



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA

TESIS

**Efecto de campos magnéticos rotantes en semillas de
*Agave tequilana***

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA
PERLA PAMELA GALLARDO CORTES

DIRECTORA DE TESIS:
M.C ITZEL PAULINA MORALES SANDOVAL

ASESORA:
DRA. MÓNICA LEDESMA MOTOLINÍA

PUEBLA, PUE

ENERO 2026



El presente trabajo se desarrolló en el laboratorio de biotecnología ambiental del EMA 6 301 del Herbario y Jardín Botánico Universitario bajo la dirección de M.C. Itzel Paulina Morales Sandoval. Siempre será el mejor regalo que Dios me pudo dar en esta etapa. Y un reconocimiento a la Dra. Mónica Ledesma Motolinía por su guía en cada fase de este proyecto. Parte de los resultados de este trabajo se presentaron en los siguientes congresos.

Carteles científicos

- XXXVII REUNIÓN ANUAL Y ASAMBLEA ORDINARIA DE LA ASOCIACIÓN MEXICANA DE JARDINES BOTÁNICOS A.C, se participó con un cartel científico titulado: “EFECTO DE CAMPOS MAGNÉTICOS ROTANTES EN SEMILLAS DE *AGAVE TEQUILANA*”.
- 1er Congreso NEXUS: De la Bioinformática a la Experimental, se participó con un cartel científico titulado: “EFECTO DE CAMPOS MAGNÉTICOS ROTANTES EN SEMILLAS DE *AGAVE TEQUILANA*”.
- XXIII Congreso Mexicano de Botánica en Villahermosa, Tabasco se participó con un cartel científico titulado: “EFECTO DE CAMPOS MAGNÉTICOS ROTANTES EN SEMILLAS DE *AGAVE TEQUILANA*”.

Presentación Flash

- 2do Congreso NEXUS: De la Bioinformática a la Experimental, se participó en una presentación Flash, titulada “EFECTO DE CAMPOS MAGNÉTICOS ROTANTES EN SEMILLAS DE *AGAVE TEQUILANA*”. Y se obtuvo el segundo lugar en la categoría de Licenciatura.

Agradecimientos

Quiero extender mis más sinceros agradecimientos a cada una de las personas que se cruzaron en mi camino, aunque inicio virtual, aun si obtuve conocimientos. A sí mismo a mis directores, asesores y revisores, por su guía y paciencia a lo largo de este proceso.

Agradezco un enfoque revolucionario que aportaron los maestros como el Dr. Ulises Kuri, Dr. Landeta y la Dra. Julia me ayudaron a ver la capacidad que Biotecnología me permitió aprender y enseñar.

Al Dr. Alan Carrasco sin el yo no hubiera tenido la oportunidad de conocer a M.C. Paulina. Ser uno de los primeros profesores en enseñarme que un maestro puede ser estricto pero que tienes dos opciones: dejar de lado el miedo y avanzar o continuar en tu zona de confort.

Al Laboratorio de Sistemas Complejos del Instituto de Física “Ing. Luis Rivera Terrazas” dirigido por el Prof. José Luis Carrillo Estrada por el apoyo y acceso al dispositivo de campos magnéticos triaxiales.

Al Laboratorio de Elucidación y Síntesis en Química Orgánica LESQO, el mejor recuerdo fue verlos llegar temprano como esperarme, aunque ya querían irse a su casa y ver que trabajan en áreas que más los hace destacar.

A la M.C. Niza por tenerme paciencia y enseñarme.

Al Lic. Alex, por responder mis preguntas y prestarme sus materiales de laboratorio.

Al cDr. Alberto y a la Lic. Esmeralda por su amabilidad y responder mis dudas.

Al Herbario y Jardín Botánico por las semillas y vivir experiencias en congresos y eventos que aportaron cualidades en mí misma donde mi yo del pasado nunca hubiera pesado que lograría experimentar.

A Kassandra fuiste mi consejera y la primera en verme llegar a este laboratorio y el inicio de mi proyecto como prepararme para LESQO.

A Magnolia, por apoyarme en mi proyecto cuidando a mis hijas “agaves” y tu amistad.

A Luz, por las risas, escucharme y tu bonita amistad.

A Mitzi, estar juntas por varias horas en el laboratorio, comer juntas y siempre reír, extrañare verte llegar y platicar.

A mi tía Ofelia, me hubiera gustado que leyeras este escrito porque sembraste una semilla muy bonita en mí, que me hizo preguntarme ¿qué es el magnetismo? Esa semilla fue creciendo y hoy se ha vuelto un tema que me emociona mucho, te mando un reconocimiento porque tus conocimientos me cautivaron y me permitieron ver desde un enfoque diferente la vida.

A mi tía Adela, mi tío Conrado, mis padrinos, mi tía viví, mi tío León, mi tío Feliciano, mi tío Ricardo, porque sus consejos y apoyo llegaron siempre en el momento indicado.

A mi prima Azucena, a mi primo Suriel y a mi primo Iván fueron el ejemplo de cómo adaptarme a un entorno lejos de tu familia.

A mi tía Talisa, por alentarme, escucharme y preocuparse por mí.

A mi tía Gabriela y su familia por las experiencias vividas en Atlixco.

Faltaron muchos por mencionar, pero cada familiar genero un recuerdo que quedara en mi mente y corazón ya que aportaron a mi vida universitaria

A mi mejor amiga Diana, por las pláticas, risas y el apoyo incondicional como su mamá.

A Estrella por el gran apoyo que pudo brindarme, risas, consejos y vivencias.

A la persona que hizo posible que conociera a la Dr. Mónica siempre recordare la oportunidad de confiar en mí. Honrando las cualidades que me enseñaste y siempre admire.

Dedicatoria

A Dios por guiarme siendo mi cobijo, alivio y descanso en días difíciles.

A mí yo del 2024 honro la paciencia, el amor, la perseverancia, la responsabilidad que a lo largo de ese año hiciste para cumplir con este maravilloso proyecto ya que toda abnegación rindió frutos.

A mi familia, por ser mi fortaleza en cada etapa de mi vida universitaria y ser comprensivos al siempre verme en el laboratorio. Mamá dejaste volar a tu hija haciendo lo posible para que cumpliera su sueño. Papá te esmeraste en darme el apoyo incondicional para llegar hasta aquí. Este gran logro es de ustedes porque Dios me dio la oportunidad de que sus apellidos, valores y esencia, las personas lo observaran porque son mi gran ejemplo por seguir porque son muy valientes a pesar las adversidades. A mi hermano, no tengo palabras para describir la paciencia y comprensión que tuviste al verme ir a otro lugar, que mi experiencia te sirva de aprendizaje siempre serás el mejor regalo que Dios me pudo dar. A mi perrito Cosmo, llegaste en el momento indicado a este proyecto, y estuviste acompañándome en mis escrituras matutinas. Sin ustedes yo no hubiera logrado tener una gran cantidad de recuerdos.

A mis abuelas Marta y Vicenta por el apoyo y escuchar con cariño cada anécdota de mi vida universitaria y siempre honrare que son mi gran ejemplo de mujeres capaces y fuertes. A mis abuelos honro el ser su nieta me hubiera encantado poder hablar con ustedes sobre mis plantas.

A Paulina y Mónica por darme el apoyo, por creer en mí y dar ese salto de fe en un área poco explorada y poder decir que las considero mis amigas. Paulina gracias por darme la confianza en el laboratorio porque eres un gran regalo que la vida me dio y siempre estaré agradecida por cada consejo y guía. Mónica sé que adentrarte en un área nueva fue un reto, pero igual agradezco tu iniciativa también doy gracias porque me permitiste conocerte y a pesar de la distancia seguiste al pendiente mostrando un gran apoyo como teniéndome paciencia.

A mi novio por ser mi compañía a lo largo de la escritura y culminación de mis experimentos. Agradezco su apoyo incondicional y recordarme la emoción que reflejo al hablar de mi carrera.

Índice

RESUMEN	i
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	4
2.1 Germinación.....	4
2.2 Micropropagación de <i>A. tequilana</i>	4
2.3 Estimulaciones en semillas agrícolas	5
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
4. JUSTIFICACIÓN	8
5. HIPOTESIS	9
6. OBJETIVOS	9
6.1 Objetivo general.....	9
6.2 Objetivos particulares.....	9
7. MARCO TEÓRICO.....	10
7.1 Características de <i>Agave tequilana</i>	10
7.2. Pruebas de viabilidad	10
7.3. Micropropagación.....	12
7.4. Análisis antioxidante	14
7.5. Campos magnéticos	15
8. MATERIALES Y METODOS	17
8.1 FASE 1: Establecimiento con Campos Magnéticos Oscilantes e <i>in vitro</i>	17
8.1.1 Selección de rango	17
8.1.2 Prueba de viabilidad de semillas: Ensayo de germinación en papel filtro .	17
8.1.3 índice de velocidad de germinación y porcentaje de germinación.....	17
8.1.4 Prueba de Difracción de Rayos X (XRD).....	18
8.1.5 Campos magnéticos oscilantes: biaxiales (2D) y triaxiales (3D)	18
8.1.6 Medios de cultivo	19
8.1.7 Protocolo de desinfección.....	20
8.1.7.1 Escarificación.....	20
8.1.7.2 Desinfección en campana de flujo laminar	20
8.1.8 Semillas en medios de cultivo <i>in vitro</i>	21
8.1.9 Germinación	21

8.1.10 Elongación.....	21
8.2. FASE 2. Aclimatación en sustrato específico.	22
8.3 FASE 3. Análisis antioxidante.....	22
8.3.1 Extracción Soxhlet.....	22
8.3.2 Pruebas antioxidantes	23
8.3.2.1 Prueba DPPH (510 nm)	23
8.3.2.2 Prueba CUPRAC (450 nm)	23
8.3.2.3 Prueba FRAP (595 nm).....	23
8.3.2.4 Determinación de fenoles totales (Folin-Ciocalteu, 750 nm).....	24
8.4 Análisis estadístico	24
9. RESULTADOS.....	26
9.1 FASE 1: Establecimiento con Campos Magnéticos Oscilantes e in vitro.	26
9.1.1 Prueba de viabilidad en semillas de <i>Agave tequilana</i>	26
9.1.2 Análisis del orden de estructura de semillas de <i>Agave tequilana</i>	26
9.1.3 Germinación	27
9.1.3.1 IVG.....	27
9.1.3.2 Porcentaje de germinación	29
9.2 Elongación.....	32
9.2.1 Cotiledón a los 45 y 145 días	33
9.2.2 Raíz a los 45 y 145 días.....	34
9.2.3 Hoja verdadera a los 145 días en medio de cultivo A.A y MS.....	36
9.2.4 Hojas totales a los 145 días en medio de cultivo A.A y MS	37
9.3 FASE 2: Aclimatación en sustrato específico.	38
9.4 FASE 3. Análisis antioxidante.	40
9.4.1 Extracción de metabolitos para control, 2D y 3D.....	40
9.4.2 Pruebas antioxidantes	42
9.4.1.1 Prueba DPPH	42
9.4.1.2 Prueba Folin-Ciocalteu.....	43
9.4.1.3 Prueba CUPRAC	44
9.4.1.4 Prueba FRAP	45
10. DISCUSIÓN	46

11. CONCLUSIÓN	49
12. PRESPECTIVAS.....	50
12. BIBLIOGRAFÍA	51

RESUMEN

Actualmente en el área de la agricultura, uno de sus mayores retos es mejorar la etapa de desarrollo de una planta, por ello resulta relevante explorar nuevas herramientas biotecnológicas para mejorar diversos procesos, por ejemplo, el rendimiento de las semillas. Para ello se consideran protocolos físicos, químicos, entre otros. En particular, en este trabajo se propone un pretratamiento físico para semillas de *Agave tequilana* empleando campos magnéticos oscilantes. En este trabajo se analizaron los efectos de diferentes configuraciones de campos magnéticos oscilantes en semillas de *Agave tequilana*. Los parámetros fueron el tiempo de exposición y el tipo de configuración de los campos magnéticos oscilantes: campos magnéticos biaxiales (2D) y campos magnéticos triaxiales (3D) a los que se exponen las semillas. Posteriormente, se implementó una metodología de tres fases: la primera fase fue la interacción entre el campo magnético oscilante y la semilla, seguido del protocolo de desinfección de esta. Además, se comparó el efecto del medio del cultivo *in vitro* en medio Agar-agua (A.A) y medio Murashige y Skoog (MS), donde se efectuaron mediciones del crecimiento de la plántula en dos intervalos de tiempo. La segunda fase fue el proceso de aclimatación y finalmente, en la tercera fase se realizaron cuatro pruebas antioxidantes: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP), Capacidad de Absorción de Radicales Reductores de Cobre (CUPRAC) y Folin-Ciocalteu (Folin) con el fin de evaluar el efecto biológico de la exposición y la capacidad de inhibición de radicales libres de los tratamientos de *Agave tequilana*, posteriormente se realizó el análisis estadístico de los resultados. A partir de esta metodología se encontró que el mejor tiempo de exposición de las semillas de *Agave tequilana* corresponde a quince minutos para campos magnético triaxiales en el medio de cultivo de A.A, mientras que para el medio MS el mejor tiempo de exposición fue de quince minutos para campos magnéticos biaxiales. En la fase de elongación no se presentaron diferencias significativas entre los tiempos de exposición y los medios de cultivo en el intervalo de tiempo analizado. En la última fase, las pruebas de antioxidantes permitieron comprobar que se logró la inhibición de radicales libres, siendo etanol el solvente que destacó en los tratamientos realizados. Este trabajo aporta información relevante para especies de *Agave tequilana* concluyendo que la aplicación de campos magnéticos oscilantes es beneficiosa en la aceleración de la germinación, así como en su actividad antioxidante, permitiendo explorar futuras aplicaciones en el área agrícola y de biotecnología.

1. INTRODUCCIÓN

El mundo de la agricultura se encuentra en un constante avance porque se busca cumplir el propósito de poder obtener una mayor cantidad de alimentos y así satisfacer la alta demanda de la población, como consecuencia de su crecimiento exponencial. Ante esta problemática se han creado nuevas tecnologías, herramientas y técnicas para poder obtener una mayor cantidad de alimentos. En este proceso, el cuidado del medio ambiente ha sido relevante para que la industria obtenga mayores cosechas, sin embargo, a largo de los años se han estado utilizando distintas herramientas como procesos químicos, mecanización y tecnología para incrementar la tasa de cosecha (Valenzuela-Zapata, 1985) que en consecuencia han provocado daños al medio ambiente. De modo que, las semillas son un punto clave para toda producción agrícola, ya que dependiendo de su calidad fisiológica es el éxito del cultivo. Comprender sus procesos de germinación, viabilidad y respuesta a distintos estímulos es fundamental para mejorar el rendimiento y vigor de las semillas. Diversas investigaciones (Yastreba et al., 2025; Qian et al., 2026) han buscado cumplir este objetivo mediante métodos físicos, biotecnológicos y ecológicos. La capacidad de germinar de una semilla depende de distintos factores como: los nutrientes disponibles, la calidad de la semilla, así como de las condiciones ambientales. Aunque en la recolección se obtenga una gran cantidad de semillas, no todas logran germinar, ya que este proceso está determinado por la capacidad fisiológica que la planta madre les pudo dar y factores como la sequía, el estrés ambiental o los efectos del cambio climático pueden afectarla, ocasionando que las semillas resulten latentes o poco viables. Incluso si se siembran bajo condiciones favorables, las semillas no germinarán adecuadamente porque no alcanzaron a desarrollarse con el vigor necesario (Waterworth et al., 2024; Nadarajan et al., 2023).

En el caso de México existen muchas semillas que son de interés no sólo para la industria agrícola, también para la comunidad científica, ya que su preservación es de vital relevancia. Particularmente, en México existe una variedad de suculentas, una de las más emblemáticas con un enfoque cultural para las personas es *Agave Tequilana* Weber Azul (*A. tequilana*). De acuerdo con Jiménez-Barrón y colaboradores (2020) y Davis & Ortiz-Cano (2023), se afirma que esta especie se ha reclasificado en las familias Asparagaceae y Agavoideae. Esta planta se caracteriza por ser nativa de las regiones áridas de México, además de ser considerada parte de su historia y símbolo representativo del país (Gentry, 1982; Nobel, 1988). Al ser una suculenta tiende a retener más agua debido a sus hojas largas y gruesas dándole la capacidad de poder adaptarse a regiones áridas.

A. tequilana tiene la capacidad de resistir a climas áridos, lo que le permite tener la capacidad fisiológica característica de las suculentas; la retención de agua. Posee un sistema de almacenamiento el cual se asemeja al metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM, por sus siglas en inglés *Crassulacean Acid Metabolism*), dicha vía permite que las plantas, como las especies de agaves y cactáceas, puedan prosperar en condiciones de sequía, ya que fijan el dióxido de carbono (CO₂) del ambiente en la noche, esto se logra gracias a la apertura de los estomas en temperaturas bajas permitiendo minimizar la pérdida de agua, ya que en el día los

estomas permanecen cerrados para resistir a las altas temperaturas (Acosta et al., 2021; Ramírez et al., 2014) .

En el caso de los agaves silvestres su forma de reproducción se logra de manera sexual a partir de semillas, donde su floración es sólo una vez en su vida (Ramírez et al., 2014)). Uno de los principales polinizadores para esta especie son los murciélagos: sin embargo, a lo largo de los años los agaves ha sido domesticados por el ser humano, es decir, son propagados y seleccionados durante varias generaciones bajo condiciones agrícolas controladas, provocando una disminución de su variabilidad genética, ya que optan por utilizar una reproducción asexual a partir de los hijuelos, que es más rápida, incrementado su producción industrialmente para la obtención de una bebida muy famosa conocida como tequila (Pinal et al., 2009; Bautista et al., 2022). *A. tequilana* se obtiene esta bebida tradicional mexicana (Alemán-Nava et al., 2018); sin embargo, para su proceso de elaboración se necesitan cortar las hojas dejando el centro conocido como jima o piña. Este corte se realiza siempre y cuando la planta haya llegado a su punto de maduración, que normalmente se alcanza en un tiempo aproximado de 7 a 10 años, y es el punto clave para beneficiar a los productores que se dedican al tequila (Muría, 2016). Esta especie es considerada una planta de lento crecimiento, inicialmente su reproducción era por semillas, pero actualmente se prefiere usar hijuelos. Si bien su desarrollo lleva su tiempo para obtener plantas en buen estado, este tipo de propagación ha provocado que las cosechas sean más propensas a plagas desencadenando el uso de pesticidas.

Por ello, la comunidad científica y la industria agrícola buscan encontrar técnicas que mejoren no sólo el proceso de producción del tequila, sino desde las etapas iniciales de las semillas de *A. tequilana*. Siendo de suma relevancia identificar si las semillas tienen la capacidad de germinar, lo cual se logra realizando una evaluación y cuantificación por medio de pruebas de viabilidad. En el caso de las semillas de *A. tequilana*, la prueba de viabilidad más empleada ha sido por medio de ensayos de germinación en papel filtro (Tang et al., 2019; Ranucci et. al 2024; Foschi et al., 2022).

El propósito de hacer pruebas de viabilidad es identificar si en la semilla, el cotiledón logro desarrollarse correctamente (Van der Walt & Witkowski 2017; Baskin & 2014) ya que, si la planta madre tuvo un buen desarrollo, sus semillas tendrán un buen vigor. Factores como la disminución de variabilidad genética ha hecho que se deje de lado la propagación por medio de semillas, si bien se han implementado nuevas técnicas como la micropropagación (cultivo *in vitro*) a partir de otro tipo de explante, *A. tequilana* se ha resguardado en bancos de germoplasma que consisten en tener esta especie bajo condiciones que permitan preservar su viabilidad a largo plazo. En su micropropagación se ha usado el medio Murashige y Skoog (MS) suplementado con hormonas, donde han observado que al usar como explante yemas axilares se logró desarrollar factiblemente a partir de un sustrato (vermiculita) para género agave, observando que es posible desarrollarse sin la necesidad de más nutrientes (Ramírez-Tobías et al., 2014). Algo importante a destacar es que para el caso de la semilla *A. tequilana* la información sobre su cultivo *in vitro* es escasa. Sin embargo, los resultados encontrados por Vázquez-Martínez y colaboradores (Vázquez-Martínez et al., 2021) indicaron una diferencia entre usar un medio de cultivo como MS a usar un Agar-Agua (A.A) porque este medio sería un sustituto de usar un sustrato. Este paso

es crucial a nivel de laboratorio, ya que adecuar un protocolo que, bajo condiciones controladas, permita que las semillas de *A. tequilana* se puedan desarrollar en un medio de cultivo, además que través de un perfil antioxidante se pueda identificar si una planta logra aumentar su actividad antioxidante, ya sea por medio de la exposición a un estímulo físico o químico. Especialmente, realizar pruebas antioxidantes es clave en las semillas para determinar y asegurar que el resguardo de la especie se realizó correctamente; en el caso de la semilla de *A. tequilana* el tiempo de resguardo se encuentra entre sus dos primeros años de vida, por lo que es posible determinar si el resguardo de un lote se llevó a cabo correctamente a partir de que su actividad antioxidante.

Gracias a la biotecnología, el área agrícola ha obtenido nuevas tecnologías y/o técnicas para obtener un mejor rendimiento de sus cultivos. Para ello se han recurrido a diversos pretratamientos, algunos de ellos combinan los conocimientos de Física y Biología, resultando en protocolos novedosos por disminuir el tiempo de germinación de las semillas. Particularmente, el uso de campos magnéticos en la germinación y crecimiento de semillas ha resultado de gran relevancia. da Silva y Dobránszki (2015) realizaron una revisión concisa sobre la influencia de campos magnéticos y eléctricos en el crecimiento y desarrollo de plantas *in vitro*, en donde encontraron que los campos magnéticos estáticos o constantes aplicados a explantes pequeños estimulan su crecimiento (da Silva y Dobránszki, 2015). En el caso concreto de semillas de maíz, las investigaciones concluyeron que la exposición de estas semillas secas a campos magnéticos constantes mejoró el crecimiento de brotes y raíces (Vashisth, & Joshi, 2017). Sin embargo, la exposición de semillas de trigo marzal y mostaza blanca a campos magnéticos estáticos no aumenta la masa seca de las plántulas (Ivanov & Sokolova, 2025). Estas discrepancias en el efecto de campos magnéticos en la germinación y crecimiento de semillas plantean una problemática que, en caso de resultar efectiva, generaría una nueva metodología que puede ser crucial para el desarrollo tecnológico de la agricultura actual.

En el presente trabajo buscamos determinar los efectos de campos magnéticos oscilantes en la germinación y crecimiento de semillas de *A. tequilana* considerando como parámetros el tiempo de exposición, la configuración de los campos magnéticos y el medio de cultivo *in vitro*. Adicionalmente, se han incluido pruebas antioxidantes para determinar la capacidad de eliminación de radicales libres de las plantas posterior a la exposición de las semillas a los campos magnéticos oscilantes. Resaltando que la información sobre la estimulación con campos magnéticos constantes y campos magnéticos oscilantes en semillas de *A. tequilana* es nula.

2. ANTECEDENTES

2.1 Germinación

Para el género *Agave* se ha dejado de lado la reproducción sexual, la cual se realiza a través de semillas; sin embargo, este tipo de reproducción es importante retomarla porque permite entender los procesos de germinación, así como el efecto de diversos estímulos en el tiempo en que estos procesos ocurren. Diversas investigaciones han elegido trabajar con otro tipo de explante como son las yemas (Bautista-Montes et al., 2022) u hojas (Ramírez-Malagón et al., 2008) dejando de lado el usar semillas, pero la Biotecnología ha buscado aplicar diversos tratamientos químicos a partir de sintetizar reguladores de crecimiento que permitan simular las fitohormonas naturales que la planta posee para su desarrollo (Ramírez-Malagón et al., 2008). En otros estudios se evaluó la germinación en papel filtro donde a través de un proceso de inmersión con un compuesto sintetizado se vio el efecto en semillas *Agave guiesbreghtii* a diferentes tiempos, donde el mejor tratamiento germinó en el quinto día (Lara Morales, L. 2023).

2.2 Micropropagación de *A. tequilana*

El desarrollo de la planta depende de diferentes factores, por ende, alcanzan su madurez en un periodo extenso; siendo éste el principal problema para los productores. A lo largo de los años se han desarrollado nuevas estrategias para acortar dicho tiempo. Si bien la germinación de semillas para los agricultores ya no es una vía factible porque conlleva esperar más tiempo (lo más usado es la siembra de hijuelos, ya que permiten obtener una planta madura en menor tiempo), se siguen buscando nuevas alternativas para la producción masiva de *A. tequilana*. En los últimos años se ha evaluado la propagación *in vitro* (micropropagación) de *A. tequilana* como una nueva alternativa. Esto se debe a que permite obtener un gran número de plantas libres de patógenos en un menor tiempo, siendo la principal ventaja para una producción a gran escala. La parte vegetal que más se usa son las yemas axilares. La micropropagación se ha logrado gracias a fitohormonas, siendo la principal característica para obtener resultados prometedores para propagación de *A. tequilana* (Bautista-Montes et al., 2022; Delgado-Aceves et al., 2021).

2.3 Estimulaciones en semillas agrícolas

Distintas investigaciones han usado campos magnéticos, en específico campos magnéticos de diferentes intensidades, algunas investigaciones con un tiempo específico y otros con un mismo tiempo, en estas investigaciones se han usado semillas alimentarias como: maíz (Vashisth & Joshi, 2017), garbanzo (Vashisth & Nagarajan et al., 2008) y tomate (Efthimiadou et al., 2014) semillas ornamentales, como las de girasoles (Vashisth & Nagarajan, 2010) y zinnia (Afzal et al., 2016), o semillas agroforestales, como pino piñonero (Kirdar et al., 2016).

Las investigaciones sobre el efecto de campos magnéticos en semillas y plantas son, en su mayoría, realizadas bajo campos magnéticos estacionarios (Tang et al., 2015; Mahajan & Pandey, 2014; Kataria et al., 2017), esto se debe a la facilidad para construir dispositivos que generen estos campos magnéticos, ya sea por medio de imanes de Neodimio (Koukounaras et al., 2023) o por bobinas de Helmholtz (Minucci et al., 2019). Este último dispositivo fue utilizado en semillas de *Calotropis procera* (Bezerra et al., 2023), las cuales fueron expuestas durante 5 días a diferentes intensidades (0, 0.5, 1.0, 2.0 mT) de campo magnético. El objetivo de la investigación fue evaluar la germinación e identificar la intensidad del campo magnético más favorable, los experimentos fueron realizados bajo condiciones controladas de temperatura y fotoperiodo. Bezerra y colaboradores (Bezerra et al., 2023) encontraron que la mejor respuesta fue cuando la intensidad del campo magnético era de 2 mT, a partir de la cual evaluaron el porcentaje de germinación, la tasa de germinación, la muestra fresca y seca de las semillas o plántulas. Como resultado, identificaron un aumento notable en la tasa de germinación de 65% a 90%, donde las semillas tratadas presentaron mayor materia fresca y seca al inicio del germinado. Además, por medio de novedosas pruebas como el ensayo TUNEL y contenido de H₂O₂ destacaron que la integridad del ADN en las semillas se preservó y concluyeron que los campos magnéticos estacionarios favorecieron los procesos fisiológicos como la captación de agua, la activación enzimática y el transporte de iones. Otros estudios realizados en semillas de frijol común o *Phaseolus vulgaris* L. (Mroczek-Zdyrska et al., 2016) concluyeron que hubo un aumento en su actividad mitótica en células meristemáticas cuando la intensidad de campo del campo magnético fue de 130 mT. Asimismo, en la planta *Arabidopsis thaliana*, una de las más importantes para la biotecnología vegetal porque han logrado modificarla genéticamente, se reportó que usando una intensidad de campo mucho menor (40 mT) el efecto de los campos magnéticos estacionarios dio como resultado una alteración de genes relacionadas con el ciclo circadiano (Agliassa & Maffei, 2019).

No sólo las semillas se han expuesto a campos magnéticos estacionarios, también se ha continuado la exposición una vez que la semilla germina y la plántula está presente. Ercan y colaboradores (Ercan et al., 2022) realizaron estudios en la germinación, la longitud de raíces y brotes, la fluorescencia de la clorofila, la absorción de nutrientes, y las propiedades magnéticas del tejido vegetal de semillas de cebada (*Hordeum vulgare* L.). En este estudio expusieron semillas y plántulas a diferentes intensidades de campo magnético: 20, 40, 125 y 250 mT. Encontraron que en intensidades de campos magnéticos menores a 125 mT, 70 % de las semillas germinaron después de 4 días. Sin embargo, al incrementar la intensidad del campo magnético a 250 mT, la germinación disminuyó al 30% y por medio de microscopía confocal observaron daño celular en las raíces. Además, realizaron un análisis de la absorción de nutrientes en hojas

y raíces por medio de pruebas de espectroscopia de emisión atómica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES), como resultado encontraron una diferencia significativa entre macronutrientes (calcio, magnesio, potasio y fósforo) y micronutrientes (hierro, boro, cobre, manganeso, zinc y molibdeno), los niveles de macronutrientes decrecieron al aumentar la intensidad del campo magnético, pero los micronutrientes incrementaron tanto en hojas, como en raíces. Ercan y colaboradores (Ercan et al., 2022) consideran que este comportamiento se debe a que la membrana celular es la que interactúan directamente cuando la célula es expuesta a estímulos externos. Lo cual concuerda con lo reportado en las membranas plasmáticas de semillas de tomate que fueron expuestas a campos magnéticos estáticos (Poinapen et al., 2013).

Asimismo, se han realizado estudios sobre cómo el pretratamiento con campos magnéticos afecta la germinación, la síntesis de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de quinua (Wang et al., 2024). Dicho experimento se realizó en cinco variedades de quinua, con distintas intensidades y tiempos de exposición al campo magnético. Wang y colaboradores (Wang et al., 2024) encontraron que una exposición de las semillas de quinua a campos magnéticos con una intensidad de 10 mT promovió significativamente la germinación y el crecimiento de las plántulas. Además, este pretratamiento logró incrementar el contenido de compuestos y ácido fenólicos en las semillas, adicionalmente proponen que a partir de ciertas enzimas se puede mejorar la calidad morfológica y bioquímica de las semillas germinadas.

En el caso de campos magnéticos oscilantes, se han realizado experimentos en semillas alimentarias como las de rábano, en donde se realizaron evaluaciones en el efecto de campos magnéticos estacionarios y oscilantes a partir del índice de vigor, el índice de tasa de germinación y la longitud de las plántulas (Konefał-Janoch et al., 2019). Konefał-Janocha y colaboradores (Konefał-Janoch et al., 2019) concluyeron que la exposición a campos magnéticos estacionarios mejoró significativamente la tasa de germinación, además hubo un aumento en el índice de respuesta germinativa (GRI) y la longitud de las plántulas. Sin embargo, consideraron que estadísticamente no hubo evidencia suficiente para determinar el efecto de campos magnéticos oscilantes. En el caso de semillas de trigo también se analizó la influencia de su tamaño al exponerse a campos electromagnéticos (Cecchetti et al., 2022). En este trabajo analizaron el efecto de colocar por veinticuatro horas semillas de trigo de dos tipos: semillas grandes y semillas pequeñas dentro de un dispositivo que generaba un campo electromagnético de intensidad de 7 mT y frecuencia de 50 Hz, ver Figura 1. Como resultado hubo una germinación y crecimiento más rápido a diferencias de los controles, destacando que los campos electromagnéticos estimularon principalmente la germinación y el crecimiento temprano de las raíces y los coleóptilos de semillas grandes en la oscuridad. Otra semilla tratada fue la de girasol, la cual se expuso a campos magnéticos generados a partir de corriente alterna rectificada de onda completa. Las semillas se expusieron a intensidades de campos de 50, 100 y 150 mT durante 5, 10 y 15 minutos, donde los resultados mostraron que el tratamiento magnético optimizado (100 mT por 10 min) mejoró significativamente la germinación. Este estudio evidenció que se pueden inducir modificaciones fisiológicas y bioquímicas en semillas, mejorando su desempeño y producción (Afzal et al., 2016).

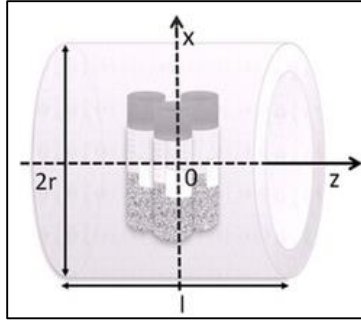


Figura 1. Representación del dispositivo generador de campos electromagnéticos generados por un solenoide donde se colocaron semillas de trigo de diferentes tamaños. Adaptada de Cecchetti et al., (2022).

En diversos estudios se ha demostrado que la exposición de semillas a campos magnéticos puede mejorar la germinación, el vigor y el desarrollo temprano de plántulas, estos se han centrado en especies agrícolas ampliamente estudiadas. Los resultados han identificado que la estimulación puede influir en la actividad enzimática, sin embargo, la mayoría se centra en el uso de campos magnéticos estacionarios, dejando de lado el estudio del impacto de campos magnéticos oscilantes en las semillas. Esta limitación es aún mayor en especies de interés ecológico y económico, como lo son las semillas *A. tequilana*, donde la información es escasa o prácticamente inexistente. Por ello, surge la necesidad de investigar si la aplicación de campos magnéticos oscilantes puede influir en una etapa de las semillas, permitiendo establecer bases para un posible uso biotecnológico o agronómico de este tipo de estímulos físicos.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La propagación a nivel industrial de *A. tequilana* a partir de hijuelos ha provocado la disminución en la variabilidad genética y ha traído consecuencias relevantes, ya que la reproducción sexual mediante semillas es escasa porque se ha dado preferencia a la reproducción asexual, por ser una propagación más rápida; sin embargo, la reproducción por semillas ha presentado ser poco eficiente debido a la baja viabilidad y germinación irregular. Ante esto la industrialización del cultivo de *A. tequilana* está causando una pérdida de diversidad de esta majestuosa planta, además se ha afectado a diferentes polinizadores como los murciélagos. Estas limitaciones dificultan el establecimiento de estrategias para la conservación genética, por lo que es necesario explorar nuevas alternativas que mejoren el proceso de germinación, adicionalmente se busca que estas sean sustentables y no solo puedan beneficiar al ser humano, también al medio ambiente.

En este contexto, el uso de campos magnéticos resulta una técnica poco explorada, pero que podría ser considerada prometedora como una opción de pretratamiento para estimular la germinación u otra etapa de desarrollo de la planta. Si bien, diversas investigaciones han demostrado que existen efectos positivos en especies agrícolas, aún existe una gran brecha y escasa evidencia científica sobre su aplicación en la semilla *A. tequilana*, particularmente, el efecto de campos magnéticos oscilantes. Esta problemática abre una línea de investigación con el fin de investigar si este tipo de estimulación puede favorecer la germinación y el vigor de las semillas de agave. Además de establecer antecedentes que puedan contribuir a la mejora de su propagación y el aprovechamiento sostenible.

4. JUSTIFICACIÓN

El uso de campos magnéticos estáticos en semillas agrícolas ha mostrado efectos prometedores sobre la germinación, el vigor, el crecimiento temprano, entre otros, en diversas especies agrícolas. Los resultados indican que la exposición ante campos magnéticos estáticos puede mejorar la velocidad de germinación, la supervivencia de plántulas y el incremento en factores fisiológicos para que la planta cumpla con su ciclo de vida.

De manera que, resulta interesante analizar el efecto de campos magnéticos en semillas que sean relevantes por su impacto agrícola, particularmente, las especies del género *Agave*, y en específico *A. tequilana* presenta una gran importancia económica y ecológica; pero a pesar de que la producción de sus semillas es grande, se presenta una baja viabilidad en el desarrollo de una planta madura, ya que es una planta de lento crecimiento. Por lo que, proponer un método que acelera la germinación de estas semillas será de gran utilidad en disminuir el tiempo de producción.

En este trabajo se considera que el uso de campos magnéticos oscilantes representa un método innovador en la germinación de semillas de *Agave tequilana*. Además de establecer precedentes en nuevos protocolos que mejoren o aumenten la propagación de las semillas considerando que estos métodos de estimulación física son una alternativa a los métodos químicos, en los cuales su impacto ambiental ha afectado incluso la preservación de las semillas.

5. HIPOTESIS

La estimulación de semillas de *Agave tequilana* por medio de campos magnéticos oscilantes favorece la germinación de estas semillas. Este tipo de estimulación física representa un método innovador que permitirá mejorar procesos de absorción de nutrientes y tiempo de producción agrícola.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Analizar el efecto de campos magnéticos oscilantes sobre semillas de *Agave tequilana* considerando distintos tiempos de exposición y configuraciones de campos en cultivo *in vitro* para determinar su impacto en el proceso de germinación, crecimiento y desarrollo de plántulas, así como su capacidad para neutralizar radicales libres.

6.2 Objetivos particulares

- Evaluar el tiempo óptimo de exposición y configuración de campos magnéticos oscilantes en el proceso de pretratamiento de semillas de *Agave tequilana* por medio de la tasa de germinación.
- Determinar y comparar el tiempo de germinación de semillas de *Agave tequilana* que fueron expuestas a campos magnéticos oscilantes y semillas de control considerando dos tipos de medios de cultivo.
- Analizar el crecimiento de plántulas de semillas de *Agave de tequilana* expuestas a distintos tiempos y configuraciones de campos magnéticos oscilantes, además de medios de cultivo para identificar su influencia en el vigor.
- Evaluar la actividad antioxidante de plántulas provenientes de semillas de *Agave tequilana* expuestas a campos magnéticos oscilantes para determinar el efecto en los mecanismos de defensa ante estrés oxidativo.

7. MARCO TEÓRICO

7.1 Características de *Agave tequilana*

Las plantas de *Agave tequilana* (*A. tequilana*) tienen un tamaño entre los 90 y 120 centímetros de largo (Gentry,1982). Una de las características más relevantes de estas plantas es que sus hojas son fibrosas firmes, lanceoladas, mayormente extendidas, cóncavas, más anchas en el medio, estrechas y engrosadas en la base. Generalmente, el color de sus hojas es azulado, haciéndola una de las plantas más maravillosas de México. Tiene una panícula entre 5 y 6 metros, además es densamente ramificada porque tiene entre 20 y 25 grandes umbelas compuestas de flores verdes, las cuales tienen un tamaño entre los 68 y 75 milímetros de largo con estambres rosados. Esta planta tiene una extensión entre los 1.2 y 1.8 metros de altura con tallos cortos y gruesos de entre 30 y 50 centímetros de altura en la madurez (Gentry,1982). Su cultivo sólo es legal en municipios específicos en una zona del país, pero por su comercialización las zonas de producción han incrementado. En la figura 2 se visualiza la composición de la semilla de *A. tequilana* donde se muestra la testa y endospermo que protegen al embrión.

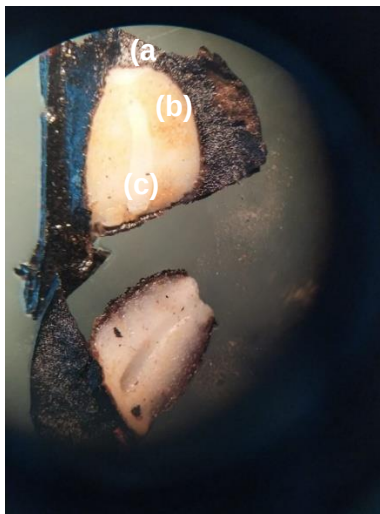


Figura 2. Partes morfológicas de una semilla de *A. tequilana*: (a) testa, (b) endospermo y (c) embrión.

7.2. Pruebas de viabilidad

Una forma de identificar si la semilla tiene la capacidad de germinar, es decir, de convertirse en una planta, es realizando una evaluación y cuantificación por medio de las pruebas de viabilidad. Estas pruebas permiten analizar el estado fisiológico de una semilla donde su origen y edad influyen en su viabilidad, ya que si la colecta de semillas fue en una zona donde las plantas madre no presentaron una buena polinización o fueron plantas con afecciones o patógenos, esto les causaría una viabilidad en decadencia. Otro parámetro relevante es el tiempo en que la colecta es efectuada, además del tipo de almacenamiento, debido a que, si no se almacenaron adecuadamente o hubo otro tipo de factores, como la variación en la temperatura, se desencadenan cambios como una baja viabilidad o baja capacidad de germinar (Hall et al., 2021). El propósito de hacer estas pruebas de viabilidad es para identificar si en la semilla, el cotiledón logró desarrollarse correctamente. Anteriormente se realizaba la extracción del embrión para observar su desarrollo en un sustrato; sin embargo, actualmente existen nuevas técnicas que

ayudan a comprobar la viabilidad de las semillas, por ejemplo; la prueba de tetrazolio, los ensayos de germinación en papel filtro, las pruebas de flotación, entre otros (Van der Walt y Witkowski, 2017; Baskin & Baskin, 2014). A continuación, se describen las técnicas mencionadas anteriormente.

- Ensayos de germinación en papel filtro

Los ensayos de germinación en papel filtro consisten en colocar un papel filtro humedecido dentro de una caja Petri y una muestra de las semillas de estudio bajo condiciones controladas, es decir, a una temperatura, luz y humedad específicas con el objetivo de realizar la observación de germinación a un determinado tiempo. La manera de identificarla es a partir de la salida de la raíz embrionaria o radícula de la semilla. Esta prueba ha sido utilizada en la planta de *A. tequilana* (Tang et al., 2019; Ranucci et. al 2024; Foschi et al., 2022).

La germinación de las semillas es un proceso clave en el desarrollo inicial de las plantas, por lo que su evaluación constituye un aspecto fundamental en estudios de fisiología vegetal, producción agrícola y biotecnología vegetal. Para describir este proceso de manera integral, no sólo se considera únicamente el total de semillas germinadas, sino también como cambia con el tiempo la germinación.

En este contexto, el porcentaje de germinación es uno de los parámetros más utilizados, ya que expresa la proporción de semillas que logran germinar bajo determinadas condiciones experimentales. Una de sus características es permitir estimar la viabilidad y capacidad de germinar de un lote de semillas, pero no proporciona la rapidez del proceso (Espitia, Cardona & Araméndiz, 2016).

Para complementar el proceso antes mencionado, una manera de evaluar la velocidad de la germinación es por medio del índice de velocidad de germinación (IVG). Este parámetro se obtiene integrando el número de semillas germinadas y el tiempo en que ocurre la emergencia, es decir, cuando aparece la radícula en las semillas de *A. tequilana*. De esta forma, el IVG es un indicador del vigor en las semillas, ya que valores elevados son característicos de una germinación más rápida y uniforme, mientras que valores bajos indican retrasos o baja viabilidad en una semilla. El uso en conjunto del porcentaje de germinación y el IVG ofrece una visión más completa del comportamiento de la germinación, favoreciendo la comparación entre tratamientos o condiciones experimentales (Ranal & de Santana, 2006; Tano, 2023).

7.3. Micropropagación

- Cultivo *In vitro*

El cultivo *in vitro* de plantas se ha convertido en una herramienta fundamental para la propagación y conservación de especies vegetales, dicha técnica es usada para el crecimiento u obtención de una planta a partir de una semilla o explantes de esta, como puede ser la raíz, la hoja, las yemas vegetativas, etc. Para ello, las semillas se colocan en un recipiente de vidrio o plástico usando como sustituto de la tierra un medio de cultivo específico bajo condiciones controladas (IM & M, 2012).

El primer cultivo de tejidos vegetales fue hecho por el botánico alemán Gottlieb Haberlandt (Gautheret, 1985). Si bien dicha técnica tiene sus inicios aproximadamente por la época del siglo XX, actualmente gracias a la Biotecnología, su uso no sólo es a nivel de laboratorio, también lo es a nivel industrial, ya que es usado para la micropropagación de especies vegetales para ayudar al sector agrícola. Un ejemplo es la micropropagación de frutos rojos, como la fresa por medio de biorreactores de inmersión, los cuales van aumentando los pigmentos fotosintéticos a través de un medio líquido (Hwang et al., 2022).

Para que un medio de cultivo tenga resultados exitosos, las condiciones deben ser las óptimas para evitar que los cultivos se contaminen. Estas condiciones son:

-La esterilidad, la cual permite que los cultivos estén libres de patógenos que consiste en hacer una desinfección minuciosa tanto al material de laboratorio como a la muestra vegetal.

-La temperatura, de la cual depende el buen crecimiento de cultivos vegetales y depende directamente de las especies de interés. De manera general se ha considerado que la temperatura óptima es de 25°C, aunque el rango puede ir entre los 25 y 30°C, ya que uno de sus beneficios es permitir la activación del metabolismo Ácido de las Crasuláceas (CAM) (Gautam et al., 2024).

-La humedad porque permitirá el desarrollo del explante dependiendo de las características que requiera la planta, aunque la humedad puede variar, se considera que la más favorable varíe en el rango de 85-90% (Gautam et al., 2024).

-La luz porque una planta silvestre la necesita para poder desarrollarse, pero en el caso de las plántulas crecidas *in vitro* se programa un tipo de luz (verde/roja/azul) constante, esto permite emular un fotoperiodo, de manera que el explante puede desarrollarse adecuadamente porque mediante la percepción de los ciclos de luz y oscuridad, las plantas pueden diferenciar el tiempo de duración del día y la noche y así activar o inhibir rutas metabólicas donde el fotoperiodo es de 16 horas de luz y 8 horas sin luz (Gautam et al., 2024).

-El pH es un factor importante en la tierra, en el caso del cultivo *in vitro*, este debe tener un pH adecuado así el explante se desarrollará. El pH óptimo es entre 5.4 y 5.8 (Hussain et al., 2012). Además, para que un medio de cultivo sea bueno es importante saber la composición del medio, ya que la mayoría deben contener: micronutrientes, macronutrientes, fuentes de calcio, hierro, vitaminas y agar, este último funciona como un agente gelificante. En general, estos componentes son los más utilizados para el género *Agave*.

Al realizar el crecimiento óptimo de una planta en el laboratorio se han diseñado condiciones de crecimiento controladas, las cuales generan un simulador de las necesidades que una planta silvestre requiere, bajo las condiciones adecuadas de temperatura, humedad y luz, las plantas pueden llevar a cabo su ciclo de vida.

Ante la problemática del cambio climático, en los laboratorios se ha buscado imitar las condiciones naturales, resultando un objetivo relevante para el estudio de la germinación de semillas, ya que hoy en día para una planta silvestre es crucial el tener acceso a la cantidad adecuada de agua y luz para poder desarrollarse sin necesidad de la intervención del ser humano, ya que de esta manera es posible que el fotoperiodo se pueda llevar a cabo y así generar una variabilidad genética y/o adaptación (Chiang, Bårnkestad & Hoch, 2020).

Otra de las afecciones del cambio climático es provocar zonas más secas, consecuencia de la sobreexplotación del suelo para la agricultura y la probabilidad de que una planta pueda desarrollarse bajo estas condiciones resulta imprescindible. Por ello, tanto la comunidad científica, como la industria agrícola buscan nuevas técnicas que permitan obtener una diversidad de plantas y cultivos bajo condiciones controladas. Uno de los cultivos que tendría la capacidad de adaptarse al aumento de temperatura sería el género de Agave, ya que presenta una resistencia a climas áridos debido a su metabolismo ácido de las crasuláceas (CAM). Este proceso consta en la inactividad de la planta durante el día y por la noche fijar el dióxido de carbono (Stewart, 2015).

Otro punto importante para tomar en cuenta en el cultivo de plantas es el desarrollo del tejido vegetal, el cual depende directamente de los requerimientos nutricionales específicos de cada especie, por lo que se han establecido diversos protocolos adaptados al tipo de tejido vegetal. Existen diversos medios de cultivos, entre los que destacan el medio de Linsmaler y Skoog (LS), el medio de Gamborg (B5), el medio de Nitsch y Nitsch (NN) y Murashige y Skoog (MS) (Gautam et al., 2024), este último es el más común porque su formulación ha demostrado ser efectiva para una variedad de especies vegetales. Además, el medio MS contiene una combinación equilibrada que aseguran el crecimiento de los explantes *in vitro*.

Por otro lado, el medio Agar-agua (A.A) se caracteriza por su bajo contenido nutricional, ya que está compuesto únicamente por agua destilada y un agente gelificante que es el agar. A pesar de su simplicidad, este medio resulta útil porque, cuando las semillas reciben sólo agua, les permite germinar aumentando la turgencia del embrión, para después activar rutas metabólicas de germinación. Este mecanismo es clave en ambientes donde el potencial hídrico es restrictivo, ya que la germinación se demora o se inhibe (por ejemplo, en especies de Agave). Por lo tanto, bajo las condiciones de laboratorio al usar sólo agua, la semilla dispondrá de todas las condiciones necesarias para germinar como lo demostraron Rai y colaboradores en sus experimentos *in vitro* (2011). Al usar un medio de cultivo como MS en la etapa de germinación puede ser favorable por tener una mayor cantidad de nutrientes a diferencia de Agar-agua, pero a su vez la semilla de estudio puede presentar un estrés no favorable ya que una semilla tiene sus reservas nutricionales para activar la germinación sin embargo al aumento de nutrientes en el medio de cultivo puede provocar una toxicidad y/o estrés osmótico por lo que se atrasa o no se da la germinación. Parecido a lo que sucede con la salinidad del suelo, si hay un aumento de sales la semilla puede tener complicaciones para germinar, por ende, el MS al tener un aumento

de cantidad de sales controlado es importante a considerar en una investigación, pero lo mejor es usarlo para la etapa de elongación de una muestra. (Rai et al., 2011; Ikram et al., 2025).

7.4. Análisis antioxidante

La evaluación de la viabilidad y germinación proporcionan una medida directa del potencial reproductivo de las semillas, pero para comprender los mecanismos bioquímicos que determinan esas respuestas, o evaluar los tratamientos aplicados en semillas para mejorar su viabilidad y/o germinación, resulta pertinente primero realizar un análisis de la capacidad antioxidante. Las pruebas antioxidantes permiten analizar la capacidad de eliminación de radicales libres, como lo es el poder reductor del extracto de una planta. Para realizar estas pruebas se deben llevar a cabo extracciones de metabolitos de una muestra de interés. Uno de los ensayos más usados para el análisis de antioxidantes es la extracción de Soxhlet.

- Extracción Soxhlet

En 1879, Franz von Soxhlet propuso una herramienta fundamental para la obtención de extractos puros y concentrados que contienen los metabolitos de interés de una muestra, por ejemplo, las hojas de una planta. Este método es conocido como extracción Soxhlet y consiste en extraer compuestos solubles de una muestra sólida mediante el uso continuo de un disolvente caliente, es decir, el disolvente se calienta en un matraz y sus vapores ascienden hacia un condensador, donde se enfrían y gotean sobre la muestra contenida en un dedal poroso, el cual es reemplazado por costales de tela para el caso de muestras vegetales. El disolvente tiene la función de arrastrar los compuestos de interés y, una vez que la cámara se llena, el sistema se vacía automáticamente, retornando al matraz con los extractos disueltos. Este ciclo se repite varias veces, permitiendo una extracción exhaustiva y eficiente de los compuestos solubles, como metabolitos secundarios, aceites o antioxidantes. Para una correcta extracción es importante tomar en cuenta la polaridad, el contacto adecuado entre el solvente y la muestra, por ello los solventes más ocupados para la extracción en muestras de tejidos vegetales son el diclorometano (DCM), el etanol (EtOH), el agua (H₂O), el metanol, la acetona, entre otros. La muestra puede utilizarse en fresco o seca, sin embargo, en diversas investigaciones se opta por usar la muestra seca para reducir su contenido de agua, pero esto depende de la especie con la cual se esté trabajando (Fidalgo-Used, Blanco-González & Sanz-Medel, 2007; Soto-Ortiz et al., 2023; Sirirungruang, Markel & Shih, 2022).

- Pruebas antioxidantes

Un análisis antioxidante permite evaluar la capacidad de las plantas, ya sea partir de un extracto vegetal, compuesto o muestra biológica, para neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS) o radicales libres, los cuales son responsables de procesos de oxidación que pueden dañar estructuras celulares. En el caso de muestras vegetales, este tipo de análisis permiten determinar la capacidad de protección de metabolitos como fenoles, flavonoides, entre otros, frente al estrés oxidativo. Desde un punto de vista biotecnológico, conocer la capacidad antioxidante de una muestra vegetal permite valorar su calidad fisiológica, su respuesta ante condiciones de estrés ambiental y la posible aplicación en la industria alimentaria, farmacéutica o agrícola. Estas pruebas son muy utilizadas para poder hacer un perfil antioxidante de una planta de interés, además de investigar el potencial de las plantas para innovadoras aplicaciones en áreas como

salud, alimentos y/o agrícola. También permite cuantificar y comparar el poder reductor o neutralizante de los antioxidantes presentes, proporcionando información clave sobre la funcionalidad biológica y el valor bioquímico de tratamientos o extractos evaluados.

Otras herramientas que permiten detectar la actividad antioxidante de un extracto son la prueba de inhibición del radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), la prueba de Folin-Ciocalteu, la prueba de capacidad antioxidante reductora cúprica (CUPRAC) y la prueba del poder antioxidante reductor férrico (FRAP). La prueba de DPPH evalúa la capacidad de neutralizar radicales libres por medio de la disminución de la absorbancia del radical DPPH al reaccionar con antioxidantes donadores de hidrógeno (Stewart et al., 2015). La prueba de Folin-Ciocalteu determina la cantidad total de compuestos fenólicos y consiste en la reducción del reactivo de Folin por parte de los fenoles presentes en la muestra, la principal característica de esta prueba es que genera un color azul donde su intensidad está relacionada con la concentración de antioxidantes (Zulfisa et al., 2023). La prueba de CUPRAC mide la capacidad reductora de los antioxidantes frente al ion cúprico (Cu^{2+}), produciendo un complejo coloreado estable (Apak et al., 2007). Finalmente, la prueba de FRAP cuantifica el poder reductor del ion férrico (Fe^{3+}) a ferroso (Fe^{2+}), reflejando la capacidad antioxidante total del extracto (Stewart et al., 2015).

7.5. Campos magnéticos

Como ya se mencionó anteriormente, los campos magnéticos estacionarios o constantes pueden ser generador por imanes o por un par de bobinas de Helmholtz que generan un flujo constante de electricidad, su principal característica es que la dirección del campo magnético no cambia en función del tiempo. Por otro lado, los campos magnéticos oscilantes son aquellos en que su dirección, magnitud o frecuencia pueden variar en el tiempo. Estos campos son generados por pares de bobinas de Helmholtz o por electroimanes y tienen sus aplicaciones en el área de Física en el estudio de propiedades de transporte de fluidos magnetoreológicos (Yépez et al., 2016). Dentro de esta categoría, el caso más sencillo corresponde a que la variación ocurre únicamente en la orientación del campo en función del tiempo. Se puede estudiar de manera controlada los efectos de la dinámica direccional del campo magnético, lo que convierte a los campos magnéticos oscilantes en una herramienta innovadora para investigaciones tanto en Física como en Biología.

Dichos campos se generan por medio de la superposición de campos magnéticos senoidales perpendiculares producidos por pares de bobinas de Helmholtz. Una de sus principales características es que estos campos magnéticos perpendiculares tienen intensidades y velocidades angulares variables. En el caso más sencillo, un campo magnético oscilante se genera por medio de un par de bobinas de Helmholtz cuyo vector resultante ($\vec{H}$) oscila en una sola dirección, también se le conoce como uniaxial (puede ser en eje Z), ver Figura 3a. Este campo magnético ha sido empleado para analizar procesos de cristalización en materia granular no vibrada (Ledesma-Motolinía et al., 2021). El caso más complejo es cuando se generan campos magnéticos oscilantes biaxiales (2D) y triaxiales (3D). Los campos magnéticos oscilantes biaxiales se generan a partir de dos pares de bobinas de Helmholtz, donde cada par genera campos magnéticos que oscilan en direcciones ortogonales, dando como resultado un campo magnético que es la superposición de dos campos transversales (pueden ser eje X y eje Y), ver Figura 3b. Por su parte, los campos magnéticos oscilantes triaxiales se generan con tres pares

de bobinas de Helmholtz y el campo magnético resultante presenta un cambio en la dirección en los tres ejes (X, Y, Z), ver Figura 3c. Tanto en los campos magnéticos uniaxiales, biaxiales, como triaxiales se puede modificar la intensidad y frecuencia del campo magnético. Por estas características, los campos magnéticos oscilantes han sido utilizados para entender los procesos de organización de fluidos magnetoreológicos, es decir, partículas magnéticas micrométricas suspendidas en un medio acuoso (Yépez et al. 2016).

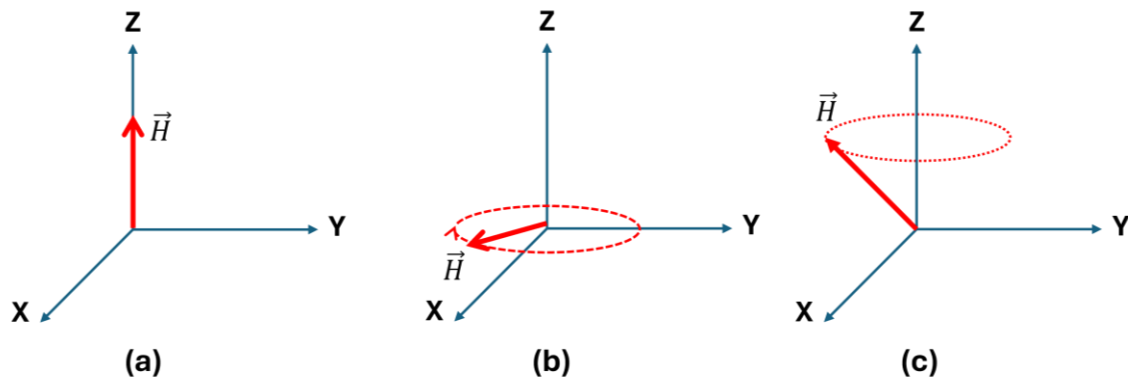


Figura 3. Representación de campos magnéticos oscilantes ($\vec{H}$): (a) uniaxiales, (b) biaxiales (2D) y (c) triaxiales (3D).

8. MATERIALES Y METODOS

El protocolo para analizar el efecto de los campos magnéticos oscilantes en semillas de *Agave tequilana* inició con la **fase 1**, en la que se seleccionaron las semillas más adecuadas, posteriormente se expusieron durante diferentes tiempos y configuraciones de campos magnéticos oscilantes, además se prepararon dos tipos de medios de cultivo *in vitro*. A continuación, se describen estos procedimientos.

8.1 FASE 1: Establecimiento con Campos Magnéticos Oscilantes e *in vitro*.

8.1.1 Selección de rango

Se usaron 100 semillas del lote de *Agave tequilana* Weber Azul del Herbario y Jardín Botánico con número de colecta 20040046, posteriormente se calculó el promedio de la masa de cada semilla para obtener un rango. La selección de las semillas de *Agave tequilana* se hizo con base en que la masa debería ser de 10 mg. Después, se colocaron en un tubo falcón para asegurar la homogeneidad de las muestras.

8.1.2 Prueba de viabilidad de semillas: Ensayo de germinación en papel filtro

Con el fin de determinar la viabilidad de las semillas se consideró el ensayo de germinación en papel filtro, para ello se realizó el siguiente procedimiento:

1. En una caja Petri se colocó papel filtro humedecido con agua.
2. Las semillas se colocaron en la caja Petri sobre el papel filtro humedecido.
3. La caja Petri se colocó en una incubadora a 26 °C.
4. Después de 15 días se hizo el conteo de semillas germinadas.

8.1.3 Índice de velocidad de germinación y porcentaje de germinación

El índice de velocidad de germinación (IVG) se calcula a través de la razón entre el número de semillas germinadas (P_i) y el tiempo en que la radícula brota de las semillas (T_i) (Espitia, Cardona & Araméndiz, 2016). Este parámetro se calcula por medio de la ecuación propuesta por Maguire (1962):

$$IVG = \frac{P_1}{T_1} + \frac{P_2}{T_2} + \frac{P_3}{T_3} + \dots + \frac{P_n}{T_n}, \quad (1)$$

donde $P_1, P_2, P_3, \dots, P_n$ son el número de semillas germinadas al primer día, segundo día, tercer día y así respectivamente. $T_1, T_2, T_3, \dots, T_n$ es el tiempo en días para cada germinación.

Por su parte, el porcentaje de germinación es la proporción de semillas que logran germinar bajo determinadas condiciones experimentales. Por medio de este parámetro es posible estimar la viabilidad y capacidad de germinar de un lote de semillas, pero no proporciona la rapidez del proceso y se calcula como (Ranal & de Satana, 2006; Tano, 2023):

$$\text{Porcentaje de germinación} = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Número total de semillas sembradas}} \times 100 \quad (2)$$

8.1.4 Prueba de Difracción de Rayos X (XRD)

Para entender el orden estructural de las semillas de *Agave tequilana* se realizó la prueba de difracción de rayos X, esta prueba se ha realizado en estas semillas para determinar el grado de cristalinidad de nano fibras de celulosa (Palacios Hinestroza et al. 2019). Para ello se utilizó difractómetro Panalytical Empyrean (Spectris, Almelo, Netherlands) con una fuente de radiación catódica de Cu-K α ($\lambda=1.5406$ Å) y ángulo de Bragg (2θ) de 10 a 90°, el cual se encuentra en el Instituto de Física “Ing. Luis Rivera Terrazas”.

8.1.5 Campos magnéticos oscilantes: biaxiales (2D) y triaxiales (3D)

En el caso más general, el campo magnético oscilante resultante está dado por las intensidades de cada campo magnético H_x, H_y, H_z , las frecuencias f_1 y f_2 de la parte sinusoidal de cada campo magnético y la diferencia de fase δ (Yépez et al. 2016):

$$\vec{H} = H_x \sin(2\pi f_1 t + \delta) \hat{i} + H_y \sin(2\pi f_2 t) \hat{j} + H_z \hat{k} \quad (3)$$

Particularmente, los campos magnéticos oscilantes uniaxiales, las intensidades y diferencia de fase son $H_y = H_z = 0$ y $\delta = \pi/2$, respectivamente. Mientras que en el caso de campos magnéticos oscilantes biaxiales (2D), también conocidos como rotantes, las intensidades del campo magnético son iguales $H_x = H_y, H_z = 0$ y $\delta = \pi/2$. Para el caso de campos magnéticos oscilantes triaxiales o de precesión, las intensidades $H_x = H_y = H_z$.

En los experimentos realizados en este trabajo, los campos magnéticos oscilantes se generaron por medio de tres pares de bobinas de Helmholtz, donde cada par está conectada a una fuente de corriente que genera la señal sinusoidal del campo magnético. Este arreglo experimental (Figura 4) se encuentra en el Laboratorio de Sistemas Complejos del Instituto de Física “Ing. Luis Rivera Terrazas”.



Figura 4. Arreglo experimental de campos magnéticos oscilantes.

En todos los experimentos la frecuencia y la intensidad de los campos magnéticos oscilantes biaxiales y triaxiales fueron 50 Hertz y 53 Gauss (5.3 mT), respectivamente. Para establecer el efecto del tiempo de exposición y la configuración de los campos magnéticos oscilantes, las semillas se colocaron horizontalmente en la parte central del arreglo experimental, los tiempos

de exposición fueron 5, 15 y 20 minutos. Para cada tiempo de exposición y configuración del campo magnético oscilante (biaxial y triaxial) se usaron 6 semillas. Otras 6 semillas se utilizaron para ser el sistema de control.

8.1.6 Medios de cultivo

Para comparar el efecto del medio de cultivo en el proceso de germinación de las semillas de *Agave tequilana* se prepararon dos medios: Agar-agua (A.A) y Murashige & Skoog (MS), los componentes de cada uno se encuentran en las tablas 1 y 2, respectivamente.

Tabla 1. Componentes para del medio Agar-agua (A.A).

Componente	Cantidad para utilizar para 1 L de medio de cultivo
Agar	10g
Agua destilada	1000 ml

Tabla 2. Componentes para medio Murashige & Skoog (MS).

Componente	Concentración	Cantidad para utilizar para 1 L de medio de cultivo
Macroelementos	10X	100 ml
Microelementos	100X	10 ml
Fe-EDTA	100X	10 ml
Vitaminas		10 ml
CaCl ₂ 2H ₂ O	10x	100 ml
Sacarosa	-	30 g
Carbón activo		1 g
Agar	-	9 g
pH	-	5.7 ±1

La figura 5 muestra el esquema final del protocolo diseñado para analizar el efecto de los campos magnéticos oscilantes biaxiales (2D) y triaxiales (3D) considerando los medios de cultivo Agar-agua (A.A) y Murashige y Skoog (MS).

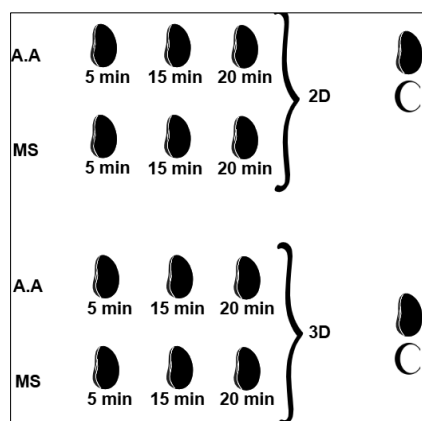


Figura 5. Esquema del protocolo de tiempo de exposición: 5, 15 y 20 minutos y configuración de campos magnéticos oscilantes: biaxiales (2D) y triaxiales (3D). Las semillas expuestas se colocaron en medio Agar-agua (A.A) y Murashige y skoog (MS).

8.1.7 Protocolo de desinfección

Posteriormente, las semillas pasaron por un proceso de desinfección, este paso también permite romper con la latencia de las semillas. Este protocolo consta de dos pasos: escarificación y desinfección en campana de flujo laminar.

8.1.7.1 Escarificación

Las semillas fueron sometidas a un proceso de escarificación con el propósito de eliminar la latencia física y favorecer la absorción de agua durante la germinación (Baskin et al., 2002). Dentro de la campana de extracción, las semillas se sumergieron en ácido sulfúrico (H_2SO_4) por 12 segundos. Posteriormente, se tomaron con unas pinzas y se colocaron en un frasco para continuar con el proceso de desinfección.

8.1.7.2 Desinfección en campana de flujo laminar

Las semillas escarificadas se colocaron en tubos falcón, este paso se realizó dentro de la campana de flujo laminar. Posteriormente se agregaron los compuestos de la tabla 3 con el objetivo de desinfectar las semillas que ya estuvieron expuestas a los campos magnéticos y las semillas de control. Como en la tabla 3 el procedimiento inició agregando Captan hasta cubrir por completo las semillas, después se agitó esta mezcla a 100 revoluciones por minuto (rpm) durante el tiempo indicado en la tabla 3, los frascos estaban cerrados para evitar la contaminación en la siembra, posteriormente se retiró el compuesto y se continuó con el siguiente. El protocolo finalizó con tres lavados de agua destilada.

Tabla 3. Componentes de desinfección.

Componente	Tiempo	rpm
CAPTAN	10 minutos	100
Etanol al 70%	30 segundos	-
HgCl 1%	5 minutos	-
Agua destilada	3 lavados	-

8.1.8 Semillas en medios de cultivo *in vitro*

Una vez que las semillas están desinfectadas, estas se colocan en los dos medios de cultivos elegidos siguiendo el procedimiento:

1. En un ambiente estéril (generado dentro de la campana de flujo laminar) se tomó cada semilla con pinzas, estas se colocaron sobre la superficie de cada medio de cultivo: Agar-agua (A.A) y Murashige & Skoog (MS).
2. Cada frasco se cerró y selló con plástico para evitar cualquier tipo de contaminación.
3. Todos los frascos se colocaron en el cuarto de cultivo en una zona que tenía un fotoperiodo programado es de 16 horas de luz y 8 horas sin luz.

8.1.9 Germinación

Para el proceso de germinación se realizaron registros del tiempo en que las semillas fueron expuestas a las dos configuraciones y tiempos de exposición de los campos magnéticos oscilantes, así como a los medios de cultivo *in vitro*. Estos registros se realizaron cuando se observó la emergencia de la radícula. El tiempo de observación fue de cada 2 días hasta tener un límite de 8 a 10 días como parámetro para la germinación.

8.1.10 Elongación

Las semillas expuestas a las dos configuraciones y tiempos de exposición de los campos magnéticos oscilantes crecidas en los medios de cultivo, después de pasar a la etapa de elongación se realizaron registros de algunas características morfológicas, a los 45 días de las plántulas con ayuda de una hoja milimétrica debajo de un vidrio estéril, se midió cotiledón y raíz principal. Posteriormente, a los 145 días se realizaron las mismas mediciones, pero también a la hoja verdadera de la planta, para este tiempo se registró el total de hojas. Todo el proceso se hizo dentro de la campana de flujo laminar para evitar la contaminación cruzada.

8.2. FASE 2. Aclimatación en sustrato específico.

La **fase 2** es el proceso de aclimatación de las plantas a un entorno donde por si solas pueden sobrevivir y adaptarse para seguir desarrollándose a partir de un sustrato específico, en donde estas se sembraron en un sustrato estéril. La tabla 4 presenta los componentes de este sustrato para la especie *Agave tequilana*. Las plantas que crecieron de las semillas germinadas después de los tratamientos se sumergieron durante 10 minutos en CAPTAN. Asimismo, con la ayuda de un atomizador se colocó CAPTAN en cada pozo antes de poner las plantas en los sustratos.

Tabla 4. Componentes de sustrato esteril para la especie *Agave Tequilana*.

Componentes	
Material inorgánico 80%	Porcentaje
Agrolita	80%
Materia orgánica 20%	Porcentaje
Tierra de hoja	10%
Lombricomposta	10%

8.3 FASE 3. Análisis antioxidante.

En la **fase 3** se realizaron los análisis de pruebas de antioxidantes, iniciando por la extracción Soxhlet, después las pruebas 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP), Capacidad de Absorción de Radicales Reductores de Cobre (CUPRAC) y Folin-Ciocalteu (Folin) para realizar la evaluación del efecto biológico de la exposición de las semillas a los campos magnéticos oscilantes, de igual forma evaluar la capacidad de inhibición de radicales libres de los tratamientos de *Agave tequilana*.

8.3.1 Extracción Soxhlet

En el sistema Soxhlet se colocó la muestra de interés, al matraz se agregó el primer solvente a una temperatura como se presentó en la tabla 5 después de tres horas se colocó otro matraz y se agregó el siguiente y así sucesivamente donde la temperatura es dependiente del solvente para las diferentes extracciones.

Tabla 5. Solvente y temperatura usadas en la extracción de las plantas.

Solvente	Temperatura (°C)
Diclorometano (DCM)	250
Etanol (EtOH)	350
Agua (H₂O)	400

Posteriormente, las muestras se colocaron en un rotavapor para obtener el concentrado a través del secado a una temperatura determinada. Después cada concentrado se colocó en una mufla por 90 minutos y 12 horas, cuando el solvente fue diclorometano (DCM) y etanol (EtOH), respectivamente. En el caso del agua, solamente se tomaron 40 ml del extracto. Después cada muestra se colocó en un tubo Falcon, para el caso de diclorometano y etanol, los extractos se pesaron y se realizó un cálculo para agregar un volumen determinado de metanol (MeOH). La figura 6 presenta el resumen de la extracción de Soxhlet.

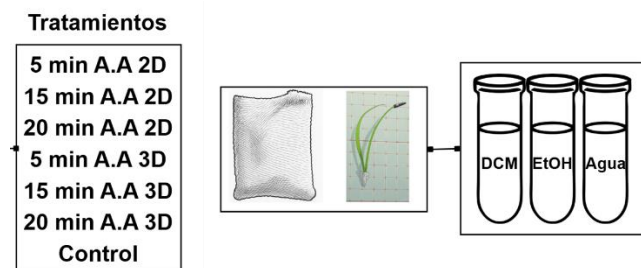


Figura 6. Esquema de extracción de Soxhlet de las plantas germinadas de semillas de Agave tequilana.

8.3.2 Pruebas antioxidantes

Para realizar las pruebas de antioxidantes primero se realizó la limpieza de placa, la cual se hizo colocando 200 μ L de etanol en cada pozo, este se homogenizó y con un isotopo se limpió cada paso. Posteriormente, se realizaron las pruebas 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP), Capacidad de Absorción de Radicales Reductores de Cobre (CUPRAC) y Folin-Ciocalteu (Folin).

8.3.2.1 Prueba DPPH (510 nm)

Se colocaron 25 μ L de cada muestra en los pozos de las microplacas, junto con un blanco, es decir, el disolvente usado (diclorometano, etanol y agua) y el control positivo de ácido gálico (0.015 mg/ml). Posteriormente, se agregaron 200 μ L del reactivo DPPH a cada muestra y las muestras se incubaron en oscuridad por 40 minutos, finalmente se realizaron las lecturas en el equipo de Elisa (Ensayo Inmunoenzimático Ligado a Enzimas) a 510 nm (Fukumoto & Mazza, 2000).

8.3.2.2 Prueba CUPRAC (450 nm)

Se colocaron 25 μ L de cloruro de cobre (II) (CuCl_2) (10mM) en los pozos de las microplacas, posteriormente se colocaron 25 μ L de Neocuproina ($\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{N}_2$) (7.5mM), 25 μ L de Buffer de amonio (1M) a un pH neutro (pH=7), 25 μ L de muestra y 100 μ L de agua destilada, así como una muestra del blanco (diclorometano, etanol y agua) y el control positivo de ácido gálico (0.03 mg/ml). Esta solución se dejó incubando por 30 minutos en oscuridad y se cuantificó la absorbancia a 450 nm en el equipo de ELISA, con agitación lenta durante 30 segundos (Apak et al., 2007).

8.3.2.3 Prueba FRAP (595 nm)

Se colocaron 10 μ L de la muestra (disuelta en metanol y etanol) en cada celda. Además, se añadió el blanco (metanol) y 300 μ L de un control positivo de quercetina (0.04 mg/ml) al blanco, al control y las muestras. Cada microplaca se dejó incubar por 40 min en oscuridad y se hizo la lectura a 595 nm con el equipo de ELISA (Stewart et al., 2015).

8.3.2.4 Determinación de fenoles totales (Folin-Ciocalteu, 750 nm)

Se colocaron en cada pozo 15 μL de muestra, además de un blanco (MeOH) y el control positivo de ácido galio (0.1 mg/ml). Se añadieron 240 μL de agua destilada y 15 μL de reactivo de Folin en todos los pocillos, después se esperó por 2 minutos y se añadieron 30 μL de carbonato de sodio (Na_2CO_3) (2M). Y se dejaron incubando por 2 horas para después cuantificar la absorbancia a 750 nm (Kaur & Kapoor, 2002).

La figura 7 representa el esquema de las cuatro pruebas realizadas, donde el blanco (B), el control (C), la muestra 1 (M1), la muestra 2 (M2), la muestra 3 (M3) y la muestra 4 (M4) se colocaron en cada pocillo de la microplaca.

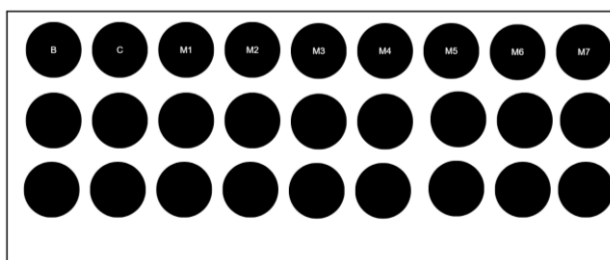


Figura 7. Visualización de la placa donde cada círculo representa un pozo con lo necesario para cada prueba donde Blanco(B), control (C), Muestra 1 (M1), Muestra 2 (M2), Muestra 3 (M3) y Muestra 4 (M4) y así sucesivamente.

Las pruebas DPPH, Folin, CUPRAC y FRAP se realizaron en el equipo ELISA, posteriormente los resultados se analizaron considerando las características de cada prueba, las cuales se resumen en la tabla 6.

Tabla 6. Resultados expresados para cada tipo de prueba antioxidante.

Prueba antioxidante	Resultados expresados en
DPPH	% de inhibición de radicales libres
Folin	Mg equivalente de ácido gálico/kg de planta
CUPRAC	
FRAP	Mg equivalente de Quercetina/kg de planta

8.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico en la **fase 1** y **fase 2** se hizo preparando los datos con Excel y por medio del software Minitab 18.0. Se analizaron con una prueba de normalidad, si los resultados presentaban una distribución normal, se usaron pruebas paramétricas (ANOVA post-Tuckey). Pero si la distribución no era normal, entonces se emplearon pruebas no paramétricas (*Kruskal-Wallis* y *U de Mann-Whitney*). Los resultados se expresaron en medianas, las cuales se calcularon por medio del programa de Minitab cuando se mostraron los datos descriptivos, considerando la asignación de letras para identificar grupos estadísticamente diferentes para la prueba $p < 0.05$.

En la Figura 8 se presenta el diagrama de flujo de los experimentos realizados con las semillas de *Agave de tequilana* y el efecto de los campos magnéticos oscilantes en estas.

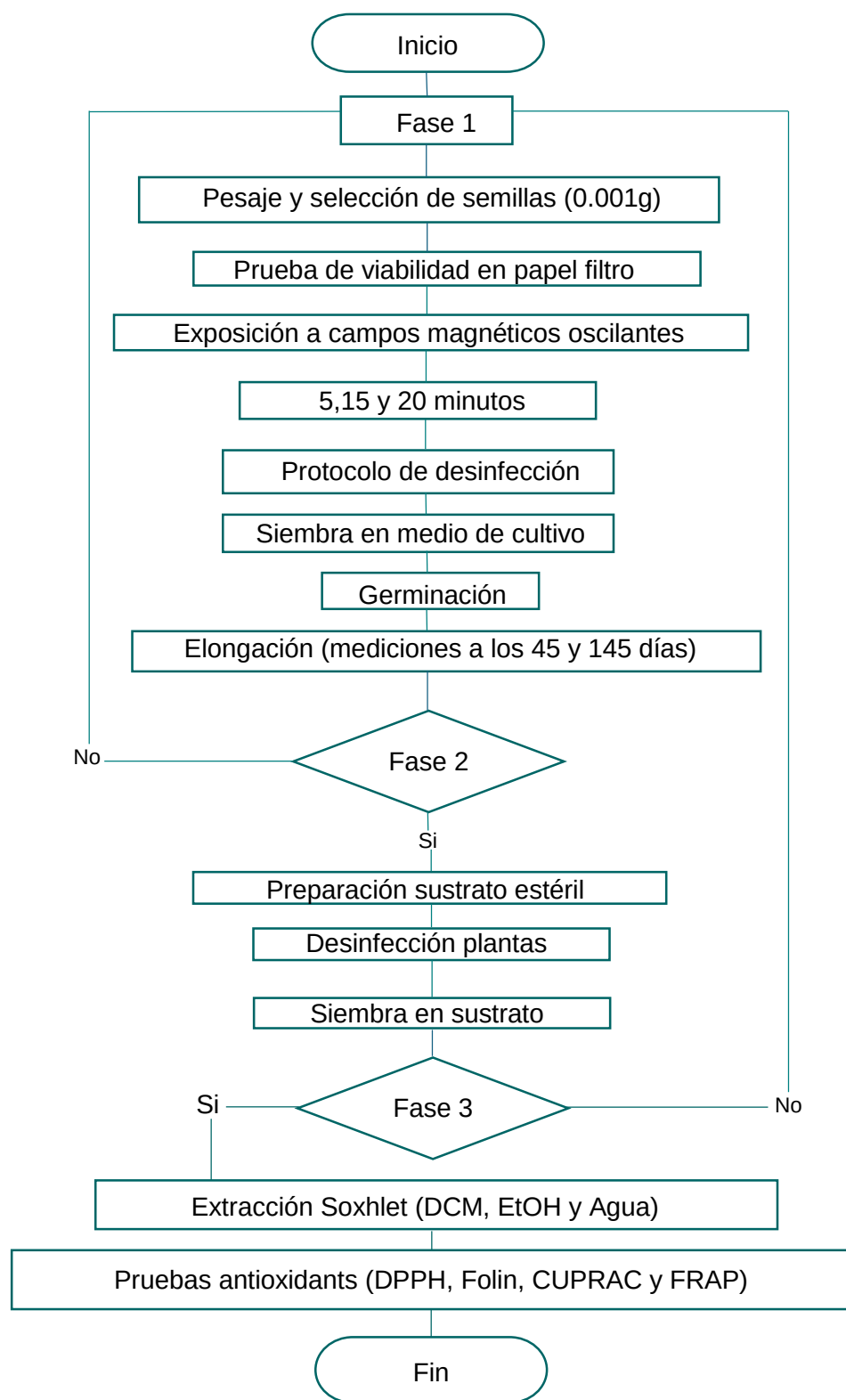


Figura 8. Diagrama de flujo de la metodología en semillas de *Agave tequilana* estimuladas con campos magnéticos oscilantes.

9. RESULTADOS

9.1 FASE 1: Establecimiento con Campos Magnéticos Oscilantes e in vitro.

9.1.1 Prueba de viabilidad en semillas de *Agave tequilana*

Se evaluó la viabilidad de las semillas de *Agave tequilana* (número de colecta 20040046) para analizar el efecto de campos magnéticos oscilantes, este proceso se realizó porque las semillas se encontraban almacenadas 19 años previos a los experimentos. Para ello se realizaron ensayos de germinación en papel filtro durante 14 días, al término de este tiempo se obtuvo que el 80% de las semillas habían germinado. Por lo tanto, las semillas presentaron una alta probabilidad de viabilidad y cumplirían el proceso de germinación.

9.1.2 Análisis del orden de estructura de semillas de *Agave tequilana*

Se realizó el perfil de estructura de semillas de *Agave tequilana* por medio de difracción de rayos X (XRD), la muestra solamente fue molida previamente al experimento. La figura 9 muestra el patrón de difracción de las semillas, indicando una estructura amorfa, común en la mayoría de las estructuras vegetales, como el extracto natural de semillas de *Lepidium sativum* (Abdelghany et al., 2018). Se observan dos picos aproximadamente en $2\theta = 22.5^\circ$ y 35.4° (líneas verdes punteadas), patrón identificado en estructuras de celulosa tipo I representado por líneas punteadas en la figura 8 (Gong et al., 2017) y también reportado en nanofibras de *Agave tequilana* Weber Bagasse (Palacios Hinestroza et al., 2019).

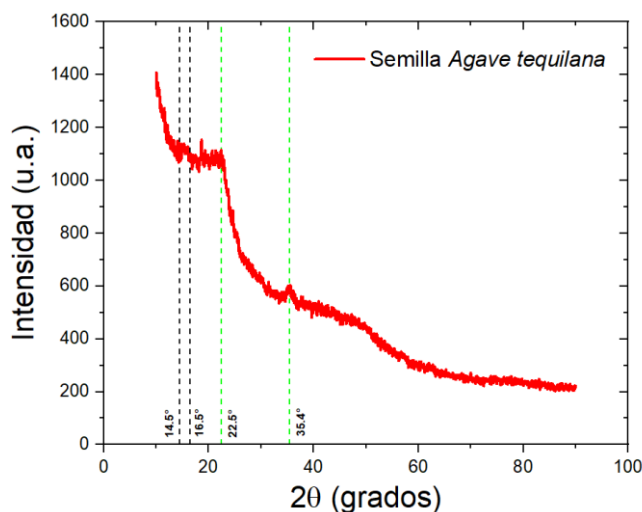


Figura 9. Patrón de difracción de rayos X (XRD) de semillas de *Agave tequilana*, las líneas verdes punteadas indican los picos principales, el resto indican los picos asociados a la estructura de celulosa tipo I.

Posteriormente, se determinó el índice de velocidad de germinación (IVG) para las semillas expuestas a campos magnéticos oscilantes biaxiales (2D) y triaxiales (3D).

9.1.3 Germinación

Por medio del índice de velocidad de germinación (IVG) se determinó la rapidez en que las semillas de *Agave tequilana* germinaron en un periodo determinado. Este parámetro se obtuvo por medio de la ecuación 1, donde un valor alto es indicador de que el proceso de germinación fue rápido. Además, por medio de este parámetro es posible identificar el impacto del estímulo físico dado a las semillas con los campos magnéticos oscilantes, en comparación con las semillas de control que no tuvieron algún estímulo externo. Adicionalmente, nos permitió identificar la configuración y tiempo de exposición al campo magnético oscilante con el IVG más elevado.

9.1.3.1 IVG

El índice de velocidad de germinación se calculó considerando los tres parámetros de estos experimentos: tiempo de exposición, configuración de campos magnéticos oscilantes y medio de cultivo *in vitro*. Los resultados para los tiempos de exposición: 5, 15 y 20 minutos, los campos magnéticos oscilantes: biaxiales (2D) y triaxiales (3D) y el medio de cultivo Agar-agua (A.A) se presentan en la figura 10. Asimismo, el IVG también se calculó para las semillas de control (A.A Control) representando los resultados en la figura 10 con la media de IVG.

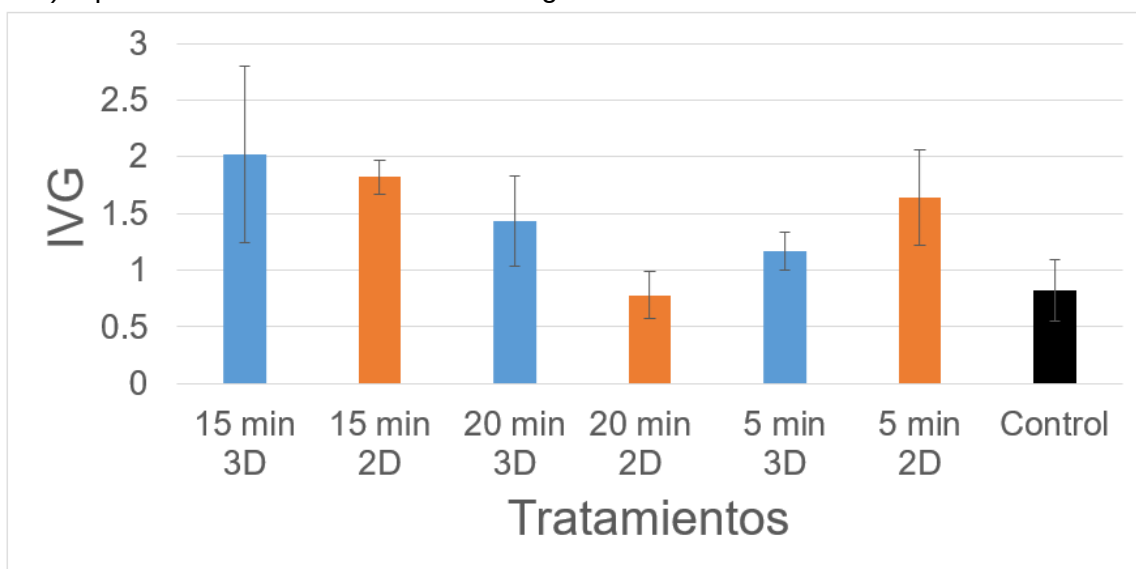


Figura 10. Media del Índice de velocidad de germinación en función de los tiempos de exposición (5, 15 y 20 minutos), las configuraciones de los campos magnéticos oscilantes (biaxiales, 2D y triaxiales, 3D) para el medio de cultivo *in vitro* Agar-agua (A.A) en comparación con las semillas control.

Los resultados indican que las semillas que no fueron expuestas a ninguna de las dos configuraciones de campos magnéticos oscilantes tuvieron la media de IVG más bajo, siendo igual a 0.82 ± 0.82 , llegando al mínimo índice de velocidad de germinación (4.41 IVG), dando como resultado un proceso de germinación más lento que aquellas semillas que sí estuvieron en contacto con los campos magnéticos oscilantes. Asimismo, se identificó que el mejor tiempo de exposición fue de 15 minutos cuando las semillas se expusieron a campos magnéticos oscilantes triaxiales (3D), ya que la media de IVG fue 2.02 ± 0.78 llegando al máximo índice de velocidad de germinación (6.05 IVG) para 2D. Seguido por un IVG de 1.82 ± 0.15 , obtuvo un máximo índice de velocidad de germinación (5.47 IVG) cuando el tiempo de exposición es de 15 minutos 2D.

Entonces, en el caso de semillas germinadas en medio de Agar-agua se obtuvo que los campos magnéticos oscilantes si representan un impacto positivo en comparación con las que no estuvieron en contacto.

Por su parte, el medio de cultivo Murashige & Skoog (MS) presentó una media de IVG mucho más bajo que el medio A.A para el caso de las semillas de control, con un valor de 0.33 ± 0.08 , llegando al mínimo de índice de velocidad de germinación (1.11 IVG), a pesar de que este medio de cultivo contenía los nutrientes necesarios para su germinación, los resultados se presentan en la figura 11. En contraste, los tratamientos con exposición a campos magnéticos oscilantes 2D y 3D presentaron valores del IVG más elevados, indicando un efecto positivo de la estimulación sobre la velocidad de germinación. De manera que, la mejor configuración de campos magnéticos oscilantes fue la biaxial 2D, donde el tiempo de exposición con la media de IVG más alto fueron 15 minutos con 2.12 ± 0.22 , llegando al máximo índice de velocidad de germinación (6.37 IVG), seguido de 5 y 20 minutos. Mientras que, en la configuración de campos magnéticos oscilantes 3D, la mayor media de IVG se obtuvo cuando las semillas de *Agave tequilana* se expusieron durante 5 minutos siendo igual a 1.53 ± 0.84 , obtuvo el máximo índice de velocidad de germinación (4.08 IVG) para esta configuración, seguido de 15 y 20 minutos.

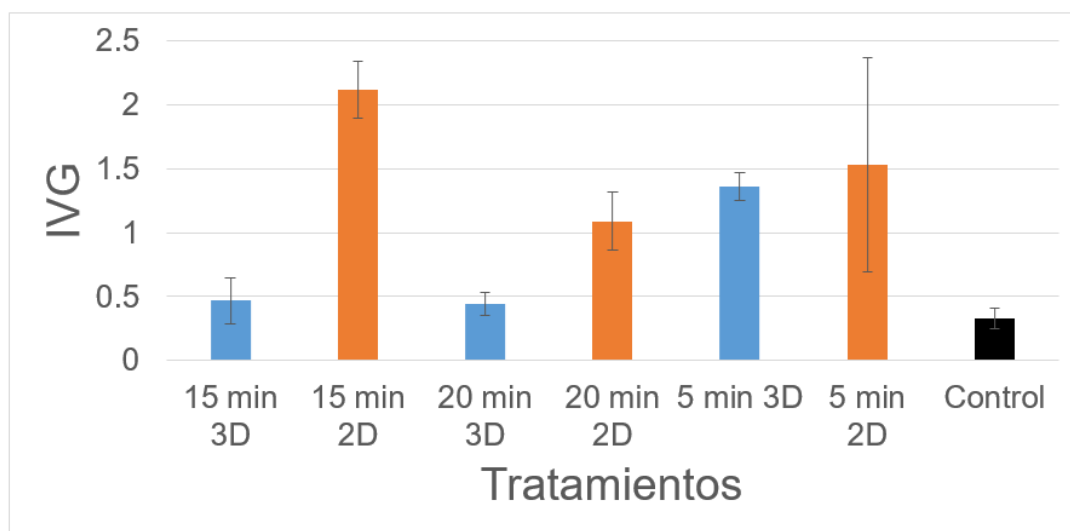


Figura 11. Índice de velocidad de germinación en función de los tiempos de exposición (5, 15 y 20 minutos), las configuraciones de los campos magnéticos oscilantes (biaxiales, 2D y triaxiales, 3D) para el medio de cultivo in vitro Murashige y Skoog (MS) en comparación con las semillas control.

En conjunto, los resultados mostraron una tendencia de aumento en la velocidad de germinación al aplicar campos magnéticos oscilantes, donde los tratamientos biaxiales (2D) fueron más efectivos que los triaxiales (3D) para el medio de cultivo MS con un 473.87% en el IVG con respecto al control, mientras que para el medio de cultivo A.A la mejor configuración de los campos magnéticos oscilantes fue la triaxial (3D) con un 37.18% en el IVG con respecto al control.

9.1.3.2 Porcentaje de germinación

Por medio del porcentaje germinación se puede saber el total de semillas germinadas, esta prueba permitió comparar las semillas estimuladas con los campos magnéticos oscilantes y las semillas de control. Se determinó el tiempo de evaluación para hacer analizar la germinación en los primeros días ya que se el tiempo de germinación para especies de *Agave* es a partir del día 8 (Ramírez-Tobías et al., 2014).

El análisis de germinación se hizo con la media de porcentaje de germinación de las semillas en función de los días para los tratamientos con los campos magnéticos oscilantes y control considerando el medio de cultivo Agar-agua se presentan en la figura 12 y 13. Los resultados indican que las semillas que estuvieron en contacto con ambas configuraciones de campos magnéticos oscilantes (2D y 3D) presentaron un porcentaje de germinación en un intervalo menor de tiempo. Para la configuración de campos magnéticos oscilantes 3D, a partir del cuarto día de que las semillas se expusieron a los campos magnéticos y se plantaron en el medio de cultivo A.A, la media del porcentaje de germinación fue de 7.41 ± 3.21 , correspondiente a 15 minutos de exposición. En el caso de la configuración de campos magnéticos oscilantes 2D, al cuarto día de siembra hubo una media de porcentaje de germinación del 7.41 ± 3.21 correspondiente a 5 minutos de exposición, seguido de 15 minutos con 5.56 ± 5.56 . En el octavo día, la mayoría de las semillas expuestas a los campos magnéticos oscilantes presentaban un alto porcentaje de germinación, por ejemplo, las semillas expuestas durante 20 minutos a campos magnéticos oscilantes 3D tenían una media de porcentaje de germinación del 24.07 ± 3.21 , llegando al máximo porcentaje de germinación (casi del 72.22%) alrededor del doceavo día, periodo en el que las semillas de control presentaron una media de porcentaje de germinación del 3.7 ± 4.54 . De los resultados de la figura 12 se identificó que el tiempo de exposición con mayor media de porcentaje de germinación fue de 15 minutos en 3D, siendo esta configuración la que registró el menor periodo de germinación de las semillas. Y de los resultados de la figura 13 se identificó que 15 minutos con campos magnéticos oscilantes 2D tuvo la mayor media de porcentaje de germinación con 27.78 en base a que el tiempo de evaluación fue hasta doceavo día.

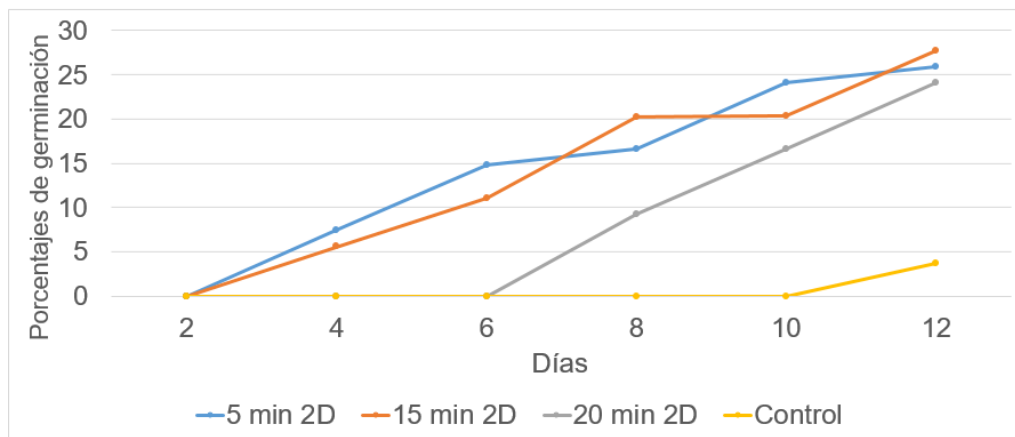


Figura 12. Porcentaje germinación de semillas cultivadas en medio Agar-agua (A.A) después de ser expuestas por 5,

15 y 20 minutos a campos magnéticos oscilantes biaxiales (2D) en comparación con semillas de control.

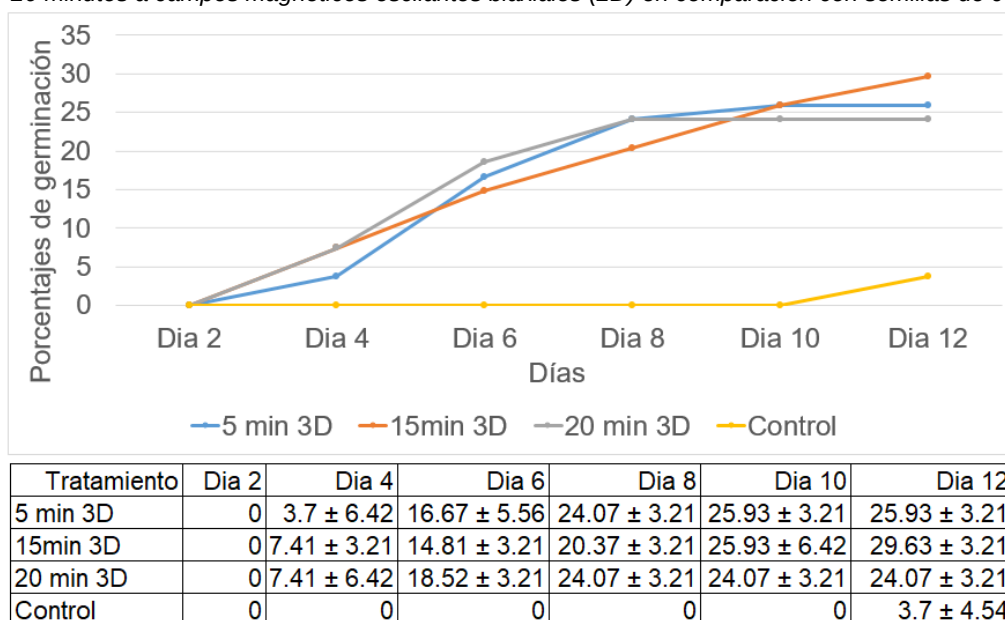


Figura 13. Porcentaje germinación de semillas cultivadas en medio Agar-agua (A.A) después de ser expuestas por 5,

15 y 20 minutos a campos magnéticos oscilantes triaxiales (3D) en comparación con semillas de control.

La figura 13 y 14 presenta la media de porcentaje de germinación para el caso de las semillas cultivadas en el medio de cultivo Murashige y Skoog con exposición a campos magnéticos oscilantes y el control. Los resultados indican que las semillas expuestas a los campos magnéticos oscilantes alcanzaron el mayor porcentaje de germinación entre el cuarto y sexto día después de haber sido cultivadas en este medio. Para el cuarto día la media de porcentaje de germinación fue del 3.7 ± 6.41 y 14.82 ± 3.21 cuando las semillas se expusieron 5 y 15 minutos a la configuración de campos magnéticos oscilantes 2D, respectivamente. Para a la configuración

de campos magnéticos oscilantes 3D solo 5 minutos alcanzo una media de porcentaje de germinación de 5.56 ± 5.56 . Las semillas de control no tuvieron indicio de germinación a pesar de que el tiempo de evaluación fue hasta doceavo día, sin embargo, después de diez días, solo un 7.41 ± 5.56 germinaron. En este medio de cultivo, la media de porcentaje de germinación de las semillas expuestas a campos magnéticos oscilantes 2D alcanzo el mayor valor en el doceavo día donde 15 minutos tuvo una media de porcentaje de germinación de 29.63 ± 3.2 , llegando al máximo porcentaje de germinación (83.34%), y en la configuración de campos magnéticos oscilantes 3D una media de porcentaje de germinación de 25.93 ± 3.21 , llego a un porcentaje intermedio (77.78%), para 5 minutos.

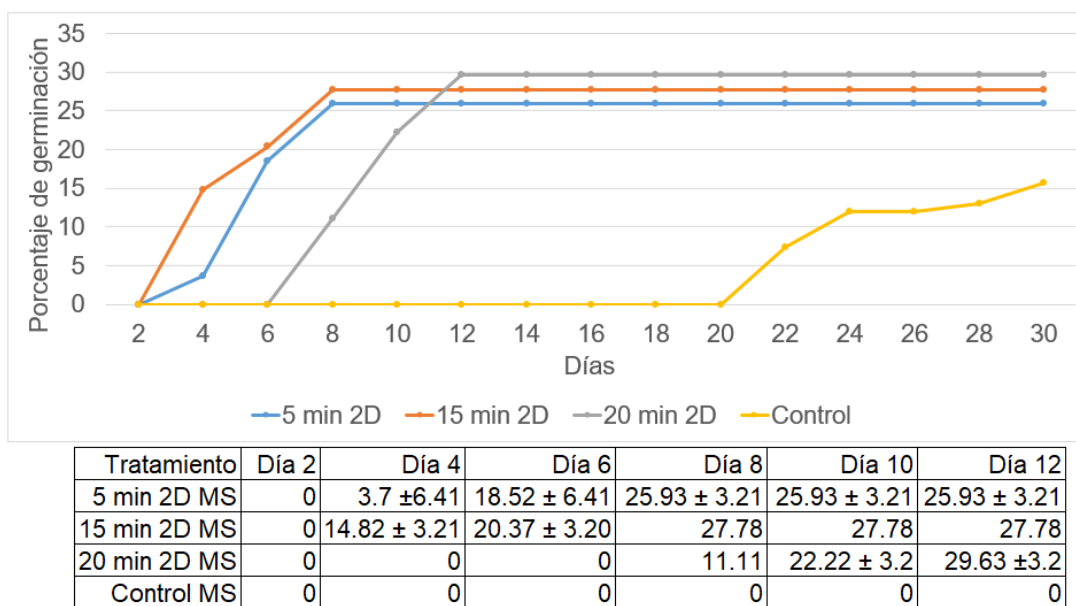


Figura 14. Porcentaje germinación de semillas cultivadas en medio Murashige y Skoog (MS) después de ser expuestas por 5, 15 y 20 minutos a campos magnéticos oscilantes biaxiales (2D) en comparación con semillas de control.

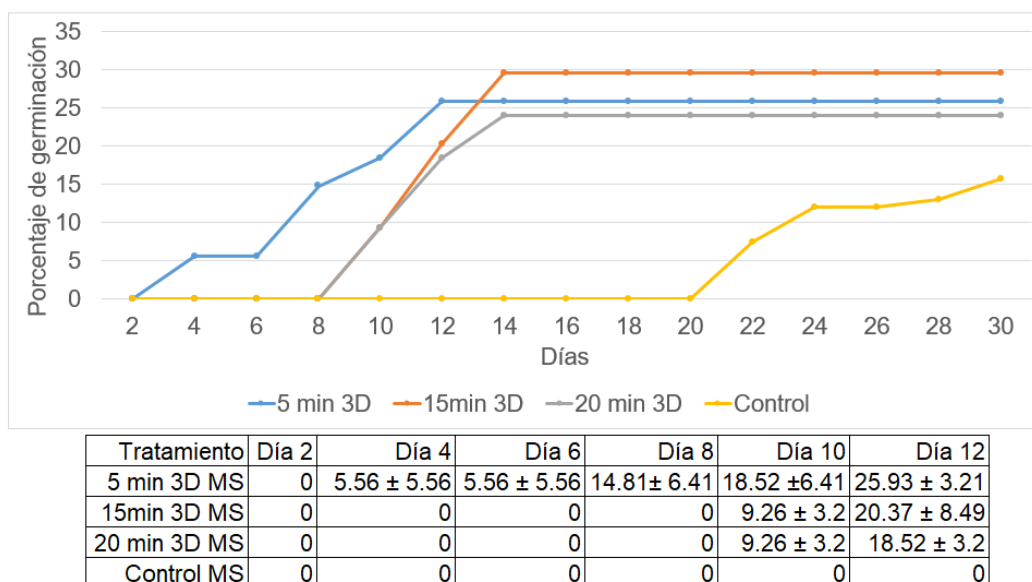


Figura 15. Porcentaje germinación de semillas cultivadas en medio Murashige y Skoog (MS) después de ser expuestas por 5, 15 y 20 minutos a campos magnéticos oscilantes triaxiales (3D) en comparación con semillas de control.

Los medios de cultivo *in vitro* que se eligieron en este trabajo demostraron ser un factor relevante para la germinación de semillas de *A. tequilana* que estuvieron expuestas a la estimulación de dos configuraciones de campos magnéticos oscilantes (2D y 3D). En el medio A.A, la germinación fue más temprana y se estabilizó en periodos cortos, como se observó en la figura 13 y 14, mientras que, en el medio MS, aunque la germinación también aumentó con la estimulación de los campos magnéticos oscilantes, el proceso fue más prolongado, alcanzando su punto máximo hasta el doceavo día, ver figura 14 y 15. En el medio A.A, los tratamientos de exposición de 15 minutos en campos magnéticos oscilantes 2D y 3D alcanzaron en el menor tiempo los porcentajes de germinación de 83.34% y 88.89%, respectivamente. En cambio, en el medio Murashige y Skoog, los tratamientos de exposición de 20 minutos para campos magnéticos oscilantes 2D y 5 minutos para 3D, alcanzaron porcentajes de germinación del 83.34% y 77.78%, aunque esto ocurrió en un tiempo de respuesta más prolongado. Por lo que, este medio de cultivo, pese a ser nutritivamente más complejo, no sería útil para acelerar la germinación de semillas, aunque ya lleven tiempo almacenadas.

9.2 Elongación

Cuando se realizan investigaciones en experimentos de plantas y medios de cultivo *in vitro* se recurre a las mediciones de sus características morfológicas, por lo general se mide la raíz principal, el largo de la planta como el tallo, el total de hojas, entre otras características. En este trabajo se realizó un análisis dividido en dos apartados: en el primero se analizó el tamaño del cotiledón y en el segundo, el tamaño de la raíz principal, en ambos apartados las mediciones se realizaron a los 45 y 145 días. A los 145 días también se analizó el tamaño de la hoja verdadera y total de hojas. El objetivo es determinar más allá del proceso de germinación, los efectos de los tiempos y configuraciones de exposición de campos magnéticos oscilantes, así como los medios de cultivos en las semillas de *Agave tequilana*.

9.2.1 Cotiledón a los 45 y 145 días

El desarrollo del cotiledón dependiente del tiempo se evaluó en los tratamientos con los campos magnéticos oscilantes y en el control, considerando el medio de cultivo; los resultados se presentan en la tabla 7 y tabla 8 para los medios Agar-agua y Murashige y Skoog, respectivamente. En ambas tablas, la asignación de la letra **A** indica que no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$). En consecuencia, los campos magnéticos oscilantes, tanto en la configuración 2D, como 3D, no generaron un efecto significativo sobre el desarrollo del cotiledón a los 45 días y a los 145 días, independientemente del tiempo de exposición.

Tabla 7. Efecto en cotiledón a los 45 y 145 días en semillas expuestas a campos magnéticos oscilantes y medio de cultivo Agar-agua (A.A).

Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Cotiledón ¹	Tiempo (días)	Tiempo de exposición (días)	Campos magnéticos oscilantes	Cotiledón ¹	Tiempo (días)
5	2D	4.65 ± 1.22 ^A	45	5	2D	5.20 ± 2.51 ^A	145
	3D	6.20 ± 0.97 ^B			3D	5.40 ± 1.58 ^A	
Control	No aplica	5.75 ± 1.54 ^B		Control	No aplica	6.00 ± 1.84 ^A	
15	2D	6.50 ± 2.00 ^A		15	2D	6.80 ± 3.07 ^A	
	3D	5.15 ± 1.98 ^A			3D	6.00 ± 2.78 ^A	
Control	No aplica	5.75 ± 1.54 ^A		Control	No aplica	6.00 ± 1.84 ^A	
20	2D	5.20 ± 1.91 ^A		20	2D	5.00 ± 2.23 ^A	
	3D	5.20 ± 1.91 ^A			3D	5.20 ± 1.81 ^A	
Control	No aplica	5.75 ± 1.54 ^A		Control	No aplica	6.00 ± 1.84 ^A	

¹Los resultados se expresaron en cm. ^{A-B} el valor medio en la misma fila con diferente letra fueron significativamente iguales ($p > 0.05$ Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney).

Tabla 8. Efecto en cotiledón a los 45 y 145 días en semillas expuestas a campos magnéticos oscilantes y medio de cultivo Murashige y Skoog (M.S)

Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Cotiledón ¹	Tiempo (días)	Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Cotiledón ¹	Tiempo (días)
5	2D	5.25 ± 2.87 ^A	45	5	2D	6.50±1.70 ^B	145
	3D	5.00 ± 1.56 ^A			3D	4.60±1.70 ^A	
Control	No aplica	5.00 ± 2.04 ^A		Control	No aplica	5.65±2.42 ^B	
15	2D	5.00 ± 2.30 ^A		15	2D	6.00±1.68 ^A	
	3D	5.40 ± 1.81 ^A			3D	5.80±1.79 ^A	
Control	No aplica	5.00 ± 2.04 ^A		Control	No aplica	5.65±2.42 ^A	
20	2D	4.20 ± 1.11 ^A		20	2D	5.80±2.51 ^A	
	3D	5.20 ± 2.24 ^A			3D	5.30±1.78 ^A	
Control	No aplica	5.00 ± 2.04 ^A		Control	No aplica	5.65±2.42 ^A	

¹Los resultados se expresaron en cm. ^{A-B} el valor medio en la misma fila con diferente letra fueron significativamente iguales ($p>0.05$ Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney).

9.2.2 Raíz a los 45 y 145 días

El tamaño de la raíz en función tiempo en los tratamientos con los campos magnéticos oscilantes y en el control, se presenta en las tablas 9 y 10 para los medios de cultivo Agar-agua y Murashige y Skoog, respectivamente. En ambas tablas, la asignación de la letra **A** indica que no hubo diferencias significativas ($p<0.05$) por lo que los campos magnéticos oscilantes, tanto en la configuración 2D como 3D, no afectaron de manera significativa en el desarrollo de la raíz para que la planta pudiera tomar los nutrientes del medio de cultivo, independientemente del tiempo de estimulación.

Tabla 9. Evaluación del efecto en raíz principal a partir de los 45 y 145 días en semillas expuestas a campos magnéticos oscilantes y medio de cultivo Agar-agua (A.A).

Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Raíz principal ¹	Tiempo (días)	Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Raíz principal ¹	Tiempo (días)
5	2D	3.50±2.27 ^A	45	5	2D	9.00±5.52 ^A	145
	3D	4.75±1.66 ^A			3D	6.00±4.19 ^A	
Control	No aplica	4.00±1.30 ^A		Control	No aplica	6.00±2.66 ^A	
15	2D	4.00±2.15 ^A		15	2D	7.00±4.86 ^A	
	3D	4.00±2.51 ^A			3D	7.00±3.17 ^A	
Control	No aplica	4.00±1.30 ^A		Control	No aplica	6.00±2.66 ^A	
20	2D	4.50±1.94 ^A		20	2D	8.00±4.75 ^A	
	3D	3.00±2.33 ^A			3D	5.80±4.06 ^A	
Control	No aplica	4.00±1.30 ^A		Control	No aplica	6.00±2.66 ^A	

¹Los resultados se expresaron en cm. ^A el valor medio en la misma fila con diferente letra fueron significativamente iguales ($p>0.05$ Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney).

Tabla 10. Evaluación del efecto en raíz principal a partir de los 45 y 145 días en semillas expuestas a campos magnéticos oscilantes y medio de cultivo Murashige y Skoog (M.S)

Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Raíz principal ¹	Tiempo (días)	Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Raíz principal ¹	Tiempo (días)
5	2D	3.50±2.27 ^A	45	5	2D	9.00±5.52 ^A	145
	3D	4.75±1.66 ^A			3D	6.00±4.19 ^A	
Control	No aplica	4.15±1.29 ^A		Control	No aplica	6.00±2.66 ^A	
15	2D	4.00±2.15 ^A		15	2D	7.00±4.85 ^A	
	3D	4.00±2.51 ^A			3D	7.00±3.17 ^A	
Control	No aplica	4.15±1.29 ^A		Control	No aplica	6.00±2.66 ^A	
20	2D	4.50±1.94 ^A		20	2D	8.00±4.75 ^A	
	3D	3.00±2.33 ^A			3D	5.80±4.06 ^A	
Control	No aplica	4.15±1.29 ^A		Control	No aplica	6.00±2.66 ^A	

¹Los resultados se expresaron en cm. ^A el valor medio en la misma fila con diferente letra fueron significativamente iguales ($p>0.05$ Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney).

9.2.3 Hoja verdadera a los 145 días en medio de cultivo A.A y MS

La hoja verdadera es indicadora de la adaptación de la plántula en el medio de cultivo. La medición de la hoja verdadera en los tratamientos con los campos magnéticos oscilantes y el control, considerando el medio de cultivo de Agar-agua y Murashige y Skoog se presentan en la tabla 11, respectivamente. En ambas tablas, la asignación de la letra **A** indica que no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos evaluados en ambos medios de cultivo. En consecuencia, los campos magnéticos oscilantes, tanto en la configuración 2D como 3D, no tuvieron un efecto significativo sobre el desarrollo de la hoja verdadera a los 45 días y 145, independientemente del tiempo de exposición.

Tabla 11. Análisis de las mediciones de la hoja verdadera principal a los 145 días a partir de la mediana para cada tratamiento y control en medio de cultivo Agar-agua y Murashige y Skoog.

Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Hoja verdadera ¹	Medio de cultivo	Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Hoja verdadera ¹	Medio de cultivo
5	2D	5.5±3.40 ^A	A.A	5	2D	7.00±3.02 ^A	MS
	3D	6.5±2.88 ^A			3D	5.20±2.84 ^A	
Control	No aplica	7.00 ±3.31 ^A		Control	No aplica	6.15±3.55 ^A	
15	2D	6.70 ±3.07 ^A		15	2D	4.50±2.21 ^A	
	3D	6.00±2.28 ^A			3D	5.90±3.58 ^A	
Control	No aplica	7.00 ±3.31 ^A		Control	No aplica	6.15±3.55 ^A	
20	2D	5.00±3.30 ^A		20	2D	7.30±3.94 ^A	
	3D	5.90±3.34 ^A			3D	7.75±2.90 ^A	
Control	No aplica	7.00 ±3.31 ^A		Control	No aplica	6.15±3.55 ^A	

¹Los resultados se expresaron en cm. ^A el valor medio en la misma fila con diferente letra fueron significativamente iguales ($p > 0.05$ Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney).

9.2.4 Hojas totales a los 145 días en medio de cultivo A.A y MS

El número total de hojas se usó como parámetro para evaluar el efecto de los campos magnéticos oscilantes sobre el desarrollo vegetativo. Los resultados se presentan en la tabla 13 para el medio de cultivo agar-agua y para el medio Murashige y Skoog, donde la asignación de la letra **A** indica que no hubo diferencias significativas ($p < 0.05$). En este sentido los campos magnéticos, tanto en la configuración 2D como 3D, no tuvieron un efecto significativo independientemente del tiempo de exposición.

Tabla 13. Conteo a partir de la mediana para la cantidad de hojas totales en cada tratamiento y control en medio Agar-agua y Murashige y Skoog.

Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Total de hojas	Medio de cultivo	Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Total de hojas	Medio de cultivo
5	2D	3.00 ± 1.18^A	A.A	5	2D	4.00 ± 0.73^A	MS
	3D	3.00 ± 1.25^A			3D	3.00 ± 0.68^B	
Control	No aplica	2.00 ± 0.74^A		Control	No aplica	3.00 ± 1.14^B	
15	2D	3.00 ± 1.30^A		15	2D	3.00 ± 0.99^A	
	3D	3.00 ± 0.95^A			3D	3.00 ± 0.77^A	
Control	No aplica	2.00 ± 0.74^A		Control	No aplica	3.00 ± 1.14^A	
20	2D	4.00 ± 1.51^A		20	2D	3.00 ± 1.71^A	
	3D	3.00 ± 1.54^A			3D	3.00 ± 0.73^A	
Control	No aplica	2.00 ± 0.74^A		Control	No aplica	3.00 ± 1.14^A	

^A el valor medio en la misma fila con diferente letra fueron significativamente iguales ($p > 0.05$ Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney).

9.3 FASE 2: Aclimatación en sustrato específico.

Durante la fase de aclimatación, las plántulas provenientes de los tratamientos con campos magnéticos oscilantes y del control llevaron un proceso riguroso donde fueron cubiertas con un domo, el resultado se presentó la figura 14 (a). El desarrollarse permitió una adaptación similar a las condiciones *ex vitro*. Durante el tiempo progresivo de adaptación hubo diferencias evidentes en el estado general de las plántulas entre los diversos tratamientos, independientemente de la configuración de los campos magnéticos oscilantes (2D y 3D).

Las diferencias evidentes fueron a partir del medio de cultivo *in vitro* previo a la coloración. Las plantas que crecieron en cultivo MS y las semillas se estimularon con campos magnéticos oscilantes 2D presentaron una coloración más oscura, a diferencia de las que se estimularon con campos magnéticos oscilantes 3D, los resultados se presentan en la figura 14 (b) y 14 (c), respectivamente. Se observa que en la mayoría de las plántulas tuvieron una turgencia, ya que las hojas se encontraban erguidas.

Por su parte, las plantas que crecieron en el medio de cultivo A.A y las semillas se estimularon con campos magnéticos oscilantes presentaron una coloración clara a diferencia de las plantas que crecieron en el medio MS, en el caso de las plantas que surgieron de semillas en campos magnéticos oscilantes 2D (ver figura 14(d)) su tamaño fue menor que en la configuración de campos magnéticos oscilantes 3D (ver figura 14(e)).

La adaptabilidad de las semillas para los tratamientos con campos magnéticos oscilantes y del control resultó ser favorable. En el proceso se tuvo que adecuar un entorno aún más controlado con un fotoperiodo que constaba de 6 horas de luz y 6 horas sin luz durante el transcurso del día, esto con el objetivo de que las plantas llevaran a cabo la fotosíntesis gracias a la combinación de luces azul, rojo, amarillo que daba un color magenta como se observó en la figura 13d.

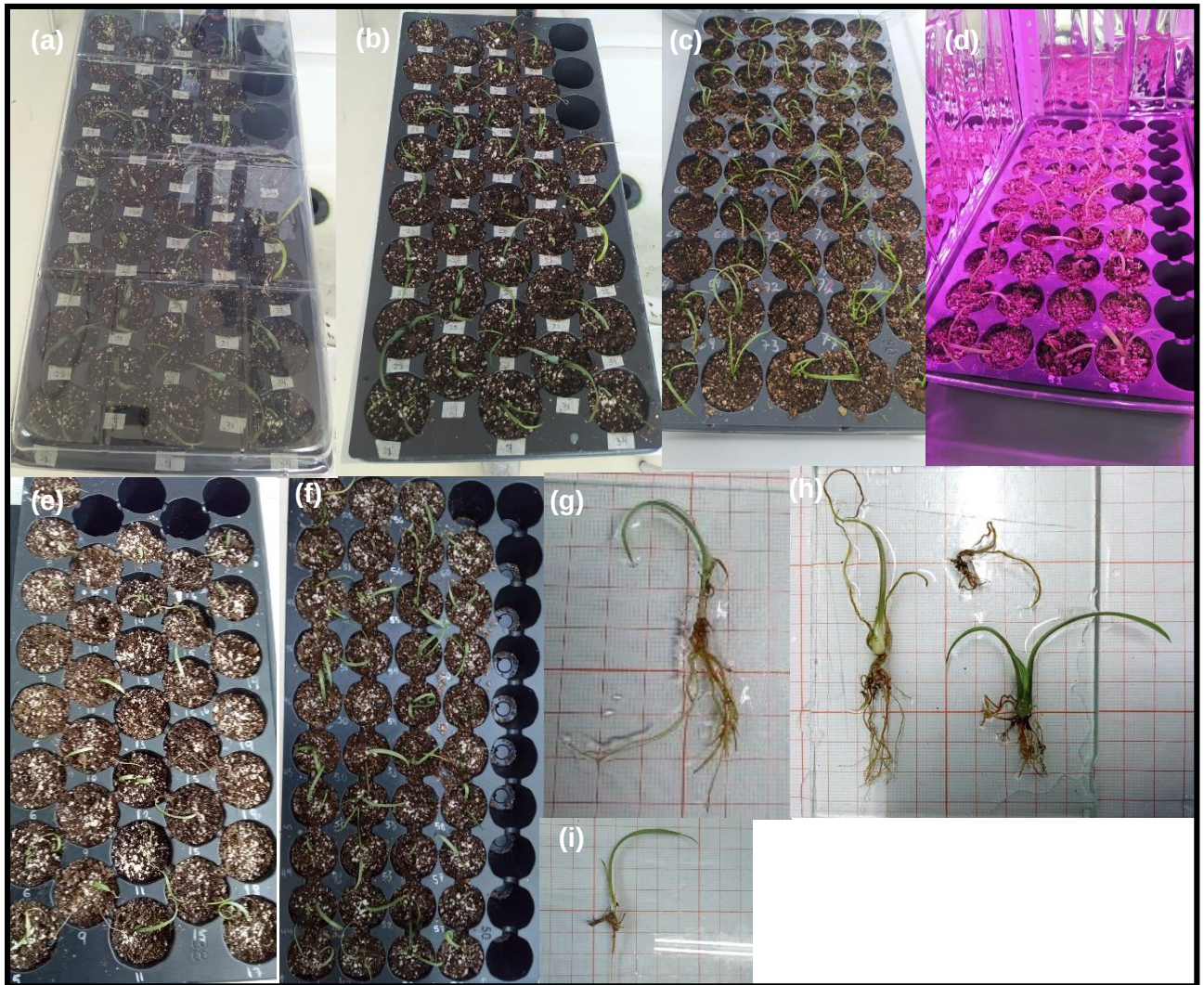


Figura 14. Inicio de aclimatación con domo para las plantas después de la segunda medición a los 145 días para las plantas de *Agave tequilana* (a). Plantas crecidas en medio de cultivo MS, estimuladas con 2D (5,15 y 20 minutos) (b) y tratamientos estimulados con 3D (5, 15 y 20 minutos) (c) como control. Ejemplificación del fotoperiodo usado para mejorar la adaptación de los tratamientos estimulados con campos magnéticos oscilantes y control en sustrato (d). Tratamientos crecidos en A.A, estimulados con 2D (5,15 y 20 minutos) (e) y estimulados 3D (5,15 y 20 minutos) (f) como control. 20 minutos 2D (g), 20 minutos 3D (h) y control (i).

9.4 FASE 3. Análisis antioxidante.

9.4.1 Extracción de metabolitos para control, 2D y 3D.

La determinación de la masa extraída permitió evaluar la eficacia de los solventes y comparar el efecto de los tratamientos de los campos magnéticos oscilantes con el control. El método más adecuado para la extracción es mediante extracciones alcohólicas, aunque esto es sólo en términos de cantidad, los resultados se presentan en la tabla 15, en la que la masa extraída se indica en gramos para cada tratamiento y sólo considerando el medio de cultivo Agar-agua porque fue el más indicado considerando los resultados de la Fase 1. El diclorometano (DCM) evidenció una mayor extracción de compuestos en el control, mientras que en los tratamientos expuestos a campos magnéticos oscilantes se observaron incrementos graduales conforme se aumentó el tiempo de extracción, siendo los valores más altos cuando el tiempo de exposición fue de 20 minutos y campos magnéticos oscilantes 2D y 3D con 0.15 gramos y 0.14 gramos, respectivamente.

Por otro lado, el etanol (EtOH) mostró un incremento significativo en la masa extraída bajo el tratamiento de campos magnéticos oscilantes 3D, particularmente cuando el tiempo de exposición fue de 5 minutos, dando como resultado una masa de 0.42 gramos. Este resultado sugiere que este tipo de tratamiento favoreció la rápida liberación o acumulación de metabolitos. En contraste con el tratamiento de campos magnéticos oscilantes 2D, en el cual se presentaron valores similares al control en todos los tiempos expuestos.

Para el caso de agua, esta presentó los menores rendimientos en general, con una disminución más marcada en el tratamiento de campos magnéticos oscilantes 3D y tiempo de exposición de 20 minutos con una masa de 1 mg, lo cual indicó un bajo contenido de metabolitos.

Tabla 15. Extracción con solvente utilizado por extracción diferencial en Soxhlet.

Tiempo exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Disolvente	Masa extraída (g)	Volumen utilizado (ml) [metanol al 80%]	Concentración (g/ml)
5	2D	DCM	0.070	1.40	0.05
		EtOH	0.130	2.60	
		H ₂ O	0.034	45.00	
15		DCM	0.130	2.60	
		EtOH	0.130	2.60	
		H ₂ O	0.030	45.00	
20		DCM	0.150	3.00	
		EtOH	0.090	1.80	
		H ₂ O	0.081	45.00	
5	3D	DCM	0.100	2.00	
		EtOH	0.420	8.40	
		H ₂ O	0.047	45.00	
15		DCM	0.130	2.60	
		EtOH	0.100	2.00	
		H ₂ O	0.076	45.00	
20		DCM	0.140	2.80	
		EtOH	0.170	3.40	
		H ₂ O	0.002	45.00	
Control	No aplica	DCM	0.430	8.60	
		EtOH	0.130	2.60	
		H ₂ O	0.072	45.00	

9.4.2 Pruebas antioxidantes

Los resultados obtenidos permitieron comparar la actividad antioxidante de cada tratamiento, relacionarla con la concentración de compuestos bioactivos presentes en los extractos e identificar el efecto de usar dos configuraciones de campos magnéticos oscilantes como un pretratamiento. Ya que la extracción de metabolitos se realizó usando tres solventes: etanol, diclorometano y agua, también se evaluó el solvente que podría ser el mejor para futuros protocolos. Con base a los resultados obtenidos en la etapa de germinación, las pruebas se realizaron para las semillas expuestas a campos magnéticos oscilantes y cultivadas en el medio Agar-agua, esto con el objetivo de tener menores factores que influyan en el análisis del efecto de los campos magnéticos oscilantes. A continuación, se presentan los resultados obtenidos de las cuatro pruebas de antioxidantes: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP), Capacidad de Absorción de Radicales Reductores de Cobre (CUPRAC) y Folin-Ciocalteu (Folin).

9.4.1.1 Prueba DPPH

El pretratamiento con campos magnéticos oscilantes tuvo un efecto a nivel fisiológico para la reducción de la cantidad de radicales libres, como se observa en los resultados presentados en la tabla 16, donde la asignación de la letra **A**, **B** y **C** indica que hubo diferencias significativas ($p < 0.05$). En este sentido los campos magnéticos, tanto en la configuración 2D como 3D, tuvieron un efecto significativo independientemente del tiempo de exposición.

El solvente con mejores resultados fue el etanol, donde los tratamientos de exposición de 15 minutos en campos magnéticos oscilantes 2D y 3D no presentaron diferencias significativas, es decir, que no fue posible distinguir con esta prueba el efecto de las dos configuraciones de los campos magnéticos oscilantes. Sin embargo, los resultados indican que si hubo una diferencia significativa con las semillas control o sin exposición a campos magnéticos oscilantes. La exposición de semillas a un tiempo intermedio (15 minutos) en campos magnéticos oscilantes representó ser un estímulo favorable, aún si la exposición de las semillas se realizó en un tiempo corto, el resultado sigue siendo beneficioso en comparación con el control, siendo la configuración de campos magnéticos oscilantes 2D la más eficiente si el tiempo de exposición es de 5 minutos. El diclorometano fue el segundo solvente con resultados favorables, ya que a intervalos cortos (5 minutos) e intermedios (15 minutos) hubo diferencias significativas entre los tratamientos y el control. Específicamente, el resultado más favorable de la estimulación a nivel fisiológica fue cuando las semillas se expusieron por 15 minutos a campos magnéticos oscilantes 3D. Es evidente que los resultados presentados, al aumentar el tiempo de exposición a 20 minutos y campos magnéticos oscilantes 3D solo representó un estímulo con una diferencia significativa cuando se empleó DCM. Por su parte, el agua no tuvo la capacidad de extraer una gran cantidad de metabolitos y a nivel de capacidad antioxidante no hubo diferencia significativa entre los tratamientos de campos magnéticos oscilantes y el control.

Tabla 16. Actividad antioxidante de los extractos diferenciales a 0.05 mg/mL considerando la prueba antioxidante DPPH¹.

Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Diclorometano	Etanol	Agua
5	2D	32.47 ± 2.79 ^B	61.32 ± 3.50 ^A	1.31 ± 4.31 ^A
	3D	33.86 ± 3.05 ^B	24.93 ± 3.88 ^B	0.82 ± 3.59 ^A
Control	No aplica	18.43 ± 4.19 ^A	52.77 ± 2.75 ^C	3.27 ± 4.08 ^A
15	2D	30.72 ± 2.41 ^C	63.60 ± 1.18 ^B	0.37 ± 0.51 ^A
	3D	37.55 ± 20.65 ^B	61.19 ± 14.99 ^B	0.00 ± 3.03 ^A
Control	No aplica	18.43 ± 4.19 ^A	52.77 ± 2.75 ^A	3.27 ± 4.08 ^A
20	2D	22.52 ± 3.36 ^B	54.08 ± 5.20 ^A	0.00 ± 1.81 ^A
	3D	25.26 ± 3.89 ^A	55.75 ± 5.18 ^A	2.29 ± 1.29 ^A
Control	No aplica	18.43 ± 4.19 ^B	52.77 ± 2.75 ^A	3.27 ± 4.08 ^A

¹Los resultados se expresaron en % de inhibición de radicales libres, ^{A-C} el valor medio en la misma fila con diferente letra fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$ Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney).

9.4.1.2 Prueba Folin-Ciocalteu

El pretratamiento con campos magnéticos oscilantes tuvo un efecto a nivel fisiológico, los resultados se presentan en la tabla 17, donde la asignación de la letra **A**, **B** y **C** indica que hubo diferencias significativas ($p < 0.05$). En este sentido los campos magnéticos, tanto en la configuración 2D como 3D, tuvieron un efecto significativo independientemente del tiempo de exposición.

De los cuales se determinó que el contenido fenólico total aumentó significativamente en las semillas que fueron expuestas durante 20 minutos a campos magnéticos oscilantes 2D, siendo el solvente de etanol en el que se obtuvo la cantidad fue más elevada. De igual forma, cuando el solvente fue diclorometano también se obtuvieron resultados favorables. Sin embargo, cuando se utilizó el agua como solvente solo hubo una diferencia significativa entre el control y los tratamientos de campos magnéticos oscilantes 3D y tiempo de exposición de 20 minutos.

Tabla 17. Actividad antioxidante de los extractos diferenciales a 0.05 mg/mL considerando la prueba antioxidante Folin-Ciocalteu².

Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Diclorometano	Etanol	Agua
5	2D	58.88 ± 15.92 ^A	487.63 ± 32.37 ^C	0.00 ± 0.00 ^A
	3D	178.05 ± 24.97 ^B	749.58 ± 109.99 ^B	0.00 ± 0.00 ^A
Control	No aplica	113.47 ± 27.54 ^C	339.95 ± 26.54 ^A	0.00 ± 0.093 ^A
15	2D	196.92 ± 71.78 ^C	533.25 ± 59.66 ^B	0.00 ± 4.52 ^A
	3D	149.56 ± 31.39 ^B	552.70 ± 30.70 ^B	0.00 ± 0.00 ^A
Control	No aplica	113.47 ± 27.54 ^A	339.95 ± 26.54 ^A	0.00 ± 0.093 ^A
20	2D	389.15 ± 182.32 ^C	1284.54 ± 174.19 ^C	0.00 ± 0.00 ^B
	3D	169.05 ± 19.68 ^B	609.54 ± 34.08 ^B	0.00 ± 0.00 ^A
Control	No aplica	113.47 ± 27.54 ^A	339.95 ± 26.54 ^A	0.00 ± 0.093 ^B

²Los resultados se expresaron como mg equivalente de ácido gálico/kg de planta, ^{A-C} el valor medio en la misma fila con diferente letra fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$ Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney).

9.4.1.3 Prueba CUPRAC

Los resultados obtenidos por medio de la prueba CUPRAC presentaron un aumento significativo en la capacidad reductora en semillas que estuvieron en contacto con los campos magnéticos oscilantes en comparación con aquellas que no (control). Los resultados se presentan en la tabla 18 donde la asignación de la letra **A**, **B** y **C** indica que hubo diferencias significativas ($p < 0.05$). En este sentido los campos magnéticos, tanto en la configuración 2D como 3D, tuvieron un efecto significativo independientemente del tiempo de exposición.

Nuevamente, se observa que los mejores resultados provienen de semillas en contacto con campos magnéticos oscilantes 2D y tiempo de exposición de 20 minutos, siendo el diclorometano el mejor solvente, seguido del etanol, posteriormente agua y, por último, el control.

Tabla 18. Actividad antioxidante de los extractos diferenciales a 0.05 mg/mL considerando la prueba antioxidante CUPRAC³.

Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	DCM	EtOH	Agua
5	2D	52.35 ± 5.62 ^A	108.92 ± 4.74 ^B	0.52 ± 0.14 ^A
	3D	157.93 ± 6.04 ^B	369.22 ± 32.36 ^A	1.75 ± 0.29 ^B
Control	No aplica	83.40 ± 6.86 ^C	73.96 ± 5.62 ^C	2.08 ± 0.35 ^C
15	2D	148.06 ± 6.90 ^A	152.54 ± 9.61 ^B	0.94 ± 0.48 ^A
	3D	118.81 ± 11.39 ^B	149.27 ± 4.70 ^B	1.74 ± 0.38 ^B
Control A.A	No aplica	83.40 ± 6.86 ^C	73.96 ± 5.62 ^A	2.08 ± 0.35 ^B
20	2D	589.88 ± 69.51 ^B	542.90 ± 42.05 ^B	8.86 ± 1.58 ^B
	3D	149.92 ± 12.33 ^A	161.04 ± 5.18 ^A	0.08 ± 0.02 ^A
Control A.A	No aplica	83.40 ± 6.86 ^C	73.96 ± 5.62 ^C	2.08 ± 0.35 ^C

³Los resultados se expresaron como mg equivalente de ácido gálico/kg de planta A-C el valor medio en la misma fila con diferente letra fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$ Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney).

9.4.1.4 Prueba FRAP

La tabla 19 presenta los resultados de la prueba FRAP, en la cual se observa que hubo un aumento significativo de la actividad antioxidante donde la asignación de la letra **A**, **B** y **C** indico dichas diferencias significativas ($p < 0.05$). Destacando que cuando las semillas provienen del tratamiento con campos magnéticos oscilantes 2D y tiempos de exposición de 20 minutos, en comparación con el control. El mejor solvente fue el etanol, seguido del diclorometano, en el caso del agua no se obtuvo actividad antioxidante. Los resultados indican que la mejor configuración de campo magnético oscilante fue la biaxial (2D).

Tabla 19. Actividad antioxidante de los extractos diferenciales a 0.05 mg/mL considerando la prueba antioxidante FRAP⁴

Tiempo de exposición (min)	Campos magnéticos oscilantes	Diclorometano	Etanol	Agua
5	2D	10.08 ± 4.36 ^B	120.08 ± 15.57 ^A	8.26 ± 2.14 ^A
	3D	20.58 ± 34.03 ^A	38.77 ± 42.60 ^B	0.00 ± 4.12 ^B
Control	No aplica	0.00 ± 8.08 ^C	67.64 ± 2.80 ^B	1.89 ± 1.26 ^B
15	2D	83.56 ± 20.17 ^B	183.64 ± 11.18 ^B	8.47 ± 2.55 ^A
	3D	31.83 ± 15.04 ^A	173.16 ± 18.25 ^B	3.15 ± 4.26 ^B
Control	No aplica	0.00 ± 8.08 ^C	67.64 ± 2.80 ^A	1.89 ± 1.26 ^B
20	2D	163.22 ± 97.68 ^B	451.75 ± 187.11 ^C	84.25 ± 15.24 ^A
	3D	26.07 ± 45.95 ^A	129.80 ± 23.68 ^B	0.42 ± 0.28 ^B
Control	No aplica	0.00 ± 8.08 ^C	67.64 ± 2.80 ^A	1.89 ± 1.26 ^B

⁴Los resultados se expresaron como mg equivalente de Quercetina /kg de planta, A-Del valor medio en la misma fila con diferente letra fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$ Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney).

10. DISCUSIÓN

Este trabajo presentó una investigación exhaustiva en el efecto de los campos magnéticos oscilantes en el proceso de germinación, crecimiento de plantas y análisis de antioxidantes provenientes de semillas de *Agave tequilana* (*A. tequilana*) considerando como parámetros el tiempo de exposición y la configuración de los campos magnéticos oscilantes: biaxiales (2D) y triaxiales (3D). Las semillas de *Agave tequilana* provienen de un lote de semillas del 2004 del banco de germoplasma del Herbario y Jardín Botánico Universitario de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Adicionalmente, se analizó el efecto del medio de cultivo *in vitro* tanto en las semillas expuestas como en el control.

De acuerdo con las diferentes etapas realizadas, se encontró que los campos magnéticos oscilantes representan un pretratamiento exitoso para mejorar la estimulación de semillas, en comparación con aquellas que no estuvieron en contacto. Particularmente, la exposición de las semillas de *A. tequilana* presentaron resultados relevantes en la velocidad de germinación cuando la configuración de los campos magnéticos oscilantes fue triaxial (3D) y el medio de cultivo *in vitro* fue Agar-agua (A.A). Mientras que, la configuración de campos magnéticos oscilantes biaxiales (2D) presentaron resultados favorables cuando el medio de cultivo *in vitro* fue Murashige & Skoog (MS). Estos resultados demuestran que la eficiencia del pretratamiento depende tanto de la configuración de los campos magnéticos oscilantes, como del medio de cultivo *in vitro*.

Algo importante a establecer es que las variables morfológicas como cotiledón, hoja verdadera, raíz principal y número total de hojas no presentaron diferencias significativas, ya que por medio del análisis estadístico mediante pruebas no paramétricas de Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney, los resultados indican ser semejantes para las semillas que estuvieron expuestas a los pretratamientos de campos magnéticos oscilantes y el control.

Por otro lado, las pruebas de antioxidantes si presentan diferencias considerables entre las semillas expuestas a los pretratamientos antes mencionados. Los resultados de la prueba DPPH indican que el mejor pretratamiento fue cuando las semillas se expusieron por 15 minutos en ambas configuraciones de campos magnéticos oscilantes, superando por 20.52% para la configuración 2D y 15.95% para la configuración 3D al control. En esta prueba el mejor solvente fue etanol. La prueba DPPH es el primer indicador de que la activación de mecanismos antioxidantes es inducida por la estimulación con campos magnéticos oscilantes. Por medio de la prueba de Folin-Ciocalteu se evidenció un incremento fenólico total, los valores más altos corresponden al pretratamiento de campos magnéticos oscilantes 2D y tiempos de exposición de 20 minutos, tanto en diclorometano como en etanol. Estos resultados indican que, al exponerse las semillas de *A. tequilana* por más tiempo a campos magnéticos oscilantes biaxiales favorece la síntesis de compuestos fenólicos, los cuales están directamente asociados con la respuesta antioxidante ante un estrés que pueda tener la planta. La prueba CUPRAC también demostró un aumento significativo en la capacidad reductora de cobre (Cu) en los pretratamientos empleados, destacando nuevamente que el mejor pretratamiento corresponde a

20 minutos de exposición en campos magnéticos oscilantes 2D. Estos resultados sugieren que la configuración de campos magnéticos biaxiales promueve una activación metabólica más uniforme y eficaz a diferencia de la configuración triaxial, la cual si mostro resultados favorables, pero con mayor variabilidad entre los pretratamientos. Finalmente, en la prueba FRAP se repitió esta tendencia, siendo 20 minutos el mejor tiempo de exposición y los campos magnéticos oscilantes 2D la mejor configuración. Los resultados también indicaron que el etanol fue el mejor solvente, seguido por el diclorometano y finalmente, el agua. Estos resultados indicaron que, una exposición prolongada al campo magnético oscilante biaxial potencia la actividad antioxidante en las plantas.

Con base a los resultados anteriores, podemos deducir que la estimulación de semillas de *Agave tequilana* con campos magnéticos oscilantes se considera un pretratamiento favorable para la estimulación de germinación, aun cuando el lote tiene 19 años de antigüedad. Los resultados muestran que el tiempo de exposición de las semillas de *Agave tequilana* Weber Azul a tiempos de exposición entre 15 y 20 minutos a campos magnéticos oscilantes (cuya intensidad de campo fue 5.3 mT y frecuencia de 10 Hz) si representan un incremento en los marcadores de actividad antioxidante. Sin embargo, este pretratamiento no presentó resultados contundentes cuando se analizaron cambios morfológicos en el cotiledón, la hoja verdadera, la raíz principal y las hojas totales.

Estos hallazgos concuerdan con antecedentes de otras especies, por ejemplo, las semillas Quinoa, *Chenopodium quinoa*, (Wang et al., 2024) y *Calotropis procera* (Bezerra et al., 2023) fueron expuestas a campos magnéticos estacionarios con intensidades menores (2-10 en mT), pero si mostraron un aumento en los fenoles y en la capacidad antioxidante. Asimismo, estudios como las semillas de *Triticum aestivum* L. (Cecchetti et al., 2022) concuerdan que la exposición de semillas en campos magnéticos oscilantes resulta favorable en el proceso de germinación y en el vigor de las plantas cuando la intensidad del campo magnético es de 7 mT. Sin embargo, también se ha encontrado que hay efectos adversos por encima de ciertos valores de la intensidad (250 mT) en semillas de cebada (*Hordeum vulgare*) (Ercan et al., 2022).

En la mayoría de las investigaciones realizadas en semillas agrícolas se consideran campos magnéticos estacionarios, quizás por su practicidad en el montaje experimental, pero en esta investigación se consideró que la aplicación de campos magnéticos oscilantes puede establecer un precedente en el estudio de los procesos de germinación, vigor y perfil antioxidante en este tipo de semillas.

Como ya se mencionó anteriormente, también se estudió el efecto del medio de cultivo in vitro en el proceso de germinación de las semillas. Los resultados indicaron que el medio de cultivo de Agar-agua (A.A) fue el más adecuado, ya que los parámetros de germinación presentaron valores elevados con una correlación entre los resultados en comparación con el medio Murashige & Skoog (MS).

De acuerdo con la hipótesis propuesta, si hubo cambios notables en el proceso de germinación de las semillas de *Agave tequilana* después de ser expuestas a campos magnéticos oscilantes

y se considera que esta exposición induce una respuesta de estrés, la cual es beneficiosa para activar rutas fenólicas y mecanismos de defensa, como pueden ser la captación de lluvia o la activación enzimática. Algo ya identificado en otras investigaciones, como en las semillas *Chenopodium quinoa* (Wang et al., 2024). Para sustentar estas ideas es necesario realizar un análisis enzimático bioinformático, ya que permite identificar los mecanismos moleculares subyacentes al pretratamiento de semillas a estímulos externos, como ya ha sido empleado en otros trabajos con campos magnéticos estáticos (Bezerra et al., 2023; Ercan et al., 2022).

Los resultados obtenidos en este trabajo indican que la estimulación de semillas de *Agave tequilana* con campos magnéticos oscilantes puede convertirse en una estrategia sostenible y así optimizar su proceso de germinación, sin necesidad de agregar compuestos químicos. Además, se evidenció que las semillas expuestas germinaron rápidamente, este proceso se logró bajo condiciones controladas, demostrando su capacidad adaptativa a diversos entornos, como fue el medio de cultivo *in vitro*.

Desde una perspectiva biotecnológica, estos hallazgos indican que la exposición de semillas a campos magnéticos oscilantes podría considerarse como una herramienta complementaria para mejorar una capacidad antioxidante de *A. tequilana*, ya que no altera su crecimiento inicial. Adicionalmente, los resultados demuestran la capacidad de adaptación de la especie ante señales físicas externas, inclusive sin mostrar cambios morfológicos notables, las semillas y plántulas responden internamente fortaleciendo sus sistemas de defensa, como si prepararan su fisiología para un entorno más demandante, a pesar de que crecieron en un entorno controlado en sus primeros 45 días de vida. Esta alternativa tiene implicaciones positivas en la propagación masiva y conservación de la especie, asimismo aportar conocimientos sobre el entendimiento del uso de campos magnéticos sobre semillas agrícolas.

11. CONCLUSIÓN

En la actualidad, la sobreexplotación de semillas es una de las principales causas de la disminución en la variabilidad genética de diversas especies, como es el caso de la semilla *A. tequilana*. Gracias a los avances en Biotecnología, se han desarrollado bancos de germoplasmas que, aunque existen desde hace tiempo, sus condiciones han mejorado significativamente gracias a la Biotecnología vegetal, la cual ha permitido optimizar los protocolos de conservación y micropropagación con el propósito de preservar y multiplicar especies vegetales.

El perfeccionamiento de estos protocolos, especialmente para semillas en peligro de extinción, puede generar múltiples beneficios. En este contexto, la investigación presentada en este trabajo, a pesar de tratarse de un experimento piloto, mostraron resultados favorables, tanto en el pretratamiento con campos magnéticos oscilantes, como el efecto del medio de cultivo *in vitro*. En específico, los resultados obtenidos de la técnica de cultivo *in vitro* pueden dar paso a un método innovador en la propagación de la especie *Agave tequilana* Weber Azul. Resultando una propuesta alternativa a la actual, donde debido a su industrialización se ha impulsado su propagación masiva a partir de explantes, esto con el objetivo de la obtención de plantas en un menor tiempo y poder realizar el proceso de destilación para la obtención del tequila.

Los resultados obtenidos demuestran que el uso de campos magnéticos oscilantes como pretratamiento en las semillas de *Agave tequilana* podrían ayudar a generar un mayor vigor en estas, aun cuando su tiempo de recolección sea prolongado. Este trabajo no solo contribuye al campo de la Biotecnología vegetal, sino también abre nuevas perspectivas para investigaciones futuras donde se combinen conocimientos de Física y Biología en aplicaciones biotecnológicas. No obstante, se considera que es necesario realizar más pruebas fisiológicas en plántulas, como la cinética de imbibición o pruebas ante distintos pH y salinidad en el sustrato.

Sin duda, los resultados obtenidos en este trabajo podrían servir como base para explorar aplicaciones en la rama de Biotecnología alimentaria, aprovechando los metabolitos para la creación de posibles nutraceúticos.

12. PRESPECTIVAS

Gracias a la literatura analizada, el efecto de los campos magnéticos se relaciona con respuestas fisiológicas inducidas por un estrés moderado más que a interacciones directas con estructuras moleculares específicas. Diversos estudios proponen que se pueden alterar el balance redox mediante modulaciones en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales, en concentraciones controladas, actúan para generar rutas de defensa, antioxidantes y de adaptación (Sarraf et al., 2020; Pawelek et al., 2022; María Guzmán Armenteros, 2024). Asimismo, se ha propuesto que los campos magnéticos influyen en la movilidad de iones, la permeabilidad de membranas y la actividad enzimática, lo que puede desencadenar cambios en la señalización intracelular y en expresión de genes relacionados con el crecimiento y el estrés (Hafeez et al., 2023; Radhakrishnan et al., 2019; Saletnik et al., 2022). No obstante, aunque estos mecanismos han sido descritos de manera recurrente, aún no se comprende completamente cómo estas interacciones biofísicas se pueden traducir a respuestas fisiológicas favorables, lo que resalta la necesidad de estudios futuros que integren análisis moleculares, bioquímicos y biofísicos para esclarecer el origen del denominado estrés positivo inducido por campos magnéticos en plantas.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelghany, A. M., Meikhail, M. S., Abdelraheem, G. E. A., Badr, S. I., & Elsheshtawy, N. (2018). Lepidium sativum natural seed plant extract in the structural and physical characteristics of polyvinyl alcohol. *International Journal Of Environmental Studies*, 75(6), 965-977. <https://doi.org/10.1080/00207233.2018.1479564>
- Acosta-Salazar, E., Fonseca-Aguñaga, R., Warren-Vega, W. M., Zárate-Guzmán, A. I., Zárate-Navarro, M. A., Romero-Cano, L. A., & Campos-Rodríguez, A. (2021). Effect of age of agave tequilana weber blue variety on quality and authenticity parameters for the tequila 100% agave silver class: Evaluation at the industrial scale level. *Foods*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/foods10123103>
- Aerts, N., Chhillar, H., Ding, P., & Van Wees, S. C. M. (2022). Transcriptional regulation of plant innate immunity. *Essays in biochemistry*, 66(5), 607–620. <https://doi.org/10.1042/EBC20210100>
- Afzal, I., Abbasi, K. Y., Iqbal, A., Younis, A., Amir Bakhtavar, M., & Rehman, H. U. (2016). ENHANCEMENT OF ZINNIA SEED GERMINATION AND SEEDLING EMERGENCE THROUGH MAGNETIC SEED STIMULATION. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 15(5).
- Afzal, I., Abbasi, K. Y., Iqbal, A., Younis, A., Amir Bakhtavar, M., & Rehman, H. U. (2016). ENHANCEMENT OF ZINNIA SEED GERMINATION AND SEEDLING EMERGENCE THROUGH MAGNETIC SEED STIMULATION. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus*, 15(5).
- Agliassa C, Maffei ME. 2019. Reduction of geomagnetic field(gmf) to near null magnetic field (nnmf) affects some *Arabidopsis thaliana* clock genes amplitude in a light independent manner. *J Plant Physiol* 232:23–26. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2018.11.008>
- Alemán-Nava, G. S., Gatti, I. A., Parra-Saldivar, R., Dallemand, J. F., Rittmann, B. E., & Iqbal, H. M. N. (2018). Biotechnological revalorization of Tequila waste and by-product streams for

- cleaner production – A review from bio-refinery perspective. *Journal of Cleaner Production*, 172, 3713–3720. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2017.07.134>
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S. E., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I., & Özyurt, D. (2007). Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. In *Molecules* (Vol. 12, Issue 7). <https://doi.org/10.3390/12071496>
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2014). Seeds: Ecology, biogeography, and, evolution of dormancy and germination. In *Seeds: Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-00597-X>
- Baskin, C. C., & Baskin, J. M. (2014). Types of Seeds and Kinds of Seed Dormancy. *Seeds*, 37–77. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416677-6.00003-2>
- Baskin, C. C., Zackrisson, O., & Baskin, J. M. (2002). Role of warm stratification in promoting germination of seeds of *Empetrum hermaphroditum* (Empetraceae), a circumboreal species with a stony endocarp. *American journal of botany*, 89(3), 486–493. <https://doi.org/10.3732/ajb.89.3.486>
- Bautista-Montes, E., Hernández-Soriano, L., & Simpson, J. (2022). Advances in the Micropropagation and Genetic Transformation of Agave Species. In *Plants* (Vol. 11, Issue 13). <https://doi.org/10.3390/plants11131757>
- Bezerra, E. A., Carvalho, C. P. S., Costa Filho, R. N., Silva, A. F. B., Alam, M., Sales, M. v., Dias, N. L., Gonçalves, J. F. C., Freitas, C. D. T., & Ramos, M. v. (2023). Static magnetic field promotes faster germination and increases germination rate of *Calotropis procera* seeds stimulating cellular metabolism. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 49, 102650. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2023.102650>
- Bieńkowski, P., & Wyszowska, J. (2015). TECHNICZNE ASPEKTY EKSPOZYCJI NA POLE MAGNETYCZNE EKSTREMALNIE NISKICH CZĘSTOTLIWOŚCI (ELF) W BADANIACH

BIOMEDYCZNYCH [TECHNICAL ASPECTS OF EXPOSURE TO MAGNETIC FIELDS OF EXTREMELY LOW FREQUENCIES (ELF) IN BIOMEDICAL RESEARCH]. *Medycyna pracy*, 66(2), 185–197. <https://doi.org/10.13075/mp.5893.00164>

Cecchetti, D., Pawełek, A., Wyszowska, J., Antoszewski, M., & Szmidt-Jaworska, A. (2022). Treatment of Winter Wheat (*Triticum aestivum* L.) Seeds with Electromagnetic Field Influences Germination and Phytohormone Balance Depending on Seed Size. *Agronomy*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/agronomy12061423>

Chiang, C., Bånkestad, D., & Hoch, G. (2020). Reaching natural growth: The significance of light and temperature fluctuations in plant performance in indoor growth facilities. *Plants*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/plants9101312>

da Silva, J. A., & Dobránszki, J. (2016). Magnetic fields: how is plant growth and development impacted?. *Protoplasma*, 253(2), 231–248. <https://doi.org/10.1007/s00709-015-0820-7>

Davis, S. C., & Ortiz-Cano, H. G. (2023). Lessons from the history of Agave: ecological and cultural context for valuation of CAM. *Annals of botany*, 132(4), 819–833. <https://doi.org/10.1093/aob/mcad072>

Delgado-Aceves, L., González-Arno, M. T., Santacruz-Ruvalcaba, F., Folgado, R., & Portillo, L. (2021). Indirect somatic embryogenesis and cryopreservation of agave tequilana weber cultivar 'chato.' *Plants*, 10(2). <https://doi.org/10.3390/plants10020249>

Efthimiadou, A., Katsenios, N., Karkanis, A., Papastylianou, P., Triantafyllidis, V., Travlos, I., & Bilalis, D. J. (2014). Effects of presowing pulsed electromagnetic treatment of tomato seed on growth, yield, and lycopene content. *TheScientificWorldJournal*, 2014, 369745. <https://doi.org/10.1155/2014/369745>

Ercan, I., Tombuloglu, H., Alqahtani, N., Alotaibi, B., Bamhrez, M., Alshumrani, R., Ozcelik, S., & Kayed, T. S. (2022). Magnetic field effects on the magnetic properties, germination,

- chlorophyll fluorescence, and nutrient content of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 170, 36–48. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2021.11.033>
- Espitia, M., Cardona, C., & Araméndiz, H. (2016). Pruebas de germinación de semillas de forestales nativos de Córdoba, Colombia, en laboratorio y casa-malla. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 19(2). <https://doi.org/10.31910/rudca.v19.n2.2016.84>
- Fidalgo-Used, N., Blanco-González, E., & Sanz-Medel, A. (2007). Sample handling strategies for the determination of persistent trace organic contaminants from biota samples. In *Analytica Chimica Acta* (Vol. 590, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.03.004>
- Foschi, M. L., Juan, M., Pascual, B., & Pascual-Seva, N. (2022). The Imbibition, Viability, and Germination of Caper Seeds (*Capparis spinosa* L.) in the First Year of Storage. *Plants*, 11(2), 202. <https://doi.org/10.3390/plants11020202>
- Fukumoto, L. R., & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8). <https://doi.org/10.1021/jf000220w>
- Gautam, N., Faroda, P., Agarwal, T., Harish, N., & Gupta, A. K. (2024). Effect of microclimatic physical factors on in vitro morphogenesis of plants: a systematic review. *Discover Agriculture*, 2(1). <https://doi.org/10.1007/s44279-024-00022-5>
- Gentry, H. S. (1982). Group Rigidiae. In *Agaves of Continental North America* (pp. 551–593). University of Arizona Press. <https://doi.org/10.2307/j.ctv1t4m2h4.28>
- Gentry, H. S. (2021). *Agaves of Continental North America*. In *Agaves of Continental North America*. <https://doi.org/10.2307/j.ctv1t4m2h4>
- Gong, J., Li, J., Xu, J., Xiang, Z., & Mo, L. (2017). Research on cellulose nanocrystals produced from cellulose sources with various polymorphs. *RSC Advances*, 7(53). <https://doi.org/10.1039/c7ra06222b>

- Hafeez, M. B., Zahra, N., Ahmad, N., Shi, Z., Raza, A., Wang, X., & Li, J. (2023). Growth, physiological, biochemical and molecular changes in plants induced by magnetic fields: A review. *Plant Biology*, 25(1). <https://doi.org/10.1111/plb.13459>
- Hall, R. M., Urban, B., Skálová, H., Moravcová, L., Sölter, U., Starfinger, U., Kazinczi, G., van Valkenburg, J., Fenesi, A., Konstantinovic, B., Uludag, A., Lommen, S., & Karrer, G. (2021). Seed viability of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) is affected by seed origin and age, but also by testing method and laboratory. *NeoBiota*, 70, 193–221. <https://doi.org/10.3897/NEOBIOTA.70.66915>
- He, Z., Webster, S., & He, S. Y. (2022). Growth-defense trade-offs in plants. *Current biology : CB*, 32(12), R634–R639. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.04.070>
- Hussain, A., Ahmed, I., Nazir, H., & Ullah, I. (2012). Plant Tissue Culture: Current Status and Opportunities. In *Recent Advances in Plant in vitro Culture*. <https://doi.org/10.5772/50568>
- Hwang, H. D., Kwon, S. H., Murthy, H. N., Yun, S. W., Pyo, S. S., & Park, S. Y. (2022). Temporary Immersion Bioreactor System as an Efficient Method for Mass Production of In Vitro Plants in Horticulture and Medicinal Plants. *Agronomy*, 12(2). <https://doi.org/10.3390/agronomy12020346>
- I.M., A., & M., A. (2012). Plant Tissue Culture Media. In *Recent Advances in Plant in vitro Culture*. <https://doi.org/10.5772/50569>
- Ikram, M., Khalid, B., Batool, M., Ullah, M., Zitong, J., Rauf, A., Rao, M. J., Rehman, H. U., Kuai, J., Xu, Z., Zhao, J., Wang, J., Zhou, G., & Wang, B. (2025). Secondary metabolites as biostimulants in salt stressed plants: mechanisms of oxidative defense and signal transduction. *Plant Stress*, 16, 100891. <https://doi.org/10.1016/J.STRESS.2025.100891>
- Ivanov, I. V. & Sokolova, L.A. (2025). Seeds germination in constant magnetic field. *BIO Web Conf.*, 160, 01014 <https://doi.org/10.1051/bioconf/202516001014>
- Jiménez-Barron, O., García-Sandoval, R., Magallón, S., García-Mendoza, A., Nieto-Sotelo, J., Aguirre-Planter, E., & Eguiarte, L. E. (2020). Phylogeny, Diversification Rate, and Divergence

Time of Agave sensu lato (Asparagaceae), a Group of Recent Origin in the Process of Diversification. *Frontiers in plant science*, 11, 536135.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.536135>

Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2002). Anti-oxidant activity and total phenolic content of some asian vegetables. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(2).
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00552.x>

Kırdar, E., Yücedağ, C. y Balaban, B. (2016). Efectos del campo magnético en la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de pino piñonero. *Journal of Forests*, 3 (1), 1–6.
<https://doi.org/10.18488/journal.101/2016.3.1/101.1.1.6>

Konefał-Janocha, M., Banaś-Ząbczyk, A., Bester, M., Bocak, D., Budzik, S., Górny, S., Larsen, S., Majchrowski, K., & Cholewa, M. (2019). The effect of stationary and variable electromagnetic fields on the Germination and early growth of radish (*Raphanus sativus*). *Polish Journal of Environmental Studies*, 28(2). <https://doi.org/10.15244/pjoes/84920>

Koukounaras, A., Boursianis, A., Kostas, S., Theopoulos, A., Bantis, F., & Samaras, T. (2023). Pre-Sowing Static Magnetic Field Treatment of Vegetable Seeds and Its Effect on Germination and Young Seedlings Development. *Seeds*, 2(4), 394-405.
<https://doi.org/10.3390/seeds2040030>

Lara Morales, L. (2023). Síntesis y evaluación del triacetato de (25R)-5-hidroxi-6,22-dioxo-5 α -colestano-3 β ,16 β ,26-triilo como promotor de la germinación de Agave guiesbreghtii. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla <https://hdl.handle.net/20.500.12371/18905>

Ledesma-Motolinía, M., Carrillo-Estrada, J. L., & Donado, F. (2021). Crystallisation in a two-dimensional granular system at constant temperature. *Scientific Reports*, 11(1).
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-96099-9>

Leva, A. y Rinaldi, L. (Eds.). (2012). Avances recientes en el cultivo in vitro de plantas

- Mahajan, TS y Pandey, OP (2014). Modelo de tiempo magnético en germinación fuera de temporada. *International Agrophysics* , 28 (1).
- María Guzmán Armenteros, T. (2024). *Unraveling the Dynamics of Electromagnetic Fields in Legume Crop Cultivation*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1007757>
- Mroczek-Zdyrska, M., Tryniecki, Kornarzyński, K., Pietruszewski, S., & Gagoś, M. (2016). INFLUENCE OF MAGNETIC FIELD STIMULATION ON THE GROWTH AND BIOCHEMICAL PARAMETERS IN PHASEOLUS VULGARIS L. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 5(6), 548–551. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.5.6.548-551>
- Muriá, J. M. (2016). El famoso tequila: (2 ed.). Editorial Miguel Ángel Porrúa. <https://elibro.bibliotecabuap.elogim.com/es/lc/bibliotecasbuap/titulos/38771>
- Nadarajan, J., Walters, C., Pritchard, H. W., Ballesteros, D., & Colville, L. (2023). Seed Longevity—The Evolution of Knowledge and a Conceptual Framework. In *Plants* (Vol. 12, Issue 3). <https://doi.org/10.3390/plants12030471>
- Nobel, P.S. (1988). *Environmental Biology of Agaves and Cacti*. New York: Cambridge University Press. 270 pp
- Palacios Hinestroza, H., Hernández Díaz, J. A., Esquivel Alfaro, M., Toriz, G., Rojas, O. J., & Sulbarán-Rangel, B. C. (2019). Isolation and Characterization of Nanofibrillar Cellulose from Agave tequilana Weber Bagasse. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/1342547>
- Pawełek, A., Owusu, S. A., Cecchetti, D., Zielińska, A., & Wyszowska, J. (2022). What evidence exists of crop plants response to exposure to static magnetic and electromagnetic fields? A systematic map protocol. *Environmental Evidence*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/s13750-022-00292-w>
- Pinal, L., Cornejo, E., Arellano, M., Herrera, E., Nuñez, L., Arrizon, J., & Gschaedler, A. (2009). Effect of Agave tequilana age, cultivation field location and yeast strain on tequila fermentation

process. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(5).
<https://doi.org/10.1007/s10295-009-0534-y>

Pinal, L., Cornejo, E., Arellano, M., Herrera, E., Nuñez, L., Arrizon, J., & Gschaedler, A. (2009). Effect of Agave tequilana age, cultivation field location and yeast strain on tequila fermentation process. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 36(5).
<https://doi.org/10.1007/s10295-009-0534-y>

Poinapen D, Toppozini L, Dies H *et al.* 2013; Static magnetic fields enhance lipid order in native plant plasma membrane. *Soft Matter* 9: 6804–6813. DOI
<https://doi.org/10.1039/C3SM50355K>

Pradhan, N., Fan, X., Martini, F., Chen, H., Liu, H., Gao, J., & Goodale, U. M. (2022). Seed viability testing for research and conservation of epiphytic and terrestrial orchids. *Botanical Studies*, 63(1). <https://doi.org/10.1186/s40529-022-00333-0>

Qian, H., Pan, S., & Wu, S. (2026). Combined effects of chitosan-ginger essential oil coating on maize seed preservation: Enhancing insect resistance, fungal protection, antioxidant defense, and germination. *Journal of Stored Products Research*, 115, 102885.
<https://doi.org/10.1016/J.JSPR.2025.102885>

Radhakrishnan, R. (2019). Magnetic field regulates plant functions, growth and enhances tolerance against environmental stresses. In *Physiology and Molecular Biology of Plants* (Vol. 25, Issue 5). <https://doi.org/10.1007/s12298-019-00699-9>

Rai, M. K., Kalia, R. K., Singh, R., Gangola, M. P., & Dhawan, A. K. (2011). Developing stress tolerant plants through in vitro selection—An overview of the recent progress. *Environmental and Experimental Botany*, 71(1), 89–98. <https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2010.10.021>

Ramírez-Tobías, H. M., Peña-Valdivia, C. B., Trejo, C., Aguirre R., J. R., & Humberto Vaquera, H. (2014). Seed germination of Agave species as influenced by substrate water potential. *Biological Research*, 47(1). <https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-11>

- Ramírez-Tobías, H. M., Peña-Valdivia, C. B., Trejo, C., Aguirre R., J. R., & Humberto Vaquera, H. (2014). Seed germination of Agave species as influenced by substrate water potential. *Biological Research*, 47(1). <https://doi.org/10.1186/0717-6287-47-11>
- Ranal, M. A., & de Santana, D. G. (2006). How and why to measure the germination process? In *Revista Brasileira de Botanica* (Vol. 29, Issue 1). <https://doi.org/10.1590/S0100-84042006000100002>
- Ranucci, E., Treccani, S., Ferruti, P., & Alongi, J. (2024). The Seed Germination Test as a Valuable Tool for the Short-Term Phytotoxicity Screening of Water-Soluble Polyamidoamines. *Polymers*, 16(12), 1744. <https://doi.org/10.3390/polym16121744>
- S. Kataria, L. Baghel, K.N. Guruprasad (2017). Pre-treatment of seeds with static magnetic field improves germination and early growth characteristics under salt stress in maize and soybean. *Biocatalysis agric biotechnol*, 10, pp. 83-90 <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.02.010>
- S. Minucci, G. Calabrò, S. Astolfi and E. Campiglia, "Effects of static magnetic fields on the germination and early growth of durum wheat seeds," *2019 19th International Symposium on Electromagnetic Fields in Mechatronics, Electrical and Electronic Engineering (ISEF)*, Nancy, France, 2019, pp. 1-2, doi: 10.1109/ISEF45929.2019.9097059.
- Saletnik, B., Saletnik, A., Słysz, E., Zaguła, G., Bajcar, M., Puchalska-Sarna, A., & Puchalski, C. (2022). The Static Magnetic Field Regulates the Structure, Biochemical Activity, and Gene Expression of Plants. In *Molecules*
- Sarraf, M., Kataria, S., Taimourya, H., Santos, L. O., Menegatti, R. D., Jain, M., Ihtisham, M., & Liu, S. (2020). Magnetic field (MF) applications in plants: An overview. In *Plants* (Vol. 9, Issue 9). <https://doi.org/10.3390/plants9091139>
- Sirirungruang, S., Markel, K., & Shih, P. M. (2022). Plant-based engineering for production of high-valued natural products. *Natural product reports*, 39(7), 1492–1509. <https://doi.org/10.1039/d2np00017b>

- Soto-Ortiz Saraluz, Lopez-Castillo Guiee N, Victorino Alatraste, Marin-Torres J. Lucina, Morales-Sandoval I. Paulina, & Carrasco-Carballo Alan. (2023). Loeselia mexicana: Antioxidant and antimicrobial properties by Soxhlet differential extraction. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 23(2). <https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.23.2.0196>
- Stewart, J. R. (2015). Agave as a model CAM crop system for a warming and drying world. In *Frontiers in Plant Science* (Vol. 6, Issue September). <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00684>
- Tang, J., Alsop, R. J., Schmalzl, K., Epand, R. M., & Rheinstädter, M. C. (2015). Strong Static Magnetic Fields Increase the Gel Signal in Partially Hydrated DPPC/DMPC Membranes. *Membranes*, 5(4), 532–552. <https://doi.org/10.3390/membranes5040532>
- Tang, Y., Zhang, K., Zhang, Y., & Tao, J. (2019). Dormancy-breaking and germination requirements for seeds of *Sorbus alnifolia* (Siebold & Zucc.) K.Koch (Rosaceae), a mesic forest tree with high ornamental potential. *Forests*, 10(4). <https://doi.org/10.3390/f10040319>
- Tano, R. L. (2023). Effect of Pre-Sowing Treatments on *Mamalis* (&i&t;Pittosporum pentandrum&t;/i&t; Blanco Merr.) Seeds Germination under Nursery Condition. *Open Journal of Ecology*, 13(02). <https://doi.org/10.4236/oje.2023.132009>
- Valenzuela-Zapata, A. G. (1985). The tequila industry in Jalisco, Mexico.
- Van der Walt, K., & Witkowski, E. T. F. (2017). Seed viability, germination and seedling emergence of the critically endangered stem succulent, *Adenium swazicum*, in South Africa. *South African Journal of Botany*, 109, 237–245. <https://doi.org/10.1016/J.SAJB.2017.01.011>
- Vashisth, A., & Joshi, D. K. (2017). Growth characteristics of maize seeds exposed to magnetic field. *Bioelectromagnetics*, 38(2), 151–157. <https://doi.org/10.1002/bem.22023>
- Vashisth, A., & Nagarajan, S. (2008). Exposure of seeds to static magnetic field enhances germination and early growth characteristics in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Bioelectromagnetics*, 29(7), 571–578. <https://doi.org/10.1002/bem.20426>

- Vashisth, A., & Nagarajan, S. (2010). Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. *Journal of plant physiology*, 167(2), 149–156. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.08.011>
- Vázquez-Martínez, O., Núñez-Palenius, H. G., Balch, E. M. P. M., Valencia-Posadas, M., Pérez-Moreno, L., Ruiz-Aguilar, G. M. L., & Gómez-Lim, M. (2021). In Vitro-Propagation of Agave tequilana Weber cv. azul in a Temporary Immersion System. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 91(1), 83–96. <https://doi.org/10.32604/PHYTON.2022.017281>
- Wang, S., Zhang, X., Fan, Y., Wang, Y., Yang, R., Wu, J., Xu, J., & Tu, K. (2024). Effect of magnetic field pretreatment on germination characteristics, phenolic biosynthesis, and antioxidant capacity of quinoa. *Plant Physiology and Biochemistry*, 212, 108734. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2024.108734>
- Waterworth, W., Balobaid, A., & West, C. (2024). Seed longevity and genome damage. In *Bioscience Reports* (Vol. 44, Issue 2). <https://doi.org/10.1042/BSR20230809>
- Yastreba, T. O., Shevchenko, M. v., Kobzyeva, L. N., Oboznyi, A. I., & Kolupaev, Y. E. (2025). β -Aminobutyric Acid Promotes Germination of Aged Triticale Seeds and Alleviates Oxidative Stress. *Phyton-International Journal of Experimental Botany*, 94(10), 3125–3143. <https://doi.org/10.32604/PHYTON.2025.071822>
- Yépez, L. D., Carrillo, J. L., Donado, F., Sausedo-Solorio, J. M., & Miranda-Romagnoli, P. (2016). Dynamical pattern formation in a low-concentration magnetorheological fluid under two orthogonal sinusoidal fields. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 408. <https://doi.org/10.1016/j.jmmm.2016.02.034>
- Zulfisa, Z., Fika, R., Agusfina, M., Yonrizon, Y., & Muhsanah, A. (2023). Determination of Total Phenolic Content of Ethanol Extract of Broken Bone Twigs (*Euphorbia tirucalli* Linn.) by Folin-Ciocalteu Method Spectrophotometrically. *Jurnal EduHealth*, 14(3). <https://doi.org/10.54209/jurnaleduhealth.v14i3.2603>