución.

Chemical properties of the vermicompost extract used during the *in vitro* multiplication and rooting stage of *D. cedrosanum*; % = content expressed as a percentage; EV = vermicompost extract; dS m^{-1} = deciSiemens per meter. ↑ = increase; ↓ = decrease.

(Na), pH, conductividad eléctrica (CE) y materia orgánica (MO).

Las propiedades químicas del EV esterilizado y sin esterilizar indicaron una variación sensiblemente homogénea en ambas muestras, sin embargo, se eliminaron patógenos que ocasionan contaminación en planta *in vitro*. Los resultados obtenidos concuerdan con los reportados por González-Solano, Rodríguez, Trejo, Sánchez y García (2013), quienes indican que el EV a base de estiércol bovino registra alto contenido de nutrientes, pH y CE. El EV utilizado en el presente trabajo registro concentraciones de ácidos fúlvicos y húmicos los cuales son bioestimulantes orgánicos que promueven el crecimiento, mejoran la respuesta al estrés, regulan la actividad celular y tienen acción en los cambios metabólicos y hormonales en las especies vegetales (Veobides-Amador, Guridi y Vázquez, 2018). La utilización de material orgánico a base de estiércol es una alternativa de bajo costo para satisfacer la demanda nutrimental de las plantas y sustituir el uso de productos inorgánicos (González *et al.*, 2013).

Etapa de Multiplicación

El número de brotes por explante producidos después de 12 semanas de *D. cedrosanum*, presentaron diferencia significativa ($P \leq 0.05$). El T1 presentó

mayor número de brotes por explante con una media de 8.25 (Cuadro 2), este tratamiento a base de medio MS generó mayor número de brotes que los reportados por Villavicencio *et al.* (2007), quienes indicaron que obtuvieron 7 brotes por explante en plantas de *D. cedrosanum* Trel utilizando medio MS y la misma concentración hormonal que el presente trabajo. La menor cantidad se presentó en el T7 con 1.50, de los tratamientos a base de EV el que mostró la producción de brotes más alta fue el T3 con 3 por explante. Nuestros resultados en medio MS y medio a base de EV resultan por debajo a los reportados por Reyes-Silva, Morales, Pérez y Pérez (2013), quienes lograron obtener 10.30 brotes por explante en especies del género *Dasyllirion* en medio MS. Diversos autores (Moya *et al.*, 2013; Prakash, Sharumathy, Swetha, Nandagopal y Narendrakumar, 2015) mencionan que al incorporar sustancias orgánicas que contengan ácidos húmicos como es el caso del EV, aunado a un adecuado balance hormonal dan como resultado la obtención de brotes de plantas a bajo costo.

Por otro lado, en las variables número de hojas y largo de hojas se mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$). El T1 y T3 presentaron el mayor número de hojas con una media de 4.75 y 4.50 respectivamente. El tratamiento T7 presentó diferencia estadística al resto de los tratamientos, registrando el menor número

Cuadro 2. Generación y desarrollo de brotes de *D. cedrosanum* a las 12 semanas en la etapa de multiplicación.
Table 2. Generation and development of shoots of *D. cedrosanum* at 12 weeks in the multiplication stage.

Tratamiento	Número de brotes por explante	Número de hojas	Longitud de hoja	Ancho de hoja
			cm	mm
T1	8.25 a	4.75 a	6.09 a	1.41 a
T2	2.50 bc	4.00 ab	4.24 b	1.07 bc
T3	3.00 b	4.50 a	5.10 ab	1.10 b
T4	2.25 bc	3.65 ab	3.53 b	0.97 bc
T5	2.00 bc	4.00 ab	3.62 b	0.81 c
T6	1.75 bc	3.25 ab	3.67 b	0.84 bc
T7	1.50 c	2.75 c	3.59 b	0.85 bc
DHS	1.25	1.40	1.65	0.28
CV (%)	17.97	15.98	16.85	12.22

Medias con diferente letra en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$). DHS = diferencia honesta significativa; CV = coeficiente de variación.

Means with different letters in the columns indicate significant statistical difference (Tukey, $P \leq 0.05$). DHS = significant honest difference; CV = coefficient of variation.

de hojas con 2.75 por brote (Cuadro 2). Villavicencio *et al.* (2007), reportan entre 4 y 6 hojas obtenidas en los brotes, afirmando que para asegurar la supervivencia de los brotes deben contar al menos con 3 hojas, lo cual concuerda con el número de hojas por brote obtenidos en este trabajo en los tratamientos del T1 al T6. En cuanto a la longitud de las hojas, el T1 obtuvo hojas largas con 6.09 cm al igual que el T3 con 5.10 cm sin mostrar diferencia estadística, hojas con menor longitud se presentaron en los T2, T4, T5, T6 y T7 con 4.24, 3.53, 3.62, 3.67 y 3.59 cm respectivamente.

Respecto a ancho de hoja, los tratamientos mostraron diferencia significativa ($P \leq 0.05$), en el T1 se observaron hojas más anchas, 1.41 mm, mientras que el T5 presentó hojas más angostas 1.07 mm. El ancho de las hojas fue muy similar en el medio MS y en los medios con altas concentraciones de EV. Dependiendo de las dimensiones de las hojas se pueden afectar funciones fisiológicas en las plantas, entre mayor sea la producción y tamaño de hojas se verá beneficiada la actividad fotosintética, respiratoria y bioaclimatación (Barraza, Fischer y Cardona, 2004).

Se lograron obtener brotes en todos los tratamientos a base de EV, sin embargo, sus características y cantidad resultó menor que los obtenidos en el medio MS, de los brotes producidos en tratamientos a base de EV

el T3 fue donde se obtuvo la mayor cantidad y mejores características (Figura 1).

Etapas de Enraizamiento

El número de raíces formadas en los brotes de *D. cedrosanum* después de 45 días en la cámara de incubación no mostró diferencia significativa entre tratamientos ($P \geq 0.05$). Según Villavicencio *et al.* (2007), obtuvieron entre 1 y 3.50 raíces por brote en plantas producidas en medio MS, los resultados en este trabajo de investigación se encuentran dentro de este parámetro ya que oscilaron entre 1 y 1.50 raíces por brote.

En cuanto a las variables longitud y ancho de raíz se registraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$), en longitud de raíz en los T1 y T6, con 6.53 y 5.99 cm respectivamente, se presentaron las raíces más largas sin diferencia estadística entre tratamientos, las raíces con menor longitud se presentaron en el resto de los tratamientos oscilando valores entre 1.21 y 1.65 cm. Por otro lado, en el ancho de raíz el T4 y T6 fueron los superiores con 1.13 y 1.16 mm respectivamente. El menor ancho de raíz se presentó en el T7 con 0.86 mm, mientras que el tratamiento testigo a base de medio MS obtuvo 0.95 mm (Cuadro 3).

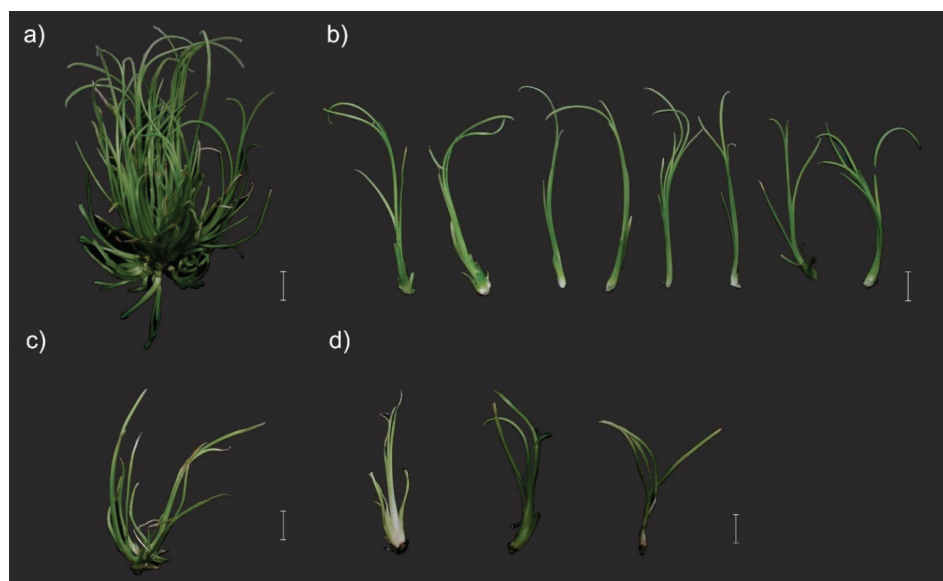


Figura 1. a) Efecto del T1 en una plántula de *D. cedrosanum* en etapa de multiplicación. b) brotes generados en el T1. c) efecto del T3 en una plántula de *D. cedrosanum* en etapa de multiplicación. d) brotes generados en el T3. Barra = 1 cm.

Figure 1. a) Effect of T1 on a seedling of *D. cedrosanum* in the multiplication stage. b) shoots generated in T1. c) effect of T3 on a seedling of *D. cedrosanum* in the multiplication stage. d) shoots generated in T3. Bar = 1 cm.

Cuadro 3. Generación y desarrollo de raíces de *D. cedrosanum* a los 45 días en la etapa de enraizamiento.
Table 3. Generation and development of roots of *D. cedrosanum* at 45 days in the rooting stage.

Tratamiento	Número de raíces	Longitud de raíz	Ancho de raíz
		cm	mm
T1	1.50 a	6.53 a	0.95 ab
T2	-	-	-
T3	1.00 a	1.61 bc	0.89 b
T4	1.00 a	3.97 ab	1.13 a
T5	1.00 a	1.21 c	0.98 ab
T6	1.00 a	5.99 a	1.16 a
T7	1.00 a	1.65 bc	0.86 b
DHS	0.43	2.57	0.22
CV (%)	17.06	32.72	10.25

Medias con diferente letra en las columnas indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$). DHS = diferencia honesta significativa; CV = coeficiente de variación.
Means with different letters in the columns indicate significant statistical difference (Tukey, $P \leq 0.05$). DHS = significant honest difference; CV = coefficient of variation.

De acuerdo a las variables fisiológicas evaluados en el presente trabajo, revelan que el T6 tiene una acción favorable en el desarrollo de raíces de plantas *in vitro* de *D. cedrosanum*, obtuvo resultados

estadísticamente similares al tratamiento testigo incluso en la variable ancho de raíz logro superarlo, el T2 no mostró respuesta en la producción de raíces en ningún brote (Figura 2).

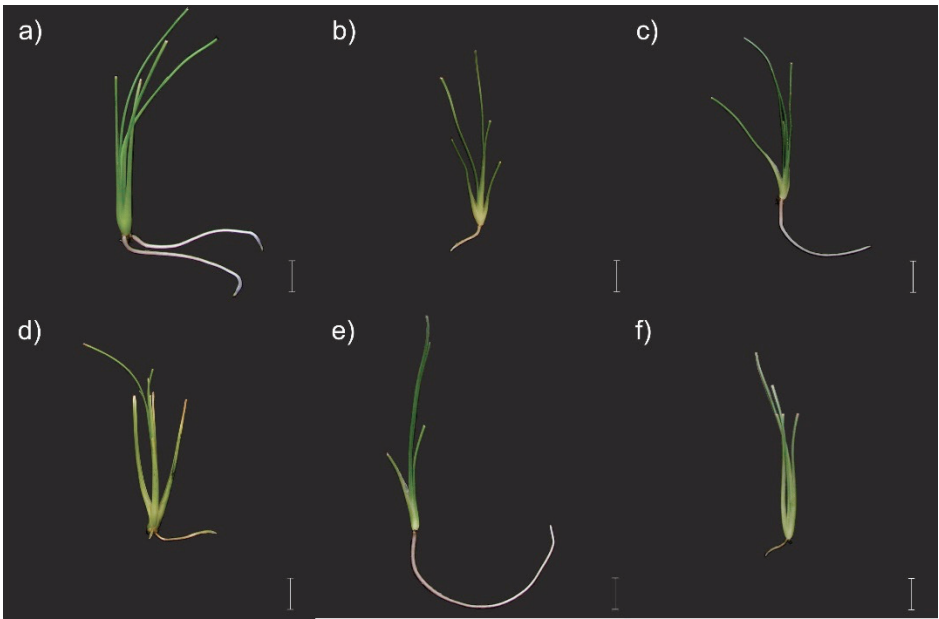


Figura 2. Plántulas de *D. cedrosanum* en etapa de enraizamiento. a) T1; b) T3; c) T4; d) T5; e) T6; f) T7. Barra = 1 cm.
Figure 2. Seedlings of *D. cedrosanum* in the rooting stage. a) T1; b) T3; c) T4; d) T5; e) T6; f) T7. Bar = 1 cm.

El largo y ancho de raíz producida a base de EV T6 (concentración de 10 mL L⁻¹) se vio favorecida, esto se debe a que el EV resulta apropiado para cualquier tipo de cultivo ya que estimula el crecimiento vegetal, rendimiento y calidad de las plantas (Pérez y Lamadrid, 2014; Calero *et al.*, 2019; Torres *et al.*, 2019). Así mismo, el EV contiene ácidos húmicos y fúlvicos los cuales regulan vías metabólicas, como el crecimiento y desarrollo radicular de la planta (Sénes-Guerrero, Guardiola y Pacheco, 2019). Los ácidos húmicos proporcionan radicales libres a las células vegetales que ayudan a ejercer un efecto positivo en el inicio del enraizamiento (Dhanapal y Sathish, 2014). Los efectos reportados de los ácidos húmicos en las plantas están relacionados con un mayor crecimiento del sistema radicular, ya que estimulan la formación de raíces laterales, raíces adventicias y formación de pelos radiculares (Teixeira *et al.*, 2021), esto se debe principalmente a que estas sustancias regulan las hormonas de crecimiento de las plantas e impiden la destrucción del AIA.

El aprovechamiento de los desechos orgánicos hoy en día representa una alternativa de importancia ambiental, ecológica y económica (Vázquez, García, Navarro y García, 2015), por lo tanto, se sugiere seguir realizando trabajos de investigación en el sentido de mejorar las propiedades del EV y así lograr resultados similares a los obtenidos con el medio MS, de esta manera se podrán reducir significativamente los costos de producción para la obtención masiva de plantas en micropropagación.

CONCLUSIONES

En la búsqueda de productos orgánicos para sustituir el medio basal Murashige y Skoog (MS), los resultados obtenidos mostraron que en la etapa de multiplicación se obtuvieron brotes de *Dasyllirion cedrosanum* en todos los tratamientos a base de extracto de vermicompost (EV), sin embargo, la cantidad y características de ellos fue superada por el medio tradicional MS, se requiere enriquecer las propiedades químicas del EV y probar diferentes concentraciones hormonales para incrementar el número de brotes.

En la etapa de enraizamiento los resultados indican que el EV a una concentración de 10 mL L⁻¹ generó raíz con la misma significancia estadística en

cantidad y características que el medio MS, incluso lo superó en ancho de raíz, por lo tanto, se puede utilizar esta concentración para sustituir el medio MS en esta etapa al micropropagar *D. cedrosanum*.

La presente investigación servirá de antecedente para generar conocimiento científico y tecnológico sobre el uso del EV para la obtención masiva de plantas en micropropagación.

DECLARACIÓN DE ÉTICA

No aplicable.

CONSENTIMIENTO PARA PUBLICACIÓN

No aplicable.

DISPONIBILIDAD DE DATOS

Los conjuntos de datos utilizados o analizados durante el estudio actual están disponibles del autor correspondiente a solicitud razonable.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses en competencia.

FONDOS

Este proyecto de investigación fue financiado por el Laboratorio de Biotecnología Noa de la ciudad de Torreón, Coahuila.

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Conceptualización: R.I.R.G. y G.G.C. Metodología: G.G.C. y R.R.G.E. Software: R.I.R.G. Validación: J.A.C.S. y M.G.C. Análisis formal: R.R.G.E., B.E.P. y R.R.G.E. Investigación: G.G.C. y R.I.R.G. Recursos: C.O.P.V. Curación de datos: B.E.P. Escritura: preparación del borrador original: R.I.R.G. y G.G.C. Escritura: revisión y edición: R.R.G.E. y C.O.P.V. Visualización: J.A.C.S. Supervisión: G.G.C. Administración del proyecto: G.G.C. Adquisición de fondos: G.G.C.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar estudios de doctorado CVU. No: 815402.

LITERATURA CITADA

- Barraza, F. V., Fischer, G., & Cardona, C. E. (2004). Estudio del proceso de crecimiento del cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el Valle del Sinú Medio, Colombia. *Agronomía Colombiana*, 22(1), 81-90.
- Calero Hurtado, A., Quintero Rodríguez, E., Pérez Díaz, Y., González Pardo-Hurtado, Y., & González Lorenzo, T. N. (2019). Microorganismos eficientes y vermicompost de lixiviado aumentan la producción de pepino. *Revista U.D.C.A Actualidad y Divulgación Científica*, 22(2), 1-9. <http://doi.org/10.31910/rudca.v22.n2.2019.1167>
- Cañal, M. J., Rodríguez, R., Fernández, B., Sánchez-Tames, R., & Majada, J. P. (2001). Fisiología del cultivo *in vitro*. *Biotechnología Vegetal*, 1(1), 3-9.
- Chávez-Simental, J. A., González-Cervantes, G., Arreola-Ávila, J. G., Ortiz-Sánchez, I. A., & Loera-Gallegos, H. M. (2016). Variación estomática en folíolos de nogal pecanero (*Carya illinoensis* (WANGENH.) K. KOCH) en base al método de eficiencia de riego. *Interciencia*, 41(9), 646-651.
- Chávez, M., De Fera, M., Barbón, R., Jiménez-Terry, F., La O, M., Pérez, M., Quiala, E., & Agramonte, D. (2010). Características morfológicas de plantas *in vitro* de *Pinus caribaea* var. *caribaea* influenciadas por el empleo de la sacarosa en la fase de multiplicación. *Biotechnología Vegetal*, 10(1), 31-40.
- Cruz-Requena, M., De la Garza-Toledo, H., Aguilar González, C. N., Aguilera-Carbó, A., Reyes-Valdés, H., Rutiaga, M., & Rodríguez-Herrera, R. (2013). Chemical and molecular properties of sotol plants (*Dasyllirion cedrosanum*) of different sex and its fermentation products. *International Journal of Basic and Applied Chemical Sciences*, 3(1), 41-49.
- De la Garza-Toledo, H., Martínez, M., Lara, L., Rodríguez-Herrera, R., Rodríguez-Martínez, J., & Aguilar, C. N. (2008). Production of a mexican alcoholic beverage: sotol. *Research Journal of Biological Sciences*, 3(6), 566-571.
- Dhanapal, S., & Sathish Sekar, D. (2014). Enhanced *in vitro* propagation of *Musa accuminata* induced by humic acid from coal extract as compared with commercially available humic acid products. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 3(7), 300-307.
- Figuerola Viramontes, U., Núñez Hernández, G., Reta Sánchez, D. G., & Flores López, H. E. (2015). Balance regional de nitrógeno en el sistema de producción leche-forraje de la Comarca Lagunera, México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 6(4), 377-392.
- Flores-Hernández, L. A., Robledo-Paz, A., & Jimenez-Montiel, M. J. (2017). Medio de cultivo y sustitutos del agar en el crecimiento *in vitro* de orquídeas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(6), 1315-1328. <https://doi.org/10.29312/remexa.v8i6.297>
- González Cervantes, G., Villanueva Díaz, J., Orona Castillo, I., & Sánchez Cohen, I. (2005). Efecto de la lámina de riego en el crecimiento radial de nogal pecanero (*Carya illinoensis* Koch) mediante análisis de imágenes. *Agrofaz*, 5(2), 863-868.
- González Solano, K. D., Rodríguez Mendoza, M. N., Trejo Tellez, L. I., Sánchez Escudero, J., & García Cué, J. L. (2013). Propiedades químicas de tés de vermicompost. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(5), 901-911.
- Hernández-Quintero, J. D., Reyes-Valdés, M. H., Mendoza-Rodríguez, D. V., Gómez-Martínez, M., & Rodríguez-Herrera, R. (2015). Estudio de los cromosomas mitóticos y meióticos del sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.). *Phyton*, 1(84), 107-112. <https://doi.org/10.32604/phyton.2015.84.107>
- Jiménez-Martínez, J. H., Franco-Mora, O., Gutiérrez-Martínez, M. D., González-Huerta, A., & Castañeda-Vildózola, Á. (2011). Micropropagación de *Cissus tiliacea*, planta del sur del estado de México. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 43(2), 71-81.
- López-Martínez, J. D., Vázquez-Díaz, D. A., Esparza-Rivera, J. R., García-Hernández, J. L., Castruita-Segura, M. A., & Preciado-Rangel, P. (2016). Yield and nutraceutical quality of tomato fruit produced with nutrient solutions prepared using organic materials. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(4), 409-414.
- Montenegro-Juárez, F. E., Rojas-Idrogo, C., Quevedo-Calle, D., & Delgado-Paredes, G. E. (2014). Efecto del sulpomag y complejos orgánicos como sustitutos parciales del medio de cultivo de micropropagación de *Musa* sp. cv. Cavendish. *Agronomía Costarricense*, 38(1), 147-159. <https://doi.org/10.15517/rac.v38i1.15163>
- Moya Fernández, M. B., Cosío-Vargas, L. E., Cabezas Montero, D., Calderín García, A., Marrero López, D., & Pérez Álvarez, S. (2013). Potentiality of vermicompost humic acids in banana *in vitro* micropropagation clone: *Enano Guantanamero*. *Journal of Environmental Science and Engineering*, 2, 677-685.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Niedz, R. P., & Evens, T. J. (2007). Regulating plant tissue growth by mineral nutrition. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 43, 370-381. <https://doi.org/10.1007/s11627-007-9062-5>
- Ochoa-Martínez, E., Figuerola-Viramontes, U., Cano-Ríos, P., Preciado-Rangel, P., Moreno-Reséndiz, A., & Rodríguez-Dimas, N. (2009). Té de compost como fertilizante orgánico en la producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en invernadero. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15(3), 245-250.
- Palacios-Romero, A., Rodríguez-Laguna, R., Razo-Zárate, R., & Jiménez-Muñoz, E. (2019). Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento de plántulas de *Dasyllirion acrotrichum* (Schiede) Zucc. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(54), 27-38. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v10i54.495>
- Pérez Bravo, Y. L., & Lamadrid Mandado, L. J. (2014). Efecto del lixiviado de humus de lombriz sobre indicadores morfológicos en el cultivo de la cebolla (*Allium cepa* L.). *Centro Agrícola*, 41(4), 33-37.

- Pérez-Uz, B., de Silóniz, M. I., Torralba, B., & Vázquez, C. (2010). Metodología de esterilización en el laboratorio microbiológico. *Reduca (biología) Serie Microbiología*, 3(5), 1-14.
- Prakash, P., Sharumathy, D., Swetha Sunkar, Nandagopal, D., & Narendrakumar, G. (2015). Micropropagation of *Eclipta alba* using humic acid as media component. *Plant Archives*, 15(1), 181-185.
- Reyes-Silva, A. I., Morales-Muñoz, C. F., Pérez-Reyes, M. E., & Pérez-Molphe Balch, E. (2013). Propagación *in vitro* de nolináceas mexicanas. *Investigación y Ciencia*, 21(58), 12-20.
- Reyes-Valdés, M. H., Benavides-Mendoza, A., Ramírez-Rodríguez, H., & Villarreal-Quintanilla, J. Á. (2012). Biología e importancia del sotol (*Dasyllirion* spp.), Parte I: sistemática, genética y reproducción. *Planta*, 7(14), 10-13.
- Reyes-Valdés, M. H., Benavides-Mendoza, A., Ramírez-Rodríguez, H., & Villarreal-Quintanilla, J. Á. (2013). Biología e importancia del sotol (*Dasyllirion* spp.), Parte II: ecofisiología, usos e interrogantes. *Planta*, 8(17), 16-20.
- Ríos-Camey, J. M., López-López, B., Méndez-González, J., Ramírez-Díaz, J. A., & Aguirre-Calderón, Ó. A. (2018). Propiedades físicas y mecánicas de escapos florales de sotol (*Dasyllirion cedrosanum* Trel.) en el sureste de Coahuila. *Agraria*, 15(2), 79-84.
- Rodríguez Trejo, D. A., García Pascual, E., Quiahua Barrera, L., & Reyes Valdovinos, E. Y. (2019). Germinación de semillas de *Dasyllirion lucidum* Rose y *Beaucarnea gracilis* Lemaire de matorral xerófilo. *Entreciencias: Diálogos en la Sociedad del Conocimiento*, 7(20), 1-12. <https://doi.org/10.22201/enesl.20078064e.2019.20.68365>
- Santiago-López, G., Preciado-Rangel, P., Sánchez-Chavez, E., Esparza-Rivera, J. R., Fortis-Hernández, M., & Moreno-Reséndez, A. (2016). Organic nutrient solutions in production and antioxidant capacity of cucumber fruits. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(7), 518-521. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-01-083>
- Senés Guerrero, C., Guardiola-Márquez, C. E., & Pacheco Moscoa, A. (2019). Evaluación de biofertilizantes a base de microorganismos y lixiviado de vermicomposta en cultivos de interés económico en México. *Agro Productividad*, 12(3), 53-61. <https://doi.org/10.32854/agrop.v0i0.1348>
- Teixeira Buttrós, V. H., Alves Pereira, M. M., Martins, A. D., Almendanga Rodriguez, F., Pasqual, M., & Dória, J. (2021). Humic substances and their effects on the micropropagation of banana. *Research, Society and Development*, 10(2), 1-6. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i2.12297>
- Torres García, A., Héctor Ardisana, E. F., Fosado Téllez, O., Cué García, J. L., Mero-Muñoz, J. A., León Aguilar, R., & Peñarrieta Bravo, S. (2019). Respuesta del pimiento (*Capsicum annuum* L.) ante aplicaciones foliares de diferentes dosis y fuentes de lixiviados de vermicompost. *Bioagro*, 31(3), 213-220.
- Torroba, M. C., Paccapelo, H. A., Aguilera, L., & Mazzola, J. (2008). Micropropagación de plantas en líneas experimentales de maíces forrajeros derivadas de un cruzamiento entre *Zea mays* L. y *Zea diploperennis* Iltis, Doebley y Guzmán. *Phyton*, 77(1), 93-102. <https://doi.org/10.32604/phyton.2008.77.093>
- Vargas, J. (2009). El sotol chihuahuense, la increíble historia de una torpeza sin fin. *Revista de las Fronteras*, 8(2), 25-28.
- Vázquez Vázquez, P., García López, M. Z., Navarro Cortez, M. C., & García Hernández, D. (2015). Efecto de la composta y té de composta en el crecimiento y producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en invernadero. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 36(1), 1351-1356.
- Veobides-Amador, H., Guridi-Izquierdo, F., & Vázquez-Padrón, V. (2018). Las sustancias húmicas como bioestimulantes de plantas bajo condiciones de estrés ambiental. *Cultivos Tropicales*, 39(4), 102-109.
- Villavicencio Gutiérrez, E., Cano Pineda, A., & Juárez Santana, A. (2007). *Guía para la micropropagación y producción in vitro de plantas de sotol (Dasyllirion cedrosanum Trel.)* [Folleto técnico #9]. Saltillo, Coahuila, México: INIFAP-CIRNE.
- Zamora, K., Castro, L., Wang, A., Arauz, L. F., & Uribe, L. (2017). Uso de lixiviados y tés de vermicompost en el control del ojo de gallo del café *Mycena citricolor*. *Agronomía Costarricense*, 41(1), 33-51. <https://doi.org/10.15517/rac.v41i1.29747>