



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES**

**PROPAGACIÓN ASEXUAL DE  
CLONES SELECCIONADOS DE  
*Cedrela odorata* L.**

SALVADOR SAMPAYO MALDONADO

T E S I S  
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2015

La presente tesis titulada: “**Propagación asexual de clones seleccionados de *Cedrela odorata* L.**” realizada por el alumno: **Salvador Sampayo Maldonado** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS  
EN CIENCIAS FORESTALES

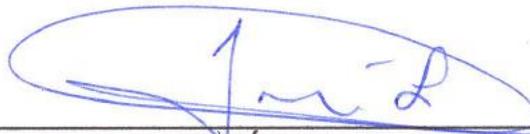
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



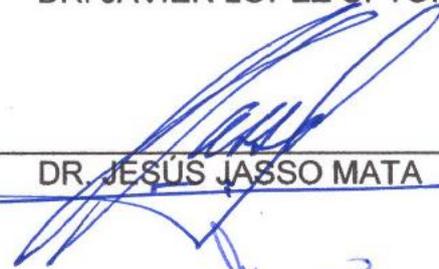
DR. MARCOS JIMÉNEZ CASAS

ASESOR



DR. JAVIER LÓPEZ UPTON

ASESOR



DR. JESÚS JASSO MATA

ASESOR



DR. ARMANDO EQUIHUA MARTÍNEZ

ASESOR



DR. CARLOS ROMÁN CASTILLO MARTÍNEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Diciembre de 2015

## RESUMEN GENERAL

### PROPAGACIÓN ASEJUAL DE CLONES SELECCIONADOS DE *Cedrela odorata* L.

Salvador Sampayo Maldonado, Dr.  
COLEGIO DE POSTGRADUADOS, 2015

*Cedrela odorata* L. es la especie más rentable para establecer plantaciones comerciales y la de mayor importancia para la industria forestal de México. El objetivo fue seleccionar clones superiores de *C. odorata* y desarrollar protocolos para su propagación. Se estimaron los parámetros genéticos de un ensayo clonal de 40 clones superiores selectos en el Campo Experimental El Palmar, en Tezonapa, Veracruz. Después se desarrollaron protocolos para el enraizamiento de estacas, acodos en contenedor, acodos aéreos e *in vitro* para propagar los materiales seleccionados. Se realizó un análisis de la calidad de semilla del huerto semillero del mismo Campo Experimental y su germinación *in vitro*. Seleccionar los mejores 4 clones de 40 dara un aumento de 350% en volumen con una reducción en la incidencia y mejora la respuesta al ataque del barrenador. Los tratamientos de anillado completo con 10,000 y 1,000 mg L<sup>-1</sup> de AIB promovieron el mayor porcentaje (90 %) de acodos enraizados. Usando estacas de tipo apical, con 1,500 ppm de AIB puestas a enraizar en agrolita se obtuvo el mayor enraizamiento (90 %). En la interacción del genotipo y la aplicación de 1,500 ppm de AIB se obtuvo el mejor enraizamiento (95 %) de acodos aéreos. En el establecimiento *in vitro* se obtuvo el 55 %, en la fase de multiplicación se obtuvo el 95 % brotes y el 64 % de enraizamiento, mientras que en la fase de enraizamiento se elevó el enraizado a 77.6 %. Después de doce meses de almacenamiento las semillas presentaron un contenido de humedad bajo, pero no afectó la viabilidad (97.7 %) ni la germinación (87.7 %). El medio MS más carbón activado fue donde se obtuvo la mayor germinación *in vitro* (59.5 %). Los resultados indicaron que se pueden seleccionar clones más productivos y es posible propagar a *C. odorata* mediante técnicas de propagación asexual.

**Palabras clave:** *Cedrela odorata*, parámetros genéticos, propagación asexual, enraizamiento, clones.

## GENERAL ABSTRACT

### ASEXUAL PROPAGATION OF SELECTED CLONES *Cedrela odorata* L.

Salvador Sampayo Maldonado  
COLEGIO DE POSTGRADUADOS, 2015

*Cedrela odorata* L. is the most profitable tree to establish commercial plantations and more important for the forest industry of Mexico. The objective was to select superior clones of *C. odorata* and to develop protocols for propagation. Genetic parameters of a clonal test with 40 superior clones were estimated at the El Palmar Experimental Station in Tezonapa, Veracruz. Protocols for rooting cuttings, for layering in container and for air layering were developed to propagate selected materials. An analysis of the quality of seed of the same seed orchard Experimental and germination *in vitro* was performed. Selection of the best 4 out of 40 clones will give an increase of 350% in volumen with a reduction in the incidence and a better response (tolerance) to the borer attack. Treatments full ringed with 10,000 and 1,000 mg L<sup>-1</sup> of AIB promoted the highest percentage (90 %) of layering rooted. Using cuttings apical type, with 1,500 ppm of AIB agrolita put to root in the greatest rooting (90 %) was obtained. In the interaction of genotype and application of 1,500 ppm of AIB best rooting (95 %) of air layers it was obtained. *In vitro* establishment 55 %, in the multiplication phase outbreaks 95 % and 64 % rooting was obtained, while the rooting rooting phase was raised to 77.6 % was obtained. After twelve months of storage seeds, they had a low moisture content, but did not affect the viability (97.7 %) and germination (87.7 %). MS medium was most activated carbon where most germination *in vitro* (59.5 %) was obtained. The results indicated that you can select more productive clones and may spread to *C. odorata* by asexual propagation techniques.

**Keywords:** *Cedrela odorata*, genetic parameters, asexual propagation, rooting clones.

## AGRADECIMIENTOS

### A DIOS POR SU AMOR Y SUS BENDICIONES QUE SON INFINITAS.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por la beca para la realización de éste viaje de cuatro años, llamado Doctorado.

Al **Colegio de Postgraduados (COLPOS)** por la oportunidad de ser parte de su historia.

Al **Postgrado en Ciencias Forestales** por darme las alas y el pasaporte. El apoyo y las facilidades para lograr el presente escrito, como resultado de la investigación.

Al **Campo Experimental El Palmar** del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por las facilidades prestadas para la realización de la presente investigación.

Al **Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG)** del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por las facilidades prestadas para la realización de la parte de Propagación *in vitro* y el análisis de las semillas.

A los integrantes de mi **Consejo particular** por su paciencia, amistad, sus consejos y por los buenos momentos. Pero sobre todo por esfuerzo y dedicación. Este resultado es de todo el equipo. Fue un honor trabajar juntos.

Al **Dr. Marcos Jiménez Casas** mi más sincero agradecimiento por su apoyo constante,

Al **Dr. Javier López Upton** por su gran constancia en el objetivo de terminar la investigación y su apoyo constante.

Al **Dr. Jesús Jasso Mata** por sus consejos y atinadas recomendaciones.

Al **Dr. Armando Equihua Martínez** por su gran disposición e interés por ayudar y sus valiosas aportaciones.

Al **Dr. Carlos R. Castillo Martínez** por su invaluable apoyo en cada etapa de la tesis.

Al **Dr. Carlos Ramírez Herrera** por su participación en la tesis como sinodal.

Al **MC. Vicente Sánchez Molsalvo** por las facilidades prestadas para la presente investigación, así como el aporte de su experiencia en la especie de estudio.

A TODOS LOS QUE DIRECTA E INDIRECTAMENTE SIEMPRE ESTUVIERON AHÍ PARA IMPULSAR Y ANIMAR.

## DEDICATORIAS

DEDICO ESTE PEQUEÑO GRAN LOGRO

A MI PADRE SALVADOR SAMPAYO SÁNCHEZ.

A MIS HERMANOS: LUZ MARÍA, ELPIDIO, AYLIN, MISAEL Y  
MARÍA ESTHER.

A MIS SOBRINOS: ELIZAMA, LIZEL, KAREN ORLETH,  
SANTIAGO Y REGINA SOFÍA.

A MIS PRIMOS: SERGIO, AURELIO, DORA MARIA, EFRAIN,  
JORGE, CARMELITA, GRISELDA, ADAN, DAVID.

A MIS AMIGOS: QUE POR SER TAN NUMEROSOS NO  
QUISIERA DEJAR A ALGUNO FUERA. PERO ES UN HONOR  
TENER SU AMISTAD.

A MIS COMPAÑEROS DEL POSTGRADO FORESTAL POR SU  
APOYO DESINTERESADO Y POR LAS LARGAS CHARLAS Y  
LAS BUENAS CONVIVENCIAS.

AL MC. DAVID GARCÍA CINTORA Y SU FAMILIA POR SU  
GRAN AMISTAD.

A MI COMITÉ DE TESIS POR SU ESFUERZO Y DEDICACIÓN.

A LOS QUE SIEMPRE LLEVÓ EN MI CORAZÓN: MI MAMÁ,  
PETRA, A MI HERMANITA SARAÍ, A MI ABUELITO ELPIDIO  
Y MI ABUELITA IRENE.

## ÍNDICE GENERAL

<b>RESUMEN GENERAL</b> .....	ii
<b>GENERAL ABSTRACT</b> .....	iii
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iv
<b>DEDICATORIA</b> .....	v
<b>CONTENIDO</b> .....	vi
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	xiii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	xvi
<b>CAPITULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	1
1.1. IMPORTANCIA DE <i>Cedrela odorata</i> L.....	1
1.2. INTERACCIÓN <i>Cedrela odorata</i> L. – <i>Hypsipyla grandella</i> ZELLER.....	2
1.3. MECANISMOS DE RESISTENCIA.....	4
1.4. IMPLICACIONES DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN <i>C. odorata</i> L.....	7
1.5. PROPAGACIÓN ASEXUAL.....	8
1.6. LITERATURA CITADA.....	9
<b>CAPITULO II. PARÁMETROS GENÉTICOS EN EDADES JUVENILES DE CLONES DE <i>Cedrela odorata</i> L</b> .....	15
2.1. RESUMEN.....	15
2.2. ABSTRACT.....	16
2.3. INTRODUCCIÓN.....	17
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
2.4.1. Localización del ensayo.....	19
2.4.2. Material vegetal y diseño experimental.....	19

2.4.3. Variables evaluadas.....	20
2.4.4. Análisis estadístico.....	21
2.4.5. Parámetros genéticos.....	22
2.4.6. Respuesta a la selección.....	23
2.5. RESPUESTA Y DISCUSIÓN.....	25
2.5.1. Valores medios de las características de crecimiento y respuesta al ataque de <i>Hypsipyla grandella</i> .....	25
2.5.2. Variación y control genético de las características evaluadas.....	28
2.5.3. Correlaciones genéticas y fenotípicas entre características.....	30
2.5.4. Respuesta esperada a la selección.....	32
2.5.5. Ganancia genética.....	33
2.5.6. Selección indirecta.....	35
2.5.7. Implicaciones para el mejoramiento genético.....	37
2.6. CONCLUSIONES.....	38
2.7. LITERATURA CITADA.....	38
<b>CAPITULO III. ENRAIZAMIENTO DE ACODOS EN CONTENEDOR PARA ELIMINAR EL USO DEL PATRÓN EN INJERTOS DE <i>Cedrela odorata</i> L.....</b>	<b>45</b>
3.1. RESUMEN.....	45
3.2. ABSTRACT.....	46
3.3. INTRODUCCIÓN.....	47
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
3.4.1. Localización.....	49
3.4.2. Material vegetal.....	49
3.4.3. Variables por evaluar.....	51

3.4.4. Diseño y análisis experimental.....	51
3.5. RESULTADOS.....	53
3.5.1. Enraizamiento por tipo de corte.....	53
3.5.2. Enraizamiento por dosis de AIB.....	54
3.5.3. Enraizamiento por la interacción tipo de corte y dosis de AIB.....	55
3.6. DISCUSIÓN.....	57
3.6.1. Enraizamiento por tipo de corte.....	57
3.6.2. Enraizamiento por dosis de AIB.....	58
3.6.3. Enraizamiento por la interacción tipo de corte y dosis de AIB.....	59
3.7. CONCLUSIONES.....	60
3.8. LITERATURA CITADA.....	60

**CAPITULO IV. EFECTO DEL SUSTRATO, EL TIPO DE ESTACA Y ÁCIDO  
INDOLBUTÍRICO (AIB) SOBRE LA CAPACIDAD DE ENRAIZADO DE  
ESTACAS JUVENILES DE *Cedrela odorata* L.....**

4.1. RESUMEN.....	67
4.2. ABSTRACT.....	68
4.3. INTRODUCCIÓN.....	69
4.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	72
4.4.1. Localización y material vegetal.....	72
4.4.2. Producción de estacas.....	72
4.4.3. Preparación del sustrato.....	73
4.4.4. Establecimiento del experimento.....	73
4.4.5. Diseño experimental y evaluación de variables.....	74
4.5. RESULTADOS.....	76

4.5.1. Efecto del sustrato.....	76
4.5.2. Efecto de la dosis de AIB.....	78
4.5.3. Efecto del tipo de estacas.....	79
4.5.4. Efecto de la interacción entre factores.....	79
4.6. DISCUSIÓN.....	80
4.6.1. Efecto del sustrato.....	80
4.6.2. Efecto de la dosis de AIB.....	80
4.6.3. Efecto del tipo de estacas.....	81
4.6.4. Efecto de la interacción entre factores.....	82
4.7. CONCLUSIONES.....	84
4.8. LITERATURA CITADA.....	85
<b>CAPITULO V. MULTIPLICACIÓN CLONAL POR ACODOS AÉREOS EN</b>	
<b><i>Cedrela odorata</i> L.....</b>	<b>92</b>
5.1. RESUMEN.....	92
5.2. ABSTRACT.....	93
5.3. INTRODUCCIÓN.....	94
5.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	96
5.4.1. Localización.....	96
5.4.2. Material vegetal.....	96
5.4.3. Variables por evaluar.....	97
5.4.4. Diseño y análisis experimental.....	97
5.5. RESULTADOS.....	99
5.5.1. Efecto del genotipo.....	99
5.5.2. Efecto por dosis de AIB.....	100

5.5.3. Efecto por la interacción del genotipo y dosis de AIB.....	101
5.6. DISCUSIÓN.....	103
5.6.1. Efecto del genotipo.....	103
5.6.2. Efecto por dosis de AIB.....	104
5.6.3. Efecto por la interacción del genotipo y dosis de AIB.....	105
5.7. CONCLUSIONES.....	107
5.8. LITERATURA CITADA.....	107
<b>CAPITULO VI. EFECTO DEL MEDIO DE CULTIVO EN LA PROPAGACIÓN <i>in vitro</i> DE GENOTIPOS SELECCIONADOS DE <i>Cedrela odorata</i> L.....</b>	<b>113</b>
6.1. RESUMEN.....	113
6.2. ABSTRACT.....	114
6.3. INTRODUCCIÓN.....	115
6.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	117
6.4.1. Establecimiento.....	117
6.4.2. Fase de multiplicación.....	119
6.4.3. Fase de enraizamiento.....	120
6.4.4. Diseño experimental.....	121
6.5 RESULTADOS.....	122
6.5.1. Establecimiento.....	122
6.5.2. Fase de multiplicación.....	125
6.5.3. Fase de enraizamiento.....	126
6.6. DISCUSIÓN.....	128
6.6.1. Establecimiento.....	128
6.6.2. Fase de multiplicación.....	128

6.6.3. Fase de enraizamiento.....	130
6.7. CONCLUSIONES.....	132
6.8. LITERATURA CITADA.....	132
<b>CAPITULO VII. CALIDAD FÍSICA Y FISIOLÓGICA EN SEMILLAS DE DIEZ FAMILIAS DE <i>Cedrela odorata</i> L. Y EL EFECTO DE LA ESCARIFICACIÓN DESPUES DE DOCE MESES DE ALMACENAMIENTO.....</b>	<b>138</b>
7.1. RESUMEN.....	138
7.2. ABSTRACT.....	139
7.3. INTRODUCCIÓN.....	140
7.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	142
7.4.1. Origen de las semillas.....	142
7.4.2. Análisis de calidad física de semillas de <i>C. odorata</i> .....	143
7.4.3. Análisis de calidad fisiológica de semillas de <i>C. odorata</i> .....	143
7.4.4. Evaluación de semillas de <i>C. odorata</i> con escarificación.....	145
7.4.5. Diseño y Análisis experimental.....	146
7.5. RESULTADOS.....	148
7.5.1. Calidad física y fisiológica de semillas de <i>C. odorata</i> .....	148
7.5.2. Germinación de semillas de <i>C. odorata</i> con escarificación.....	151
7.6. DISCUSIÓN.....	153
7.6.1. Calidad física y fisiológica de semillas de <i>C. odorata</i> .....	153
7.6.2. Germinación de semillas de <i>C. odorata</i> con escarificación.....	155
7.7. CONCLUSIONES.....	157
7.8. LITERATURA CITADA.....	158

<b>CAPITULO VIII. EFECTO DE LA ESCARIFICACIÓN Y EL MEDIO DE CULTIVO</b>	
<b>EN LA GERMINACIÓN <i>in vitro</i> DE SEMILLAS DE <i>Cedrela odorata</i> L.....</b>	<b>162</b>
8.1. RESUMEN.....	162
8.2. ABSTRACT.....	163
8.3. INTRODUCCIÓN.....	164
8.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	165
8.4.1. Origen de las semillas.....	165
8.4.2. Preparación de medios de cultivo.....	166
8.4.3. Tren de desinfección en semillas.....	167
8.4.4. Siembra de semillas en medios de cultivo.....	167
8.4.5. Análisis de datos.....	167
8.5. RESULTADOS.....	169
8.5.1. Efecto del tratamiento de escarificación.....	169
8.5.2. Efecto del medio de cultivo.....	170
8.5.3. Efecto de la familia.....	172
8.5.4. Efecto de la interacción entre factores.....	173
8.6. DISCUSIÓN.....	173
8.6.1. Efecto del tratamiento de escarificación.....	173
8.6.2. Efecto del medio de cultivo.....	174
8.6.3. Efecto de la familia.....	175
8.6.4. Efecto de la interacción entre factores.....	175
8.7. CONCLUSIONES.....	176
8.8. LITERATURA CITADA.....	176
<b>CAPITULO IX. CONCLUSIONES GENERALES.....</b>	<b>182</b>

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 2.1.</b> Respuesta de los rametos de 40 clones superiores de <i>Cedrela odorata</i> al ataque de <i>Hypsipyla grandella</i> .....	27
<b>Cuadro 2.2</b> Componentes de varianza de clones ( $\sigma^2_c$ ), del error ( $\sigma^2_e$ ) y fenotípica total ( $\sigma^2_p$ ) y valores de heredabilidad de rametos ( $H^2_i$ ) y de las medias de clones ( $H^2_c$ ) para características de crecimiento y resistencia a <i>Hypsipyla grandella</i> en un ensayo clonal de <i>Cedrela odorata</i> de 20 meses de edad.....	29
<b>Cuadro 2.3.</b> Correlaciones genéticas (por debajo de la diagonal) y fenotípicas (por encima de la diagonal) de las variables evaluadas en un ensayo clonal de <i>Cedrela odorata</i> .....	32
<b>Cuadro 2.4.</b> Valores promedio de cada variable evaluada en los mejores cuatro clones de <i>Cedrela odorata</i> , intensidad de selección del 10 %.....	33
<b>Cuadro 2.5.</b> Media general, diferencial de selección, respuesta a la selección y ganancia genética de los cuatro mejores clones en las variables evaluadas.....	34
<b>Cuadro 2.6.</b> Ganancia genética para el volumen si se seleccionan clones con otra variable distinta a volumen. La base es la ganancia genética en volumen de 0.434 a 1.520 cm <sup>3</sup> (350.2 %) al usar volumen como criterio de selección.....	36
<b>Cuadro 3.1.</b> Valor de <i>P</i> del análisis de varianza para las variables evaluadas en el enraizamiento de acodos en contenedor de <i>Cedrela odorata</i> L.....	53
<b>Cuadro 3.2.</b> Valores medio y error estándar de las variables evaluadas para determinar el efecto del tipo de corte en el enraizamiento de acodos en contenedor del clon 91 de <i>Cedrela odorata</i> L.....	54

<b>Cuadro 3.3.</b> Valores medio y error estándar de las variables evaluadas en el enraizamiento de acodos en contenedor según la dosis de AIB aplicado al clon 91 de <i>Cedrela odorata</i> L.....	55
<b>Cuadro 3.4.</b> Valores medios y error estándar de la variables evaluadas para determinar el efecto del tipo de corte y la aplicación de dosis de AIB en acodos en contenedor del clon 91 de <i>Cedrela odorata</i> L.....	56
<b>Cuadro 4.1.</b> Valores de <i>P</i> del análisis de varianza de las variables de enraizamiento en estacas de <i>Cedrela odorata</i> L.....	76
<b>Cuadro 4.2.</b> Valores medios y error estándar para cada factor y tratamiento en el enraizamiento de estacas de <i>Cedrela odorata</i> L. a las 20 semanas.....	77
<b>Cuadro 5.1.</b> Valor de <i>P</i> del análisis de varianza para las variables evaluadas en el enraizamiento de acodos aéreos de <i>Cedrela odorata</i> L.....	99
<b>Cuadro 5.2.</b> Valores medio y error estándar de las variables evaluadas para determinar el efecto del tipo de corte en el enraizamiento de acodos aéreos de los clones 14 y 15 de <i>Cedrela odorata</i> L.....	100
<b>Cuadro 5.3.</b> Valores medio y error estándar de las variables evaluadas en el enraizamiento de acodos aéreos según la dosis de AIB aplicado a clones de <i>Cedrela odorata</i> L.....	101
<b>Cuadro 5.4.</b> Valores medios y error estándar de la variables evaluadas para determinar el efecto del genotipo y la aplicación de dosis de AIB en acodos aéreos en <i>Cedrela odorata</i> L.....	102
<b>Cuadro 6.1.</b> Valores de <i>P</i> del análisis de varianza de las variables de establecimiento, multiplicación y enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>Cedrela odorata</i> L.....	123

<b>Cuadro 6.2.</b> Valores medio y error estándar para determinar el efecto del medio de cultivo y el genotipo en la fase de establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Cedrela odorata</i> L.....	124
<b>Cuadro 6.3.</b> Valores medio y error estándar para determinar el efecto del medio de cultivo y el genotipo en la fase de multiplicación <i>in vitro</i> de <i>Cedrela odorata</i> L..	125
<b>Cuadro 6.4.</b> Valores medio y error estándar para determinar el efecto del medio de cultivo y el genotipo en la fase de enraizamiento <i>in vitro</i> de <i>Cedrela odorata</i> L.	127
<b>Cuadro 7.1.</b> Características físicas y fisiológicas de las semillas de diez familias de <i>Cedrela odorata</i> L.....	148
<b>Cuadro 7.2.</b> Porcentaje y error estándar de semillas llenas, vacías, dañadas por insectos y con daños físicos de <i>Cedrela odorata</i> L. mediante la prueba de rayos X.....	150
<b>Cuadro 7.3.</b> Porcentaje de germinación, velocidad de germinación y tiempo medio a 50% de germinación (T50%) e inicio de germinación de semillas de <i>Cedrela odorata</i> L.....	152
<b>Cuadro 8.1.</b> Valor de <i>P</i> del análisis de varianza para las variables evaluadas en la germinación <i>in vitro</i> de semillas de <i>Cedrela odorata</i> L.....	169
<b>Cuadro 8.2.</b> Valores medio y error estándar del tratamiento de escarificación en los porcentajes de semillas <i>Cedrela odorata</i> L. germinadas y contaminadas.....	170
<b>Cuadro 8.3.</b> Valores medio y error estándar de los medios de cultivo en los porcentajes de semillas de <i>Cedrela odorata</i> L. germinadas y contaminadas.....	171
<b>Cuadro 8.4.</b> Valores medio y error estándar del origen genético de las semillas de <i>Cedrela odorata</i> L en la germinación <i>in vitro</i> .....	172

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 3.1.</b> A) Tipos de corte: a) medio anillado, b) anillado completo; y aplicación de auxinas. B) colocación de tubo PVC. C) llenado de tubo PVC con sustrato. D) poda de acodos en contenedor.....	50
<b>Figura 6.1.</b> Fase de establecimiento: A) corte de yemas, B) establecimiento de yemas, C y D) crecimiento y desarrollo de brotes. Fase de multiplicación: E) corte de ápices, F) establecimiento de ápices, G) crecimiento y desarrollo de brotes con raíz. Fase de enraizamiento: H) corte de ápices, I) establecimiento de ápices, J) crecimiento de ápices y K) brotes con raíces bien desarrolladas.....	131
<b>Figura 7.1.</b> A) Limpieza de semillas. B) Colocación de semillas en el equipo de rayos X estándar Faxitron modelo MS-20. C) Imagen de semillas en rayos X. D) Prueba de tetrazolio. E) Semilla teñida con tetrazolio, observada por estereoscopio electrónico. F) semillas en cajas de acrílico sobre papel filtro humedecidas con agua destilada para la prueba de germinación.....	145

# CAPITULO I

## INTRODUCCIÓN GENERAL

### 1.1. IMPORTANCIA DE *Cedrela odorata* L.

El cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) fue descrito por Linneo en 1759 en su obra *Sistema Naturae* (Andrade *et al.*, 2004). Es originario de América tropical (Penington y Sarukhan, 1968), y ha sido exitosamente introducido en Europa y en varios países tropicales, incluidos Puerto Rico y Java, así como en el continente africano y en Australia. Se distribuye en climas cálido y semicálido y se le encuentra en el trópico húmedo y el trópico subhúmedo. Crece asociado a la selva tropical caducifolia, subcaducifolia, subperennifolia y perennifolia (Mendizábal, 2009).

Debido al frágil estado de conservación en bosques naturales, el cedro rojo está incluido en el Apéndice II de la Convención sobre el Comercio Internacional de especies amenazadas (CITES, 2007). Pero además se encuentra incluido en la lista de especies en riesgo sujeta a protección especial de la NOM. 059 (SEMARNAT, 2010), razón por la cual la conservación, estudios de la variabilidad genética, propagación y uso sustentable de esta especie cobra especial importancia (Muellner *et al.*, 2009).

Es una especie con potencial para la reconversión productiva y el establecimiento de plantaciones comerciales, ya que tiene una rentabilidad económica atractiva y buena viabilidad social (Ramírez *et al.*, 2008). El cedro

rojo es la especie más plantada en el país con un 20.5 % (35,652 ha) de la superficie total establecida (CONAFOR, 2015). Sin embargo, la susceptibilidad al barrenador de yemas (*Hypsipyla grandella* (Zeller)), que destruye y causa daños importantes; limita el éxito de las plantaciones comerciales de cedro rojo en el país (Navarro *et al.*, 2004).

Es una de las maderas preciosas más empleadas y preferidas en el mercado nacional e internacional. Tiene amplia gama de usos para la construcción, carpintería y ebanistería fina. Por su valor comercial es una de las especies de mayor importancia industrial en México (Mendizábal *et al.*, 2009).

## **1.2. INTERACCIÓN *Cedrela odorata* L. – *Hypsipyla grandella* ZELLER**

Las plantaciones forestales de cedro rojo se enfrentan a la amenaza permanente de ataques de plagas de insectos y patógenos. Pero el ataque de *Hypsipyla grandella* Zeller ocasiona pérdidas importantes, sus efectos pueden afectar hasta el 100 % de los árboles de una plantación (Cornelius y Watt, 2003). Una opción recomendable es utilizar genotipos resistentes a esta plaga, por lo que se considera que es posible disminuir los efectos mediante técnicas de mejoramiento genético forestal y el manejo integrado de la plaga (Sánchez *et al.*, 2003; Cornelius y Watt, 2003; Cunningham *et al.*, 2005).

Las Meliaceae se caracterizan por contener triterpenos del tipo de los limonoides (Muellner *et al.*, 2009; Kipassa *et al.*, 2008; De Paula *et al.*, 1996). Para algunos de estos compuestos se han demostrado propiedades

insecticidas, fagodisuasivas, fitotóxicas o fungicidas como son los aceites extraídos del árbol de nim y *Aglaia* spp. (Mancebo *et al.*, 2002). Uno de estos compuestos es azadiractina, un compuesto complejo con fuertes propiedades insecticidas (Goulet *et al.*, 2005).

Aunque *Hypsipyla grandella* (Zeller) tiene más hospedantes, prefiere al cedro rojo, existiendo diferencias de susceptibilidad entre individuos de la misma especie (Pérez and Esquivel, 2008; Cornelius y Watt, 2003). Estas diferencias pueden reflejar una variación en la producción de sustancias químicas atractivos o disuasivos para hembras en oviposición o bien diferencias en la arquitectura (morfología y crecimiento) de las ramas (Lago *et al.*, 2006). Lo mismo se puede pensar en cuanto a sustancias volátiles que permitieran la detección de un determinado individuo y no sólo para la oviposición, en lo cual otros sensores podrían estar involucrados (Barboza *et al.*, 2010).

Hay evidencias que indican la presencia y el uso de sustancias semioquímicas para que hembras de *Hypsipyla grandella* (Zeller) detecten y seleccionen sus hospedantes (Lago *et al.*, 2006). Por ejemplo, durante las lluvias (cuando se produce nuevo follaje), las hembras vírgenes del insecto son atraídas a hojas nuevas del cedro rojo. Sin embargo, durante épocas secas (cuando los árboles están defoliados), también inciden en los árboles y en este caso quizá los insectos seleccionen a sus hospedantes mediante señales químicas emitidas por la corteza o por el aserrín y la resina producidos en ataques previos del barrenador. Aunque los machos no son significativamente atraídos a las hojas en crecimiento (Bygrave y Bygrave, 2001).

### 1.3. MECANISMOS DE RESISTENCIA

Para su defensa las plantas han adquirido durante el proceso evolutivo mecanismos físicos y químicos que reducen la posibilidad de infección o previenen el acceso de los patógenos (Coley *et al.*, 1985). Esta resistencia está basada en un conjunto de mecanismo de defensa que incluye la producción de un amplio conjunto de metabolitos secundarios tóxicos para ciertos insectos (Romero y Villanueva, 2000).

La resistencia de plantas a insectos son aquellas características genéticas de la planta que la hacen soportar una población de insectos que normalmente afectaría a una variedad susceptible sin verse afectada en su estructura o rendimientos (Camarena, 2009). En base a las leyes de la herencia la resistencia a patógenos se hereda frecuentemente como una característica dominante y poligénica, afectada por factores ontogénicos, ecológicos y ambientales (Major y Constabel, 2006).

Según Badii y Garza (2007), la resistencia a insectos representa la capacidad que tienen las plantas de restringir, retardar o sobreponerse a la infestación por una plaga. Las plantas resistentes a insectos alteran la relación que un insecto plaga tiene con su planta hospedera. La forma cómo la relación entre el insecto y la planta es afectada depende de la clase de resistencia (Pinter, 1958). Se tienen identificados tres tipos de resistencia: antibiosis, antixenosis y tolerancia.

**Antibiosis.** Es una resistencia que afecta la biología del insecto de modo que la abundancia de la plaga y el daño subsecuente se reducen en comparación con el que sufriría si el insecto estuviera en una población susceptible. La resistencia por antibiosis a menudo resulta en aumento de la mortalidad o reducción en la longevidad y reproducción del insecto (Badii y Garza, 2007).

Representa aquellas características físicas o químicas de la planta, que actúan contra la biología del insecto. Por ejemplo, factores antinutricionales o compuestos del metabolismo secundario de las plantas pueden afectar adversamente la nutrición, la reproducción o el desarrollo de los insectos plaga y conferir características antibióticas a la planta (Painter, 1958). La presencia de tricomas glandulares o en forma de gancho en tallos y hojas puede ser considerada un mecanismo físico de antibiosis contra algunos insectos. Se han observado ninfas atrapadas en las secreciones de los tricomas glandulares y otras atrapadas en los ganchos que forman los tricomas. La antibiosis debe ser basada en múltiples mecanismos o debe ser multigénica para ser estable, de lo contrario los insectos son capaces de desarrollar biotipos o razas que a su vez son resistentes al mecanismo de antibiosis de la planta (Badii y Garza, 2007).

**Antixenosis.** Es una resistencia que afecta el comportamiento de un insecto plaga y usualmente se expresa como no preferencia del insecto por una planta resistente en comparación con una planta susceptible (Badii y Garza, 2007).

Incorpora aquellas características que hacen que la planta no sea preferida por el insecto para su ataque cuando se compara con variedades susceptibles o preferidas. Según Badii y Garza (2007), algunos mecanismos de antixenosis incluyen modificaciones de la epidermis que hacen que la planta no sea aceptable para oviposición al no producir estímulos adecuados a las sensillas del ovipositor o plantas con sustancias repelentes que modifican el mecanismo de localización que utiliza el herbívoro.

**Tolerancia.** Es una resistencia en la cual una planta es capaz de resistir o se puede recuperar del daño causado por una abundancia del insecto plaga igual a la que dañaría una planta sin los caracteres de resistencia (susceptible). La tolerancia es la respuesta de una planta a un insecto plaga (Painter, 1958). Algunos mecanismos de tolerancia incluyen respuestas fisiológicas de la planta al daño causado por la plaga o mecanismos de compensación para reponer estructuras dañadas, así como respuestas diferenciales al daño inducido por las plagas (Badii y Garza, 2007).

El manejo de *Hypsipyla grandella* (Zeller) implica el uso de material genético resistente en plantaciones comerciales. Los mecanismos de resistencia por tolerancia difiere de la resistencia por antibiosis y antixenosis en cómo afecta la relación entre el insecto y la planta (Romero y Villanueva, 2000). La resistencia por antibiosis y antixenosis causan una respuesta del insecto cuando el insecto trata de usar la planta resistente para alimento, oviposición o refugio. Sin embargo, no se deben de confundir con el mecanismo de evasión, que consiste en que una planta escape a un ataque por factores como la altura,

pero sigue siendo susceptible; porque al utilizar este material como resistente puede llevar al fracaso el programa de mejoramiento genético.

#### **1.4. IMPLICACIONES DEL MEJORAMIENTO GENÉTICO EN *C. odorata* L.**

Para desarrollar programas de mejoramiento genético primero se deben conocer los mecanismos de defensa y tolerancia que tiene el cedro rojo, para lo cual se deben identificar los individuos resistentes a la plaga. Estas características genéticas de la planta son modificables por métodos de mejoramiento y existe una gran variedad de procedimientos y programas que permiten el flujo de genes entre plantas para seleccionar aquellas que sean más resistentes. La resistencia de las plantas se basa en la comparación con plantas que carecen de los caracteres de resistencia, es decir, las plantas susceptibles.

Las actividades dentro de un programa de mejoramiento genético, incluye la selección de los mejores individuos de acuerdo a la característica de interés, a través de la selección de genes deseables para garantizar un buen rendimiento, y la propagación del material mejorado para incrementar su frecuencia mediante la utilización de técnicas de clonación y la conservación de los recursos genéticos (Hannrup *et al.*, 2008).

El mejoramiento genético sólo es posible por la variación genética dentro de poblaciones, con una adecuada selección se favorece una mayor productividad por hectárea, mejor calidad del producto y la reducción del turno de

aprovechamiento y por ende la reducción de los costos (Farfán *et al.*, 2002). Para predecir las ganancias genéticas de una población, se utilizan los parámetros genéticos como variables para caracterizar una población. Estos parámetros permiten determinar el control genético de algún rasgo de interés y éste valor genético es la descripción del valor de sus genes que traspasa a su progenie (Weng *et al.*, 2007).

### **1.5. PROPAGACIÓN ASEXUAL**

En un programa de mejoramiento genético, la ganancia genética es retenida mediante la propagación vegetativa de árboles selectos (Kumar, 2007; Osorio *et al.*, 2001), ya que se obtienen copias idénticas de los mejores árboles seleccionados y con esto se conserva el genoma (efectos genéticos aditivos y no aditivos) de éstos individuos por tiempo indeterminado, y utilizando una técnica adecuada podríamos producir gran cantidad de copias genéticamente idénticas (Schneck y Ewald, 2001). Las técnicas para la propagación vegetativa más usadas en árboles son el enraizamiento de estacas, acodos, injertos y la micropropagación (*in vitro*) (Peña *et al.*, 2010).

El objetivo fue seleccionar los mejores clones de *Cedrela odorata* y desarrollar protocolos para su propagación asexual. En el primer capítulo se da una introducción general. En el capítulo dos se estiman los parámetros genéticos y la respuesta a la selección de un ensayo clonal en el Campo Experimental El Palmar, en Tezonapa, Veracruz. En el capítulo tres se realizan acodos en contenedor para eliminar el porta injerto, se probaron tipos de anillado y

diferentes dosis de ácido indolbutírico (AIB). En el capítulo cuatro se enraizaron estacas probando diferentes tipos de estaca, dosis de AIB y sustrato. En el capítulo cinco se enraizaron acodos aéreos, se probaron diferentes dosis de AIB y el genotipo. Para el capítulo seis se realizó la propagación *in vitro* de yemas, probando diferentes tipos de medios y el genotipo. En el capítulo siete se realizó el análisis físico y fisiológico de semillas del huerto semillero del Campo Experimental El Palmar. En el capítulo ocho se realizó germinación *in vitro*, probando diferentes medios y el genotipo y en el capítulo nueve se presentan las conclusiones generales.

## 1.6. LITERATURA CITADA

- Andrade T., A. y L. Y. Solís R. 2004. Las bondades del cedro rojo. La ciencia y el hombre 17(3): 13-21.
- Badii, M. H. y A. V. Garza. 2007. Resistencia a insectos, plantas y microorganismos. CULCyT. Impacto Ecológico 18: 9-25.
- Barboza, J., L. Hilje, J. Durón, V. Cartín y M. Calvo. 2010. Fagodisuación de un extracto de ruda (*Ruta chalepensis*, Rutaceae) y sus particiones sobre larvas de *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae). Biología Tropical 58(1): 15-29.
- Bygrave, F. L. and P. L. Bygrave. 2001. Host preference of the Meliaceae shoot borer *Hypsipyla*: further information from grafting *Cedrela odorata* and *Cedrela fissilis* on *Toona ciliata* (Australian red cedar). Australian Forestry 64: 216-219.

- Camarena G., G. 2009. Señales en la interacción planta insecto. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 15(1): 81-85.
- Coley, P. D., J. P. Bryant and S. Chapin. 1985. Resource availability and plant antiherbivore defense. Science 230: 895-899.
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). 2015. Principales especies maderables establecidas en plantaciones forestales comerciales 2000-2014. Consultado en CONAFOR. Mayo de 2015. Obtenido de: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/43/6018Principales%20especies%20maderables%20establecidas%20en%20PFC%20por%20a%20c3%b1o%20en%202000%20-%202014.pdf>
- CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora), 2007. CoP14 Prop. 33, Fourteenth meeting of the Conference of the Parties, June 3–15, 2007, The Hague, Netherlands, pp. 26.
- Cornelius, J. P. and A. D. Watt. 2003. Genetic variation in a *Hypsipyla*-attacked clonal trial of *Cedrela odorata* under two pruning regimes. Forest Ecology and Management 183: 341-349.
- Cunningham, S. A., R. B. Floyd, M. W. Griffiths and F. R. Wylie. 2005. Patterns of host use by the shoot-borer *Hypsipyla robusta* (Pyralidae: Lepidoptera) comparing five Meliaceae tree species in Asia and Australia. Forest Ecology and Management 205: 351-357.
- De Paula, J. R., I. J. C. Vieira, M. F. Da Silva, G. F. Das, F. E. Rodríguez, J. B. Fernández, P. C. Vieira, A. L. Pinheiro and E. F. Vilela. 1996. Sesquiterpenes, triterpenoids, limonoids and flavonoids of *Cedrela*

*odorata* graft and speculations on the induced resistance against *Hypsipyla grandella*. *Phytochemistry* 44: 1449-1454.

Farfán V., E. G., J. Jasso M., J. López U., J. J. Vargas H. and C. Ramírez H. 2002. Genetic parameters and efficiency of early selection on *Pinus ayacahuite* Ehren. var. *ayacahuite*. *Fitotecnia Mexicana* 25(3): 239-246.

Goulet, E., A. Rueda and A. Shelton. 2005. Management of the mahogany shoot borer, *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lepidoptera:Pyralidae), through weed management and insecticidal sprays in 1- and 2-year-old *Swietenia humilis* Zucc. Plantations. *Crop Protection* 24: 821-828.

Hannrup, B., G. Jansson and O. Danell. 2008. Genotype by Environment Interaction in *Pinus sylvestris* L. in Southern Sweden. *Silvae Genetica* 57(6): 306-311.

Kipassa, N. T., T. Iwagawa, H. Okamura, M. Doe, Y. Morimoto and M. Nakatani. 2008. Limonoids from the stem bark of *Cedrela odorata*. *Phytochemistry* 69: 1782-1787.

Kumar, A. 2007. Growth Performance and Variability in Different Clones of *Gmelina arborea* (ROXB.). *Silvae Genetica* 56(1): 32-36.

Lago, J. H. G., M. G. Soares, L. G. Batista P., M. F. Silva, A. G. Correa, B. Fernandez, P. C. Vieira y N. F. Roque. 2006. Volatile oil from *Guarea macrophylla* ssp. *Tuberculata*: Seasonal variation and electroantennographic detection by *Hypsipyla grandella*. *Phytochemistry* 67: 587-594.

- Major, I. T. and C. P. Constabel. 2006. Molecular analysis of poplar defense against herbivory: comparison of wound and insect elicitor induced gene expression. *New Phytologist* 172: 617-635.
- Mancebo, F., L. Hilje, G. A. Mora y R. Salazar. 2002. Biológico activity of two neem (*Azadirachta indica* A. Juss., Meliaceae) products on *Hypsipyla grandella* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Crop protection* 21: 107-112.
- Mendizábal H., L. C., J. Alba L. y T. Suárez D. 2009. Captura de carbono por *Cedrela odorata* L. en una plantación de origen genético conocido. *Foresta Veracruzana* 11(1): 13-18.
- Muellner, A. N., T. D. Pennington and M. W. Chase. 2009. Molecular phylogenetics of Neotropical *Cedrela mahogany* (family, Meliaceae) based on nuclear and plastid DNA sequences reveal multiple origins of "*Cedrela odorata*". *Molecular Phylogenetics and Evolution* 52: 461-469.
- Navarro, C., F. Montagnini and G. Hernández. 2004. Genetic variation of *Cedrela odorata* Linnaeus: results of early performance of provenances and families from Mesoamerica grown in association with coffee. *Forest Ecology and Management* 192: 217-227.
- Osorio, L. F., T. L. White and D. A. Huber. 2001. Age Trends of Heritabilities and Genotype-by-Environment Interactions for Growth Traits and Wood Density from Clonal Trials of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. *Silvae Genetica* 50(3-4): 108-117.
- Painter, R. H. 1958. Resistance of plants to insects. *Annu. Rev. Entomology* 3: 267-290.

- Pennington, T. D. y J. Sarukhán. 1968. Manual para la identificación de los principales árboles tropicales de México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, ONU, México, D. F. 238 p.
- Peña R., Y. J., J. Juárez G., L. Gómez L., J. L. Jerónimo P., I. García S., J. A. González R. and M. L. Robert. 2010. Multiple adventitious shoot formation in Spanish Red Cedar (*Cedrela odorata* L.) cultured in vitro using juvenile and mature tissues: an improved micropropagation protocol for a highly valuable tropical tree species. *In Vitro Cellular & Developmental Biology. Plant* 46: 149-160.
- Pérez S., D. R. and R. Esquivel. 2008. Tree infection by *Hypsipyla grandella* in *Swietenia macrophylla* and *Cedrela odorata* (Meliaceae) in Mexico's southern Yucatan Peninsula. *Forest Ecology and Management* 255: 324-327.
- Ramírez G., C., G. Vera C., F. Carrillo A. y O. S. Magaña T. 2008. El cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) como alternativa de reconversión en terrenos abandonados por la agricultura comercial en el Sur de Tamaulipas. *Agricultura Técnica en México* 34(2): 243-256.
- Romero, R. F. y V. C. Villanueva. 2000. Resistencia vegetal a insectos y ácaros, los conceptos y las bases. Edit. Universidad Autónoma Chapingo. 318 p.
- Sánchez M., V., J. G. Salazar G., J. J. Vargas H., J. López U. and J. Jasso M. 2003. Genetic parameters and response to selection for growth traits in *Cedrela odorata* L. *Fitotecnia Mexicana* 26(1): 19-27.

- Schneck, V. and D. Ewald. 2001. Growth and Performance of Micropropagated Hybrid Larch Clones. *Silvae Genetica* 50: 5-6.
- SEMARNAT (Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental -Especies nativas de México de flora y fauna silvestres- Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario oficial. p. 67.
- Weng, Y. H., K. J. Tosh, Y. S. Park and M. S. Fullarton. 2007. Age-related Trends in Genetic Parameters for Jack Pine and Their Implications for Early Selection. *Silvae Genetica* 56(5): 242-252.

## CAPITULO II

### PARÁMETROS GENÉTICOS EN EDADES JUVENILES DE CLONES DE *Cedrela odorata* L.

#### 2.1 RESUMEN

*Cedrela odorata* L. es la especie más plantada en el país. El daño por de *Hypsipyla grandella* Zeller limita el éxito de las plantaciones. El periodo más crítico es durante los primeros tres años. El objetivo fue estimar la ganancia genética esperada en la selección de clones resistentes al ataque de *H. grandella*. El ensayo con 40 clones superiores está ubicado en el Campo Experimental El Palmar, Tezonapa, Veracruz. Se evaluó a los 2 años, se estimaron la heredabilidad, correlaciones genéticas y la ganancia genética de la respuesta de los clones. El ensayo presentó una supervivencia del 97 %, 2.86 m de altura y 2.49 cm de diámetro normal. El 23 % de los rametos no presentaron ataques, de los rametos atacados el 60 % (46 % del total) respondieron con varios brotes pero uno mantuvo la dominancia apical. La respuesta al ataque presentó un control genético de  $H^2_c = 0.32$ . Las correlaciones genéticas entre la altura, diámetro y volumen fueron  $\geq 0.96$  y seleccionar por volumen reducirá la incidencia y mejorará la respuesta al ataque ( $r_G = -0.30$  y  $r_G = 0.27$ ) es decir cierta mejora en la resistencia. Con una intensidad de selección del 10 %, seleccionando los 4 clones de mayor volumen se obtuvo una ganancia genética de 350 % para el volumen, 51 % menos ataques y 24 % mejor respuesta al ataque, menos daños. La ganancia genética de los clones evaluados justifica su utilización en los programas de plantaciones comerciales clonales para la zona de Tezonapa, Ver.

**Palabras clave:** ganancia genética, heredabilidad, correlaciones genéticas.

## GENETIC PARAMETERS IN JUVENILE AGES OF CLONES OF *Cedrela odorata* L.

### 2.2. ABSTRACT

*Cedrela odorata* L. is the most widely planted species in the country. Damage by *Hypsipyla grandella* Zeller affects the success of plantations. The most critical and vulnerable infection period by *H. grandella* is during the first three years. The goal was to estimate the expected genetic gain for the selection of big resistant clones to the attack by *H. grandella*. The trial of 40 superior clones is located in the Campo Experimental El Palmar, Tezonapa, Veracruz. Heritability, genetic correlations and genetic gain of clones to attack by *H. grandella* were estimated when plantation was 2 years-old. The trial had a survival rate of 97 %, with means of 2.86 m in height and 2.49 cm in diameter. 23 % of the ramets showed no attacks, the attacked ramets had several shoot but kept the apical dominance. The response to the attack had a genetic control  $H^2_c = 0.32$ . Genetic correlations between height, diameter and volume were  $\geq 0.96$  and selection from the volume reduces the incidence and improves the response to the attack ( $r_G = -0.30$  and  $r_G = 0.27$ , respectively) increasing the resistance. With an intensity of 10 % selection, selecting the 4 clones with higher volume will produce for next generation a genetic gain of 350.2 % is obtained for volume, 51.4 % fewer attacks and 24.1 % for the response to the attack; resulting in a reduction of damage. The genetic gain in the economic characteristics of the evaluated clones justifies their use in commercial programs clonal plantations area Tezonapa, Veracruz.

**Keywords:** genetic gain, heritability, genetic correlations.

### 2.3. INTRODUCCIÓN

*Cedrela odorata* L. tiene potencial para el establecimiento de plantaciones comerciales, es la especie más plantada en el país con 20.5 % de la superficie total establecida (CONAFOR, 2015), tiene una rentabilidad económica atractiva y buena viabilidad social (Ramírez *et al.*, 2008). Sin embargo, las plantaciones comerciales se enfrentan al daño ocasionado por *Hypsipyla grandella* Zeller, Lepidoptero, que barrena la yema apical. Los primeros tres años de una plantación son críticos, ya que la larva provoca severos daños principalmente en árboles jóvenes, deforma el árbol y reduce su crecimiento, lo que limita el éxito de las plantaciones comerciales (Navarro *et al.*, 2004).

La larva de éste insecto ocasiona pérdidas importantes, y pueden afectar hasta el 100 % de los árboles de una plantación (Cornelius y Watt, 2003). Es una plaga específica de la familia Meliaceae, siendo *C. odorata* la especie más susceptible. Se considera que es posible disminuir los efectos mediante el manejo integrado de la plaga: realizando podas, el uso de control biológico y mediante técnicas de mejoramiento genético, al utilizar genotipos tolerantes (Cornelius y Watt, 2003; Sánchez *et al.*, 2003; Cunningham *et al.*, 2005). El mejoramiento genético aplicado a la silvicultura es un proceso dinámico con el objetivo de desarrollar plantaciones comerciales genéticamente superiores (Yu y Pulkkinen, 2003), para incrementar la productividad y la conservación de la diversidad genética como estrategias para la planificación y desarrollo del sector forestal (McKeand *et al.*, 2008; Berlin *et al.*, 2012).

El mejoramiento genético se inicia con la identificación de árboles en los que existe un rendimiento mayor al de la población original, asumiéndose genes deseables, después se realizan evaluaciones de su progenie, se identifican los individuos con el mejor productividad y adaptación (Salaya-Domínguez *et al.*, 2012). Para acelerar el proceso se realizan mediciones a edades tempranas para eliminar los individuos inferiores y dejar los mejores. Se puede clonar el material seleccionado para aumentar la ganancia genética e incrementar la frecuencia de los árboles superiores (Kumar, 2007; Hannrup *et al.*, 2008).

La estimación de los parámetros genéticos es crucial para determinar el control genético sobre las características de interés, definir las estrategias de manejo y estimar el valor genético de los progenitores, que indica el valor de los genes que traspasa a su progenie (Osorio *et al.*, 2001; Weng *et al.*, 2007). Al incluir los factores de resistencia al ataque de patógenos en los programas de mejoramiento genético forestal se obtiene mayor ganancia en las tasas de crecimiento (Swedjemark y Karlsson, 2004; Miranda-Fontaína *et al.*, 2007).

El presente trabajo tuvo como objetivo estimar la ganancia genética esperada en la selección de clones tolerantes al ataque de *H. grandella*. Además de estimar algunos parámetros genéticos como la heredabilidad, correlaciones genéticas y la respuesta a la selección para las características del crecimiento en altura, diámetro normal, volumen, conicidad del fuste, vigor de los clones, los ataques de *H. grandella* y la respuesta de los clones a estos ataques.

## **2.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.4.1. Localización del ensayo**

El ensayo clonal se ubica en el Campo Experimental El Palmar ubicado a 18° 32' L.N., 96° 47' L.W.; 180 msnm, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), en Tezonapa, Veracruz. El clima es cálido húmedo con lluvias en verano, con una precipitación media de 2,888 mm anuales y temperatura media anual de 24.4 °C. Los suelos son de tipo Acrisol, profundos y de buen drenaje, poseen una textura de migajón arcillo-arenoso y pH de 4.8 (Sánchez y Velázquez, 1998).

### **2.4.2. Material vegetal y diseño experimental**

Los clones evaluados proceden del banco clonal establecido en este Campo Experimental, donde se obtuvieron por injertos de yema. Los clones corresponden a genotipos con características superiores de tolerancia al ataque de *H. grandella*, cuya valía fue determinada a partir de tres ensayos de procedencias-progenie, parte de la estrategia del INIFAP en el mejoramiento genético de *C. odorata*. El ensayo se estableció en el 2011 con 40 clones usando un diseño de bloques completos al azar, un rameto de cada clon por bloque con 12 repeticiones. Los rametos se plantaron manualmente a un espaciamiento de 3 x 3 m. Al momento de la evaluación el ensayo presentó una supervivencia del 97 %.

### 2.4.3. Variables evaluadas

La evaluación del ensayo se realizó a los 2 años de establecido. La altura total se midió con un estadal marcado cada 5 cm. Con una cinta diamétrica se determinó el diámetro a la altura del tocón (a 0.30 m), el diámetro normal (a 1.30 m), y a dos m de altura. Con base en los datos de altura y diámetro normal se estimó el volumen utilizando una ecuación para plantaciones jóvenes de cedro rojo de Sánchez y García (2009). Para un mejor manejo de los datos, el volumen en m<sup>3</sup> fue convertido a cm<sup>3</sup>. Para su transformación se multiplico por un millón.

$$V= 0.000065659 (\text{DN})^{1.768431077} (\text{AT})^{1.137733502} \quad (1)$$

Donde: V= volumen en m<sup>3</sup>; DN= diámetro normal (cm), AT= altura total (m).

Se calculó el índice de conicidad de la primer troza del árbol con base en Sánchez *et al.* (2003). Se determinó el volumen de un cilindro truncado con base en el diámetro del tocón y a 2 m de altura y el volumen del cilindro basado en el diámetro del tocón. Se dividió el primer volumen entre el segundo para obtener el índice de conicidad, donde un mayor valor del índice implica una forma más cilíndrica. Se estimó el vigor de los rametos de acuerdo con Ramírez *et al.* (2008). La evaluación se realizó en verano cuando todos las plantas de *C. odorata* presentó follaje, brotes tiernos y turgentes; coincidente con la época de apareamiento de *H. grandella* y el incremento de los daños por la larva (Ward *et al.*, 2008). El vigor se clasificó como: adecuado (3), cuando el rameto presentaba un follaje denso, con cobertura abundante, color verde intenso y el fuste sin torceduras; vigor regular (2) con follaje menos denso, de

color verde opaco a amarillento y el fuste presentaba fisuras; y vigor malo (1), rametos de follaje amarillento, follaje ralo, incompleto y de fuste torcido o inclinado.

Se evaluó la intensidad de ataques de *H. grandella* en cada rameto de un clon de acuerdo con Pérez-Salicrup y Esquivel (2008). Después se evaluó la tolerancia como la capacidad de recuperación como respuesta al ataque de acuerdo a Newton *et al.* (1995) y Ward *et al.* (2008) y la evasión al ataque, como aquellos sin ataque visible. Se definieron cinco categorías: 0) sin respuesta, cuando el rameto después de ser atacado no presentó brotes; 1) después de ser atacado el rameto formó varios brotes pero sin dominancia apical, 2) después del ataque el rameto exhibió varios brotes, pero uno tomó dominancia apical; 3) después de ser atacado el rameto tuvo la capacidad de reparar el tejido dañado; presentó un solo brote y 4) sin ataque de *H. grandella*.

#### **2.4.4. Análisis estadístico**

Algunas variables no cumplieron con los supuestos de normalidad, por lo que previo al análisis de varianza las variables del número de rametos atacados ( $Y$ ) fue transformada con la función logaritmo [ $T=\log_{10}(Y)$ ]. Posteriormente los valores fueron re-transformados a las unidades originales con la función [ $Y=10^T$ ].

Para estimar los componentes de varianza se utilizó el PROC MIXED del SAS (SAS, 2004) con el método de Máxima Verosimilitud Restringida, que produce

estimadores insesgados (Littell *et al.*, 1996), para el análisis se utilizó el modelo lineal siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + B_i + C_j + BC_{ij} + \varepsilon_{ij} \quad (2)$$

Donde:  $Y_{ij}$  = Variable respuesta del rameto del  $j$ -ésimo clon en el  $i$ -ésimo bloque y;  $\mu$  = Media general;  $B_i$  = efecto fijo del  $i$ -ésimo bloque;  $C_j$  = efecto aleatorio del  $j$ -ésimo clon  $\sim$  NID  $(0, \sigma_c^2)$ ; interacción entre el  $j$ -ésimo clon en el  $i$ -ésimo bloque y  $\varepsilon_{ij}$  = error aleatorio  $\sim$  NID  $(0, \sigma_e^2)$ ;  $i = 1, 2, \dots, 12$ ;  $j = 1, 2, \dots, 40$ .

#### 2.4.5. Parámetros genéticos

Con los componentes de varianza se estimó la heredabilidad en sentido amplio para rametos ( $H_i^2$ ) (3) y de la media de clones ( $H_c^2$ ) (4), para cada variable evaluada.

$$H_i^2 = \sigma_c^2 / \sigma_c^2 + \sigma_e^2 \quad (3) \quad H_c^2 = \sigma_c^2 / \sigma_c^2 + (\sigma_e^2/r) \quad (4)$$

Donde  $\sigma_c^2$  es varianza de clones,  $\sigma_e^2$  es varianza del error y  $r$  = número de repeticiones.

El error estándar de la heredabilidad estimada se obtuvo con el procedimiento de Becker (1985). La estimación de la  $H_c^2$  es útil desde el punto de vista práctico, ya que la selección comúnmente se hace con base en el valor promedio de los clones (es decir, se selecciona el clon como tal y no un rameto o copia del clon). Sin embargo, dado que el valor de  $H_c^2$  es afectado por el número de repeticiones ( $r$ ) utilizado para estimar la media de los clones, es

necesario estimar también  $H^2_i$  para comparar el nivel de variación genética existente (Ignacio *et al.*, 2005).

Se calcularon las correlaciones fenotípicas ( $r_f$ ) y genéticas ( $r_g$ ) para todas las variables evaluadas. Las correlaciones fenotípicas se calcularon con el coeficiente de Pearson usando PROC CORR del SAS (Ignacio *et al.*, 2005). Las correlaciones genéticas entre pares de variables se calcularon con la ecuación (5) (Ignacio *et al.*, 2005):

$$r_g = (\text{Cov}_{C(x+y)} / (\sigma^2_{C_x} * \sigma^2_{C_y})^{-2} \quad (5)$$

Donde:  $\text{Cov}_{C(x+y)} = (\sigma^2_{C(x+y)} - (\sigma^2_{C_x} + \sigma^2_{C_y}))/2$  (White y Hodge, 1988);  $\sigma^2_{C(x+y)}$  = varianza genética de la suma de las dos características;  $\sigma^2_{C_x}$  y  $\sigma^2_{C_y}$  = varianza genética correspondiente a cada característica de interés. La aproximación del error estándar de las correlaciones genéticas se estimó con el procedimiento descrito por Robertson (1959).

#### 2.4.6. Respuesta a la selección

La respuesta a la selección ( $R_s$ ) fue calculada de acuerdo a Thomas *et al.* (1997) con la siguiente ecuación (6):

$$R_s = D_s * H^2_c \quad (6)$$

Donde:  $D_s$  es el diferencial de selección y  $H^2_c$  es la heredabilidad en sentido amplio de la media de clones. El diferencial de selección es la media de la población seleccionada menos la media de la población total.

La ganancia genética (Gg) de los clones se obtuvo de acuerdo a la ecuación (7) (Dean y Stonecypher, 2006) y la ganancia genética en porcentaje con la ecuación (8):

$$Gg = i H_c^2 \sigma_p^2 \quad (7) \quad Gg \% = (Gg / \bar{X}) * 100 \quad (8)$$

Donde: i es intensidad de selección, se utilizó una intensidad del 10 % (i=1.76),  $H_c^2$  es la heredabilidad en sentido amplio de la media de clones;  $\sigma_p^2$  es la varianza fenotípica; Gg es la ganancia genética,  $\bar{X}$  es la media poblacional de una característica.

Considerando que el volumen fue la variable que mayor ganancia genética tuvo y con el fin de determinar el efecto de seleccionar los mejores clones con base en la característica que tuvo mayor ganancia genética sobre la ganancia que se obtendría en las demás variables se determinó la respuesta correlacionada a la selección ( $CR_y$ ) entre clones con la ecuación (9) (Falconer y Mackay, 1996):

$$CR_y = i_x H_x H_y r_{gxy} \sigma_{Py} \quad (9)$$

donde: i es la intensidad de selección aplicada a la característica usada como criterio de selección, en éste caso se utilizó una intensidad de selección del 10 % (i=1.76), considerando la propagación masiva de los 4 clones con mejor desempeño en la característica utilizada para la selección.  $H_x$  raíz cuadrada de la heredabilidad de la característica utilizada como criterio de selección,  $H_y$  raíz cuadrada de la heredabilidad en la característica de interés,  $r_{gxy}$  es la correlación genética entre la característica usada como criterio de selección y

la de interés económico (volumen), y  $\sigma_{Py}$  es la desviación estándar fenotípica de la característica de interés.

Este procedimiento se hizo de forma contraria para fines de comparación, esto es seleccionar por las demás variables para ver su efecto en la variable que obtuvo la mayor ganancia genética. Además para obtener la respuesta correlacionada a la selección en porcentaje se utilizó la siguiente ecuación (10):

$$CR_y \% = ((i_x H_x^2 H_y^2 r_g \sigma_{Py}) / \bar{Y}) * 100 \quad (10)$$

Donde:  $\bar{Y}$  es la media de la característica de interés.

## 2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.5.1. Valores medios de las características de crecimiento y respuesta al ataque de *Hypsipyla grandella*.

El ensayo clonal a los dos años presentó una supervivencia del 97 %; de los 15 rametos muertos 10 fueron del clon 85, lo que supone incompatibilidad del injerto. Los rametos del ensayo tuvieron una altura promedio de  $2.86 \pm 0.36$  m, un diámetro normal de  $2.49 \pm 0.23$  cm, con un volumen promedio de  $0.434 \pm 0.09$  cm<sup>3</sup>. Lo que indica un incremento medio anual (IMA) de 1.56 m de altura, 1.38 cm de diámetro normal y 0.241 cm<sup>3</sup> de volumen. Estos clones presentan un crecimiento superior a un ensayo de procedencias (Sánchez *et al.*, 2003) realizado en la misma zona y evaluado a los 5 años con una tasa de

crecimiento promedio anual de 1.08 m en altura y a 1.2 cm en diámetro. En Centroamérica en condiciones más favorables, suelos fértiles y bien drenados, se han reportado tasas de crecimiento anual de hasta los 3 m en altura y 4 cm en diámetro (Cintron, 1981).

El índice de conicidad del fuste en el ensayo presentó un promedio de 0.86, cercano a la forma cilíndrica. Según Zobel y Talbert (1988) la forma del fuste tiene un alto control genético. Además un fuste cilíndrico permite inferir que el genotipo presenta cierta tolerancia al ataque de *H. grandella* (Briceño, 1997). En cuanto a la vigorosidad del ensayo clonal, el 33.4 % de los rametos presentaron un vigor adecuado, el 31.2 % fue regular y el 35.4 % un vigor malo. El promedio de ataques de *H. grandella* fue de 0.93 con rangos de 0 a 8 ataques por rameto. Cabe destacar que los clones con mejor vigor fueron los menos atacados, presentando un mayor crecimiento y una mejor respuesta de rebrotes. Por el contrario los árboles vigor malo fueron los más atacados y con el menor crecimiento.

El 23 % de los rametos no presentaron ataques (respuesta 4), es decir evadieron el ataque. La respuesta más común a los ataques de *H. grandella* fue la de tipo 2 con el 46 %, esto es, el árbol después de ser atacado genera varios brotes pero uno toma la dominancia apical. El 15 % de los rametos tuvieron la respuesta 3, después del ataque presentó un solo brote apical, mismo porcentaje que el comportamiento 1, donde el individuo responde con varios brotes pero ninguno tomó dominancia apical (Cuadro 2.1). Treinta y

ocho clones presentaron de 1 a 8 rametos sin recibir ataque, dentro de los cuales los clones 2, 19, 41, 46, 53, 58, 59 y 81 tuvieron al menos el 50 % de sus rametos sin ataque.

**Cuadro 2.1.** Respuesta de los rametos de 40 clones superiores de *Cedrela odorata* al ataque de *Hypsipyla grandella*.

Respuesta*	Número de rametos	(%) de rametos	Número de clones†
(0) Sin respuesta	4	1	3
(1) Varios brotes sin dominancia apical	71	15	30
(2) Varios brotes pero uno toma dominancia apical	212	46	39
(3) Un solo brote	71	15	33
(4) Sin ataque	107	23	38
<b>Total</b>	<b>465</b>	<b>100</b>	

\*Valores mayores indican mayor tolerancia. †Con al menos un rameto con dicha respuesta. Total 40 clones.

El ataque de la larva de *H. grandella* sobre los brotes de *C. odorata* se inicia en los primeros tres años, principalmente en la temporada de lluvias, ya que es cuando los árboles producen brotes largos y turgentes (Ward *et al.*, 2008); según Newton *et al.* (1995) a la edad de dos años se presenta el ataque máximo y el cedro rojo es más vulnerable porque su crecimiento depende de

un solo brote principal. La incidencia de la palomilla tiene una alta sincronización con las lluvias (mayo-septiembre), que coinciden con el desarrollo de *C. odorata*, cuando las células de los tejidos se encuentran saturadas de agua (Briceño, 1997). Sin embargo, Sliwa y Becker (1973) menciona que el periodo larval se incrementa en árboles bajo estrés de humedad.

Para la selección y detección de los hospederos la hembra adulta de *H. grandella* se dispersa en busca del árbol que ofrezca las mejores condiciones para el desarrollo de la larva (Gara *et al.*, 2009). Según Macías (2001) la hembra percibe señales provenientes del follaje vigoroso que le permite su fácil localización para iniciar el proceso de oviposición, si la calidad de follaje varía entre rametos de un mismo clon, la estimación de la heredabilidad por el ataque no puede ser alta.

### **2.5.2. Variación y control genético de las características evaluadas**

La mayor varianza genética ( $\sigma^2_c$ ) entre clones fue para la altura, con el 24.7 % de la varianza fenotípica total, en el caso de la respuesta al ataque aporta el 3.9 %. Algunos autores mencionan que las características de crecimiento aumentan su varianza genética con la edad (Osorio *et al.*, 2001; Ignacio *et al.*, 2005). Las variables de crecimiento presentaron un control genético alto, aunque poco mayor para la altura que para el diámetro normal y el volumen (Cuadro 2.2). Estos resultados concuerdan con lo encontrado por Sánchez *et al.* (2003), mientras que en un ensayo clonal en Cuba se encontraron valores

de heredabilidad en sentido amplio de 0.85 y 0.62 para altura y diámetro, respectivamente, y fueron considerados los primeros parámetros genéticos sobre la especie (Lahera *et al.*, 1994). Para el vigor se encontró un control genético alto ( $H^2_c=0.77$ ) seguido del índice de conicidad que también presenta un control genético moderado. La respuesta al ataque de *H. grandella* presentó un control genético relativamente reducido ( $H^2_c = 0.32$ ).

**Cuadro 2.2.** Componentes de varianza de clones ( $\sigma^2_c$ ), del error ( $\sigma^2_e$ ) y fenotípica total ( $\sigma^2_p$ ) y valores de heredabilidad de rametos ( $H^2_i$ ) y de las medias de clones ( $H^2_c$ ) para características de crecimiento y resistencia a *Hypsipyla grandella* en un ensayo clonal de *Cedrela odorata* de dos años de edad.

Características	Media	$\sigma^2_c$	$\sigma^2_e$	$\sigma^2_p$	$H^2_i$	$H^2_c$
Diámetro Normal (cm)	2.49±0.23	0.2338	0.9819	1.2157	0.19	0.74
Altura (m)	2.86±0.36	0.2476	0.6965	0.9441	0.26	0.81
Volumen (cm <sup>3</sup> )	0.434±0.09	0.2219	0.9452	1.1671	0.19	0.74
Índice de Conicidad	0.86±0.11	0.0005	0.0048	0.0053	0.10	0.57
Vigor	1.98±0.19	0.1531	0.5432	0.6963	0.22	0.77
Promedio de Ataques	0.93±0.10	0.0324	0.8442	0.8766	0.04	0.31
Respuesta al Ataque	2.44±0.21	0.0396	1.0048	1.0444	0.04	0.32

La selección con base en los valores promedio de los clones puede ser muy eficiente, incluso en edades tempranas, por ejemplo en un ensayo de *Eucalyptus urophylla* la heredabilidad de clones fue mayor de dos veces que la heredabilidad de rametos a 1, 2 y 3 años de edad (Ignacio *et al.*, 2005). Sin embargo Johnson *et al.* (1997) indica que los valores de heredabilidad para la altura y el diámetro normal son más inestables en edades juveniles, ya que en evaluaciones posteriores en algunos casos aumentan y en otros disminuyen.

### **2.5.3. Correlaciones genéticas y fenotípicas entre características**

Las correlaciones genéticas ( $r_g$ ) fueron mayores que las correlaciones fenotípicas ( $r_p$ ) (Cuadro 2.3), lo cual es consistente con los resultados obtenidos por Sánchez *et al.* (2003) y en otras especies forestales (Ignacio *et al.*, 2005). Para las características de crecimiento a los dos años resultaron muy altas y positivas ( $r_g \geq 0.96$ ). Esto muestra que estas variables están estrechamente relacionadas entre sí, debido a que son interdependientes. Los datos indican que si se selecciona con base en altura o diámetro también se obtendrá una respuesta correlacionada elevada en volumen. Estas características también mostraron correlaciones positivas fuertes con el índice de conicidad y con el vigor ( $r_g \geq 0.66$ ). Esto implica que al seleccionar clones con mayor crecimiento presentarán progenie con mayor vigor y una forma más cilíndrica de la primera troza.

La respuesta de los clones al ataque de *H. grandella* tiene una correlación fenotípica positiva aunque baja con el índice de conicidad, altura, volumen y vigor. Esto implica que hay clones que tienen respuesta deseable como la reparación del área dañada y la rápida reposición de la dominancia apical al crecer y generar crecimiento. La correlación genotípica indica que la selección de árboles con mejor respuesta a los ataques, generará progenie con buenos crecimientos y sobre todo con fustes de mejor calidad. En cuanto a la correlación genética entre la respuesta y la incidencia de ataques, presenta una correlación negativa alta, que al seleccionar materiales con mejor respuesta los materiales propagados tendrán menos ataques. Las correlaciones genéticas negativas indican que progenitores de mayor altura y mejor conicidad tendrán progenies con menor número de ataques, ya sea por mecanismo de evasión y por antixenosis (Sánchez *et al.*, 2003).

**Cuadro 2.3.** Correlaciones genéticas (por debajo de la diagonal) y fenotípicas (por encima de la diagonal) de las variables evaluadas en un ensayo clonal de *Cedrela odorata*.

Característica	DN	Altura	Volumen	IC	Vigor	ATAQ	RESP
Diámetro normal (DN)	*	0.89	0.92	0.29	0.68	-0.10	0.20
Altura (H)	0.96	*	0.87	0.55	0.77	-0.10	0.29
Volumen (VOL)	0.99	0.97	*	0.31	0.60	-0.14	0.22
Índice de conicidad (IC)	0.94	0.66	0.97	*	0.44	-0.19	0.36
Vigor (VIG)	0.96	0.99	0.99	0.89	*	-0.12	0.35
Promedio de ataques (ATAQ)	-0.14	-0.29	-0.30	-0.49	-0.35	*	-0.33
Respuesta al ataque (RESP)	0.05	0.34	0.27	0.57	0.18	-0.89	*

#### 2.5.4. Respuesta esperada a la selección

Los valores obtenidos con los mejores cuatro clones de *C. odorata* (10 % de intensidad de selección) se muestran en el Cuadro 2.4. Los clones 58, 91, 2 y 132 tuvieron la mejor respuesta para el volumen. Sin embargo, los clones 46, 53, 115 y 43 presentaron la mejor respuesta ante el ataque de *H. grandella*. Los clones 19, 46 y 58 son los que presentaron mejor vigor y además fueron los que tuvieron menores ataques en promedio; esto indica que los clones más vigorosos fueron menos atacados y los clones menos atacados fueron los que presentaron la mayor altura, pero no el mayor diámetro del fuste, ni el mejor volumen.

**Cuadro 2.4.** Valores promedio de cada variable evaluada en los mejores cuatro clones de *Cedrela odorata* con intensidad de selección del 10 %.

C	DN	C	H	C	VOL cm <sup>3</sup>	C	IC	C	VIG	C	ATAQ	C	RESP
58	3.57	58	4.03	58	0.981	43	0.93	19	2.83	46	0.33	46	3.5
91	3.50	46	3.86	13	0.891	91	0.91	46	2.83	58	0.5	53	3
2	3.47	19	3.65	91	0.881	19	0.91	52	2.66	41	0.5	115	2.91
13	3.20	91	3.58	2	0.793	76	0.90	58	2.66	19	0.58	43	2.81
<b>Ā</b>	<b>3.43</b>		<b>3.785</b>		<b>0.890</b>		<b>0.91</b>		<b>2.75</b>		<b>0.47</b>		<b>3.05</b>

C: Clon; DN: Diámetro normal; H: Altura; VOL: Volumen; IC: Índice de conicidad; VIG: Vigor; ATAQ: Promedio de ataques; y RESP: Respuesta al ataque; Ā: promedio.

### 2.5.5. Ganancia genética

En la variable volumen se obtiene 2.3 veces más ganancia que en la variable diámetro normal y 3.1 veces mayor que la de altura. Además es mayor en más de 6 veces que la ganancia genética en respuesta al ataque (Cuadro 2.5). Si estos resultados se comparan con otros de ésta misma especie encontramos que son mayores a los encontrados por Sánchez *et al.* (2003), pero se tiene que tomar en cuenta que en ese trabajo se utilizaron familias de medios hermanos y la intensidad de selección fue menor.

**Cuadro 2.5.** Media general, diferencial de selección, respuesta a la selección y ganancia genética de los cuatro mejores clones de *Cedrela odorata* en las variables evaluadas.

Variable	$\bar{X}$	$\bar{X}_s$	Ds	H <sup>2</sup> <sub>c</sub>	Rs	$\sigma^2_p$	GG	GG (%)
Diámetro normal (cm)	2.49	3.43	0.94	0.74	0.6956	1.2157	1.5833	63.5
Altura (m)	2.86	3.78	0.92	0.81	0.7452	0.9441	1.3459	47.0
Volumen (cm <sup>3</sup> )	0.434	0.890	0.456	0.74	0.3328	1.1671	1.5200	350.2
Índice de conicidad	0.86	0.91	0.05	0.57	0.0285	0.0053	0.0053	0.62
Vigor	1.98	2.75	0.77	0.77	0.5929	0.6963	0.9436	47.6
Promedio de ataques	0.93	0.47	-0.46	0.31	-0.1426	0.8766	0.4782	51.4
Respuesta al ataque	2.44	3.05	0.61	0.32	0.1952	1.0444	0.5882	24.1

$\bar{X}$ : Promedio de toda la población;  $\bar{X}_s$ : Promedio de la población seleccionada; Ds: Diferencial de selección; H<sup>2</sup><sub>c</sub>: Heredabilidad en sentido amplio de la media de clones; Rs: Respuesta a la selección;  $\sigma^2_p$ : Varianza fenotípica y GG: Ganancia genética.

Con el uso de los 4 mejores clones en volumen, se obtendrá una ganancia genética de 350.2 %, mientras que si se usan los 4 mejores clones en respuesta al ataque de *H. grandella*, la ganancia genética sería de 24.1 % en la respuesta al ataque. La menor ganancia genética se obtiene con el índice de conicidad, pero es por su baja heredabilidad, y al tipo de variable, ya que el valor máximo posible es 1.00, y ahora se encuentra cerca de ese valor, por lo que avanzar en el valor medio es difícil (López-Upton *et al.*, 1999). La principal limitante para el establecimiento de plantaciones comerciales es el ataque de *H. grandella*, que afecta hasta el 100 % de la plantación y provoca el aumento

de los costos y en muchos casos el abandono total de la plantación (Cornelius y Watt, 2003), por lo que seleccionar dichos clones ya sea por menos ataques, mecanismos de evasión, o con mejor respuesta después del ataque, tolerancia, producirá beneficios tangibles.

#### **2.5.6. Selección indirecta**

La mayor ganancia genética directa se obtiene con el volumen, la cual es la variable más importante desde el punto de vista económico. Pero si se selecciona con otra variable distinta tenemos menor ganancia genética para este carácter en las siguientes generaciones, la mejor es el vigor, debido a su mayor  $H^2_c$  (Cuadro 2.6). Si seleccionamos los clones con mejor respuesta al ataque de *H. grandella* se tiene solo una ganancia genética del 63 % en volumen. Esto puede implicar que el árbol invierte mucha energía en mecanismos para la tolerancia al ataque de la plaga en detrimento de su crecimiento. Esta pérdida en volumen si solo se usará seleccionar por menos ataques es debido a la baja heredabilidad de esta última variable y su baja correlación genética con el volumen. Por otro lado, el insecto prefiere árboles con follaje vigoroso (Macías, 2001), lo que debe asociarse a un mayor volumen.

Desde un punto de vista operativo es mucho más sencillo, rápido y económico medir el diámetro normal que la altura y en general que cualquier otra característica, pero no se recomienda utilizar solo el diámetro como único factor de selección, ya que seleccionar por el diámetro normal solo mejora el volumen en 113 % contra el 350 % de usar el volumen.

**Cuadro 2.6.** Ganancia genética para el volumen si se seleccionan clones con otra variable distinta a volumen. La base es la ganancia genética en volumen de 0.434 a 1.520 cm<sup>3</sup> (350.2 %) al usar volumen como criterio de selección.

Variable de selección	Ganancia para el Volumen		Ganancia para las demás variables			
	Selección indirecta por las otras variables		Selección directa		Selección indirecta por volumen	
	cm <sup>3</sup>	(%)	(%)		(%)	
Diámetro Normal	1.2945	298.3	1.5833	63.5	1.3211	53.1
Altura	1.2807	295.1	1.3459	47.0	1.1518	40.3
Índice de conicidad	1.1978	276.0	0.0053	0.62	0.0807	9.4
Vigor	1.4209	327.4	0.9436	47.6	1.0975	55.4
Ataques totales	0.2732	62.9	0.4782	51.4	0.2368	25.5
Respuesta al ataque	0.2498	57.6	0.5882	24.1	0.2363	9.7

Seleccionar por volumen reduce escasamente la ganancia por altura y diámetro y mejoraría la conicidad y vigor del árbol. Sin embargo, se reduce la ganancia a la mitad en el número de ataques, esto es en los mecanismos de evasión, aunque también hay ataques fortuitos, ya que el viento puede modificar la dirección de los ataques y la cercanía a árboles ya atacados, igualmente.

### **2.5.7. Implicaciones para el mejoramiento genético**

La magnitud de la heredabilidad encontrada en esta población reveló una situación favorable para la selección de clones de *C. odorata*, que podría resultar en ganancias genéticas importantes si éste material seleccionado fuera usado en plantaciones comerciales (Mora *et al.*, 2008). Los valores de heredabilidad obtenidos en un único sitio son útiles para entender la arquitectura genética de la población de mejoramiento, al estudiar su variabilidad y respuesta a la selección en condiciones ambientales específicas (Zamudio *et al.*, 2002). Con los mejores clones en la característica de volumen se tiene una ganancia genética de 350.2 % y en la respuesta al ataque de *H. grandella* se obtuvo una ganancia genética del 24.1 %. Estos materiales genéticos representan una alternativa para utilizarlos en plantaciones comerciales para la zona de Tezonapa, Veracruz.

En la selección de clones con base en cualquier característica de crecimiento para aumentar la producción de madera a esta edad, también se obtiene una mejor respuesta al ataque de *H. grandella*. El principal beneficio de la selección temprana al incorporar información genética en *C. odorata*, es que en la etapa crítica del ataque del barrenador se puede contar con genotipos tolerantes con buena respuesta al ataque y buenos crecimiento maderables. El uso de genotipos tolerantes de *C. odorata* es la estrategia más prometedora para el control del barrenador de brotes y yemas, pero también es adecuado un manejo integrado de la plaga y la implementación de técnicas silvícolas para promover el desarrollo vigoroso de la plantación. De hecho un mayor volumen es muestra de mayor resistencia a los ataques así como adaptación al sitio de

crecimiento. Es necesario establecer ensayos genéticos de los clones en otras zonas del Estado de Veracruz para identificar el efecto de la interacción genotipo por ambiente entre las características evaluadas, y determinar si los mejores clones en un sitio son los mejores en todos los otros, y con esto recomendar su uso amplio en plantaciones comerciales.

## 2.6. CONCLUSIONES

La heredabilidad de medias de clones de las características dasométricas son altas y es mayor en altura ( $H^2_c = 81$ ). Mientras que la heredabilidad de la respuesta al ataque de *H. grandella* fue baja ( $H^2_c = 32$ ). Las correlaciones genéticas para las características de crecimiento a los dos años resultaron muy altas y positivas ( $r_g \geq 0.96$ ). Utilizando los 4 mejores clones por volumen (10 % de intensidad de selección), se obtiene una ganancia genética de 350 % para el volumen y de 9.7 % para la respuesta al ataque de *H. grandella*. Se identificaron clones de *C. odorata* con elevada predicción de su valor genético para diversas características económicas, lo que justifica que se incorporen al proceso de selección genética de la especie.

## 2.7. LITERATURA CITADA

Becker, W. A. 1985. Manual de Genética Cuantitativa. Academic Enterprises. Pullman. USA. 188 p.

- Berlin, M., J. Sonesson, J. Bergh and G. Jansson. 2012. The effect of fertilization on genetic parameters in *Picea abies* clones in central Sweden and consequences for breeding and deployment. *Forest Ecology and Management* 270: 239-247.
- Briceño V., A. J. 1997. Aproximación hacia un manejo integrado del barrenador de las Meliaceas, *Hypsipyla grandella* Zeller. *Revista Forestal Venezolana* 41(1): 23-28.
- Cintron, B. B. 1981. *Cedrela odorata* L. *In: Silvics of North America. Hardwoods. Agricultural Handbook* 654. Washington, DC. USDA. 2: 250-257.
- CONAFOR, Comisión Nacional Forestal. 2015. Principales especies maderables establecidas en plantaciones forestales comerciales 2000-2014. Consultado en CONAFOR. Mayo de 2015. Obtenido de: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/43/6018Principales%20especies%20maderables%20establecidas%20en%20PFC%20por%20a%20c3%b1o%20en%202000%20-%202014.pdf>
- Cornelius, J. P. and A. D. Watt. 2003. Genetic variation in a *Hypsipyla*-attacked clonal trial of *Cedrela odorata* under two pruning regimes. *Forest Ecology and Management* 183: 341-349.
- Cunningham, S. A., R. B. Floyd, M. W. Griffiths and F. R. Wylie. 2005. Patterns of host use by the shoot-borer *Hypsipyla robusta* (Pyralidae: Lepidoptera) comparing five Meliaceae tree species in Asia and Australia. *Forest Ecology and Management* 205: 351-357.

- Dean, C. A. and R. W. Stonecypher. 2006. Early selection of Douglas-fir across south central coastal Oregon, USA. *Silvae Genetica* 55(3): 135-141.
- Falconer, D.S. and T.F.C. Mackay. 1996. Introduction to Quantitative Genetics. Addison Wesley Longman Limited, Edinburgh. 484 p.
- Gara, R. I., G. G. Allan, R. M. Wilkins and J. L. Whitmore. 2009. Flight and host selection behavior of the mahogany shoot borer, *Hypsipyla grandella* Zeller (Lepidop., Phycitidae). *Journal of Applied Entomology* 72: 259-266.
- Hannrup, B., G. Jansson and O. Danell. 2008. Genotype by environment interaction in *Pinus sylvestris* L. in southern Sweden. *Silvae Genetica* 57(6): 306-311.
- Ignacio S., E., J. J. Vargas H., J. López U. and A. Borja R. 2005. Genetic parameters for growth and Wood density in juvenile *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake. *Agrociencia* 39(4): 469-479.
- Johnson, G. R., R. A. Sniezko and N. L. Mandel. 1997. Age trends in Douglas-fir genetic parameters and implication for optimum selection age. *Silvae Genetica* 46(6): 349-358.
- Kumar, A. 2007. Growth Performance and variability in different clones of *Gmelina arborea* (Roxb.). *Silvae Genetica* 56(1): 32-36.
- Lahera, W., A. Alvarez and S. Gamez. 1994. The genetic improvement program in *Cedrela odorata* L. in Cuba. FAO, Roma. *Forest Genetic Resources* 22: 27-28.
- López-Upton, J., T.L. White y D.A. Huber. 1999. Effects of site and intensive culture on family differences in early growth and rust incidence of loblolly and slash pine. *Silvae Genetica* 48(6): 284-293.

- Littell, R. C., G. A. Milliken, W. W. Stroup and R. D. Wolfinger. 1996. SAS system for mixed models. SAS, Cary, NC. 633 p.
- Macías S., J. E. 2001. Interacciones químicas entre *Hypsipyla grandella* y sus plantas hospedantes. Manejo Integrado de Plagas 60: 15-21.
- McKeand, S. E., B. Li, J. E. Grissom and K. J. S. Jayawickrama. 2008. Genetic parameter estimates for growth traits from diallel tests of loblolly pine throughout the southeastern United States. Silvae Genetica 57(3): 101-110.
- Miranda-Fontaína, M. E., J. Fernández-López, A. M. Vettraino and A. Vannini. 2007. Resistance of Castanea clones to *Phytophthora cinnamomi*: testing and genetic control. Silvae Genetica 56(1): 11-21.
- Mora, F., F. Tapia, A. Ibacache, E. Nunes-Martins and C. A. Scapium. 2008. Genetic evaluation of olive clones in the Atacama Desert, Chile. Agrociencia 42(7): 777-786.
- Navarro, C., F. Montagnini and G. Hernández. 2004. Genetic variation of *Cedrela odorata* Linnaeus: results of early performance of provenances and families from Mesoamerica grown in association with coffee. Forest Ecology and Management 192: 217-227.
- Newton, A. C., J. P. Cornelius, J. F. Mesén and R. R. B. Leakey. 1995. Genetic variation in apical dominance of *Cedrela odorata* seedlings in response to decapitation. Silvae Genetica 44(2-3): 146-150.
- Osorio L., F., T. L. White and D. A. Huber. 2001. Age Trends of heritabilities and genotype-by-environment interactions for growth traits and wood

density from clonal trials of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. *Silvae Genetica* 50(3-4): 30-37.

Pérez-Salicrup, D. R. and R. Esquivel. 2008. Tree infection by *Hypsipyla grandella* in *Swietenia macrophylla* and *Cedrela odorata* (Meliaceae) in Mexico's southern Yucatan Peninsula. *Forest Ecology and Management* 255: 324-327.

Ramírez G., C., G. Vera C., F. Carrillo A. y O. S. Magaña T. 2008. El cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) como alternativa de reconversión en terrenos abandonados por la agricultura comercial en el Sur de Tamaulipas. *Agricultura Técnica en México* 34(2): 243-250.

Robertson, A. 1959. The sampling variance of the genetic correlation coefficient. *Biometrics* 15(3): 469-485.

Salaya-Domínguez, J. M., J. López-Upton and J. J. Vargas-Hernández. 2012. Genetic and environment variation in two progeny test of *Pinus patula*. *Agrociencia* 46: 519-534.

Sánchez M., V. y C. Velázquez E. 1998. Evaluación de dos insecticidas biológicos en el control de *Hypsiphylia grandella* (Zeller). Barrenador de brotes de las Meliaceas. *Ciencia Forestal en México* 23(83): 33-39.

Sánchez M., V., J. G. Salazar G., J. J. Vargas H., J. López U. and J. Jasso M. 2003. Genetic parameters and response to selection for growth traits in *Cedrela odorata* L. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26(1): 19-27.

Sánchez M., V. y X. García C. 2009. Ecuaciones de volumen para plantaciones jóvenes de *Cedrela odorata* L. (Cedro rojo) en Tezonapa Veracruz. *In:*

- Memoria IV Reunión Nacional de Innovación Agrícola y Forestal. Saltillo, Coahuila, México. p. 363.
- SAS. 2004. Institute SAS/STAT 9.1 Guide for Personal Computers. SAS Institute Inc. Cary, N.C. 378 p.
- Sliwa, D. and V. O. Becker. 1973. Studies on the shootborer *Hypsipyla grandella* (Zeller) (Lep. Pyralidae). XX. Observations on emergence and mating of adults in captivity. *Turrialba* 23(3): 352-356.
- Swedjemark, G. and B. Karlsson. 2004. Variation in incidence and genetic impact on natural infection of *Heterobasidion annosum* in *Picea abies* (L.) Karst. in genetic trials in south Sweden. *Forest Ecology and Management* 203: 135-145.
- Thomas, B. R., S. E. MacDonald and B. P. Dancik. 1997. Variance components, heritabilities and gain estimates for growth chamber and field performance of *Populus tremuloides*: growth parameters. *Silvae Genetica* 46(6): 317-326.
- Ward, S. E., K. E. Wightman and B. Rodríguez-Santiago. 2008. Early results from genetic trials on the growth of Spanish cedar and its susceptibility to the shoot borer moth in the Yucatan Peninsula, Mexico. *Forest Ecology and Management* 255: 356-364.
- Weng, Y. H., K. J. Tosh, Y. S. Park and M. S. Fullarton. 2007. Age-related trends in genetic parameters for Jack pine and their implications for early selection. *Silvae Genetica* 56(5): 242-252.

- White, T. L. and G. R. Hodge. 1988. Best linear prediction of breeding values in forest tree improvement. *Theoretical and Applied Genetics* 76(5): 719-727.
- Yu, Q. and P. Pulkkinen. 2003. Genotype-environment interaction and stability in growth of aspen hybrid clones. *Forest Ecology and Management* 173: 25-35.
- Zobel, B. y J. Talbert. 1988. Técnicas de Mejoramiento Genético de Árboles Forestales. Ed. Limusa. México D. F. pp: 18-45.
- Zamudio, F., R. Baettig, A. Vergara, F. Guerra and P. Rozenberg. 2002. Genetic trends in wood density and radial growth with cambial age in a radiate pine progeny test. *Annals of Forest Science* 59(5-6): 541-549.

## CAPITULO III

### ENRAIZAMIENTO DE ACODOS EN CONTENEDOR PARA ELIMINAR EL USO DEL PATRÓN EN INJERTOS DE *Cedrela odorata* L.

#### 3.1. RESUMEN

La técnica más utilizada para clonar genotipos de interés de *Cedrela odorata* L. es por medio de injerto, aunque tiene el inconveniente de que el uso de un patrón no sobresaliente reduce la ganancia genética. Para eliminar este fenómeno se realizaron acodos en contenedor en plantas injertadas y crecidas en el vivero del Campo Experimental El Palmar en Tezonapa, Ver. Para establecer los acodos, se probaron dos tipos de anillado: 1) anillado completo, mediante la eliminación de 20 mm de corteza de la porción superior del sellado del injerto, y 2) medio anillado, donde se dejó un puente de corteza en la región del corte para el libre flujo de fotoasimilados; y cuatro concentraciones de ácido indolbutírico (AIB): 1) 0.0, 2) 1,000, 3) 3,000 y 4) 10,000 mg L<sup>-1</sup>. Después la región anillada fue cubierta con sustrato sostenido mediante tubos de PVC colocados alrededor del tallo. El experimento tuvo un diseño completamente al azar con 20 repeticiones. La evaluación se realizó a los 90 días. Los tratamientos de anillado completo con 10,000 y 1,000 mg L<sup>-1</sup> de AIB fueron estadísticamente superiores a los demás tratamientos y promovieron un mayor porcentaje (90 %) de acodos enraizados, además de la mayor formación en cantidad y longitud de raíces de primer y segundo orden. Con la técnica de acodo en contenedor es posible eliminar el uso del patrón.

**Palabras clave:** Propagación, cedro rojo, clonación, anillado completo, auxinas.

## LAYERING ROOTING CONTAINER TO ELIMINATE THE USE OF ROOTSTOCK IN GRAFTS OF *Cedrela odorata* L.

### 3.2. ABSTRACT

Grafting is the most used technique to clone outstanding genotypes of *Cedrela odorata* L.; however, it has the disadvantage that the not use of the best rootstock reduced genetic gain. In this study, to try to eliminate the rootstock from the grafting, an experiment was performed with layering container in grafted plants grown in the nursery of the Experimental Station in El Palmar Tezonapa, Veracruz. To set the layers, two types of banding were tested: 1) full banding, by removing bark 20 mm sealing the upper portion of the graft, and 2) the banding, where a bridge bark left in the cutting region for the free flow of photoassimilates; and four concentrations of indole butyric acid (AIB): 1) 0.0, 2) 1,000 3) 3,000 4) 10,000 mg L<sup>-1</sup>. After the banded region was covered with substrate held by PVC tubes placed around the stem. The experiment had a completely randomized design with 20 repetitions. The evaluation was performed at 90 days. Treatments full ringed with 10,000 and 1,000 mg L<sup>-1</sup> of AIB were statistically superior to the other treatments and promoted a higher percentage (90 %) of layering rooted, as well as training in number and length of roots of first and second order. With the technique of layering in container, it is possible to eliminate the rootstock.

**Key words:** Propagation, red cedar, cloning, full ringed, auxins.

### 3.3. INTRODUCCIÓN

Cuando se tiene un genotipo de interés y el objetivo es conservar las características deseadas, la reproducción por semilla no es la adecuada (Işgen *et al.*, 2006; Owens *et al.*, 2008; Beck, 2012). Es más conveniente utilizar la propagación vegetativa, ya que con eso aseguramos una copia idéntica del árbol seleccionado, transfiriendo todo su potencial genético (Peña *et al.*, 2010; Ikegami *et al.*, 2012; Aparicio *et al.*, 2014).

El injerto es una técnica de propagación vegetativa (Cárdenas *et al.*, 2010; Vacek *et al.*, 2012) que consiste en unir el genotipo de interés con otro distinto llamado patrón o portainjerto, que por lo regular se originan por semilla (Pina y Errea, 2005; Pina *et al.*, 2012). Tener dos genotipos en una sola planta puede ser una ventaja, ya que se puede utilizar un portainjerto resistente a problemas edáficos y sobre éste el injerto de un genotipo productivo (Márquez *et al.*, 2007; Venturini y López 2010). Sin embargo, la unión de dos genotipos diferentes puede presentar alteración en la expresión de las características deseables y reducir la ganancia genética (Pérez *et al.*, 2002), además de generar heterogeneidad entre los rametos de un clon debido al portainjerto (Darrouy *et al.*, 2010). En especies arbóreas no se han desarrollado plantas patrón que sean óptimas para evitar el rechazo por incompatibilidad (Darikova *et al.*, 2011; Jayawickrama *et al.*, 2011). Lo que pueden generar efectos negativos sobre la vigorosidad natural de la púa, tamaño de planta, rendimiento de frutos, el número de estomas, contenido nutricional de las hojas, floración, maduración

de frutos, resistencia o sensibilidad a plagas y enfermedades o bien la muerte del clon (Pérez, 2004; Casierra y Guzmán, 2009; García *et al.*, 2010).

Para eliminar todos los efectos negativos del portainjerto y tener uniformidad genética de los clones resultantes se puede eliminar el portainjerto por medio de un acodo modificado (Alves *et al.*, 1999). Esta técnica se desarrolló por Frolich y Platt (1971) para la propagación de aguacate. La técnica de acodo en contenedor, consiste en que una vez que el genotipo ha sido propagado por injerto, se realiza un acodo por arriba de donde se realizó el injerto (Maynard y Bassuk, 1996; Salazar *et al.*, 2004; Darrouy *et al.*, 2010). La parte acodada dispone de nutrimentos durante todo el período de enraizamiento y se evita estrés hídrico por ausencia de raíces (Dutra *et al.*, 2012).

Es necesario que el injerto se realice lo más bajo posible, cercano al sustrato, dejando poco espacio entre el cuello de la planta y la zona donde se realiza el corte y se hace la aplicación de auxinas. Lo anterior facilita colocar el sustrato que servirá de anclaje a las nuevas raíces. La capacidad que tiene una especie de formar raíces adventicias puede ser alterada por la acción de reguladores de crecimiento y la obstrucción del flujo de fotoasimilados (Hartmann y Kester, 2001).

Es posible eliminar el patrón con un acodo en contenedor y rescatar el genotipo seleccionado en el injerto y mantener la ganancia genética. Para evitar los posibles efectos negativos del patrón, el objetivo del presente estudio fue excluir el uso de una planta patrón por medio de acodos en contenedor,

analizando el efecto del tipo de anillado y la concentración de AIB en el enraizamiento del acodo.

### **3.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

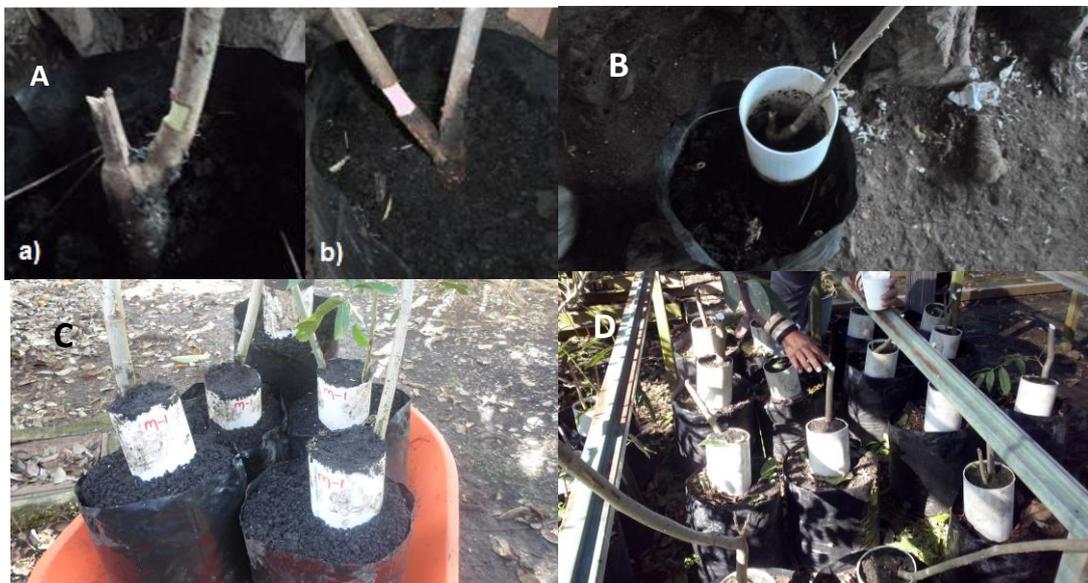
#### **3.4.1. Localización**

El ensayo se estableció en el vivero del Campo Experimental El Palmar (18° 32' L.N., 96° 47' L.O., altitud de 180 m) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), localizado en el Municipio de Tezonapa, Veracruz; donde el clima es cálido húmedo con lluvias en verano, precipitación media de 2,888 mm anuales y temperatura media anual de 24.4 °C (Sánchez y Velázquez, 1998; Sánchez *et al.*, 2003).

#### **3.4.2. Material vegetal**

Para la obtención de los portainjertos se sembraron semillas provenientes de un huerto semillero del C.E. El Palmar en contenedores de plástico de 1 l. El sustrato utilizado fue una mezcla de cachaza de caña de azúcar y cascabillo de café, previamente composteados, en proporciones de 3:1, respectivamente. Cuando las plantas tuvieron seis meses de edad y alcanzaron un diámetro superior a los 2 cm fueron injertadas, a través de injertos de yema; yemas procedentes de material seleccionado (clon 91) del banco clonal del mismo Campo Experimental. Después de seis meses del injertado, 160 plantas fueron trasplantadas a bolsas de polietileno de 5 kg, con el mismo sustrato.

Se realizaron anillados por encima del injerto con dos tipos de corte: anillado completo y medio anillado (Alves *et al.*, 1999), cada uno sobre 80 plantas. Para el anillado completo, una sección de corteza de 20 mm de longitud alrededor del tallo, ubicada 10 cm por encima del sellado del injerto, fue eliminada con una navaja evitando cortar o dañar el injerto; mientras que para el corte de medio anillado se usó el mismo procedimiento que el anterior, pero dejando “puentes” de corteza para el libre flujo de fotoasimilados (Figura 3.1) (Hansen y Pal, 2003). Enseguida, se aplicaron varias dosis de auxinas en la parte libre de corteza. La auxina aplicada fue el ácido indolbutírico (AIB) en polvo en concentraciones de 0, 1,000, 3,000 y 10,000 mg L<sup>-1</sup>; para el control se utilizó talco industrial. La aplicación de la auxina fue puesta manualmente utilizando guantes de látex.



**Figura 3.1.** A) Tipos de corte: a) medio anillado, b) anillado completo; y aplicación de auxinas. B) colocación de tubo PVC. C) llenado de tubo PVC con sustrato. D) poda de acodos en contenedor.

Después, se colocó un tubo de PVC de 20 cm de largo y 7.5 cm de diámetro sobre el sustrato del contenedor (Figura 3.1). Finalmente, el tubo de PVC fue llenado con sustrato para cubrir el anillado provisto de auxina. Las 160 plantas se mantuvieron en el vivero, donde la humedad adecuada fue mantenida mediante riegos programados. A los dos meses cuando se observó presencia de raíces en los acodos, se procedió a realizar una poda de la parte aérea del injerto para evitar el desbalance con la parte nueva radicular (Hamann, 1998) (Figura 3.1). Esta consistió en dejar el tallo en 10 cm de altura, al cual se aplicó fungicida para evitar el ataque de patógenos.

#### **3.4.3. Variables por evaluar**

A los 90 días de establecidos los acodos, se registró el porcentaje de acodos enraizados, el número y longitud de raíces de primer y segundo orden. Para conocer su capacidad de establecimiento y determinar la supervivencia, después de la evaluación del enraizamiento, los acodos en contenedor que lograron formar raíces fueron transplantados en bolsas de polietileno de 5 kg, usando la misma mezcla de sustratos del experimento.

#### **3.4.4. Diseño y análisis experimental**

El experimento tuvo un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 2x4 (dos tipos de cortes y cuatro concentraciones de auxina) con 20 repeticiones. Los datos registrados no cumplieron con los supuestos de normalidad, por lo que previo al análisis de varianza la variable porcentaje (Y) de acodos enraizados fue transformada con la función arcoseno de la raíz cuadrada del

valor original expresado en fracción decimal [ $T = \arccos(\sqrt{Y})$ ] (Muñoz *et al.*, 2009). La variable de conteo (Y), número de raíces fue transformada con la función logaritmo, [ $T = \log_{10}(Y)$ ]. Posteriormente los valores promedio fueron retransformados a las unidades originales, con la función [ $Y = 100 \text{ seno}^2(T)$ ] para la variable porcentaje y con la función [ $Y = 10^T$ ] para la variable de conteo. Se realizó una comparación múltiple de medias de Tuckey ( $p \leq 0.05$ ). Los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS para computadora personal (SAS, 2004). Cada acodo se consideró como la unidad experimental.

De acuerdo con el diseño experimental, para el análisis se utilizó el modelo lineal siguiente (1):

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + D_j + CD_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

Donde:  $Y_{ijk}$  = variable respuesta del  $i$ -ésimo tipo de corte, con la  $j$ -ésima dosis de AIB en la  $k$ -ésima repetición (planta);  $\mu$  = media general;  $C_i$  = efecto fijo del  $i$ -ésimo tipo de corte (anillado y medio anillado);  $D_j$  = efecto fijo de la  $j$ -ésima dosis de AIB (0, 1,000, 3,000 y 10,000 mg L<sup>-1</sup>);  $CD_{ij}$  = efecto fijo de la interacción entre el  $i$ -ésimo tipo de corte y de la  $j$ -ésima dosis de AIB y  $\varepsilon_{ijk}$  = error aleatorio correspondiente a la observación  $Y_{ijk}$ . Con este modelo se obtuvieron los estimadores de varianza y del error para cada característica de interés.

### 3.5. RESULTADOS

El tipo de corte, la dosis de AIB y la interacción de ambos tuvieron un efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) en el enraizamiento y morfología de la raíz de los acodos establecidos (Cuadro 3.1).

**Cuadro 3.1.** Valor de *P* del análisis de varianza para las variables evaluadas en el enraizamiento de acodos en contenedor de *Cedrela odorata* L.

Fuente de variación	Acodos enraizados (%)	Número de raíces		Longitud de raíces	
		primarias	secundarias	primarias	secundarias
Tipo de corte	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**	0.0000**
Dosis de AIB	0.0016**	0.3436	0.0091**	0.0034**	0.0006**
Corte x dosis	0.0434**	0.0113**	0.0402**	0.0195**	0.0104**

\*\* Con diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

#### 3.5.1. Enraizamiento por tipo de corte

Con la técnica de anillado completo se generó significativamente ( $p \leq 0.05$ ) mayor porcentaje de enraizamiento, siendo superior en más del 60 % que con el uso de medio anillado. En la producción de raíces de primer y segundo orden presentó tres veces mayor número y longitud que el observado en el medio anillado (Cuadro 3.2).

**Cuadro 3.2.** Valores medio y error estándar de las variables evaluadas para determinar el efecto del tipo de corte en el enraizamiento de acodos en contenedor del clon 91 de *Cedrela odorata* L.

Tipo de corte	Acodos enraizados (%)	Número de raíces		Longitud de raíces (cm)	
		primarias	secundarias	primarias	secundarias
MA	5.0±2.2 b	5.13±0.56 b	3.43±1.88 b	5.84±3.72 b	0.21±0.09 b
AC	67.5±4.7 a	13.38±5.74 a	11.80±1.26 a	15.11±2.53 a	2.58±0.94 a
<b>Promedio</b>	<b>36.250</b>	<b>9.255</b>	<b>7.615</b>	<b>10.475</b>	<b>1.395</b>
CV (%)	10.2	15.8	14.9	16.4	14.4
Valor de F	57.08	47.73	44.15	28.29	34.79

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

MA: medio anillado, AC: anillado completo, CV: coeficiente de variación.

### 3.5.2. Enraizamiento por dosis de AIB

Se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de acodos enraizados entre las diferentes concentraciones de AIB. En el caso de acodos sin auxinas se obtuvo el 15 % de enraizamiento, mientras que acodos con auxinas se incrementa el enraizado en una proporción de 3 a 1 (Cuadro 3.3). La concentración más alta ( $10,000 \text{ mg L}^{-1}$ ) resultó significativamente superior en el enraizamiento de acodos en contenedor hasta en un 25 % que las concentraciones menores. Con las concentraciones de  $1,000$  y  $3,000 \text{ mg L}^{-1}$  se obtiene menos de 50 % de acodos enraizados.

**Cuadro 3.3.** Valores medio y error estándar de las variables evaluadas en el enraizamiento de acodos en contenedor según la dosis de AIB aplicado al clon 91 de *Cedrela odorata* L.

Dosis (mg L <sup>-1</sup> )	Acodos enraizados (%)	Número de raíces		Longitud de raíces (cm)	
		primarias	secundaria	primarias	secundarias
0	15 ±3.7 b	4.95±2.75 a	2.25±1.62 b	2.45±1.21 b	0.45±0.15 b
1,000	45 ±5.1 ab	8.00±3.06 a	7.10±1.50 a	10.75±2.52 a	1.95±0.31 a
3,000	30±10.7 ab	4.20±3.49 a	3.85±1.67 b	7.25±2.29 a	1.05±0.78 ab
10,000	55 ±5.1 a	9.85±2.55 a	9.80±2.84 a	11.45±2.86 a	2.13±0.12 a
<b>Promedio</b>	<b>36.25</b>	<b>6.75</b>	<b>5.75</b>	<b>7.975</b>	<b>1.395</b>
CV (%)	12.9	19.2	16.7	14.1	13.5
Valor F	2.8	1.83	2.59	2.65	3.45

Medias con una misma letra no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ ).

CV: coeficiente de variación.

### 3.5.3. Enraizamiento por la interacción tipo de corte y dosis de AIB

Se encontraron diferencias significativas ( $p\leq 0.05$ ) en el porcentaje de acodos enraizados como efecto de la interacción del tipo de corte y la aplicación de auxinas. Los mejores porcentajes de enraizamiento fueron con anillado completo y las dosis de 1,000 y 10,000 mg L<sup>-1</sup> con un 90 % del enraizamiento (Cuadro 3.4). Mientras que el anillado completo y 3,000 mg L<sup>-1</sup> se obtuvo un 60 %. En el caso de no aplicar auxinas, el anillado completo promueve el 30 % del enraizamiento. El medio anillado y la concentración de 10,000 mg L<sup>-1</sup> de AIB favorecieron la aparición de raíces adventicias, aunque su efecto solo fue de 20 %.

**Cuadro 3.4.** Valores medios y error estándar de la variables evaluadas para determinar el efecto del tipo de corte y la aplicación de dosis de AIB en acodos en contenedor del clon 91 de *Cedreia odorata* L.

Tratamiento Corte+dosis	Acodos enraizados (%)	Número de raíces		Longitud de raíces (cm)	
		primarias	secundarias	primarias	secundarias
MA+0	0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c
MA+1000	0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c
MA+3000	0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c	0.0 c
MA+10000	20±6.2 c	0.5±0.3 c	1.7±0.6 c	3.3±1.1 c	0.8±0.4 bc
AC+0	30±4.8 c	9.9±1.7 b	4.5±1.4 b	4.9±1.3 c	0.9±0.5 bc
AC+1000	90±3.2 a	16.0±2.8 a	14.2±2.0 a	21.5±1.6 a	3.9±1.7 a
AC+3000	60±5.2 b	8.4±2.9 b	7.7±1.8 b	14.5±1.2 b	2.1±1.1 ab
AC+10000	90±3.2 a	19.2±1.3 a	17.9±3.8 a	19.5±2.4 a	3.4±1.6 a
<b>Promedio</b>	<b>58</b>	<b>10.8</b>	<b>9.2</b>	<b>12.74</b>	<b>2.22</b>
CV (%)	9.1	16.4	12.8	10.3	9.9
Valor F	13.78	4.96	8.84	12.14	12.88

Medias con una misma letra no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ ).

MA: medio anillado, AC: anillado completo, CV: coeficiente de variación.

Después de que se obtuvieron los acodos y que fueron trasplantados, durante seis meses de seguimiento no se presentaron problemas sanitarios ni síntomas de estrés. Obteniéndose 100 % de supervivencia.

## 3.6. DISCUSIÓN

### 3.6.1. Enraizamiento por tipo de corte

Los resultados indican que el anillado completo tiene mayor efectividad que el medio anillado. Hartmann y Kester (2001) señalan que el anillado constituye el primer paso para realizar un acodo y con él se estimula la iniciación radicular. Esto podría explicarse por una mejor absorción de AIB por parte del cambium, al eliminar parte de la corteza. El anillado ocasiona una obstrucción temporal del flujo descendente de fotoasimilados (Alves *et al.*, 1999), lo que facilita el aumento del nivel de auxina natural encima del anillado y de algunos metabolitos que son transportados por el floema como el ácido indolacético (AIA), el almidón y cofactores de enraizamiento que favorecen la formación de raíces adventicias.

Según Stolz y Hess (1966) el anillado mejora la capacidad para formar raíces; donde el mayor componente que aumenta en los tejidos por arriba del anillado son los carbohidratos. Además, la mayor habilidad de enraizamiento puede deberse a una acumulación de sustancias promotoras del enraizamiento o sus precursores, así como a una proliferación de células parenquimatosas sobre el anillado, capaces de aumentar la cantidad de raíces o formar nuevas raíces por acodo. Sin embargo, el medio anillado, aunque éste no interrumpió la circulación de los fotoasimilados, probablemente tampoco favoreció la acumulación de metabolitos promotores de rizogénesis, por lo que el enraizamiento fue menor.

### 3.6.2. Enraizamiento por dosis de AIB

El AIB fue un factor importante en la inducción de raíces adventicias, ya que en presencia de esta hormona el número de acodos enraizados se incrementó significativamente respecto a los tratamientos sin AIB. Varios trabajos han señalado que el AIB es la mejor auxina para trabajos de enraizamiento (Ruíz *et al.*, 2005; Hunt *et al.*, 2011). Bastin (1966) señala que durante el proceso de enraizamiento el AIB puede aumentar la biosíntesis de compuestos fenólicos, lo que fue ratificado por Tustin (1974), quien sugiere que la aplicación de auxina sintética no actúa como auxina sino como protector del ácido indolacético (AIA) endógeno y lo dirige a la formación de ciertos compuestos usados en la formación de raíces. Por tanto, para incrementar el enraizamiento es necesario contar con auxinas endógenas; según Amri *et al.* (2010) éstas son indispensables para estimular la formación de raíces. Éstas son sintetizadas en las partes aéreas de la planta o en los ápices de las raíces primarias y secundarias y aunque están presentes de forma natural, en especies de difícil propagación, como es el caso del cedro rojo, es necesario aplicarlas exógenamente y probar diferentes concentraciones para definir la óptima (Ljung *et al.*, 2005).

En este estudio, las concentraciones altas de auxinas favorecieron el mayor número de acodos enraizados en contenedor de cedro rojo, y esto puede deberse a que la cantidad de auxina endógena no es suficiente para promover el proceso de rizogénesis. Algunas especies requieren alta concentración de auxina para estimular la formación de raíces adventicias (Gorter, 1962; Sánchez *et al.*, 2009). Otro aspecto a considerar en la respuesta a la

concentración de AIB es la importancia de la vitalidad de la planta madre, ya que entre más vigorosa sea mayor facilidad de enraizar usando concentraciones bajas de AIB. Hartmann y Kester (2001) mencionan que la nutrición es determinante para el desarrollo radicular, ya que la división celular requiere mayor consumo de energía y existe una relación directa entre el contenido de carbohidratos y el enraizamiento. Por lo que es necesario evaluar la relación de la fertilización en el vigor y su efecto en la inducción de raíces adventicias.

### **3.6.3. Enraizamiento por la interacción tipo de corte y dosis de AIB**

La interacción del anillado completo y la aplicación de diferentes dosis de AIB favoreció el enraizamiento, el efecto de ésta interacción puede estar asociado a que el anillado promueve la acumulación de sustancias promotoras del enraizamiento, mientras que la adición exógena de auxinas potencia tal efecto. Además, una planta vigorosa pondrá a disposición los carbohidratos necesarios, y el ambiental dará los estímulos necesario para iniciar el proceso de rizogénesis (Amissah y Bassuk, 2004).

Mantovani *et al.* (2010) menciona que la aplicación de reguladores de crecimiento, especialmente el ácido indolbutírico (AIB) y el anillado de la corteza, mejoran significativamente el enraizamiento. El AIB aumenta la actividad de las enzimas hidrolíticas que actúan sobre la mayor cantidad de carbohidratos acumulados sobre el anillado (Viitez y Viitez 1980); además, como se señaló anteriormente, éste probablemente actuó como protector del ácido indolacético (AIA) endógeno (Stolz y Hess, 1966; Tustin, 1974). Por lo

tanto, la interacción del anillado completo y la aplicación de AIB resultó ser el mejor tratamiento para enraizar acodos en contenedor de cedro rojo y concuerda con lo reportado para otras especies de difícil enraizamiento como el aguacate (Alvez *et al.*, 1999).

### 3.7. CONCLUSIONES

El acodo en contenedor de *C. odorata* tiene mayor éxito de ser enraizado con el anillado completo. La aplicación exógena de AIB, amplifica la respuesta en producción y morfología de raíz del acodo en contenedor. Eliminar el portainjerto mediante la técnica de acodo en contenedor en *C. odorata* es posible.

### 3.8. LITERATURA CITADA

- Amissah, J. N., and N. L. Bassuk. 2004. Clonal propagation of *Quercus* spp. using a container layering technique. *Journal Environmental Horticulturae* 22(2): 80-84.
- Amri, E., H. V. M. Lyaruu, A. S. Nyomora, and Z. L. Kanyelka. 2010. Vegetative propagation of African Blackwood (*Dalbergia melanoxylon* Guill. & Perr.): Effects of age of donor plant, IBA treatment and cutting position on rooting ability of stem cuttings. *New Forests* 39: 183-194.

- Alves de Oliviera, A., O. Carlos K., y A. Villegas M. 1999. Propagación vegetativa de aguacate selección 153 (*Persea* sp.) por acodo en contenedor. *Revista Chapingo serie Horticultura* 5: 221-225.
- Aparicio R., A., S. F. Juárez C., y L. R. Sánchez V. 2014. Propagación por enraizamiento de estacas y conservación de árboles plus extintos de *Pinus patula* procedentes del norte de Veracruz, México. *Madera y Bosques* 20(1): 85-96.
- Bastin, M. 1966. Root initiation, auxin level and biosynthesis of phenolic compounds. *Photochemistry and Photobiology* 5: 423-429.
- Beck, S. L. 2012. Identification of pre-zygotic reproductive and morphological barriers limiting controlled crossed seed production of triploid *Acacia mearnsii*. *South African Journal of Botany* 79: 51-61.
- Cárdenas H., J. F., J. G. Álvarez H., E. Barragán Q., y C. M. Rivera. 2010. Efecto del ácido giberélico y la 6-bencilaminopurina sobre el desarrollo de yemas en injertos de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Agronomía Colombiana* 28(1): 19-27.
- Casierra P., F., y J. A. Guzmán. 2009. Efecto del portainjerto y del injerto intermedio sobre la calidad de fruta en mango (*Manguifera indica* L.). *Agronomía Colombiana* 27(3): 367-374.
- Darikova, J. A., Y. V. Savva., E. A. Vaganov., A. M. Grachev, and G.V. Kuznetsova. 2011. Grafts on Woody plants and the problem of incompatibility between scion and rootstock (a review). *Journal of Siberian Federal University: Biology* (4): 54-63.

- Darrouy P., N., M. Castro V., R. Cautín M., L. Kort S., y R. Bozzolo A. 2010. Efecto de la posición de la yema y de la poda en plantas de aguacate destinadas a la clonación. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33(3): 249-256.
- Dutra R., T., M. Dutra M., M. F. Quintino S., e J. Costa O. 2012. Ácido indolbutírico e substratos na alporquia de umbuzeiro. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 42(4): 424-429.
- Frolich, E. F. and R. G. Platt. 1971. Use of the etiolation technique in rooting avocado cuttings. *California Avocado Society* 55: 97-109.
- García R., M. R., E. Chiquito A., P. D. Loeza L., E. Godoy H., E. Villordo P., J. L. Pons H., M. M. González C., and J. L. Anaya L. 2010. Production of ancho chili graft on criollo de Morelos 334 for the control of *Phytophthora capsici*. *Agrociencia* 44(6): 701-709.
- Gorter, C. J. 1962. Further experiments on auxin synergist. *Physiologia Plantarum* 15: 88-95.
- Hamann, A. 1998. Adventitious root formation in cuttings of cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation. *Trees* 12: 175-180.
- Hansen, A., and M. Pal. 2003. Clonal Propagation of Teak (*Tectona grandis* Linn. f.): Effect of IBA Application and Adventitious Root Regeneration on Vertically Split Cuttings. *Silvae Genetica* 52(3-4): 173-176.
- Hartmann, H. T., y D. E. Kester. 2001. Propagación de Plantas. Principios y Prácticas. 8va reimpression. Edit. Continental. México, D. F. 760 p.
- Hunt, M. A., J. T. Stephen, and A. Rasmussen. 2011. Indole-3-butyric acid accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of

*Pinus elliottii* var. *elliottii* and *P. caribaea* var. *hondurensis* cuttings. New Forests 41: 349-360.

Içgen, Y., Z. Kaya, B. C. Cengel, E. Velioglu, H. Östürk, and S. Önde. 2006. Potential impact of forest management and tree improvement on genetic diversity of Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.) plantations in Turkey. Forest Ecology and Management 225: 328-336.

Ikegami, M., D. F. Whigham, and M. J. A. Werger. 2012. Effects of local density of clonal plants on their sexual and vegetative propagation strategies in a lattice structure model. Ecological Modelling 234: 51-59.

Jayawickrama, K. J. S., S. E. McKeand, and J. B. Jett. 2011. Effects of rootstock source on the size, cone production, and compatibility of Douglas-Fir grafts. Western Journal of Applied Forestry 7(3): 73-77.

Ljung, K., A. K. Hull, J. Celenza, M. Yamada, M. Estelle, J. Normanly, and G. Sandberg. 2005. Sites and regulation of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* roots. The Plant Cell 17: 1090-1104.

Mantovani N., C., M. Ferrari G., A. Xavier, y W. Campos O. 2010. Resgate vegetativo por alporquia de genotipos adultos de urucum (*Bixa orellana* L.). Ciência Florestal 20(3): 403-410.

Márquez C., J. A., G. Martínez D., y H. Núñez M. 2007. Portainjertos, fertilidad de yemas y producción de variedades de uva de mesa. Revista Fitotecnia Mexicana 30(1): 89-95.

Maynard, B. K., and N. L. Bassuk. 1996. Effects of stock plant etiolation, shading, banding, and shoot development on histology and cutting

propagation of *Carpinus betulus* L. *fastigiata*. Journal American Society Horticulturae 121(5): 853-860.

Muñoz-Gutiérrez, L., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, and M. Soto-Hernández. 2009. Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa*. New Forests 38: 187-196.

Owens, J. N., T. Kittirat, and M. F. Mahalovich. 2008. Whitebark pine (*Pinus albicaulis* Engelm.) seed production in natural stands. Forest Ecology and Management 255: 803-809.

Peña R., Y. J., J. Juárez G., L. Gómez L., J. L. Jerónimo P., I. García S., J. A. González R., and M. L. Robert. 2010. Multiple adventitious shoot formation in Spanish Red Cedar (*Cedrela odorata* L.) cultured in vitro using juvenile and mature tissues: an improved micropropagation protocol for a highly valuable tropical tree species. In Vitro Cellular & Developmental Biology -Plant 46(2): 149-160.

Pérez Z., O. 2004. Leaf nutrient concentration, yield, production efficiency, juice quality and nutrimental indexes on Valencia orange grafted on citrus rootstocks. Agrociencia 38(2): 141-154.

Pérez Z., O., V. Medina U., and S. Becerra R. 2002. Growth and yield of Valencia orange grafted on 16 citrus rootstocks growing in a calcimorphic soil, and juice quality. Agrociencia 36(2): 137-148.

Pina, A., P. Errea, and H. J. Martens. 2012. Graft union formation and cell-to-cell communication via plasmodesmata in compatible and incompatible stem unions of *Prunus* spp. Scientia Horticulturae 143: 144-150.

- Pina, A., and P. Errea. 2005. A review of new advances in mechanism of graft compatibility–incompatibility. *Scientia Horticulturae* 106: 1-11.
- Ruíz G., R., J. J. Vargas H., V. M. Cetina A., y Á. Villegas M. 2005. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizamiento de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28: 319-326.
- Sánchez M., V., y C. Velázquez E. 1998. Evaluación de dos insecticidas biológicos en el control de *Hypsipyla grandella* (Zeller), barrenador de brotes de las Meliaceas. *Ciencia Forestal en México* 23(83): 33-39.
- Sánchez M., V., J. G. Salazar G., J. J. Vargas H., J. López U., and J. Jasso M. 2003. Genetic parameters and response to selection for growth traits in *Cedrela odorata* L. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26(1): 19-27.
- Sánchez U., A. B., E. Suárez, M. Razella González, Y. Amaya, C. B. Colmenares, y J. Ortega A. 2009. Efecto del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de acodos aéreos de guayabo (*Psidium guajava* L.) en el municipio de Baralt, Venezuela. *Revista UDO Agrícola* 9(1): 113-120.
- Salazar G., S., J. J. Velasco C., R. Medina T., y J. R. Gómez A. 2004. Selecciones de aguacate con potencial de uso como portainjertos. II. Respuesta al enraizamiento mediante acodos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27(2): 183-190.
- SAS. 2004. Institute SAS/STAT 9.1 Guide for Personal Computers. SAS Institute Inc. Cary, N.C.
- Stolz, L. P., and C. E. Hess. 1966. The effect of girdling upon root initiation: auxin and rooting cofactors. *Jornal of American Society for Horticultural Science* 89: 744-751.

- Tustin, D. S. 1974. Objectives and research methods in the rooting of apple cuttings. *The International Plant Propagator's Society* 24: 308-313.
- Vacek, S., P. Hejcmanova, and M. Hejcman. 2012. Vegetative reproduction of *Picea abies* by artificial layering at the ecotone of the alpine timberline in the Giant (Krkonoše) Mountains, Czech Republic. *Forest Ecology and Management* 263: 199-207.
- Venturini, M., y C. López. 2010. Propagación de árboles selectos por injertos de púas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. *Quebracho* 18(1-2): 101-105.
- Vietez, A. M., A. Ballester, M. T. Garcia, and E. Vietez. 1980. Starch depletion and anatomical changes during the rooting of *Castanea sativa* Mill. cutting. *Scientia Horticulturae* 13(3): 261-266.

## CAPITULO IV

### EFECTO DEL SUSTRATO, EL TIPO DE ESTACA Y ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (AIB) SOBRE LA CAPACIDAD DE ENRAIZADO DE ESTACAS JUVENILES DE *Cedrela odorata* L.

#### 4.1. RESUMEN

Para el establecimiento de plantaciones clonales de *Cedrela odorata* L. se requiere la propagación vegetativa de forma masiva y económica. El enraizamiento de estacas cubre estos requerimientos, por lo que es necesario desarrollar protocolos para ello. Se evaluaron dos tipo de sustratos: agrolita y una mezcla de turba-agrolita-vermiculita 2:1:1, tres tipos de estacas: basales, intermedias y apicales, y cuatro concentraciones de ácido indolbutírico (AIB): 0, 1500, 5000 y 10000 ppm, bajo un diseño completamente al azar. Después de 20 semanas de tratamiento, se logró un enraizamiento promedio de 52.7 % de estacas. Los resultados indicaron que usando agrolita como sustrato se obtuvo un 79.1 % de enraizamiento, dos veces más que la mezcla. Mientras que la aplicación de 1500 ppm de AIB fue la dosis que favoreció el mayor enraizamiento (73.3 %). Utilizando estacas apicales se favoreció el enraizamiento con 66.2 % y se obtuvo dos veces más cantidad y longitud de raíces. Las interacciones entre los factores no presentaron diferencias significativas; Pero la mejor combinación con 90 % de enraizamiento fue usando estacas de tipo apical, con 1,500 ppm de AIB puestas a enraizar en agrolita. Por lo que se puede concluir que el uso de agrolita y la aplicación de AIB en estacas juveniles de *C. odorata*, tuvieron un efecto positivo para su enraizamiento.

**Palabras clave:** sustrato, enraizamiento, estacas, apical.

# THE EFFECT OF SUBSTRATE, TYPE OF CUTTING AND INDOLBUTIRICO ACID (AIB) ON CAPACITY OF JUVENILE CUTTING ROOTING *Cedrela odorata* L.

## 4.2. ABSTRACT

Clonal commercial plantations of *Cedrela odorata* L. need economic and massive vegetative propagation technics. The rooting cuttings cover these requirements, making it necessary to develop protocols for this. Two types of substrates were tested perlite and a mixture of peat-perlite-vermiculite 2: 1: 1, three types of cuttings: basal, middle and apical, and four concentrations of indole butyric acid (AIB), 0, 1500, 5000 and 10000 ppm. under a completely randomized design. After 20 weeks of treatment, an average of 52.7 % rooting cuttings was achieved. The results indicated that using perlite as substrate a rooting of 79.1 % was obtained, twice mixture. While the application of 1500 ppm was the dose AIB favored greater rooting (73.3 %). Using apical cuttings, the rooting was favored by 66.2 % and in the same way the number and length of roots. The interactions between factors were not significantly different; but the best combination for roots production in cuttings (90 %) was using apical type with 1,500 ppm of AIB in perlite sustrate. Therefore, it can be concluded that the use of perlite and application of AIB in juvenile cuttings of *C. odorata* had a positive effect for rooting.

**Keywords:** soil, rooting, cuttings, apical.

### 4.3. INTRODUCCIÓN

El enraizamiento de estacas es el medio de propagación vegetativa de producción masiva más importante por su bajo costo, de relativa rapidez, sencilla y genera uniformidad genética en los individuos obtenidos (Capuana *et al.*, 2000). Consiste en obtener partes de ramas de un árbol y colocarlas en condiciones ambientales favorables para inducir rizogénesis y organogénesis (Thanuja *et al.*, 2002; Husen y Pal, 2003; Liu *et al.*, 2012). En países como Chile, España, Portugal, China, Canadá, Brasil, Australia, Nueva Zelanda y Estados Unidos se utilizan para el desarrollo de plantaciones clonales comerciales de *Pinus radiata* D. Don, *Pinus taeda* L., *Gmelina arbórea* Roxb. y diversas especies de *Populus*, *Platanus*, *Salix* y *Eucalyptus*. (Bedon *et al.*, 2011).

En México *Cedrela odorata* L. (cedro rojo) es una de las especies prioritarias por su importancia industrial (Sánchez *et al.*, 2003; Ramírez *et al.*, 2008; Quinto *et al.*, 2009), y la más utilizada para plantaciones comerciales (CONAFOR, 2015). Sin embargo, el ataque de *Hypsipyla grandella* (Zeller) causa daños importantes en su desarrollo y conformación, lo que limita el éxito de las plantaciones comerciales (Navarro *et al.*, 2004). Se han detectado árboles que resisten el ataque de esta palomilla (Sánchez *et al.*, 2003), los que pueden ser reproducidos masivamente. El enraizamiento de estacas es una opción recomendable para multiplicar genotipos con características superiores (Marrón *et al.*, 2002; Kraiem *et al.*, 2010).

En los árboles propagados por estacas se transfiere todo el potencial genético del material donante y son genéticamente iguales (Husen, 2004; Tarragó et al., 2005). Con ésta técnica se captura y aprovecha la varianza genética total y se mantiene la ganancia genética obtenida mediante el mejoramiento genético (Zalesny et al., 2003).

La capacidad de enraizamiento está íntimamente relacionada con el estado de madurez de la planta madre, donde la facilidad para formar raíces secundarias disminuye con la edad del material a propagar (Klein et al., 2000). Para obtener brotes tiernos se deben realizar podas, que al ser utilizados como estacas tienen mayor capacidad para enraizar (Ruíz et al. 2005; Trobec et al., 2005; Castillo et al., 2013). El material juvenil responde mejor a los reguladores de crecimiento que células más viejas y muy diferenciadas probablemente porque la parte del genoma que controla la formación de órganos está menos reprimida y puede ser desbloqueada más fácilmente mediante tratamientos con auxinas (Druege y Kadner, 2008; Klopotek et al., 2010; Denaxa et al., 2012).

Los factores genéticos y el estado fisiológico de las plantas controlan la inducción de raíces y los factores ambientales determinan su elongación (Thomas y Schiefelbein, 2002; Castrillón et al., 2008). El éxito del enraizamiento de estacas depende de la especie a propagar, la edad de la planta donadora, la parte de la rama de la cual se toman las estacas, el medio de enraizamiento y los reguladores de crecimiento empleados (Itoh et al., 2002; Klopotek et al., 2012).

Entre los factores fisiológicos más importantes se encuentran las auxinas endógenas, que son traslocadas del meristemo apical hacia la base de la planta (Ruíz et al., 2005). Sin embargo, para algunas especies no son suficientes para inducir enraizamiento y se deben utilizar auxinas exógenas. La auxina más utilizada es el ácido indolbutírico (AIB), pero es necesario conocer la dosis más adecuada (Ruíz et al., 2005), lo que está relacionada con el contenido de auxinas endógenas de acuerdo a la posición de la estaca en la planta.

Para el éxito del enraizamiento de las estacas se debe tener especial cuidado en el factor ambiental. Entre estos destaca el sustrato que dará soporte y adherencia a las raíces. Como el proceso de formación de raíces tiene un elevado requerimiento de oxígeno, se requieren sustratos con buena aireación que permita un buen intercambio de gases, buen drenaje, adecuada temperatura y pH y debe estar libres de patógenos (Bonfil et al., 2007; Saranga y Cameron, 2007). De esta forma con la finalidad de desarrollar una metodología de propagación clonal mediante enraizamiento de estacas, se evaluó el efecto del ácido indolbutírico (AIB), la posición de la estaca en la planta y el tipo de sustrato, en el enraizamiento de estacas juveniles de *C. odorata* en un experimento establecido bajo condiciones controladas de humedad y temperatura.

## **4.4. MATERIALES Y METODOS**

### **4.4.1. Localización y material vegetal**

Se utilizó semilla recolectada en mayo del 2012 de la familia 99 del Huerto semillero del Campo Experimental El Palmar, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). La siembra se realizó en abril de 2013 en el invernadero ubicado en el Colegio de Postgraduados, Texcoco, estado de México. Como sustrato se usó una mezcla de turba, agrolita y vermiculita (2:1:1) contenida en tubetes de polietileno de 1 l, con la adición de 10 gr de fertilizante de liberación controlada por tubete. La germinación se inició a los 15 días, y se completó a los 35 días, obteniendo un 95% de germinación. Después, a la planta se le dio un manejo de riegos frecuentes y con aplicación de fungicida (captan® 1 g L<sup>-1</sup>) cada mes.

### **4.4.2. Producción de estacas**

Para estimular la formación de material juvenil se realizaron podas a los 6 y 12 meses, a una altura de 6 cm sobre el cuello de la planta. De cada brote se separaron la parte apical, intermedia y basal para evaluar la incidencia de la posición de la estaca en el enraizado. Se seleccionaron aquellos brotes que tuvieron una altura mayor a 25 cm y un diámetro de 1 cm, a los que se despojo de las hojas y de cada vareta se obtuvieron tres estacas de 7 cm de largo.

#### **4.4.3. Preparación del sustrato**

Se evaluaron dos tipos de sustratos: agrolita vs. la mezcla de turba, agrolita y vermiculita (2:1:1). Se esterilizaron mediante vapor de agua; los sustratos fueron puestos por 40 minutos en un recipiente con vapor de agua, después el sustrato fue enfriado y colocado en la cámara de enraizamiento.

#### **4.4.4. Establecimiento del experimento**

Se utilizó una cámara de enraizamiento semiautomática de 2.7 x 1.2x 0.7 m de largo, ancho y alto, respectivamente. En la cámara se controló el riego y la temperatura. El riego fue programado para 2,250 ml distribuidos en 10 riegos por día, utilizando agua destilada. La humedad relativa se mantuvo por encima del 80 %. En el caso de la temperatura se controló para mantener un rango entre 18 y 25 °C. Durante el día para evitar temperaturas mayores a 25 °C, se accionó automáticamente un ventilador para enfriar la cámara hasta los 18 °C.

Las estacas fueron colocadas durante 15 minutos en una solución de Captán® al 5 %. Para evaluar las mejores dosis de enraizamiento, después del tratamiento aséptico, se realizó una inmersión por 5 segundos en Radix® previamente preparado en dosis de 1,500, 5,000 y 10,000 ppm, y como control se utilizó talco industrial.

Los sustratos fueron humedecidos con agua destilada, después se realizaron hoyos de 4 cm de profundidad, colocando las estacas y presionando el sustrato alrededor de la estaca, con cuidado para evitar dañar los tejidos del material. Entre las estacas el espaciamiento fue de 10 x 10 cm.

#### 4.4.5. Diseño experimental y evaluación de variables

El experimento tuvo un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 2 x 3 x 4: dos tipos de sustratos, tres posiciones de la estaca y cuatro concentraciones de AIB. Se establecieron diez repeticiones (10 estacas por tratamiento, esto es 240 estacas). El experimento comprendió el periodo otoño-invierno (del 26 de agosto de 2014 al 13 de enero de 2015), a las 20 semanas se realizó la evaluación. Se efectuaron evaluaciones periódicas para monitorear la aparición de patógenos; al final se registró el porcentaje de estacas vivas y el de estacas enraizadas por tratamiento, y el número y longitud de raíces de primer y segundo orden por estaca.

Previo al análisis de varianza la variables de porcentaje (Y) fue transformada con la función arcoseno de la raíz cuadrada del valor original expresado en fracción decimal [ $T = \arcseno(\sqrt{Y})$ ]. La variable número de raíces fue transformada con la función logaritmo, [ $T = \log_{10}(Y)$ ]. Posteriormente los valores promedio fueron re-transformados a las unidades originales, con la función [ $Y = 100 \text{ seno}^2(T)$ ] para la variable porcentaje y con la función [ $Y = 10T$ ] para la variable de conteo (Muñoz *et al.*, 2009; Syros *et al.*, 2004; Itoh *et al.*, 2002). Se realizó una comparación múltiple de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS para computadora personal (SAS, 2004).

Para obtener los estimadores de varianza y del error para cada característica de interés se realizó el análisis estadístico con el modelo lineal siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + E_i + D_j + S_k + ED_{ij} + ES_{ik} + DS_{jk} + EDS_{ijk} + E_{ijkl} \quad (1)$$

Donde:  $Y_{ijkl}$ = Variable respuesta del i-ésimo tipo de estaca, con la j-ésima dosis de AIB, en el k-ésimo tipo de sustrato;  $\mu$ = Media general;  $E_i$  = Efecto fijo del i-ésimo tipo de estaca (apical, intermedia y basal);  $D_j$ = Efecto fijo de la j-ésima dosis de AIB (0, 1,500, 5,000 y 10,000 ppm);  $S_k$ = efecto fijo del k-ésimo tipo de sustrato (mezcla turba-agrolita-vermiculita 2:1:1 vs. agrolita);  $ED_{ij}$ = interacción entre la i-ésimo tipo de estaca y la j-ésima dosis de AIB;  $ES_{ik}$ = efecto de la interacción entre el i-ésimo tipo de estaca y del k-ésimo tipo de sustrato;  $DS_{jk}$ = efecto de la interacción entre la j-ésima dosis de AIB y del k-ésimo tipo de sustrato;  $EDS_{ijk}$ = interacción entre el i-ésimo tipo de estaca, la j-ésima dosis de AIB y el k-ésimo tipo de sustrato; y  $E_{ijkl}$  = Error aleatorio correspondiente a la observación  $Y_{ijkl}$ .

## 4.5. RESULTADOS

El efecto del sustrato, el AIB y el tipo de estaca resultó significativo ( $p \leq 0.05$ ) para la supervivencia, enraizamiento y morfología de estacas, pero sus interacciones no fueron significativas (Cuadro 4.1).

**Cuadro 4.1.** Valores de  $P$  del análisis de varianza de las variables de enraizamiento en estacas de *Cedrela odorata* L.

Fuente de variación	Super (%)	Estacas (%) enraizadas	Número de raíces		Longitud de raíces	
			Prim.	Secu.	Prim.	Secu.
Sustrato	0.0001*	0.0001*	0.4196	0.4462	0.0012	0.0749
Dosis de AIB	0.0316*	0.0454*	0.0141	0.0079	0.0707	0.4370
Tipo de estaca	0.0072*	0.0453*	0.0327	0.0073	0.0037	0.0894
Sustrato*Dosis	0.9793	0.8502	0.8174	0.5978	0.0786	0.2898
Sustrato*Estaca	0.6807	0.6850	0.1459	0.0841	0.1377	0.0043
Dosis*Estaca	0.2164	0.0513	0.8958	0.9438	0.9267	0.6807
Sustrato*Dosis*Estac	0.7858	0.7998	0.3844	0.4060	0.1985	0.3051

\* Con diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). Super: supervivencia, Prim: raíces de primer orden, Secu: Raíces de segundo orden.

### 4.5.1. Efecto del sustrato

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los diferentes tipos de sustrato. Los mayores porcentajes de supervivencia y de estacas enraizadas

se obtuvieron con agrolita (Cuadro 4.2). Utilizar agrolita como sustrato para enraizar fue estadísticamente superior dos veces que la mezcla de turba, agrolita y vermiculita en el enraizamiento y en la supervivencia.

**Cuadro 4.2.** Valores medios y error estándar para cada factor y tratamiento en el enraizamiento de estacas de *Cedrela odorata* L. a las 20 semanas.

Factor	Sup (%)	Estacas (%) Enraizadas	Número de raíces		Longitud de raíces (mm)	
			Primarias	Secundarias	Primarias	Secundarias
<b>Sustratos</b>						
Mezcla	38.3±4.8 b	32.5±4.7 b	14.9±6.6 a	11.8±1.7	684 ±66 a	73 ±35
Agrolita	82.5±3.9 a	79.1±4.1 a	12.1±2.0 a	10.2±1.5	347 ±68 b	59 ±28
CV (%)	8.4	8.7	10.5	8.6	8.6	4.8
<b>Dosis de AIB (ppm)</b>						
0	66.6±3.8 b	63.3±4.9 b	4.8±3.46 b	5.2±1.7 b	356 ±237	62 ±23
1,500	75.0±3.6 a	73.3±3.6 a	14.2±2.7 ab	11.5±3.8 ab	640 ±205	71 ±39
5,000	48.3±9.3 c	43.3±4.7 c	21.2±3.4 a	16.4±1.4 a	538 ±178	67 ±32
10,000	41.6±4.6 c	31.6±4.8 c	11.1±2.5 ab	9.5±1. ab	292 ±202	53 ±28
CV (%)	9.1	9.5	9.6	7.9	8.9	4.9
<b>Tipo de estaca</b>						
Apical	68.7±4.5 a	66.2±4.8 a	21.3±5.5 a	16.7±4.8 a	705 ±149 a	75 ±09
Inter.	55.0±5.3 b	52.5±8.1 b	8.9±4.5 b	7.1±3.3 b	390 ±165 b	60 ±08
Basal	35.0±11.8 c	32.5±4.8 c	4.4±2.6 b	5.3±2.8 b	148 ±156 b	50 ±16
CV (%)	9.1	9.5	9.1	7.2	8.0	4.7
<b>Prom.</b>	<b>56.7</b>	<b>52.7</b>	<b>12.5</b>	<b>10.4</b>	<b>4.55</b>	<b>0.63</b>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes y medias sin letras no son diferentes ( $p \leq 0.05$ ). Sup: Supervivencia, Mezcla: turba-agrolita-vermiculita 2:1:1 v/v, ppm: partes por millón, CV: coeficiente de variación, Inter: intermedia, Prom: promedio general.

Sin embargo, la mezcla turba-agrolita-vermiculita 2:1:1 a pesar de ser estadísticamente inferior en el porcentaje de supervivencia y enraizamiento de estacas, propició dos veces más la longitud en las raíces de primer orden.

#### **4.5.2. Efecto de la dosis de AIB**

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en el porcentaje de estacas enraizadas entre las diferentes dosis de AIB. Los mayores porcentajes de enraizamiento se tienen con la dosis de 1,500 ppm y fue superior en un 10 % al testigo, mientras que con la dosis 10,000 ppm se obtuvo el porcentaje más bajo de estacas enraizadas con 31.6 % (Cuadro 4.2). Con la dosis de 5,000 ppm se logró cinco veces más número de raíces de primer orden y tres veces en las de segundo orden que el testigo. El tratamiento de 1,500 ppm fue tres veces superior al testigo sin enraizador en el número de raíces de primer orden y el doble en las de segundo orden. En la supervivencia de estacas se presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ), con diferencias de más del 30 % entre el mejor y peor tratamiento. En la longitud de las raíces de primer y segundo orden no hubo diferencias significativas entre las dosis empleadas y el testigo.

#### **4.5.3. Efecto del tipo de estaca**

Se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los diferentes tipos de estacas. Los mayores porcentajes de supervivencia y enraizado se obtuvieron en estacas apicales y fueron superiores en un 20 % que las intermedias y en un 50 % que las basales (Cuadro 4.2). Las estacas apicales favorecieron dos veces más cantidad de raíces de primer y segundo orden que las estacas intermedias y cuatro veces más que las basales. Además las apicales presentaron una longitud de raíces de primer orden dos veces mayor que la segunda mejor, que fue la de la parte intermedia del brote. Mientras que no hubo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la longitud de raíces de segundo orden.

#### **4.5.4. Efecto de la interacción entre factores**

De las interacciones sólo la de sustrato por el tipo de estaca para la longitud de raíces de segundo orden resultó significativa ( $p=0.0043$ , Cuadro 1). La combinación de la estaca apical con la mezcla (turba-agrolita-vermiculita 2:1:1) como sustrato dio la mayor longitud de raíces de segundo orden con  $96 \pm 11$  mm. Tomando el porcentaje de enraizamiento de estacas como la variable de mayor importancia, destaca que el mejor porcentaje de enraizamiento de estacas fue de 90 % con el uso de agrolita como sustrato, estacas apicales y una dosis de 1,500 ppm.

## 4.6. DISCUSIÓN

### 4.6.1. Efecto del sustrato

El mejor enraizamiento logrado con agrolita puede ser explicado por sus características físicas como la porosidad, aireación, buen drenaje y el pH (Saranga y Cameron, 2007). Un sustrato debe suministrar humedad continua y temperaturas moderadas, además permitir una aireación adecuada (Bonfil *et al.*, 2007). Estas mismas características de la agrolita han resultado favorables para el enraizamiento de otras especies, tal es el caso de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schldl. et Cham. (Cuevas *et al.*, 2015), *Pinus pinaster* Ait. (Majada *et al.*, 2010), *Pinus elliotii* Engelm. var. *elliotii* Little & Dorman. y *Pinus caribea* var. *hondurensis* Barr. y Golf. (Hunt *et al.*, 2011), *Juniperus scopulorum* Sarg. y *Thuja occidentalis* L. (Bielenin, 2003).

### 4.6.2. Efecto de la dosis de AIB

El uso de auxinas es importante para el desarrollo de raíces adventicias en el enraizamiento de estacas (Bielenin, 2003; Castrillón *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2011). Las auxinas estimulan la actividad del cambium y la movilización de reservas hacia el sitio de iniciación de raíces (Dhillon *et al.*, 2011). Según Castillo *et al.* (2013) el uso de AIB es más recomendable para especies de difícil enraizamiento. En el caso de algunas especies ha mejorado el enraizamiento, tal es el caso de *Pinus jaliscana* Pérez de la Rosa. (Aparicio *et al.*, 2006), *Viccinium meridionale* Swartz (Castrillón *et al.*, 2008), *Taxus globosa* Schldl. (Muñoz *et al.*, 2009), *Olea europaea* L. (Denaxa *et al.*, 2012), y *Gmelina arborea* Roxb. (Ruíz *et al.*, 2005).

Los resultados indican que con la dosis de 1,500 ppm se obtuvo un efecto positivo sobre la capacidad de enraizamiento, pero al aumentar la dosis resultó en la disminución del enraizamiento, probablemente como efecto de toxicidad. Según Mesén *et al.* (1997) algunas especies forestales no toleran dosis tan altas y requieren no más de 2,000 ppm como en varias especies de *Eucalyptus*, *Cupressus lusitánica* Mill., *Alnus acuminata* Kunth, *Tectona grandis* L. (Husen y Pal, 2003).

Con la dosis de 5,000 ppm se obtuvo una mayor cantidad de raíces, siendo significativamente superior. Esto puede ser explicado porque una vez que la estaca enraíza, las dosis crecientes de AIB aumentan el transporte de sustancias hacia la base de la estaca, lo que permite el desarrollo de mayor cantidad de raíces (Mesén *et al.*, 1997).

Con la dosis 10,000 ppm se logró el porcentaje más bajo de estacas enraizadas (31.6 %) y esto puede deberse a una intoxicación con la gran cantidad de auxinas. Mientras que al enraizar estacas sin AIB se obtuvo dos veces más enraizamiento que la dosis de 10,000 ppm y esto puede ser efecto de la gran cantidad de auxinas endógenas que tiene la estaca, que fueron suficientes para promover el enraizamiento.

#### **4.6.3. Efecto del tipo de estaca**

Los resultados indicaron que la estaca apical fue la que presentó el mejor enraizamiento y puede ser explicado por alguna condición fisiológica o anatómica asociada con la presencia de yemas. Ya que de acuerdo con

Hartmann *et al.* (2013) las estacas de tipo apical presentan un mejor enraizamiento ya que las yemas son grandes productoras de auxina y ejercen un estímulo para el desarrollo radicular. Ruíz *et al.* (2005) menciona que existen varios factores que están involucrados en la mayor capacidad de enraizado de estacas apicales de *Gmelina arbórea*, como es el grado de juvenilidad, la lignificación del tejido, el nivel endógeno de fitohormonas y el contenido de reservas. Lo cual puede demostrar lo encontrado por Moore (1984), que las auxinas se sintetizan en el meristemo apical.

Sin embargo, en algunos casos las estacas basales enraízan mejor, tal es el caso en *Populus*, donde la estaca basal enraiza dos veces más que las estacas intermedias y apicales (Zalesny *et al.*, 2003). Así mismo Cuevas *et al.* (2015) encontró que utilizando estacas basales de *P. leiophylla* es 3.5 veces más probable tener éxito en el enraizamiento. Lo que puede ser porque las estacas basales son más juveniles en estructura y fenología que las apicales. Además Ruíz *et al.* (2005) menciona que las auxinas son traslocadas del meristemo apical hacia la base de la planta donde se acumulan, pero no parece ser el caso en *Cedrela odorata* L.

#### **4.6.4. Efecto de la interacción entre factores**

No se encontraron diferencias significativas en la interacción entre factores, por lo que no afectaron significativamente la capacidad de enraizamiento. Lo cual hace difícil establecer con claridad que interacción de los factores fue el más adecuado para el enraizamiento. Sin embargo, la que logró el mayor

porcentaje de enraizamiento fue la combinación de estacas apicales, con 1,500 ppm de AIB puestas a enraizar en sustrato agrolita con un 90 %.

Según Hartmann *et al.* (2013) el éxito en el enraizamiento de estacas depende del control de la humedad y la temperatura del sustrato. Además Navarrete y Vargas (2005) mencionan que la respuesta de enraizamiento en *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., está asociada con las condiciones ambientales y fisiológicas del material vegetal.

Un factor importante que favoreció el enraizamiento de las estacas es atribuido a la temperatura a la cual se mantuvo la cámara de enraizamiento (18 a 25 °C). Según Hartmann *et al.* (2013), el rango ideal para la inducción y desarrollo de raíces adventicias para especies tropicales como *C. odorata* L. es de 18 a 25 °C. Las temperaturas mayores estimulan el desarrollo de las yemas y aumenta la transpiración y posible desecación de la estaca, y con temperaturas bajas disminuye la actividad celular y en ningún caso se favorece el desarrollo de raíces. Mientras que Mesén *et al.* (1997) menciona que la temperatura adecuada para especies tropicales es de 20 a 27 °C. Sin embargo, especie como *Taxus globosa* donde Muñoz *et al.* (2009) se obtuvo los mejores enraizamientos de estacas con la temperatura a 18 °C con efectos significativos en la supervivencia y en el número de raíces formadas.

La juvenilidad de las estacas es otro factor que explica el enraizamiento de las estacas. Hartman *et al.* (2013) mencionan que en especies de difícil enraizamiento se debe utilizar material juvenil porque tiene más probabilidad

de enraizar, esto debido a que contiene mayor cantidad de auxinas endógenas. Como lo encontrado por Muñoz *et al.* (2009) en *Taxus globosa*, donde obtuvo mayor porcentaje (55.3 %) de enraizamiento con el uso de estacas juveniles, y no se encontraron diferencias significativas en la interacción entre factores.

Estos resultados indican que la propagación vegetativa de *C. odorata* mediante el enraizamiento de estacas tiene gran potencial. Sin embargo, se necesita mayor investigación para incrementar los porcentajes de enraizamiento en menor tiempo mediante esta técnica. Se debe probar concentraciones alrededor de los 1,500 ppm de AIB y probar con distintos clones de calidad superior para determinar interacción del genotipo con la concentración de AIB usando agrolita y partes apicales.

#### **4.7. CONCLUSIONES**

Los resultados indican que *Cedrela odorata* L. es una especie de difícil propagación por estacas, ya que después de 20 semanas utilizando estacas juveniles se logró un enraizamiento general del 52.7 %. Los factores como el tipo de sustrato, la posición de la estaca y las dosis de AIB influyen en el enraizamiento de estacas juveniles de *C. odorata*. El mejor sustrato para enraizar estacas juveniles de *C. odorata* fue agrolita con un promedio de 79.1 %, mientras que la mejor dosis de AIB para enraizar fue de 1500 ppm con 73.3 % y al utilizar estacas apicales se aseguró un 66.2 % promedio de estacas enraizadas. En la interacción de los factores no se encontraron diferencias

significativas. Sin embargo, el uso de estacas de tipo apical, con 1,500 ppm de AIB puestas a enraizar en agrolita fue la mejor combinación con 90 %.

#### 4.8. LITERATURA CITADA

- Aparicio R., A., V. Rebolledo C. y H. Cruz J. 2006. Multiplicación clonal de *Pinus jaliscana* Pérez de la Rosa a través de la técnica de enraizamiento de estacas. *Foresta Veracruzana* 8: 19-22.
- Bedon, F., J. Majada, I. Feito, P. Chaumeil, J. W. Dupuy, A. M. Lomenech, A. Barre, J. M. Gion and C. Plomion. 2011. Interaction between environmental factors affects the accumulation of root proteins in hydroponically grown *Eucalyptus globulus* (Labill.). *Plant Physiology and Biochemistry* 49: 69-76.
- Bielenin, M. 2003. Rooting and gas exchange of conifer cuttings treated with indolbutyric acid. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 11: 99-105.
- Bonfil S., C., P. E. Mendoza H. and J. A. Ulloa N. 2007. Root and callus development in cuttings of seven species of the genus *Bursera*. *Agrociencia* 41: 103-109.
- Castillo F., J. D., M. A. López L., J. López U., V. M. Cetina A. and T. Hernández T. 2013. Influence factors in rooting of cuttings of *Abies religiosa* (Kunth) Schlttdl. et Cham. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 19: 175-184.

- Castrillón, J. C., E. Carvajal., G. Ligarreto y S. Magnitskiy. 2008. El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes sustratos. *Agronomía Colombiana* 26: 16-22.
- Capuana, M., A. Giovannelli and R. Giannini. 2000. Factors influencing rooting in cutting propagation of cypress (*Cupressus sempervirens* L.). *Silvae Genetica* 49: 277-281.
- CONAFOR. 2015. Principales especies maderables establecidas en plantaciones forestales comerciales 2000-2014. Consultado en CONAFOR. Mayo de 2015. Obtenido de: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/43/6018Principales%20especies%20maderables%20establecidas%20en%20PFC%20por%20a%c3%b1o%20en%202000%20-%202014.pdf>
- Cuevas C., J. C., M. Jiménez C., J. Jasso M., P. Pérez R., J. López U. y A. Villegas M. 2015. Propagación asexual de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 21: 81-95.
- Denaxa, N. K., S. N. Vemmos and P. A. Roussos. 2012. The role of endogenous carbohydrates and seasonal variation in rooting ability of cuttings of an easy and a hard to root olive cultivars (*Olea europaea* L.). *Scientia Horticulturae* 143: 19-28.
- Dhillon, R. S., M. S. Hooda, J. S. Pundeer, K. S. Ahlawat and I. Chopra. 2011. Effects of auxins and thiamine on the efficacy of techniques of clonal propagation in *Jatropha curcas* L. *Biomass and Bioenergy* 35: 1502-1510.

- Druege, U. and R. Kadner. 2008. Response of post-storage carbohydrate levels in pelargonium cuttings to reduced air temperature during rooting and the relationship with leaf senescence and adventitious root formation. *Postharvest Biology and Technology* 47:126-135.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve. 2013. *Plant Propagation: Principles and Practices*. 8th ed. Prentice-Hall, New Jersey. 913 p.
- Hunt, M. A., J. T. Stephen and A. Rasmussen. 2011. Indol-3-butyric acid accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliottii* var. *elliottii* and *P. caribaea* var. *hondurensis* cutting. *New Forests* 41: 349-360.
- Husen, A. and M. Pal. 2003. Clonal propagation of teak (*Tectona grandis* Linn. f.): Effect of IBA application and adventitious root regeneration on vertically split cuttings. *Silvae Genetica* 52: 173-176.
- Husen, A. 2004. Clonal propagation of *Dalbergia sissoo* Roxb. by softwood nodal cuttings: Effects of genotypes, application of IBA and position of cuttings on shoots. *Silvae Genetica* 53: 50-55.
- Klein, J. D., S. Cohen and Y. Hebbe. 2000. Seasonal variation in rooting ability of myrtle (*Myrtus communis* L.) cuttings. Short communication. *Scientia Horticulturae* 83: 71-76.
- Klopotek, Y., K. T. Haensh, B. Hause, M. R. Hajirezaei and U. Druege. 2010. Dark exposure of petunia cuttings strongly improves adventitious root formation and enhances carbohydrate availability during rooting in the light. *Journal of Plant Physiology* 167: 547-554.

- Klopotek, Y., E. George, U. Druerge and H. P. Klaering. 2012. Carbon assimilation of petunia cuttings in a non-disturbed rooting environment: Response to environmental key factors and adventitious root formation. *Scientia Horticulturae* 145: 118-126.
- Kraiem, Z., W. A. Wannes, A. Zairi and B. Ezzili. 2010. Effect of cutting date and position on rooting ability and fatty acid composition of Carignan (*Vitis vinifera* L.) shoot. *Scientia Horticulturae* 125: 146-150.
- Kumar, D., S. Singh, R. Sharma, V. Kumar, H. Chandra and K. Malhotra. 2011. Above-ground morphological predictors of rooting success in rooted cuttings of *Jatropha curcas* L. *Biomass and Bioenergy* 35: 3891-3895.
- Liu, D. D., Q. L. Dong, C. Sun, Q. L. Wang, C. Y. You, Y. X. Yao and Y. J. Hao. 2012. Functional characterization of an apple apomixes-related *MhFIE* gene in reproduction development. *Plant Science* 185-186: 105-111.
- Majada, J., A. C. Martínez, F. Isabel, K. I. A. Angelo and A. Ricardo. 2010. Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 41: 399-412.
- Marrón, N., D. Delay, J. M. Petit, E. Dreyer, G. Kahlem, F. M. Delmotte and F. Brignolas. 2002. Physiological traits of two *Populus* × *euramericana* clones, Luisa Avanzo and Dorskamp, during a water stress and re-watering cycle. *Tree Physiology* 22: 849-858.
- Mesén, F., A. C. Newton and R. B. Leakey. 1997. Vegetative propagation of *Cordia alliodora* (Ruíz & Pavón) Oken: the effects of IBA concentration, propagation medium and cutting origin. *Forest Ecology Management* 92: 45-54.

- Moore, G. M. 1984. Mechanisms of hormone action in plants. *International Plant Propagator's Society* 34:79-90.
- Muñoz G., L., J. J. Vargas H., J. López U. and M. Soto H. 2009. Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa*. *New Forests* 38: 187-196.
- Navarrete L., M. y J. J. Vargas H. 2005. Propagación asexual de clones de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. Utilizando rádix en diferentes concentraciones. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 11: 111-116.
- Navarro, C., F. Montagnini and G. Hernández. 2004. Genetic variation of *Cedrela odorata* Linnaeus: results of early performance of provenances and families from Mesoamerica grown in association with coffee. *Forest Ecology and Management* 192: 217-227.
- Quinto, L., P. A. Martínez H., L. Pimentel B. y D. A. Rodríguez T. 2009. Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles tropicales. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 15: 23-28.
- Ramírez G., C., G. Vera C., F. Carrillo A. y O. S. Magaña T. 2008. El cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) como alternativa de reconversión en terrenos abandonados por la agricultura comercial en el Sur de Tamaulipas. *Agricultura Técnica en México* 34: 243-256.
- Ruíz G., R., J. J. Vargas H., V. M. Cetina A. y A. Villegas M. 2005. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28: 319-326.

- Sánchez M., V., J. G. Salazar G., J. J. Vargas H., J. López U. and J. Jasso M. 2003. Genetic parameters and response to selection for growth traits in *Cedrela odorata* L. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26: 19-27.
- Saranga, J. and R. Cameron. 2007. Adventitious root formation in *Anacardium occidentale* L. in response to phytohormones and removal of roots. *Scientia Horticulturae* 111: 164-172.
- SAS. 2004. Institute SAS/STAT 9.1 Guide for Personal Computers. SAS Institute Inc. Cary, N.C. 378 p.
- Syros, T., T. Yupsanis, H. Zafiriadis and A. Economou. 2004. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. *Journal of Plant Physiology* 161: 69-77.
- Tarragó, J., P. Sansberro, R. Filip, P. López, A. González, C. Luna and L. Mroginski. 2005. Effect of leaf retention and flavonoids on rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings. *Scientia Horticulturae* 103: 479-488.
- Thanuja, T. V., R. V. Hedge and M. N. Sreenivasa. 2002. Induction of rooting and root growth in black pepper cuttings (*Piper nigrum* L.) with the inoculation of arbuscular mycorrhizae. *Scientia Horticulturae* 92: 339-346.
- Thomas, P. and J. Schiefelbein. 2002. Cloning and characterization of an actin depolymerizing factor gene from grape (*Vitis vinifera* L.) expressed during rooting in stem cuttings. *Plant Science* 162: 283-288.
- Trobec, M., F. Štampar, R. Veberič and G. Osterc. 2005. Fluctuations of different endogenous phenolic compounds and cinnamic acid in the first days of the rooting process of cherry rootstock 'GiSela 5' leafy cuttings. *Journal of Plant Physiology* 162: 589-597.

Zalesny Jr, R. S., R. B. Hall, E. O. Bauer and D. E. Riemenschneider. 2003.

Shoot position affects root initiation and growth of dormant unrooted cuttings of *Populus*. *Silvae Genetica* 52: 273-279.

## CAPITULO V

### MULTIPLICACIÓN CLONAL POR ACODOS AÉREOS EN *Cedrela odorata* L.

#### 5.1. RESUMEN

Una alternativa para propagar vegetativamente especies de difícil enraizamiento como *Cedrela odorata* y clonar genotipos con caracteres deseables es mediante la técnica de acodo aéreo. Basicamente consiste en anillar una rama, adicionar auxinas y sustrato como medio de enraizamiento. Se evaluó la capacidad de enraizamiento de acodos aéreos establecidos en genotipos seleccionados de *C. odorata*, probando diferentes dosis de ácido indolbutírico (AIB). La investigación se realizó en el banco clonal del Campo Experimental El Palmar, ubicado en Tezonapa, Ver. En invierno se realizaron los acodos aéreos en los clones 14 y 15 con tres dosis de ácido indolbutírico (AIB) 1,500, 5,000 y 10,000 partes por millón (ppm) y como control se utilizó talco industrial. El experimento tuvo un diseño completamente al azar con 20 repeticiones. El clon 14 generó el mayor porcentaje de enraizamiento (68.7 %); mientras que el clon 15 mostro el menor (37.5 %). Las concentraciones de 1500 y 10,000 ppm incrementaron los porcentajes de enraizamiento de acodos aéreos hasta en un 20 %, respecto al testigo. En la interacción del clon 14 y la aplicación de 1,500 ppm de AIB se obtuvo el mejor enraizamiento (95 %). Por lo que se puede concluir que con la técnica de acodo aéreo es posible clonar y propagar genotipos superiores de *C. odorata* al obtener altos porcentajes de enraizamiento con AIB en los acodos establecidos.

**Palabras clave:** anillado, auxinas, enraizamiento.

## CLONAL MULTIPLICATION BY AIR LAYERING IN *Cedrela odorata* L.

### 5.2. ABSTRACT

An alternative to clone and to propagate genotypes with desirable traits in species of difficult rooting, as *Cedrela odorata*, is by air layering technique. Basically banding is a branch to which is added a substrate and auxin rooting medium. In this work, rooting capacity of air layering established in selected genotypes of *C. odorata*, testing different doses of indole butyric acid (AIB) is evaluated. The research was conducted in the clone bank of El Palmar Experimental Station, located in Tezonapa, Veracruz. In winter the air layers were performed in clones 14 and 15 with three doses of indole butyric acid (AIB) 1,500, 5,000 and 10,000 parts per million (ppm) and as a control industrial talc was used. The experiment had a completely randomized design with 20 repetitions. Clone 14 generates the highest rooting percentage (68.7 %); while clone 15 showed the lowest (37.5 %). The concentrations of 10,000 ppm and 1500 increased rooting percentages air layering up by 20 % compared to the control. In the interaction of clone 14 and 1,500 ppm applying AIB best rooting (95 %) it was obtained. Therefore, it can be concluded that with the technique of air layering is possible to clone and propagate superior genotypes of *C. odorata* to obtain high percentages of rooting in the layering set AIB.

**Keywords:** ringed, auxin rooting.

### 5.3. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con Ramírez *et al.* (2008) y Quinto *et al.* (2009), *Cedrela odorata* L. es la especie más rentable para establecer plantaciones comerciales y la de mayor importancia para la industria forestal de México; para aumentar su ganancia genética e incrementar la frecuencia de los árboles superiores se debe clonar el material selecto (Kumar, 2007; Hannrup *et al.*, 2008).

Cuando se necesita propagar material seleccionado de especies de difícil enraizamiento, un método adecuado es la técnica de acodo aéreo (Hernández *et al.*, 2012). La parte acodada dispone de nutrimentos durante todo el período de enraizamiento y evita estrés hídrico por ausencia de raíces (Dutra *et al.*, 2012). Para Villalobos *et al.* (2008) este método de acodo fomenta la rizogénesis de manera relativamente sencilla; solo se anilla una rama o tallo de una planta, se le agrega auxina y sustrato húmedo como medio de enraizamiento.

Hay varios tipos de acodos, el adecuado será de acuerdo a las necesidades. En el caso de contar con un banco clonal al que se le dan podas para generar rebrotes, se utiliza el acodo aéreo (Mazon *et al.*, 2009). Éste consiste en seleccionar ramas para realizarles un corte de anillado completo, al cual se le adicionan auxinas y es cubierto con sustrato; Con esto se propicia la etiolación, que en condiciones adecuadas de humedad se estimula la emisión de raíces (Benítez *et al.*, 2002; Marçallo *et al.*, 2001).

Un factor importante en la propagación por acodo es mantener la planta madre fertilizada y sin estrés, con esto se obtiene material con buen desarrollo, vigoroso y libre de plagas y enfermedades (Demolin *et al.*, 2007), además que los setos siguen retoñando para repetir el proceso varios años. Una vez que se retiran las ramas acodadas, se pueden realizar podas para permitir el desarrollo de nuevos brotes.

De acuerdo a Mantovani *et al.* (2010), el anillado de la corteza con la adición de sustrato provoca la etiolación de la parte acodada y combinada con la aplicación de reguladores de crecimiento, especialmente el ácido indolbutírico (AIB), mejora significativamente el enraizamiento). La etiolación aumenta la sensibilidad del tallo a la auxina e induce cambios anatómicos en los tejidos del tallo que podrían incrementar la iniciación de primordios radicales, principalmente por las células parenquimáticas indiferenciadas y la falta de barreras mecánicas (Itoh *et al.*, 2002; Rogel *et al.*, 2000).

Para Hartmann *et al.* (2013) el anillado en los acodo induce la formación de raíces adventicias en tallos adheridos a la planta madre mediante una interrupción en la traslocación basipétala, acumulando materiales orgánicos, auxinas y otros factores de crecimiento en el punto de formación de raíces.

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo establecer una metodología para propagar vegetativamente genotipos selectos de *C. odorata*, mediante la técnica de acodo aéreo; y determinar la dosis óptima de ácido indolbutírico (AIB) en la producción de raíces adventicias en dos genotipos.

## 5.4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 5.4.1. Localización

El ensayo se estableció en el banco clonal del Campo Experimental El Palmar (18° 32' L.N., 96° 47' L.O., altitud de 180 m) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), localizado en el Municipio de Tezonapa, Veracruz. El clima es cálido húmedo con lluvias en verano, con una precipitación media de 2,888 mm anuales y temperatura media anual de 24.4 °C. Los suelos son de tipo Acrisol, profundos y de buen drenaje, poseen una textura de migajón arcillo-arenoso y pH de 4.8 (Sánchez y Velázquez, 1998; Sánchez *et al.*, 2003).

### 5.4.2. Material vegetal

El banco clonal se estableció en junio del 2011, consta de 91 clones con 20 rametos cada uno. Se seleccionaron los clones (14 y 15) que presentaron la mayor cantidad de brotes, sin presencia de ataques de plagas y enfermedades. Cada brote fue desprovisto de hojas en la parte donde se realizó el acodo.

Para el anillado, de acuerdo con Salazar *et al.* (2004), se retiró toda la corteza para evitar la circulación de los fotoasimilados, se eliminó una sección de corteza de 15 mm de longitud alrededor del tallo usando una navaja, evitando cortar o dañar los tejidos. Enseguida, se aplicaron las dosis de auxinas en la parte libre de corteza. La auxina aplicada fue el ácido indolbutírico (AIB) en polvo en concentraciones de 1,500, 5,000 y 10,000 partes por millón (ppm);

como control se utilizó talco industrial con 0 auxinas. La aplicación de la auxina fue puesta manualmente utilizando guantes de látex.

El sustrato para la realización de los acodos se utilizó una mezcla de peat moss, agrolita y vermiculita (2:1:1). De acuerdo con Benítez *et al.* (2002), el sustrato se humedeció con agua hasta obtener una mezcla uniforme la cual fue puesta en la parte del acodo y fue retenida por material plástico transparente el cual fue mantenido adherido a la rama por medio de amarres con hilo plástico.

#### **5.4.3. Variables por evaluar**

A los 90 días de establecidos los acodos se registró el porcentaje de acodos enraizados, el número y longitud de raíces de primer y segundo orden. Para conocer su capacidad de establecimiento y determinar la supervivencia, después de la evaluación del enraizamiento, los acodos aéreos que lograron formar raíces fueron transplantados en bolsas de polietileno de 5 kg, el sustrato utilizado fue una mezcla de cachaza de caña de azúcar y cascabillo de café, previamente composteados, en proporciones de 3:1, respectivamente.

#### **5.4.4. Diseño y análisis experimental**

El experimento tuvo un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 2x4 (dos genotipos y cuatro concentraciones de auxina) y 20 replicas. Previo al análisis de varianza, la variable de porcentaje (Y) fue transformada con la función arcoseno de la raíz cuadrada del valor original expresado en fracción decimal [ $T = \arcseno(\sqrt{Y})$ ]. La variable número de raíces fue transformada con la función logaritmo, [ $T = \log_{10}(Y)$ ]. Posteriormente los valores promedio fueron

re-transformados a las unidades originales, con la función  $[Y=100 \text{ seno}^2(T)]$  para la variable porcentaje y con la función  $[Y=10T]$  para la variable de conteo (Muñoz *et al.*, 2009; Syros *et al.*, 2004; Itoh *et al.*, 2002). Se realizó una comparación múltiple de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS para computadora personal (SAS, 2004).

De acuerdo con el diseño experimental, para el análisis se utilizó el modelo lineal siguiente (1):

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + D_j + GD_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad (1)$$

Donde:  $Y_{ijk}$  = variable respuesta del  $i$ -ésimo genotipo, con la  $j$ -ésima dosis de AIB en la  $k$ -ésima repetición (planta);  $\mu$  = media general;  $G_i$  = efecto fijo del  $i$ -ésimo genotipo;  $D_j$  = efecto fijo de la  $j$ -ésima dosis de AIB (0, 1,500, 5,000 y 10,000 ppm);  $GD_{ij}$  = efecto fijo de la interacción entre el  $i$ -ésimo genotipo y la  $j$ -ésima dosis de AIB y  $\varepsilon_{ijk}$  = error aleatorio correspondiente a la observación  $Y_{ijk}$ . Con este modelo se obtuvieron los estimadores de varianza y del error para cada característica de interés.

## 5.5. RESULTADOS

El genotipo, la dosis de AIB y su interacción tuvieron efectos significativos en la producción y morfología de raíces en los acodos establecidos (Cuadro 5.1).

**Cuadro 5.1.** Valor de *P* del análisis de varianza para las variables evaluadas en el enraizamiento de acodos aéreos de *Cedrela odorata* L.

Fuente de variación	Acodos enraizados (%)	Número de raíces		Longitud de raíces	
		primarias	secundarias	primarias	Secundarias
Genotipo	0.0001**	0.2214	0.2824	0.3342	0.0125**
Dosis de AIB	0.0401**	0.0119**	0.0138**	0.0444**	0.0006**
Genotipo*Dosis	0.0001**	0.0329**	0.0604	0.0972	0.0001**

\*\* Con diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

### 5.5.1. Efecto del genotipo

En el clon 14 se generó el mayor porcentaje de enraizamiento, este fue superior en más del 30 % y la longitud de sus raíces, de segundo orden, excedió en más de 20 % a las observadas en el clon 15 (Cuadro 5.2). Ninguna diferencia significativa, entre genotipos, se detectó en el número de raíces de orden primario y secundario, ni en la longitud de raíces de orden primario.

**Cuadro 5.2.** Valores medio y error estándar de las variables evaluadas para determinar el efecto del tipo de corte en el enraizamiento de acodos aéreos de los clones 14 y 15 de *Cedrela odorata* L.

Genotipo	Acodos	Número de raíces		Longitud de raíces (cm)	
	enraizados (%)	primarias	Secundarias	primarias	secundarias
Clon 14	68.7±9.0 a	17.1±1.8 a	14.4±0.9 a	12.44±0.7 a	5.35±0.4 a
Clon 15	37.5±15 b	14.7±2.3 a	12.7±1.2 a	11.48±0.9 a	4.31±0.5 b
<b>Promedio</b>	<b>53.1</b>	<b>15.9</b>	<b>13.5</b>	<b>11.96</b>	<b>4.83</b>
CV (%)	10.2	13.9	8.6	11.4	8.1
Valor de F	5.1	1.39	1.45	1.15	2.7

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

### 5.5.2. Efecto por dosis de AIB

Se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de acodos aéreos enraizados entre las diferentes concentraciones de AIB. Aunque el tratamiento testigo, sin AIB, mostro enraizamientos de alrededor del 40 % en los acodos, las concentraciones de 1,500 y 10,000 ppm lo superaron en más del 15 % (Cuadro 5.3). El número de raíces aumenta con la aplicación de AIB hasta en un 50 %. Mientras que la longitud de éstas se ve favorecida por la dosis más alta.

### 5.5.3. Efecto por la interacción del genotipo y la dosis de AIB

Se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de acodos enraizados como efecto de la interacción del genotipo y la aplicación de auxinas. Los mejores porcentajes de enraizamiento fueron con 1,500 ppm de AIB en el clon 14 con 95 % (Cuadro 5.4). De forma general el clon 14 presentó mejor enraizamiento en los tratamientos superior al 50 %, además de presentar el mayor número de raíces de primer orden. Mientras que el clon 15 con la dosis más alta se obtuvo un 60 % de enraizamiento y la mayor cantidad de raíces de primer orden. En el caso de no aplicar auxinas (control), en el clon 14 se genera un 25 % más de enraizamiento que en el clon 15. El clon 14 en las dosis 1500 y 5000 ppm favorecieron la mayor longitud de raíces de segundo orden, siendo superior en un 41 %.

**Cuadro 5.3.** Valores medio y error estándar de las variables evaluadas en el enraizamiento de acodos aéreos según la dosis de AIB aplicado a clones de *Cedrela odorata* L.

Dosis (mg L <sup>-1</sup> )	Acodos enraizados (%)	Número de raíces		Longitud de raíces (cm)	
		primarias	secundaria	primarias	secundarias
0 (control)	40.0±90 b	11.0±2.5 b	9.3±1.7 b	10.45±1.2 b	4.26±0.9 b
1,500	65.0±80 a	18.1±2.9 a	13.0±1.9 a	9.89±1.5 b	4.39±0.7 b
5,000	45.0±60 b	16.4±2.1 a	15.6±1.4 a	13.56±1.3 a	4.51±0.7 b
10,000	62.5±11 a	18.1±2.7 a	16.1±2.1 a	13.94±1.7 a	6.16±0.6 a
<b>Promedio</b>	<b>53.1</b>	<b>15.9</b>	<b>13.5</b>	<b>11.96</b>	<b>4.83</b>
CV (%)	12.3	9.5	10.4	11.6	12.1
Valor F	7.4	9.2	4.5	9.2	4.7

Medias con una misma letra no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

CV: coeficiente de variación.

**Cuadro 5.4.** Valores medios y error estándar de la variables evaluadas para determinar el efecto del genotipo y la aplicación de dosis de AIB en acodos aéreos en *Cedrela odorata* L.

Tratamiento: Genotipo+dosis	Acodos enraizados (%)	Número de raíces		Longitud de raíces (cm)	
		primarias	secundarias	primarias	secundarias
Clon 14+0	55±12 b	19.2±1.9 a	13.2±1.8 a	10.66±1.5 a	4.38±0.7 b
Clon 14+1500	95±03 a	19.1±2.7 a	12.3±2.1 a	10.76±1.6 a	6.61±0.7 a
Clon 14+5000	70±06 b	19.0±2.8 a	15.6±1.4 a	12.64±0.9 a	5.80±0.6 a
Clon 14+10000	60±08 b	13.9±2.5 ab	13.2±1.7 a	13.09±1.8 a	4.44±0.6 b
Clon 15+0	30±11 c	12.3±3.1 b	12.8±1.4 a	12.71±1.2 a	4.37±0.8 b
Clon 15+1500	35±09 c	13.0±2.3 b	12.2±1.9 a	11.28±1.5 a	4.14±0.7 b
Clon 15+5000	20±14 c	12.7±2.7 b	13.0±1.4 a	12.04±1.6 a	4.37±0.5 b
Clon 15+10000	60±09 b	18.0±1.6 a	15.7±1.8 a	12.50±	4.53±0.5 b
<b>Promedio</b>	<b>53.1</b>	<b>15.9</b>	<b>13.5</b>	<b>11.96</b>	<b>4.83</b>
CV (%)	10.5	15.6	9.2	13.7	13.0
Valor F	3.47	3.81	1.51	1.29	2.93

Medias con una misma letra no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ ).

## 5.6. DISCUSIÓN

### 5.6.1. Efecto del genotipo

En el estudio se encontraron diferencias entre la respuesta de los clones de *C. odorata* al enraizamiento de acodos aéreos. Según Uribe *et al.* (2008) puede ser explicado por la interacción del genotipo con la cantidad de auxinas endógenas que varían de acuerdo a la fisiología de la especie. Coincide con lo encontrado por Amissah y Bassuk (2004), donde los porcentajes de enraizamiento en dos especies de *Quercus* sp. tienen efecto por el genotipo en más de un 10 %. Mantovani *et al.* (2010) observaron un efecto del genotipo en el enraizamiento de acodos aéreos en 10 genotipos de *Bixa orellana* L. con una eficiencia del 20 hasta el 100 %.

El efecto del genotipo para lograr el enraizamiento de acodos aéreos, también ha sido documentado entre especies arbóreas de manglar. Benitez *et al.* (2002) obtuvieron 40 % de enraizamiento en acodos de *Laguncularia racemosa* L., mientras que *Conocarpus erectus* no presentó raíces. Hernández *et al.* (2012) encontraron que *Laguncularia racemosa* L. presentó 3 veces más acodos enraizados y en la mitad de tiempo que *Avicennia germinans* L. y *Rhizophora mangle* L.

La diferencia de la longitud de raíces de segundo orden puede ser explicado de acuerdo con Hernández *et al.* (2012), que menciona que esa diferencia pudo estar influenciada por factores ambientales como la humedad, mientras

que Eganathan *et al.* (2000) lo relaciona con las condiciones fisiológicas particulares de cada genotipo. Ya que la energía metabólica requerida para la etapa de iniciación y elongación de raíces depende de la disponibilidad de azúcares.

### **5.6.2. Efecto por dosis de AIB**

Según Hartmann *et al.* (2013) el éxito de la técnica de acodos aéreos para la propagación, se debe a que se mantiene unida la rama acodada a la planta madre, lo que permite que ésta siga recibiendo agua y nutrimentos. Además mencionan que el combinar ésta técnica con la aplicación de AIB se obtiene mayor cantidad de raíces.

De acuerdo con Rogel *et al.* (2000) la aplicación de AIB mejora el enraizamiento de acodos aéreos. Lo que coincide con lo encontrado en ésta investigación, donde la aplicación de AIB favoreció el mayor número de acodos enraizados de *C. odorata*, y esto puede deberse a que la cantidad de auxina endógena no fue suficiente para promover el proceso de rizogénesis. En presencia de AIB el número de acodos enraizados se incrementó respecto al tratamiento control. Varios trabajos han señalado que el AIB es la mejor auxina para trabajos de enraizamiento (Ruíz *et al.*, 2005; Hunt *et al.*, 2011) y para el desarrollo de raíces adventicias (Bielenin, 2003; Castrillón *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2011).

Las auxinas estimulan la actividad del cambium y la movilización de reservas hacia el sitio de iniciación de raíces (Dhillon *et al.*, 2011). Según Castillo *et al.*

(2013) el uso de AIB es más recomendable para especies de difícil enraizamiento. En el caso de algunas especies ha mejorado el enraizamiento, tal es el caso de *Pinus jaliscana* Pérez de la Rosa. (Aparicio *et al.*, 2006), *Viccinium meridionale* Swartz (Castrillón *et al.*, 2008), *Taxus globosa* Schtdl. (Muñoz *et al.*, 2009), *Olea europaea* L. (Denaxa *et al.*, 2012), y *Gmelina arborea* Roxb. (Ruíz *et al.*, 2005).

Con la aplicación de auxinas se obtuvo una mayor cantidad de raíces, siendo significativamente superior. Esto puede ser explicado porque una vez que el acodo enraíza, las dosis crecientes de AIB aumentan el transporte de sustancias hacia la parte baja de la rama, lo que permite el desarrollo de mayor cantidad de raíces (Mesén *et al.*, 1997).

Para incrementar el enraizamiento fue necesario aplicar auxinas, según Amri *et al.* (2010) éstas son indispensables para estimular la formación de raíces. Aunque están presentes de forma natural y son sintetizadas en los ápices de la planta, es necesario aplicarlas exógenamente en el caso de especies de difícil propagación y probar diferentes concentraciones para definir la óptima (Ljung *et al.*, 2005).

### **5.6.3. Efecto por la interacción genotipo y dosis de AIB**

Los mayores porcentajes de enraizamiento se logran con la interacción del clon 14 y 1500 ppm de AIB, lo que puede estar determinado por la cantidad de auxinas endógenas y la adición exógena de la dosis adecuada como un efecto positivo sobre la capacidad de enraizamiento. Según Salazar *et al.* (2004) la

variación genética entre 38 selecciones de *Persea americana* Mill. más la adición de auxinas en pequeñas cantidades (2000 ppm de AIB), presentaron diferencias en la capacidad de enraizamiento, desde un 10 hasta el 100 %.

Al aumentar la dosis superior a 1500 ppm de AIB resultó en la disminución del enraizamiento, probablemente como efecto de toxicidad. Según Mesén *et al.* (1997) algunas especies forestales no toleran dosis tan altas y requieren no más de 2,000 ppm como en *Eucalyptus*, *Cupressus lusitánica* Mill., *Alnus acuminata* Kunth, *Tectona grandis* L. (Husen y Pal, 2003).

Otro aspecto a considerar en la respuesta del genotipo al enraizamiento es la vitalidad de la planta que se va a propagar, ya que entre más vigorosa sea, mayor facilidad para enraizar y va a necesitar concentraciones bajas de AIB. Hartmann *et al.* (2013) mencionan que la nutrición es determinante para la iniciación y el desarrollo radicular, ya que la división celular requiere mayor consumo de energía y existe una relación directa entre el contenido de carbohidratos y el enraizamiento. Por lo que es necesario evaluar la relación del vigor del genotipo y su efecto en la inducción de raíces adventicias.

## 5.7. CONCLUSIONES

El sistema de acodo aéreo es un método que puede ser usado para clonar y propagar genotipos deseables de *C. odorata*. El enraizamiento en los acodos varía según el genotipo, por lo que en genotipos de baja respuesta se recomienda usar AIB en concentraciones entre 1500 y 10000 ppm para incrementar el enraizamiento y mejorar la morfología de raíces adventicias.

## 5.8. LITERATURA CITADA

- Amissah, J. N., and N. L. Bassuk. 2004. Clonal propagation of *Quercus* spp. using a container layering technique. *Journal Environmental Horticulturae* 22(2): 80-84.
- Amri, E., H. V. M. Lyaruu, A. S. Nyomora, and Z. L. Kanyelka. 2010. Vegetative propagation of African Blackwood (*Dalbergia melanoxylon* Guill. & Perr.): Effects of age of donor plant, IBA treatment and cutting position on rooting ability of stem cuttings. *New Forests* 39: 183-194.
- Aparicio R., A., E. O. Ramírez G. y H. Cruz J. 2006. Multiplicación clonal de *Pinus jaliscana* Pérez de la Rosa a través del establecimiento y manejo de setos para la producción de estacas. *Foresta Veracruzana* 8(1): 17-22.
- Benítez P., D., F. Flores V. y J. I. Valdez H. 2002. Reproducción vegetativa de dos especies arbóreas en un manglar de la costa norte del Pacífico mexicano. *Madera y Bosques* 8(2): 57-71.

- Bielenin, M. 2003. Rooting and gas exchange of conifer cuttings treated with indolbutyric acid. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 11: 99-105.
- Castillo F., J. D., M. A. López L., J. López U., V. M. Cetina A. and T. Hernández T. 2013. Influence factors in rooting of cuttings of *Abies religiosa* (Kunth) Schlttdl. et Cham. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 19: 175-184.
- Castrillón, J. C., E. Carvajal., G. Ligarreto y S. Magnitskiy. 2008. El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes sustratos. *Agronomía Colombiana* 26: 16-22.
- Demolin L., G. L., R. V. Dos Santos V., A. C. Ribeiro de C., P. S. Nascimento L. e G. Wilson F. 2007. Efeito do AIB sobre a qualidade e fitossanidade dos alporques de influencia da *Caryocar brasiliense* Camb (Caryocaraceae). *Árvore* 31(2): 315-320.
- Denaxa, N. K., S. N. Vemmos and P. A. Roussos. 2012. The role of endogenous carbohydrates and seasonal variation in rooting ability of cuttings of an easy and a hard to root olive cultivars (*Olea europaea* L.). *Scientia Horticulturae* 143: 19-28.
- Dhillon, R. S., M. S. Hooda, J. S. Pundeer, K. S. Ahlawat and I. Chopra. 2011. Effects of auxins and thiamine on the efficacy of techniques of clonal propagation in *Jatropha curcas* L. *Biomass and Bioenergy* 35: 1502-1510.
- Dutra R., T., M. Dutra M., M. F. Quintino S. e J. Costa de O. 2012. Ácido indolbutírico e sustratos na alporquia de umbuzeiro. *Pesquisa Agropecuária Tropical* 42(4): 424-429.

- Eganathan, P., C. Srinivasa R. and A. Anand. 2000. Vegetative propagation of three mangrove tree species by cuttings and air layering. *Wetlands Ecology and Management* 8: 281-286.
- Hannrup, B., G. Jansson and O. Danell. 2008. Genotype by environment interaction in *Pinus sylvestris* L. in southern Sweden. *Silvae Genetica* 57(6): 306-311.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve. 2013. *Plant Propagation: Principles and Practices*. 8th ed. Prentice-Hall, New Jersey. 913 p.
- Hernández C., S., G. Carmona D., C. H. Ávila B. y G. D. Mendoza M. 2012. Propagación vegetativa de tres especies de mangle por acodos aéreos en el manglar de Sontecomapan, Catemaco, Veracruz, México. *Polibotanica* 33: 193-205.
- Hunt, M. A., J. T. Stephen, and A. Rasmussen. 2011. Indole-3-butyric acid accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliotii* var. *elliotii* and *P. caribaea* var. *hondurensis* cuttings. *New Forests* 41: 349-360.
- Husen, A. and M. Pal. 2003. Effect of serial bud grafting and etiolation on rejuvenation and rooting cuttings of mature trees of *Tectona grandis* Linn. f. *Silvae Genetica* 52(2): 84-88.
- Itoh, A., T. Yamakura, M. Kanzaki, T. Ohkubo, P. A. Palmiotto, J. V. LaFrankie, J. J. Kendawang and H. S. Lee. 2002. Rooting ability of cuttings relates to phylogeny, habitat preference and growth characteristics of tropical rainforest trees. *Forest Ecology and Management* 168: 275-287.

- Kumar, D., S. Singh, R. Sharma, V. Kumar, H. Chandra and K. Malhotra. 2011. Above-ground morphological predictors of rooting success in rooted cuttings of *Jatropha curcas* L. *Biomass and Bioenergy* 35: 3891-3895.
- Ljung, K., A. K. Hull, J. Celenza, M. Yamada, M. Estelle, J. Normanly and G. Sandberg. 2005. Sites and regulation of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* roots. *The Plant Cell* 17: 1090-1104.
- Mantovani, N. C., M. Ferrari G., A. Xavier e W. Campos O. 2010. Resgate vegetativo por alporquia de genotipos adultos de urucum (*Bixa orellana* L.). *Ciência Florestal* 20(3): 403-410.
- Marçallo, F. A., R. C. Almeida e K. C. Zuffellato R. 2001. Propagação da espiroleira por meio da técnica da alporquia em diferentes substratos. *Scientia Agraria* 2: 1-2.
- Mazon C., T., F. Castelhana do S., R. Thiana M., W. Dembiski, K. C. Zuffellato R., L. Lopez F. e H. Soares K. 2009. Estaquia e alporquia de *Tibouchina fothersgillae* (D. C.) Cogn. (Melastomataceae) com a aplicação de ácido naftaleno acético. *Scientia Agraria* 10(6): 463-468.
- Mesén, F., A. C. Newton and R. B. Leakey. 1997. Vegetative propagation of *Cordia alliodora* (Ruíz & Pavón) Oken: the effects of IBA concentration, propagation medium and cutting origin. *Forest Ecology Management* 92: 45-54.
- Muñoz G., L., J. J. Vargas H., J. López U. and M. Soto H. 2009. Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa*. *New Forests* 38: 187-196.
- Quinto, L., P. A. Martínez H., L. Pimentel B. y D. A. Rodríguez T. 2009. Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles

- tropicales. Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 15: 23-28.
- Ramírez G., C., G. Vera C., F. Carrillo A. y O. S. Magaña T. 2008. El cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) como alternativa de reconversión en terrenos abandonados por la agricultura comercial en el Sur de Tamaulipas. Agricultura Técnica en México 34: 243-256.
- Rogel C., I., R. B. Muñoz P. y J. G. Cruz C. 2000. Propagación de aguacatero por acodo utilizando etiolación, ácido indolbutírico, y obstrucción de savia. Revista Chapingo Serie Horticultura 6(1): 101-104
- Ruíz G., R., J. J. Vargas H., V. M. Cetina A., y Á. Villegas M. 2005. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizamiento de *Gmelina arborea* Roxb. Revista Fitotecnia Mexicana 28: 319-326.
- Salazar G., S., J. J. Velasco C., R. Medina T. y J. R. Gómez A. 2004. Selecciones de aguacate con potencial de uso como portainjertos. II. Respuesta al enraizamiento mediante acodos. Revista Fitotecnia Mexicana 27(2): 183-190.
- Sánchez M., V., y C. Velázquez E. 1998. Evaluación de dos insecticidas biológicos en el control de *Hypsipyla grandella* (Zeller), barrenador de brotes de las Meliaceas. Ciencia Forestal en México 23(83): 33-39.
- Sánchez M., V., J. G. Salazar G., J. J. Vargas H., J. López U. and J. Jasso M. 2003. Genetic parameters and response to selection for growth traits in *Cedrela odorata* L. Revista Fitotecnia Mexicana 26(1): 19-27.
- SAS. 2004. Institute SAS/STAT 9.1 Guide for Personal Computers. SAS Institute Inc. Cary, N.C.

- Syros, T., T. Yupsanis, H. Zafiriadis and A. Economou. 2004. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. *Journal of Plant Physiology* 161: 69-77.
- Uribe, M. E., C. Delaveau, M. Garcés, y R. Escobar. 2008. Efecto de asepsia y fitohormonas en el establecimiento *in vitro* de *Berberidopsis corallina*, a partir de segmentos nodales. *Bosque* 29(1): 58-64.
- Villalobos R., V., M. I. González L., A. Durán Q. y D. Mora A. 2008. Efecto de la técnica de acodo en *Dracaena marginata*, sobre la calidad de las raíces. *Agronomía Mesoamericana* 19(2): 209-219.

## CAPITULO VI

### EFFECTO DEL MEDIO DE CULTIVO EN LA PROPAGACIÓN *in vitro* DE GENOTIPOS SELECCIONADOS DE *Cedrela odorata* L.

#### 6.1. RESUMEN

Para la industria forestal de México *Cedrela odorata* es la especie de mayor importancia, con amplia demanda para el establecimiento de plantaciones comerciales. Las cuales pueden ser cubiertas mediante la propagación *in vitro* de genotipos superiores. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un protocolo para la propagación *in vitro* de *C. odorata*, a través de yemas axilares. Se evaluaron los efectos del medio de cultivo para las fases de establecimiento, multiplicación y enraizamiento de cinco genotipos seleccionados de *C. odorata*. Con el uso del medio MS adicionado con antioxidantes, bactericidas y auxinas se obtuvo el 55 % de establecimiento. En la fase de multiplicación el medio MS adicionado con la mayor concentración de auxinas favoreció el mayor porcentaje de brotes (95 %) y todos los medios favorecieron la elongación de los brotes. *C. odorata* presentó buena capacidad de enraizamiento aun sin auxinas pero el medio MS adicionado con 0.1 ml L<sup>-1</sup> de AIB y 0.1 ml L<sup>-1</sup> de ANA fue superior en la generación de raíz en un 12 %. Por lo que se puede concluir que el efecto del medio de cultivo es determinante para el establecimiento, la multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *C. odorata*. Mientras que el genotipo una vez establecido tiene efecto en la supervivencia y la respuesta al enraizamiento.

**Palabras clave:** multiplicación, enraizamiento, auxinas, medio MS.

## EFFECT OF CULTURE MEDIUM *in vitro* PROPAGATION OF SELECTED GENOTYPES OF *Cedrela odorata* L.

### 6.2. ABSTRACT

For the forest industry in Mexico *Cedrela odorata* is the most important species, with large demand for the establishment of commercial plantations. It can be covered by *in vitro* propagation of superior genotypes. The object of this study was to develop a protocol for *in vitro* propagation of *C. odorata* through axillary buds. The effects of culture medium were evaluated for the phases of establishment, multiplication and rooting five selected genotypes of *C. odorata*. Using the MS medium supplemented with antioxidants, bactericides and auxins establishment 55 % was obtained. In the multiplication phase MS medium supplemented, the highest concentration of auxin favored the percentage of outbreaks (95 %) and all means favored shoot elongation. *C. odorata* exhibited goods even without auxin rooting MS medium but supplemented with 0.1 ml L<sup>-1</sup> de AIB y 0.1 ml L<sup>-1</sup> of ANA was superior in root generation by 12 %. So it can be concluded that the effect of the culture medium is decisive for the establishment, *in vitro* multiplication and rooting of *C. odorata*, while genotype once established has effect on survival and rooting response.

**Keywords:** multiplication, rooting, auxin, medium MS.

### 6.3. INTRODUCCIÓN

*Cedrela odorata* es la especie de mayor importancia comercial para la industria forestal de México (Quinto *et al.*, 2009). Su rentabilidad económica la hace atractiva para el establecimiento de plantaciones comerciales (Ramírez *et al.*, 2008). Según la CONAFOR (2015) es la especie con más hectáreas establecidas en territorio nacional.

Para abastecer la demanda creciente de plantaciones comerciales será necesario contar con germoplasma de origen genético conocido. Por lo que se deben seleccionar los mejores genotipos de acuerdo a la característica de interés para garantizar un buen rendimiento (Sánchez *et al.*, 2003).

Mediante la propagación vegetativa se obtienen copias idénticas de los árboles superiores (Kumar, 2007). Las técnicas más usadas son el enraizamiento de estacas, acodos, injertos y la micropropagación (Peña *et al.*, 2010). Con la técnica adecuada se puede producir gran cantidad de copias genéticamente idénticas (Hannrup *et al.*, 2008).

Para la producción comercial de clones de genotipos superiores de *C. odorata*, la propagación *in vitro* es una propuesta viable desde el punto de vista técnico y económico (Ewald *et al.*, 2000; Peña *et al.*, 2010). Consiste en producir plantas a partir de pequeñas porciones de tejidos, cultivadas asépticamente en donde se pueden controlar estrictamente las condiciones ambientales, sanitarias y de nutrición; para la producción de un gran número de plantas en

espacios reducidos y en cualquier época del año (Borges *et al.*, 2011; González *et al.*, 2012;).

Para la propagación *in vitro* de *C. odorata* y de otros árboles tropicales se ha usado el medio Murashige & Skoog (MS) (Mukherjee *et al.*, 2010); Sin embargo, no existe un protocolo que garantice el éxito con porcentajes aceptables de propagación. Según Pérez *et al.* (2012), los principales problemas para el establecimiento *in vitro* de *C. odorata* es la contaminación en el establecimiento y la recalcitrancia de los explantes en las fases de multiplicación y enraizamiento.

*C. odorata* se encuentra incluida en la lista de especies en riesgo sujeta a protección especial en la NOM. 059 (SEMARNAT, 2010), razón por la cual su conservación, propagación y uso sustentable cobra especial importancia (Muellner *et al.*, 2009). El presente trabajo tuvo el objetivo de desarrollar un protocolo para la propagación clonal de cinco genotipos selectos de *C. odorata*, a través de ápices y yemas axilares, para lo cual se probaron diferentes medios de cultivo durante las fases de multiplicación y enraizamiento.

## 6.4. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.4.1. Establecimiento

Material vegetal. Se utilizaron yemas y ápice de plantas establecidas por semilla. La semilla fue recolectada en mayo del 2012 de la familia 99 del Huerto semillero del Campo Experimental El Palmar, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). La siembra se realizó en abril de 2013 en el invernadero ubicado en el Colegio de Postgraduados, Texcoco, estado de México. Como sustrato se usó una mezcla de turba, agrolita y vermiculita (2:1:1) contenida en tubetes de polietileno de 1 l, con la adición de 10 gr de fertilizante de liberación controlada por tubete. La germinación se inició a los 15 días, y se completó a los 35 días, obteniendo un 95 % de germinación.

Después de año y medio la planta fue llevada al invernadero del Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG), Tepatitlan, Jalisco. Donde se le dio un manejo de riegos frecuentes y con aplicación foliar de fungicida (captan<sup>®</sup> 1 g L<sup>-1</sup>) cada mes. Para estimular la formación de material juvenil se realizaron tres podas cada 2 meses a una altura de 6 cm sobre el cuello de raíz. Después los brotes sin lignificar que tuvieron una longitud mayor a 25 cm y un diámetro de 1 cm, fueron recolectados y se eliminaron los foliolos. Finalmente, los brotes se seccionaron en explantes de aproximadamente 5 cm de largo y llevados al laboratorio.

Tren de desinfección. Los explantes fueron lavados con jabón en agua corriente por 10 min y se enjuagaron tres veces con agua destilada. Enseguida, se dejaron 60 minutos en Captan® (3 g L<sup>-1</sup>), se enjuagaron tres veces con agua destilada, se trataron con etanol al 70 % durante un minuto y se enjuagaron tres veces con agua destilada. Posteriormente, se dejaron en inmersión en cloro al 30 % durante 18 minutos. Finalmente, en la campana de flujo laminar se les dieron tres enjuagues con agua estéril.

Preparación de medios. Se probaron dos medios de cultivo, utilizando como base el medio Murashige y Skoog (MS) (1962) con 4.43 g L<sup>-1</sup>. Al medio uno (ME-1) se les adicionaron 9 g de agar, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarosa, 2 g L<sup>-1</sup> de carbón activado, 1 g L<sup>-1</sup> de Polivinilpirrolidona (PVP) como antioxidante y 1 ml L<sup>-1</sup> de Plant Preservative Mixture (PPM) como agente biocida. Para el medio dos (ME-2), además de los anteriores, se le adicionaron 1 ml L<sup>-1</sup> de benciladenina (BA) y 0.01 ml L<sup>-1</sup> de ácido indolacético (AIA). El pH de los medios se ajustó a 5.7 y mediante un despachador se vaciaron 10 ml de medio a los tubos de ensayo, los cuales después fueron esterilizados.

Siembra de explantes. La siembra se realizó en condiciones asépticas en la campana de flujo laminar. Los explantes se disectaron en cajas petri con bisturí estériles, para obtener secciones nodales de 1 cm y cada sección con una yema. Se sembró un explante en cada tubo de ensayo, después fueron sellados con parafilm y se etiquetaron. Posteriormente fueron colocados en la cámara de incubación a 24±2 °C con un fotoperiodo de 16 horas luz, usando lámparas de alógeno con una intensidad lumínica de 28.05 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> y 8

horas de oscuridad. La siembra se realizó entre el 25 y 26 de mayo del 2015, durante un mes se realizaron conteos y se determinó el porcentaje de contaminación, explantes vivos y muertos.

#### **6.4.2. Fase de Multiplicación**

Material vegetal. Para ésta fase se utilizaron los brotes viables que se desarrollaron en la fase de establecimiento. Se seleccionaron cinco familias (1, 5, 6, 39 y 59) para evaluar su respuesta a la multiplicación en cinco medios de cultivo.

Preparación de medios. Se evaluaron cinco medios de cultivo: 1) Medio Murashigue y Skoog (MS) (1962) (MM-1), 2) Medio MS adicionado con 0.5 ml L<sup>-1</sup> de BA y 0.05 ml L<sup>-1</sup> de ácido naftalenacético (ANA) (MM-2), 3) Medio MS adicionado con 1 ml L<sup>-1</sup> de BA y 0.1 ml L<sup>-1</sup> de ANA (MM-3), 4) Medio MS adicionado con 2 ml L<sup>-1</sup> de BA y 0.2 ml L<sup>-1</sup> de ANA (MM-4) y 5) Medio MS adicionado con 4 ml L<sup>-1</sup> de BA y 0.4 ml L<sup>-1</sup> de ANA (MM-5). A los cinco medios anteriores se les adicionaron 9 g L<sup>-1</sup> de agar, 30 g L<sup>-1</sup> de sacarosa y 2 g L<sup>-1</sup> de carbón activado. El pH de los medios se ajusto a 5.7 y mediante un despachador se depositaron 10 ml de medio a los tubos de ensayo, los cuales después fueron esterilizados.

Siembra de explantes. La siembra se realizó en condiciones asépticas en la campana de flujo laminar. Las explantes se disectaron en cajas petri con bisturí estériles, para obtener ápices de 1 cm. Se sembró un ápice en cada tubo de ensayo, después fueron sellados con parafilm y se etiquetaron. Posteriormente

fueron colocados en la cámara de incubación a  $24\pm 2$  °C con un fotoperiodo de 16 horas luz, usando lámparas de alógeno con una intensidad lumínica de  $28.05 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . La siembra se realizó entre el 29 y 30 de junio del 2015, durante dos meses se realizaron conteos diarios y se determinó el porcentaje de contaminación, cantidad de ápices vivos, desarrollados y enraizados.

#### **6.4.3. Fase de Enraizamiento**

Material vegetal. En ésta fase se utilizaron los brotes, correspondientes a las mismas familias probadas, que sobrevivieron y se desarrollaron en la fase de establecimiento para evaluar su respuesta al enraizamiento en cinco medios de cultivo.

Preparación de medios. Se evaluaron cinco medios cultivo: 1) Medio Murashige y Skoog (MS) (MR-1) (1962), 2) Medio MS adicionado con  $0.05 \text{ ml L}^{-1}$  de ácido indolbutírico (AIB) y  $0.05 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA (MR-2), 3) Medio MS adicionado con  $0.1 \text{ ml L}^{-1}$  de AIB y  $0.1 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA (MR-3), 4) Medio MS adicionado con  $0.15 \text{ ml L}^{-1}$  de AIB y  $0.15 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA (MR-4) y 5) Medio MS adicionado con  $0.2 \text{ ml L}^{-1}$  de AIB y  $0.2 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA (MR-5). A los cinco medios anteriores se les adicionaron  $9 \text{ g L}^{-1}$  de agar,  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarosa y  $2 \text{ g L}^{-1}$  de carbón activado. El pH de los medios se ajustó a 5.7 y mediante un dispensador ajustable se depositaron 10 ml de medio a los tubos de ensayo, los cuales después fueron esterilizados.

Siembra de explantes. La siembra se realizó en condiciones asépticas en la campana de flujo laminar. Los explantes se disectaron en cajas petri con bisturí

estéril para obtener ápices de 1 cm. Se sembró un ápice en cada tubo de ensayo, después fueron sellados con vitafilm y se etiquetaron. Posteriormente fueron colocados en la cámara de incubación a  $24\pm 2$  °C con un fotoperiodo de 16 horas luz, usando lámparas de alógeno con una intensidad lumínica de  $28.05 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y 8 horas de oscuridad. La siembra se realizó entre el 2 y 3 de julio del 2015, durante dos meses se realizaron conteos y se determinó el porcentaje de contaminación, cantidad de ápices vivos, desarrollados y enraizados.

#### **6.4.4. Diseño experimental**

En todos los experimentos se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de tratamientos; para el establecimiento fue de 5x2 (cinco familias y dos medios) con 40 repeticiones, para la multiplicación y enraizamiento fue de 5x5 (cinco familias y cinco medios de cultivo) con 10 repeticiones. Los datos registrados no cumplieron con los supuestos de normalidad, por lo que previo al análisis de varianza la variable de porcentaje (Y) fue transformada con la función arcoseno de la raíz cuadrada del valor original expresado en fracción decimal [ $T = \arcseno(\sqrt{Y})$ ]. La variable número de brotes fue transformada con la función logaritmo, [ $T = \log_{10}(Y)$ ]. Posteriormente los valores promedio fueron re-transformados a las unidades originales, con la función [ $Y = 100 \text{ seno}^2(T)$ ] para la variable porcentaje y con la función [ $Y = 10^T$ ] para la variable de conteo (Itoh *et al.*, 2002; Syros *et al.*, 2004; Ruíz *et al.*, 2005; Muñoz *et al.*, 2009). Se realizó una comparación múltiple de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Los análisis se realizaron con el programa estadístico SAS para computadora personal (SAS, 2004).

## 6.5. RESULTADOS

En la fase de establecimiento el efecto del medio de cultivo resultó significativo ( $p \leq 0.05$ ), en la supervivencia de los explantes. Para la fase de multiplicación el efecto del medio resultó significativo ( $p \leq 0.05$ ), en la supervivencia, en el enraizamiento y en la longitud del brote. Mientras que el genotipo fue significativo para la generación de raíz. En la fase de enraizamiento el efecto del medio resultó significativo ( $p \leq 0.05$ ) en la supervivencia y en el enraizamiento, mientras que el genotipo fue significativo en la supervivencia (Cuadro 6.1). Las interacciones entre los medios de cultivo y los genotipos no fueron significativas en las diferentes fases de la propagación *in vitro*.

### 6.5.1. Establecimiento

Con el ME-2 los porcentajes de supervivencia mejoraron en 10 %, respecto al ME-1 (Cuadro 6.2). Mientras que el establecimiento de cinco familias (genotipos) no presento diferencias significativas para la supervivencia.

**Cuadro 6.1.** Valores de *P* del análisis de varianza de las variables consideradas en el establecimiento, multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Cedrela odorata* L.

Fuente de variación	Brotos vivos (%)	Brotos enraizados (%)	Brotos		Contaminación (%)		
			número	longitud	Hongos	Bacterias	Necr.
Establecimiento							
Medio	0.045**	0.273	0.182	0.274	0.892	0.439	0.671
Geno	0.340	0.162	0.381	0.328	0.294	0.452	0.519
Medio*Geno	0.629	0.450	0.327	0.456	0.427	0.394	0.712
Multiplicación							
Medio	0.001**	0.004**	-	0.003*	-	-	-
Geno	0.239	0.034**	-	0.080	-	-	-
Medio*Geno	0.728	0.483	-	0.159	-	-	-
Enraizamiento							
Medio	0.008**	0.019**	-	0.210	-	-	-
Geno	0.021**	0.384	-	0.328	-	-	-
Medio*Geno	0.259	0.317	-	0.539	-	-	-

\*\* Con diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). Necr.; necrosis; Geno: genotipo.

**Cuadro 6.2.** Valores medio y error estándar para determinar el efecto del medio de cultivo y el genotipo en la fase de establecimiento *in vitro* de *Cedrela odorata* L.

Factor	Brotos vivos (%)	Brotos		Contaminación (%)		
		Número	Longitud (cm)	Hongos	Bacterias	Necr.
Medios						
M-1	45±3 b	1.18±0.9 a	1.91±0.11 a	61±5 a	31±6 a	8±3 a
M-2	55±3 a	1.23±0.5 a	1.79± 0.8 a	68±7 a	26±5 a	6±2 a
CV (%)	6.3	2.3	1.7	2.4	1-3	1-9
Genotipos						
F-1	47±6 a	1.23±0.5 a	1.81±0.5 a	69±5 a	24±6 a	7±2 a
F-5	45±4 a	1.15±0.5 a	1.85±0.3 a	65±4 a	26±4 a	9±3 a
F-6	57±5 a	1.19±0.3 a	1.90±0.5 a	60±6 a	35±5 a	5±3 a
F-39	53±3 a	1.21±0.4 a	1.86±0.4 a	66±3 a	28±4 a	6±2 a
F-59	48±4 a	1.25±0.6 a	1.83±0.3 a	63±5 a	29±3 a	8±2 a
CV (%)	1.1	1.4	2.2	1.3	1.6	1.7
Promedio	50	1.205	1.85	64.5	28.5	7

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ ).

M: medio, F: familia, CV: coeficiente de variación, Necr.: necrosis.

En los porcentajes de contaminación no se presentaron diferencias significativas. Sin embargo, la contaminación de hongos fue dos veces más alta que la de bacterias y nueve veces más que la necrosis (Cuadro 6.2).

### 6.5.2. Fase de multiplicación

El MM-3 fue significativamente superior en la supervivencia (100 %) de los explantes y buen porcentaje de explantes con brotes, pero no favoreció el desarrollo de raíz; mientras que el MM-4 presentó los valores más bajos en supervivencia, en generación de brotes y de raíz (Cuadro 6.3). En elongación de los brotes el MM-5 fue significativamente superior en más de 0.7 cm.

**Cuadro 6.3.** Valores medio y error estándar para determinar el efecto del medio de cultivo y el genotipo en la fase de multiplicación *in vitro* de *Cedrela odorata* L.

Factor	Explantes (%)			Brotes
	supervivencia	Con brotes	Con raíz	Longitud (cm)
Medios				
M-1	92±3 b	90±3 a	68±6 a	1.36±0.29 b
M-2	85±5 c	85±5 a	68±5 a	1.51±0.30 b
M-3	100±0 a	90±4 a	60±5 ab	1.55±0.27 b
M-4	80±6 c	75±4 b	52±7 b	2.02±0.31 ab
M-5	96±2 b	95±2 a	76±6 a	2.76±0.08 a
CV (%)	6.8	4.7	4.3	6.2
Genotipos				
F-1	88±5 a	85±4 a	68±4 b	1.37±0.29 a
F-5	96±2 a	84±6 a	36±8 c	1.49±0.28 a
F-6	92±3 a	90±4 a	64±5 b	1.98±0.33 a
F-39	92±3 a	92±3 a	72±6 b	1.83±0.29 a
F-59	84±5 a	84±5 a	84±5 a	2.54±0.30 a
CV (%)	1.7	2.1	6.3	1.8
Promedio	90.4	87	64.8	1.84

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p>0.05$ ).

M: medio, F: familia, CV: coeficiente de variación.

En ésta fase el genotipo fue determinante en la generación de raíz, siendo significativamente superior la familia 59 en más de 10 %. Mientras que no se tuvo diferencias significativas en los porcentajes de supervivencia, en la generación y longitud de brotes.

### **6.5.3. Fase de enraizamiento**

En ésta fase el medio de cultivo presento diferencias significativas en los porcentajes de supervivencia y en la generación de raíz. El MR-3 presento la mayor supervivencia y fue significativamente superior en la generación de raíz en un 12 % (Cuadro 6.4).

En la supervivencia el genotipo presentó diferencias significativas, siendo la familia 59 significativamente superior con un 8 %. Mientras que no se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de la generación de brotes y de raíz. En el caso de la longitud de brotes, el medio de cultivo y el genotipo no presentaron diferencias significativas (Cuadro 6.4).

**Cuadro 6.4.** Valores medio y error estándar para determinar el efecto del medio de cultivo y el genotipo en la fase de enraizamiento *in vitro* de *Cedrela odorata* L.

Factor	Explantos (%)			Brotos
	supervivencia	Con brotes	Con raíz	Longitud (cm)
Medios				
M-1	92±3 a	87±4 a	80±5 b	1.06±0.18 a
M-2	84±4 ab	81±5 a	76±4 b	1.13±0.19 a
M-3	96±2 a	92±3 a	92±3 a	1.20±0.11 a
M-4	92±4 a	85±5 a	76±5 b	1.50±0.18 a
M-5	84±6 ab	79±6 a	64±6 b	1.76±0.19 a
CV (%)	3.6	2.2	5.8	1.9
Genotipos				
F-1	88±5 b	85±5 a	80±6 a	1.11±0.18 a
F-5	88±6 ab	82±4 a	76±5 a	1.21±0.19 a
F-6	88±4 b	86±3 a	80±4 a	1.27±0.18 a
F-39	88±4 b	84±5 a	80±5 a	1.57±0.15 a
F-59	96±2 a	87±4 a	72±6 a	1.49±0.17 a
CV (%)	4.7	1.5	2.0	1.8
Promedio	89.6	84.8	77.6	1.33

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ).

M: medio, F: familia, CV: coeficiente de variación.

## 6.6. DISCUSIÓN

### 6.6.1. Establecimiento

En el establecimiento de yemas de *C. odorata* se obtuvo un 50 % de supervivencia, probablemente la adición del antioxidante (PVP) al medio de cultivo evito el deterioro y muerte del tejido. Concepción *et al.* (2005) mencionan que la adición de antioxidantes como el PVP propicia una menor exudación de compuestos fenólicos al medio de cultivo y que las yemas de brotes juveniles poseen el menor contenido de fenoles. Azofeifa (2009) menciona que el establecimiento *in vitro* especialmente en especies leñosas ésta limitado por la ocurrencia de la oxidación de los explantes en el medio de cultivo. También menciona que las principales estrategias para evitar o disminuir los problemas oxidativos son: el uso de explantes juveniles, subcultivos frecuentes, el uso de adsorbentes como el carbón activado, y de antioxidantes, entre otros.

La contaminación por hongos y bacterias se presento a pesar de los tratamientos preventivos de desinfección y de la adición al medio de PPM. En el caso de caña de azúcar de acuerdo con Digonzelli *et al.* (2005) el uso de PPM en concentración de 0.25 ml L<sup>-1</sup> controla la contaminación por bacterias. De acuerdo con Valverde *et al.* (2008) es frecuente observar la contaminación de bacterias en el cultivo *in vitro* de *C. odorata*, lo que los hace suponer una presencia intracelular. En el caso de *Cedrela salvadorensis* (Standl) el mejor método para la desinfección fue con cloro al 3 % por 10 minutos con sólo un 10 % de contaminación; aunque en éste caso se utilizaron materiales más

juveniles de sólo 8 meses de edad (Soto *et al.*, 2010). En nuestro trabajo, probablemente la habilidad del operador al momento de la siembra pudo generar la contaminación en los medios, además, se debe considerar incrementar la concentración de PPM.

Se generaron un promedio de 1.2 brotes por explante con una longitud promedio de 1.85 cm. De acuerdo con Peña *et al.* (2010) la adición de BA al medio de cultivo estuvo relacionado con la mayor cantidad de brotes. Mientras que la elongación de los mismos se vio favorecida por la gran cantidad de nitrógeno y potasio que tiene el medio MS (Flores *et al.*, 2011).

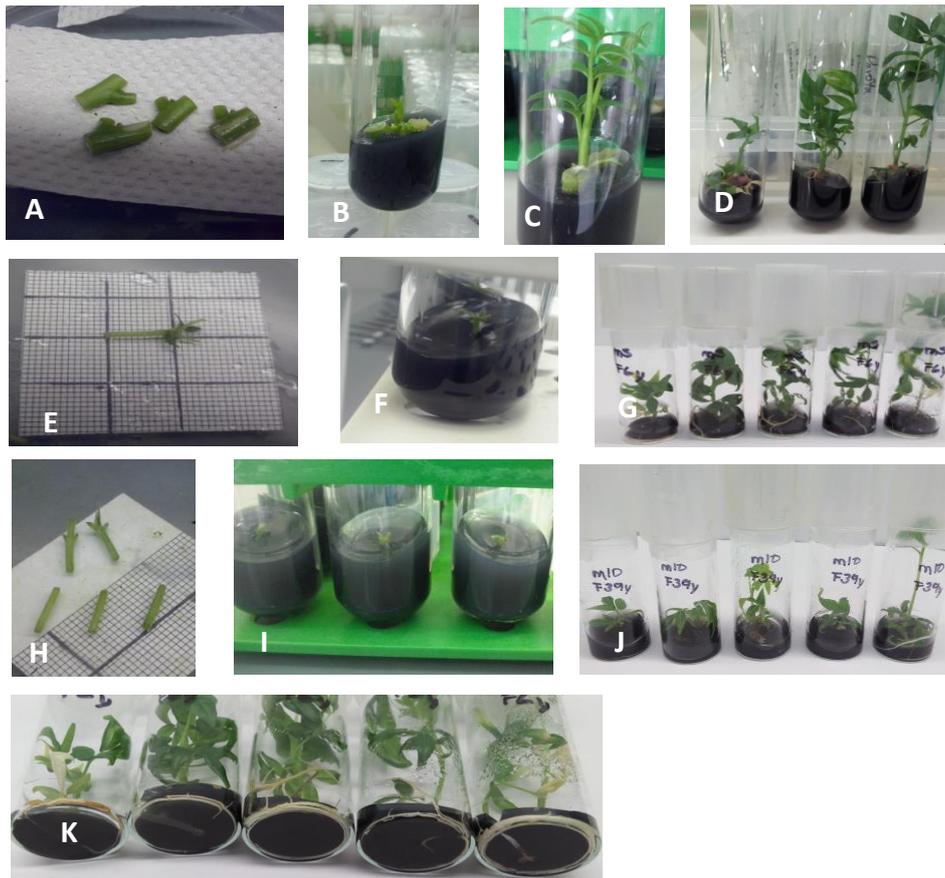
#### **6.6.2. Fase de multiplicación**

En esta fase el 87 % de los explantes formaron brotes de 1.84 cm de largo. Lo que pudo deberse a que el medio MS presenta altos contenidos de nitrógeno y potasio que seguramente ayudaron a la elongación (Flores *et al.*, 2011). De acuerdo con Rout *et al.* (2001) en *Paulownia tomentosa* la adición de ANA al medio de cultivo MS con BA, favoreció la tasa de multiplicación y la elongación de los brotes. El genotipo no tuvo diferencias significativas en la respuesta a la brotación, pero si en la respuesta al enraizamiento. El carbón activado en el medio de cultivo pudo haber favorecido el enraizamiento de los explantes. De acuerdo con Basto *et al.* (2012), la adición de carbón activado en el medio de cultivo en *Cedrela montana* (Moritz ex Turcz) estimuló la formación de raíces de los explantes. Además, Flores *et al.* (2011) menciona que el carbón activado fomenta una mayor aireación genera un medio oscuro que propicia el

desarrollo de las raíces y absorbe sustancias inhibidoras indeseables como el etileno o los pigmentos tóxicos.

### **6.6.3. Fase de enraizamiento**

El 77.6 % de los explantes generaron raíces, Millán *et al.* (2011) mencionan que *C. odorata* presenta una buena capacidad de enraizamiento aún sin auxinas. Pero la aplicación exógena de auxinas aumenta los porcentajes de enraizamiento, siendo significativamente superior con la aplicación de AIB en el medio de cultivo. En un híbrido de almendro con durazno H1, Parada y Villegas (2009) mencionan que al aumentar las concentraciones AIB se incrementó el número de raíces. Joshi *et al.* (2003) en un medio MS suplementado con 1mg L<sup>-1</sup> de AIB obtuvieron un 75 % de enraizamiento en eucalipto. En brotes de *Swietenia macrophylla* en un medio de cultivo MS al 50 % con diferentes concentraciones de ANA, no se favoreció el enraizamiento (Carranza *et al.*, 2003). En la Figura 6.1 se muestran los resultados de la propagación *in vitro* de *C. odorata*, en las fases de establecimiento, multiplicación y enraizamiento.



**Figura 6.1.** Fase de establecimiento: A) corte de yemas, B) establecimiento de yemas, C y D) crecimiento y desarrollo de brotes. Fase de multiplicación: E) corte de ápices, F) establecimiento de ápices, G) crecimiento y desarrollo de brotes con raíz. Fase de enraizamiento: H) corte de ápices, I) establecimiento de ápices, J) crecimiento de ápices y K) brotes con raíces bien desarrolladas.

## 6.7. CONCLUSIONES

En la fase de establecimiento el uso de materiales juveniles en el medio MS adicionado con antioxidantes, biocidas y auxinas favorecio la supervivencia de explantes. Para la fase de multiplicación el medio MS adicionado con 1 ml L<sup>-1</sup> de BA y 0.1 ml L<sup>-1</sup> de ANA fue significativamente superior en la supervivencia, mientras que la elongación de los brotes el uso del medio MS adicionado con 4 ml L<sup>-1</sup> de BA y 0.4 ml L<sup>-1</sup> de ANA fue significativamente superior. En la fase de enraizamiento el medio MS adicionado con 0.1 ml L<sup>-1</sup> de AIB y 0.1 ml L<sup>-1</sup> de ANA presento la mayor supervivencia y fue significativamente superior en la generación de raíz en un 12 %. Por lo que se puede concluir que el efecto del medio de cultivo y el genotipo es determinante para la propagación *in vitro* de *C. odorata*.

## 6.8. LITERATURA CITADA

- Azofeifa, A. 2009. Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agronomía Mesoamericana* 20(1): 153-175.
- Basto, S., C. Serrano and E. Hodson de J. 2012. Effects of donor plant age and explants on *in vitro* culture of *Cedrela montana* Moritz ex Turcz. *Universitas Scientiarum* 17(3): 263-271.
- Borges G., M., R. Destrade B., S. Meneses R., R. Gómez K., B. Malaurie, P. Hamon y L. C. Demenorval. 2011. Optimización de un medio de cultivo para plantas micropropagadas de *Dioscorea alata* L. *Revista Colombiana de Biotecnología* 13(2): 221-228.

- Carranza P., M., H. Reyes M., W. Mora S., O. Cevallos F., A. Escobar T., M. Cadme A., J. Nieto R., y J. Morante C. 2013. Propagación clonal *in vitro* de *Swietenia macrophylla* King (caoba). Ciencia y Tecnología 6(2): 1-8.
- CONAFOR. 2015. Principales especies maderables establecidas en plantaciones forestales comerciales 2000-2014. Consultado en CONAFOR. Mayo de 2015. Obtenido de: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/43/6018Principales%20especies%20maderables%20establecidas%20en%20PFC%20por%20a%20en%202000%20-%202014.pdf>
- Concepción, O., L. Nápoles, A. T. Pérez, N. Peralta, M. Hernández y R. Trujillo. 2005. Efecto de tres antioxidantes en el cultivo *in vitro* de ápices de guayaba (*Psidium guajava* L.) relación entre origen del explante y el contenido de compuestos fenólicos. Cultivos Tropicales 26(1): 33-39.
- Digonzelli, P., L. Díaz y S. Carrizo B. 2005. Uso de PPM (Plant Preservative Mixture) para controlar contaminantes bacterianos en la multiplicación *in vitro* de caña de azúcar. Revista Facultad de Agronomía 22: 22-32.
- Ewald, D., G. Naujoks and H. Piegert. 2000. Performance and Wood Quality of *in Vitro* Propagated Hybrid Curly Birch (*Betula pendula* x *Betula pendula* var. *carelica* SOK.) Clones. Silvae Genetica 49(2): 98-101.
- Flores E., G., I. Gil V., M. T. Colinas L. y M. Mata R. 2011. Propagación *in vitro* de la orquídea *Brassia verrucosa* Bateman Ex.Lindl. Revista Chapingo Serie Horticultura 17(1): 5-8.

- González, M., N. Mogollón, G. Alvarado, A. Jiménez and T. Capote. 2012. Efecto del medio del cultivo *in vitro* y la fuente nitrogenada sobre el crecimiento del cocuy (*Agave cocui* Trelease). *Bioagro* 24(1): 39-44.
- Kumar, A. 2007. Growth Performance and Variability in Different Clones of *Gmelina arborea* (ROXB.). *Silvae Genetica* 56(1): 32-36.
- Hannrup, B., G. Jansson and O. Danell. 2008. Genotype by environment interaction in *Pinus sylvestris* L. in southern Sweden. *Silvae Genetica* 57(6): 306-311.
- Itoh, A.; T. Yamakura; M. Kanzaki; T. Ohkubo; P. A. Palmiotto; J. V. LaFrankie; J. J. Kendawang and H. S. Lee. 2002. Rooting ability of cuttings relates to phylogeny, habitat preference and growth characteristics of tropical rainforest trees. *Forest Ecology and Management* 168: 275-287.
- Joshi, I., P. Bisht, V. K. Sharma and D. P. Uniyal. 2003. In vitro clonal propagation of mature *Eucalyptus* F<sub>1</sub> hibrid (*Eucalyptus tereticornis* Sm. X *E. grandis* Hill ex. Maiden). *Silvae Genetica* 52(3-4): 110-113.
- Millán O., L., E. Corredoira y M. C. San José. 2011. *In vitro* rhizogenezis: histoanatomy of *Cedrela odorata* (Meliaceae) microcuttings. *Revista Biología Tropical* 59(1): 447-453.
- Muellner, A. N., T. D. Pennington and M. W. Chase. 2009. Molecular phylogenetics of Neotropical *Cedreleae* (mahogany family, Meliaceae) based on nuclear and plastid DNA sequences reveal multiple origins of "*Cedrela odorata*". *Molecular Phylogenetics and Evolution* 52: 461-469.
- Mukherjee, P., N. Husain, S. C. Misra and V. S. Rao. 2010. *In vitro* propagation of a grape rootstock, de Grasset (*Vitis champinii* Planch.): Effects of

medium compositions and plant growth regulators. *Scientia Horticulturae* 126: 13-19.

Muñoz G., L., J. J. Vargas H., J. López U. and M. Soto H. 2009. Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa*. *New Forests* 38: 187-196.

Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology* 15: 473-497.

Parada P., D. M. y A. Villegas M. 2009. Propagación in vitro del híbrido almendro x manzano H1. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32(2): 103-109.

Peña R., Y. J., J. Juárez G., L. Gómez L., J. L. Jerónimo P., I. García S., J. A. González R. and M. L. Robert. 2010. Multiple adventitious shoot formation in Spanish Red Cedar (*Cedrela odorata* L.) cultured in vitro using juvenile and mature tissues: an improved micropropagation protocol for a highly valuable tropical tree species. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Plant*. 46: 149-160.

Pérez F., J., M. E. Aguilar V. and R. Roca T. 2012. Assays for the in vitro establishment of *Swietenia macrophylla* and *Cedrela odorata*. *Rev. Colombiana de Biotecnología* 14(1): 20-30.

Quinto, L., P. A. Martínez H., L. Pimentel B. y D. A. Rodríguez T. 2009. Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles tropicales. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 15(1): 23-28.

Ramírez G., C., G. Vera C., F. Carrillo A. y O. S. Magaña T. 2008. El cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) como alternativa de reconversión en terrenos

abandonados por la agricultura comercial en el Sur de Tamaulipas. *Agricultura Técnica en México* 34(2): 243-256.

Rout, G. R., G. M. Reddy and P. Das. 2001. Studies on *in vitro* clonal propagation of *Paulownia tomentosa* Stued. and evaluation of genetic fidelity through RAPD marker. *Silvae Genetica* 50(5-6): 208-212.

Ruiz G., R., J. J. Vargas H., V. M. Cetina A. y A. Villegas M. 2005. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28(4): 319-326.

Sánchez M., V., J. G. Salazar G., J. J. Vargas H., J. López U. and J. Jasso M. 2003. Genetic parameters and response to selection for growth traits in *Cedrela odorata* L. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26(1): 19-27.

SAS Institute. (2004) SAS/STAT 9.1 Guide for Personal Computers. SAS Institute Inc. Cary, N.C. 378 p.

SEMARNAT. 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental -Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario oficial. p. 67.

Soto V., B., L. Valverde C., A. Rojas V. y A. Hine G. 2010. Establecimiento *in vitro* de *Cedrela salvadorensis* Standl. *Tecnología en Marcha* 23(4): 66-73.

Syros, T., T. Yupsanis, H. Zafiriadis, and A. Economou. 2004. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. *Journal of Plant Physiology* 161: 69-77.

- Valdés, A. E., B. Fernández and M. L. Centeno. 2003. Alterations in endogenous levels of cytokinins following grafting of *Pinus radiata* support ratio of cytokinins as an index of ageing and Vigour. *J. Plant Physiology* 160: 1407-1410.
- Valverde, L., A. Rojas y A. Hine. 2008. *In vitro* propagation of *Albizia guachapele*, *Cedrela odorata*, *Playmiscium pinnatu* and *Guaiacum sanctum*. *Plan Tissue Cult & Biotech*, 18(2): 151-156.

## CAPITULO VII

### CALIDAD FÍSICA Y FISIOLÓGICA EN SEMILLAS DE DIEZ FAMILIAS DE *Cedrela odorata* L. Y EL EFECTO DE LA ESCARIFICACIÓN DESPUES DE 12 MESES DE ALMACENAMIENTO

#### 7.1. RESUMEN

*Cedrela odorata* L. tiene semillas con características subortodoxas que toleran contenidos de humedad hasta del 5 % pero su viabilidad disminuye pronto en el almacenamiento. El objetivo fue evaluar el efecto de la escarificación sobre la germinación de diez familias de *C. odorata* del Huerto Semillero del Campo Experimental El Palmar, ubicado en Tezonapa, Veracruz. Las semillas con 12 meses de almacenamiento se les realizaron evaluaciones de pureza de semillas, número de semillas por kilogramo y contenido de humedad, prueba de rayos X, análisis de viabilidad y prueba de germinación considerando el efecto de la escarificación en un ambiente controlado. Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2x10 con 15 repeticiones de 20 semillas por familia. Las semillas de las diez familias tuvieron un contenido de humedad de 6.15 % y presentaron buena viabilidad (97.7 %) y germinación de 87.7 %. En el tratamiento de escarificación no se encontraron diferencias significativas en los porcentajes de germinación entre semillas con escarificación (66 %) y sin escarificación (77 %). Por interacción las familias 39, 110, 11, 99, 45, 6 y 1 presentaron significativamente mayor porcentaje de germinación sin escarificación. Después de 12 meses de almacenamiento las semillas presentaron un contenido de humedad bajo, pero no afectó la viabilidad ni la germinación y el efecto de la escarificación no fue significativo.

**Palabras clave:** viabilidad, germinación, almacenamiento y contenido de humedad.

**PHYSICAL AND PHYSIOLOGICAL QUALITY OF SEEDS OF TEN FAMILIES  
OF *Cedrela odorata* L. AND THE EFFECT OF SCARIFICATION AFTER  
TWELVE MONTHS OF STORAGE**

**7.2. ABSTRACT**

*Cedrela odorata* L. seeds with orthodox sub tolerant features moisture contents up to 5 % but decreases quickly viability during storage. The objective was to evaluate the effect of scarification on germination of ten families of *C. odorata* seed orchard of Experimental El Palmar, located in Tezonapa, Veracruz. Seeds with 12 months of storage assessments were performed purity of seeds, number of seeds per kilogram and moisture content, X-ray test, analysis of viability and germination test considering the effect of scarification in a controlled environment. The design was completely randomized 2x10 factorial arrangement with 15 repetitions of 20 seeds per family. Seeds of ten families had a moisture content of 6.15 % and showed good viability (97.7 %) and germination (87.7 %). In the treatment of scarification was no significant difference in the percentage of germination from seed scarification (65.88 %) and without scarification (76.97 %). In the interaction families 39, 110, 11, 99, 45, 6 and 1 had significantly higher percentage of germination without scarification. After twelve months of storage seeds had low moisture content, but did not affect the viability or germination and scarifying effect was not significant.

**Keywords:** viability, germination, storage and moisture content.

### 7.3. INTRODUCCIÓN

*Cedrela odorata* L. (cedro rojo) es la especie más utilizada para plantaciones comerciales (CONAFOR, 2015), se propaga principalmente por semilla, la cual disminuye su viabilidad en semanas después de madura; pero almacenadas adecuadamente se conserva por varios meses. Bonner y Vozzo (1987) mencionan que se considera una especie con semillas subortodoxas por su resistencia al almacenamiento a temperatura de 5°C y su tolerancia a la deshidratación hasta de 5 % en el contenido de humedad (Magnitskiy y Plaza, 2007). Pero se ve afectada su germinación después de dos años.

Para abastecer la demanda creciente de plantas para plantaciones comerciales, es necesario contar con germoplasma de origen genético conocido y adaptado a las condiciones ambientales de la zona (Sánchez *et al.*, 2003). Además se deben realizar estudios sobre la calidad de semillas y tratamientos de escarificación para reducir el tiempo de germinación y obtener un mayor número de plantas en menor tiempo y de manera uniforme (Quinto *et al.*, 2009).

Una semilla que tiene la capacidad de germinar y producir una planta normal en el menor tiempo es de mejor calidad, y es resultado de factores genéticos, físicos, fisiológicos y sanitarios (Salinas *et al.*, 2001). Mediante un análisis de semillas se estudian las características físicas y fisiológicas de un lote; estos

análisis se realizan de acuerdo a normas internacionales (ISTA, 2005). Entre los más importantes está el contenido de humedad, que es la pérdida de peso cuando se seca, y se expresa en porcentaje, y con base en éste se decide si un lote de semilla está en condición de almacenarse o necesita perder más humedad (ISTA, 2005). En cuanto a la pureza física y el número de semillas por kilogramo, ayuda a determinar la cantidad de semilla en kilogramos que se necesitarán para planear una producción en vivero.

La calidad fisiológica de un lote de semillas revela los porcentajes de vigor y su potencial de germinación. El vigor es la capacidad que tiene una semilla para germinar y producir una planta normal, y está determinada por el genotipo y modificada por el ambiente (ISTA, 2005). Mientras que la germinación es la reanudación del crecimiento y desarrollo del embrión para originar una planta normal bajo condiciones favorables. Para evaluar la viabilidad, también se pueden realizar análisis de rayos X de las semillas para obtener una imagen interna y determinar el porcentaje de semillas llenas, vacías y dañadas. Una semilla viable puede no germinar por presentar latencia, y cuando está es del tipo física, el agua y oxígeno no entran fácilmente a la semilla por tener una testa gruesa (Baskin y Baskin. 2004). Un método para romper esta latencia física y lograr mayor germinación es la escarificación, que consiste en degradar la testa o romperla con un material abrasivo o cortante (Chan *et al.*, (2012).

El objetivo fue evaluar el efecto de la escarificación sobre la germinación de diez familias de *Cedrela odorata*. Con el propósito de conocer la calidad en las

semillas del Huerto Semillero ubicado en El Campo experimental El Palmar, en Tezonapa, Veracruz.

## **7.4. MATERIALES Y METODOS**

### **7.4.1. Origen de las semillas**

Se evaluaron semillas de 10 familias del Huerto Semillero de *Cedrela odorata* L. que se ubica dentro del Campo Experimental El Palmar (18° 32' L.N., 96° 47' L.W.; 180 msnm), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), que se localiza en el Municipio de Tezonapa, en el Estado de Veracruz (Sánchez *et al*, 2003). De acuerdo con los datos de la estación meteorológica, el clima en el sitio es cálido húmedo con lluvias en verano, con una precipitación media de 2,888 mm anuales y temperatura media anual de 24.4 °C. Los suelos son de tipo Acrisol, profundos y de buen drenaje, de textura de migajón arcillo-arenoso y pH de 4.8 (Sánchez y Velázquez, 1998).

Las semillas se recolectaron en marzo del 2014 del Huerto semillero del Campo Experimental El Palmar. El Huerto semillero se obtuvo a partir de un ensayo de procedencias-progenie, como parte de la estrategia del mejoramiento genético en *Cedrela odorata* L. del INIFAP. Las semillas se mantuvieron en refrigeración a 4°C. Los análisis de calidad física y fisiológica de las semillas se realizaron en las instalaciones del laboratorio agrícola-forestal, sección semillas ortodoxas del Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG) del INIFAP, en Tepatitlán de Morelos, Jalisco.

#### **7.4.2. Análisis de calidad física de semillas de *Cedrela odorata***

Para determinar la pureza de la semilla, se pesó el total de las muestras de cada familia. Posteriormente se separó la muestra en semillas llenas, vacías e incompletas y materia inerte. Después las semillas llenas fueron desprovistas del ala (Figura 7.1). Se pesó cada componente y se calculó su respectivo porcentaje (ISTA, 2005).

Para obtener el número de semillas por kilogramo, de acuerdo con González (1991) y Sautu *et al.* (2006) se pesaron y contaron ocho repeticiones de 100 semillas de cada familia. Después con la media se estimó el número de semillas en un kilogramo.

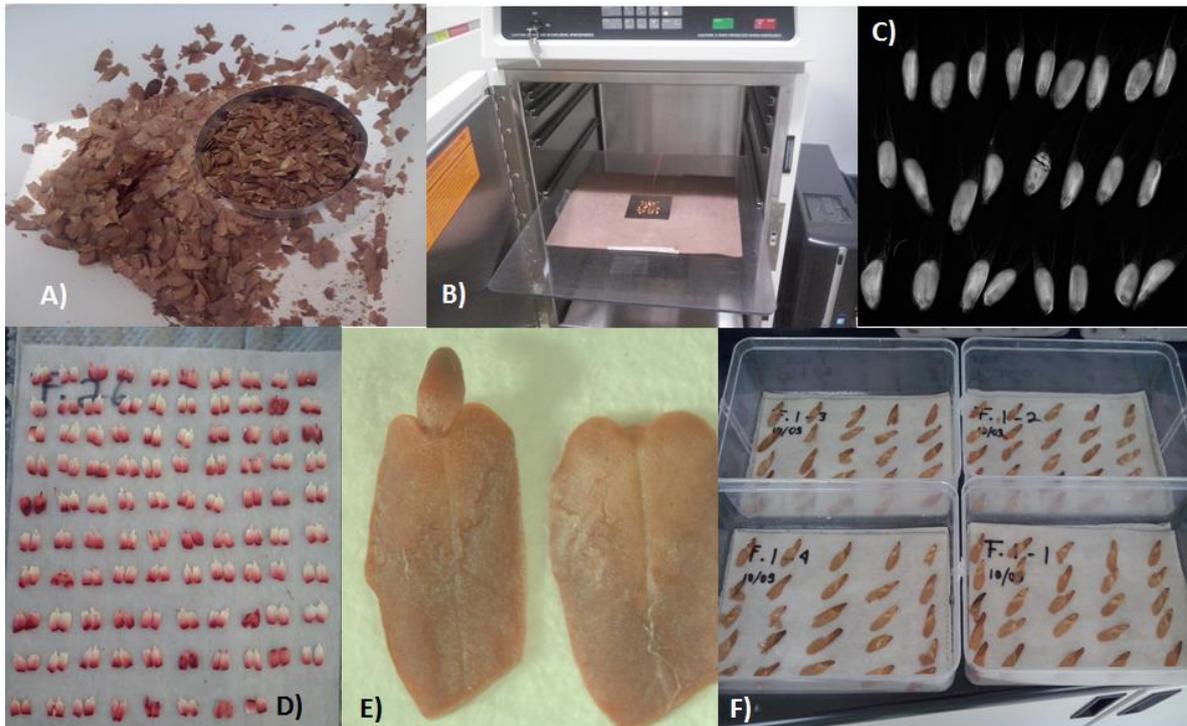
Para determinar el contenido de humedad se pesó un gramo de semillas para cada familia, el cual fue puesto en un determinador de humedad AND modelo MS-70 a 130 °C. En forma automática tomó el peso inicial y el peso después del secado e hizo la resta; el resultado se expresó en porcentaje.

#### **7.4.3. Análisis de calidad fisiológica de semillas de *C. odorata***

Para el análisis de viabilidad se utilizó la prueba de tetrazolio (Enescu, 1991), para lo cual se tomaron al azar 100 semillas llenas de cada familia, puestas en imbibición con agua destilada por 24 horas. Posteriormente las semillas fueron colocadas en una solución de tetrazolio al 1 % por un periodo de 24 horas en una incubadora de convección forzada Binder modelo BD-115 a 30 °C constante. La viabilidad de las semillas se determinó en función del patrón de tinción del embrión y la intensidad de la coloración (Figura 7.1).

Para el análisis de rayos X se usó un Faxitrón modelo MS-20. Se tomaron al azar 100 semillas por familia y se colocaron en una placa plástica 25 semillas. Dentro de la cámara del aparato las semillas fueron expuestas 10 segundos con un potencial de 20 kV de energía (Sosa *et al.*, 2012). Las imágenes fueron guardadas en el software del equipo para ser evaluadas. Se realizaron conteos de semillas llenas, vacías, dañadas por insectos y con daños físicos (Figura 7.1). Como ésta prueba no daña las semillas, fueron empleadas para la prueba de germinación.

Para la prueba de germinación las semillas se colocaron al azar sobre papel filtro previamente humedecido con agua destilada colocado en cajas de acrílico (16x11x7 cm) herméticamente cerradas. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones de 25 semillas por familia, 5 hileras de 5 semillas (Figura 7.1).). Las cajas fueron colocadas en una cámara de ambiente controlado, a una temperatura de  $25\pm 2$  °C y una humedad relativa de 70 %. Se estableció el 10 de marzo de 2015. Una semilla fue considerada germinada cuando formó una plántula normal.



**Figura 7.1.** A) Limpieza de semillas. B) Colocación de semillas en el equipo de rayos X estándar Faxitron modelo MS-20. C) Imagen de semillas en rayos X. D) Prueba de tetrazolio. E) Semilla teñida con tetrazolio, observada por estereoscopio electrónico. F) semillas en cajas de acrílico sobre papel filtro humedecidas con agua destilada para la prueba de germinación.

#### 7.4.4. Evaluación de semillas de *Cedreia odorata* con escarificación

Con el objetivo de evaluar los análisis de laboratorio, se realizó una segunda prueba de germinación en charolas (9x8x6 cm) con sustrato en un ambiente controlado. Se utilizaron 300 semillas de cada una de las 10 familias con un tratamiento de escarificación y el testigo. Para la escarificación se utilizó un bisturí previamente esterilizado con el cual se realizaron cortes longitudinales para romper la testa y el tegmen de la semilla y permitir el paso del agua de manera más rápida.

Se utilizó sustrato de turba mezcla 3 Sunshine® previamente esterilizado, el cual fue regado a capacidad de campo y colocado en las charolas en una capa de 3 cm de espesor. Las charolas fueron colocadas en una cámara de ambiente controlado, a una temperatura de  $25\pm 2$  °C y una humedad relativa de 55 %. Se realizaron riegos constantes con agua destilada. Después de la primera emergencia se realizaron conteos diarios, hasta el día 28. En cada charola se colocaron 20 semillas a un distanciamiento de un 1 cm entre semillas e hileras, a una profundidad de 0.5 cm. Se estableció del 2 al 5 de marzo de 2015.

Para las pruebas de germinación se registró el inicio de germinación en días y conteos diarios, y se determinó el porcentaje de germinación considerando sólo plántulas normales, Además se calculó la velocidad de germinación definida como la relación del número de semillas germinadas con el tiempo de germinación (Maguire, 1962). Además de acuerdo con Sosa *et al.* (2012) se calculó el tiempo medio para obtener el 50 % de semillas germinadas en días. De acuerdo a las normas de la ISTA (2005), el primer conteo se realizó el día 7 y el último fue a los 28 días.

#### **7.4.5. Diseño y Análisis experimental**

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2x10 (dos tratamientos de escarificación y diez familias) con 15 repeticiones, la unidad experimental consta de 20 semillas. Los datos no cumplieron con los supuestos de normalidad; así que previo al análisis de varianza las variables en porcentaje (Y) fueron transformadas con la función arcoseno de la raíz

cuadrada del valor original expresado en fracción decimal [ $T = \arcseno(\sqrt{Y})$ ]. Posteriormente, los valores promedio fueron re-transformados a las unidades originales, con la función [ $Y = 100 \text{ seno}^2(T)$ ]. Los análisis de varianza se realizaron con el programa estadístico SAS para computadora personal (SAS, 2004), con una comparación múltiple de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

De acuerdo con el diseño experimental, para el análisis se utilizó el modelo lineal siguiente (1):

$$Y_{ij} = \mu + F_i + E_j + FE_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde:  $Y_{ij}$  = variable respuesta del j-ésimo genotipo, con el k-ésimo tratamiento de escarificación;  $\mu$  = media general;  $F_i$  = efecto aleatorio del i-ésimo genotipo (diez familias);  $E_j$  = efecto aleatorio del j-ésimo tratamiento de escarificación (con escarificación y sin escarificación);  $FE_{ij}$  = efecto de la interacción entre el j-ésimo tratamiento de escarificación en el i-ésimo genotipo; y  $\varepsilon_{ij}$  = error aleatorio correspondiente a la observación  $Y_{ij}$ . Con este modelo se obtuvieron los estimadores de varianza y del error para cada característica de interés.

## 7.5. RESULTADOS

### 7.5.1. Calidad física y fisiológica de semillas de *C. odorata*

En promedio se obtuvo 74, 703 semillas por kilogramo, entre familias se determinó un mínimo de 58,303 y un máximo de 108,189 semillas, siendo un rango muy amplia entre las familias evaluadas (Cuadro 7.1). En el caso de pureza se tuvo un rango del 88 al 91 %, lo que representa un 10 % de basuras conformada por semillas incompletas y materia inerte. Entre las impurezas encontradas en los lotes de semillas estuvieron trozos de ramas, hojas, frutos y piedras.

**Cuadro 7.1.** Características físicas y fisiológicas de las semillas de diez familias de *Cedrela odorata* L.

Familia	Semillas por Kg <sup>-1</sup>	Pureza (%)	Contenido de humedad (%)	Viabilidad (%)	Germinación (% EE)
5	68212	90.77	6.333	100	85±5.16 cd
110	64963	87.28	6.362	100	94±9.52 a
1	69169	91.60	5.863	99	90±5.16 abc
26	71599	88.98	6.430	99	92±3.27 ab
39	58995	89.13	6.057	99	89±3.83abcd
6	77300	88.91	6.325	98	86±4.62 bcd
11	108189	91.03	6.224	98	91±8.87 ab
59	58303	88.13	5.937	98	86±2.31 bcd
99	75479	88.80	5.172	94	78±6.83 d
45	94827	88.24	6.830	92	88±6.53abcd
Promedio	<b>74703±4973</b>	<b>89.28±2.47</b>	<b>6.153±0.139</b>	<b>97.7</b>	<b>87.9±1.42</b>
				CV (%)	6.88

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

EE: error estándar, CV: coeficiente de variación.

El contenido de humedad de las semillas fue bajo para todas las familias. En promedio fue de 6.1 % de contenido de humedad. Aunque se obtuvo un mínimo de 5.1 %. La viabilidad se mantuvo por encima del 90 % a pesar del contenido de humedad tan bajo, indicando que las semillas se mantienen vivas aun en esas condiciones de humedad, por lo que la semilla cae en la categoría de subortodoxa según la clasificación de Bonner y Vozzo (1987). Las familias 5 y 110 presentaron el 100 % de viabilidad, mientras que las familias 45 y 99 una viabilidad menor al 95 % (Cuadro 7.1).

En la prueba de germinación hubo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre las familias de las semillas. La familia 110 fue la de mayor porcentaje de germinación con 94 %, y la familia 99 presentó el porcentaje menor de germinación (<80 %). Las demás familias tuvieron porcentajes de germinación mayores al 80 % y no se encontró relación del contenido de humedad y las pruebas de viabilidad y germinación.

Basado en la prueba de rayos X, no hubo diferencias significativas entre las familias en el porcentaje de semillas llenas, semillas vacías y semillas dañadas físicamente (Cuadro 7.2). Sin embargo, hay diferencias significativas para el porcentaje de semillas dañadas por insectos, siendo la familia 11 la que presentó el mayor daño con un 3 %. El 95.7 % de las semillas llenas presentaron estructuras internas desarrolladas.

**Cuadro 7.2.** Porcentaje y error estándar de semillas llenas, vacías, dañadas por insectos y con daños físicos de *Cedrela odorata* L. mediante la prueba de rayos X

Familia	Semillas llenas (%)	Semillas vacías (%)	Semillas dañadas por insectos (%)	Semillas dañadas físicamente (%)
1	98±2.31 a	0±0.00 a	0±0.00 a	2±2.31 a
110	98±2.31 a	0±0.00 a	0±0.00 a	2±2.31 a
6	97±1.89 a	2±2.31 a	0±0.00 a	1±2.00 a
26	97±3.83 a	0±0.00 a	0±0.00 a	3±3.83 a
39	96±3.27 a	1±2.00 a	0±0.00 a	3±2.00 a
5	95±3.83 a	0±0.00 a	0±0.00 a	5±3.83 a
45	95±2.00 a	0±0.00 a	2±2.31 ab	3±3.83 a
59	94±4.00 a	0±0.00 a	0±0.00 a	6±4.00 a
99	94±4.00 a	0±0.00 a	0±0.00 a	6±4.00 a
11	93±3.83 a	1±2.00 a	3±2.00 b	3±3.83 a
<b>Promedio</b>	<b>95.7±0.55</b>	<b>0.4±0.22</b>	<b>0.5±0.34</b>	<b>3.4±0.54</b>
CV (%)	3.38	2.88	1.93	9.72

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

CV: coeficiente de variación.

Con la prueba de rayos X se determinó que más del 95 % de las semillas se encontraron llenas. El daño físico fue el que más afectó las semillas, ya que al revisar las imágenes más del 3 % de las semillas se encontraron quebradas y sólo un 0.5 % el daño fue ocasionado por insectos. En el caso de semillas vacías fue la variable que obtuvo menor porcentaje.

### **7.5.2. Germinación de semillas de *C. odorata* con escarificación**

Se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los las familias y los tratamientos de escarificación para los porcentajes de germinación y en la interacción entre los factores. La germinación de las semillas con escarificación inicio en promedio tres días antes que las semillas sin escarificación. Las semillas con escarificación para lograr el 50 % de semillas germinadas tardaron 11.6 días en promedio, mientras que las semillas sin escarificación lo hicieron a los 14.3 días (Cuadro 7.3).

En la velocidad de germinación no hubo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en los tratamientos de escarificación, sin embargo si hay diferencias marcadas entre familias. Lo mismo sucede para el porcentaje de germinación. Ya que en el promedio de los tratamientos no presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). Sin embargo, la interacción familia por escarificación presento diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ).

En las familias 39, 110, 11, 99, 45, 6 y 1 fue significativamente mayor el porcentaje de germinación sin escarificación. Mientras que en las familias 5, 26 y 59 no se encontraron diferencias significativas en el efecto del genotipo en los porcentajes de germinación con los tratamientos de escarificación.

**Cuadro 7.3.** Porcentaje de germinación, velocidad de germinación y tiempo medio a 50% de germinación (T50%) e inicio de germinación de semillas de *Cedrela odorata* L.

Familia	Tratamiento	Inicio de germinación (días)	Germinación (% <sup>a</sup> , EE)	Velocidad germinativa (%)	T50% (días)
39	Sin	7	92.05±2.13 a	15.49	14.1
39	Escarificada	5	84.88±4.09 ab	21.67	9.6
110	Sin	7	85.33±4.13 ab	11.96	13.1
110	Escarificada	5	78.00±6.27 bc	14.43	10.0
5	Sin	7	83.85±4.69 ab	12.38	15.2
5	Escarificada	5	85.30±4.13 ab	13.79	16.1
26	Sin	8	85.03±4.08 ab	21.13	14.2
26	Escarificada	6	84.53±4.19 ab	26.43	11.9
59	Sin	8	84.10±4.46 ab	13.78	12.8
59	Escarificada	5	84.63±4.11 ab	19.31	11.2
11	Sin	10	84.28±4.18 ab	4.43	14.1
11	Escarificada	5	77.25±6.60 cd	5.16	11.0
99	Sin	9	68.65±6.27 cd	25.48	13.9
99	Escarificada	6	48.25±6.24 e	20.69	11.5
45	Sin	10	77.60±6.41 bc	9.90	12.8
45	Escarificada	5	37.6±6.41 ef	5.27	13.9
6	Sin	12	64.43±4.24 d	8.05	16.5
6	Escarificada	6	43.5±5.07 ef	8.14	9.8
1	Sin	9	44.35±4.28 ef	7.98	16.3
1	Escarificada	5	34.83±4.10 f	10.27	11.5
<b>Promedio</b>	<b>Escarificada</b>	<b>5.3±0.48 a</b>	<b>65.88±21.47 a</b>	<b>14.51±7.35 a</b>	<b>11.6±1.00 a</b>
	<b>Sin</b>	<b>8.7±1.64 b</b>	<b>76.97±14.20 a</b>	<b>13.05±6.35 a</b>	<b>14.3±1.33 b</b>
CV (%)		17.24	25.48	49.82	13.07

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

EE: error estándar, CV: coeficiente de variación, Sin: sin escarificación.

## 7.6. DISCUSIÓN

### 7.6.1. Calidad física y fisiológica de semillas de *C. odorata*

El contenido de humedad de *C. odorata* fue igual al logrado por Quinto *et al.* (2009), pero en ésta última investigación la germinación fue muy baja (58 %). Por lo que según García y Abdelnour (2013) la especie presenta semillas ortodoxas, ya que de acuerdo a Magnitskiy y Plaza (2007) las semillas ortodoxas toleran hasta un 5 % en el contenido de humedad, pero Bonner y Vozzo (1987) la clasifican como subortodoxa ya que no presenta viabilidad tan larga como las verdaderas ortodoxas incluso bajo refrigeración.

La alta viabilidad en semillas de las 10 familias fue superior al 90 % a un año de almacenamiento y coincide con lo encontrado por Quinto *et al.* (2001). De acuerdo con García y Abdelnour (2013) la viabilidad de ésta especie disminuye rápidamente en un mes cuando se almacena a 24 °C promedio, pero almacenada a 5 °C de temperatura y 7 % de contenido de humedad mantiene una viabilidad mayor al 50 % por dos años. Mientras que Pinna *et al.* (2014) menciona que puede haber cambios en los porcentajes de viabilidad de un año a otro según el desarrollo del embrión, lo que puede modificarse por factores ambientales como la temperatura y la disponibilidad de agua.

En la prueba de germinación se obtuvo una germinación de 87.9 %, lo cual proporciona estimaciones del potencial máximo de las diferentes familias para la producción de plántulas bajo condiciones ambientales favorables. Y es muy superior a lo encontrado por Quinto *et al.* (2009) en un 50 %. Además

menciona que la temperatura es importante en el proceso de germinación y debe ser lo más cercano a lo registrado en un ambiente tropical. Mencionan El-Kassaby y Edwards (1998) que la prueba de germinación puede resultar alta, ya que no se evalúa en condiciones de estrés como sucede al germinar en el bosque.

Las semillas de todas las familias presentaron más del 90 % de semillas llenas con sus estructuras internas completas, mientras que un 0.4 % presentó semillas vacías. Lo cual puede ser explicado por el manejo que recibe el huerto semillero, como son sus deshierbes y fertilización, lo que favoreció la madurez de las semillas, y que son árboles maduros de 21 años, cuya producción de polen es adecuada para lograr semilla de calidad. Además en el huerto semillero se tiene alta diversidad genética ya que se presentan familias de diversos orígenes geográficos del Estado de Veracruz. Lo que coincide con lo mencionado por Scatena *et al.* (2006) que el desarrollo de semillas está condicionado por factores ambientales, entre los que se incluye la producción de polen viable.

En cuanto a las semillas con daño físico puede ser explicado por el método de recolecta y el beneficio de semillas, de acuerdo con Mendizábal *et al.* (2012) la recolecta manual puede causar daños leves a las semillas. En el caso del daño por insectos, no fue importante, porque sólo el 0.5 % de las semillas fue dañada por *Hypsipyla grandella*.

### **7.6.2. Germinación de semillas de *C. odorata* con escarificación**

Las semillas con escarificación iniciaron el proceso de germinación en promedio tres días antes que las semillas sin escarificación (8.7) a 25 °C, Quinto *et al.* (2009), menciona que a los siete días inicia la germinación de *C. odorata* en ambiente controlado a 28 °C. Esto puede ser explicado por que según Wada y Reed (2011), la escarificación acelera el proceso de germinación ya que al realizar un corte a la testa, ésta ya no impide el paso de agua que inmediatamente hidratará el embrión para iniciar el proceso de germinación. Wang *et al.* (2015) menciona que la germinación comienza con la absorción de agua por la semilla (imbibición).

En los porcentaje de germinación no se encontraron diferencias significativas entre las semillas con escarificación (65.88 %) y sin escarificación (76.97 %). De acuerdo con Quinto *et al.* (2009) en semillas de *C. odorata* sometidas a inmersión en agua de coco de diferente maduración si encontró diferencias significativas en los porcentajes de germinación. Mientras que Navarro *et al.* (2008) al aplicar tratamientos de escarificación en dos especies de *Mammillaria* sp. no encontró diferencias significativas en los porcentajes de germinación entre tratamientos.

Sin embargo, Vilela y Ravetta (2001) menciona que para *Prosopis* L. todos los tratamientos de escarificación promovieron la germinación, excepto los tratamientos químico y térmico. Mientras que Ribeiro y Costa (2015) mencionan que el aumento de la germinación en semillas de *Myrsine parvifolia* A. con escarificación puede estar relacionado con la reducción de inhibidores

de la germinación presentes en la testa como el ácido abscísico (ABA). Pérez (2004) menciona que la escarificación total o parcial de la cubierta de la semilla en varias especies puede liberar inhibidores y suministrar oxígeno al embrión. Chan *et al.* (2012) menciona como suficiente el remojo en agua por 6 horas de semillas de *Cedrela odorata* para incrementar el porcentaje de germinación en un 15 %.

En los porcentajes de germinación se encontraron diferencias significativas en la interacción familia por tratamiento, lo cual es consistente con Navarro *et al.* (2008) que no encontraron diferencias entre tratamientos de escarificación pero si entre especies. La diferencia de porcentajes de germinación entre familias según Mamo *et al.* (2006) puede ser atribuible al factor genético como es el tamaño de la semilla.

Otro factor que influyó en la germinación pudo ser el contenido de humedad de las semillas. Quinto *et al.* (2009) con 8.3 % de contenido de humedad en semillas de *C. odorata* obtuvo un porcentaje de 21.3 % en promedio de germinación en todos sus tratamientos. Mientras que Sautu *et al.* (2006) en semillas de *C. odorata* con un contenido de humedad de 38.58 % obtuvo un 58 % de germinación con 12 meses de almacenamiento. Estos porcentajes son menores a los obtenidos en esta investigación con más del 65 % de germinación en los tratamientos. Aunque las familias 99 y 45 con el contenido de humedad menor (5.172 %) y mayor (6.830 %) respectivamente presentaron porcentajes de germinación menores al 50 %. Pero no se detectó relación

entre el contenido de humedad y los valores de viabilidad y germinación en este estudio.

En la velocidad de germinación no se presentaron diferencias significativas, sin embargo fue mejor la de escarificación. Navarro *et al* (2008), encontró diferencias significativas en la velocidad de germinación y fue mayor con el tratamiento de ácido sulfúrico. En semillas con escarificación se obtuvo en menor tiempo para lograr el 50 % de la germinación, esto puede ser explicado porque la germinación inició en menor tiempo en las semillas escarificadas.

## **7.7. CONCLUSIONES**

Las semillas de *Cedrela odorata* L. después de un año de almacenamiento (4 °C) presentaron buena calidad y no afectó la viabilidad ni la germinación. Las semillas de diez familias presentaron un contenido de humedad de 6.15 %, y una viabilidad del 97.7 % en promedio, por lo que se contó con semilla viva. En la prueba de germinación el 87.9 % de las semillas formaron plántulas normales. El tratamiento de escarificación impactó la velocidad de germinación, ya que las semillas con escarificación iniciaron la germinaron tres días antes que las semillas sin escarificación. No así la capacidad germinativa, aunque hubo familias que la capacidad germinativa se mejoró.

## 7.8. LITERATURA CITADA

- Baskin, J. M. and C. C. Baskin. 2004. Classification system for seed dormancy. *Seed Science Research* 14:1-16.
- Bonner, F. T. and J. A. Vozzo. Seed biology and technology of *Quercus*. Forest Service. United State Department of agriculture. New Orleans, Louisiana. 18 p.
- Chan Q., J. G., S. Ochoa G. y I. Pérez H. 2012. Germinación y sobrevivencia de especie arbóreas que crecen en suelos contaminados por hidrocarburos. *Teoría y Praxis* 12: 102-119.
- CONAFOR. 2015. Principales especies maderables establecidas en plantaciones forestales comerciales 2000-2014. Consultado en CONAFOR. Mayo de 2015. Obtenido de: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/43/6018Principales%20especies%20maderables%20establecidas%20en%20PFC%20por%20a%3b1o%20en%202000%20-%202014.pdf>
- El-Kassaby, Y. A. and D. G. W. Edwards. 1998. Genetic control of germination and the effects of accelerated aging in mountain hemlock seeds and its relevance to gene conservation. *Forest Ecology and Management* 112: 203-211.
- Enescu, V. 1991. The tetrazolium test of viability. In: A.G. Gordon, P. Gosling, and B.S.P. Wang (eds.). *Tree and Shrub Seed Handbook*. Zurich: International Seed Testing Association 9: 1-19.

- García R. T. y A. Abdelnour E. 2013. Crioconservación de ápices y semillas de cedro (*Cedrela odorata* L.) mediante las técnicas de vitrificación y deshidratación. *Agronomía Costarricense* 37(1): 113-126.
- González J., E. 1991. Recolección y germinación de semillas de 26 especies arbóreas del bosque húmedo tropical. *Revista Biología Tropical* 39(1): 47-51.
- ISTA. 2005. International Seed Testing Association. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. 243 p.
- Magnitskiy, S. V. y G. A. Plaza. 2007. Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana* 25(1): 96-103.
- Maguire, J. D. 1962. Speed of germination - aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. *Crop Science* 2: 176-177.
- Mamo, N., M. Mihretu, M. Fekadu, M. Tigabu, and D. Teketay. 2006. Variation in seed and germination characteristics among *Juniperus procera* populations in Ethiopia. *Forest Ecology and Management* 225: 320-327.
- Mendizábal H., L. C., J. Márquez R., J. Alba L., E. Ramírez G. y H. Cruz J. 2012. Potencial y eficiencia de producción de semillas de *Cedrela odorata* L. *Foresta Veracruzana* 14(2): 31-36.
- Navarro C., M. C., G. Cervantes O. y J. O. Lázaro C. 2008. Efecto de la escarificación de semillas en la germinación de dos especies de *Mammillaria*. *Zonas Áridas* 12(1): 97-105.
- Perez, S. C. J. G. A. 2004. Envoltórios. In: *Germinação: do básico ao aplicado*. Artmed, Porto Alegre, pp. 125–134.

- Pinna, M. S., E. Mattana, E. M. Cañadas, and G. Bacchetta. 2014. Effects of pre—treatments and temperature on seed viability and germination of *Juniperus macrocarpa* Sm. *Comptes Rendus Biologies* 337: 338-344.
- Quinto, L., P. A. Martínez H., L. Pimentel B. y D. A. Rodríguez T. 2009. Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles tropicales. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 15(1): 23-28.
- Ribeiro, J. N. S. and C. S. B. Costa. 2015. The effect of temperature regulation on seed germination of the tropical tree *Myrsine parvifolia* A. DC near its southern limit. *South African Journal of Botany* 98: 128-133.
- Salinas, A. R., A. M. Yoldjian, R. M. Craviotto, y V. Bisaro. 2001. Pruebas de vigor y calidad fisiológica de semillas de soja. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 36(2): 371-379.
- Sánchez M., V., J. G. Salazar G., J. J. Vargas H., J. López U. and J. Jasso M. 2003. Genetic parameters and response to selection for growth traits in *Cedrela odorata* L. *Revista Fitotécnica Mexicana* 26(1): 19-27.
- Sánchez M., V. y C. Velázquez E. 1998. Evaluación de dos insecticidas biológicos en el control de *Hypsiphylia grandella* (Zeller). Barrenador de brotes de las Meliaceas. *Ciencia Forestal en México* 23(83): 33-39.
- SAS Institute. (2004) SAS/STAT 9.1 Guide for Personal Computers. SAS Institute Inc. Cary, N.C. 378 p.
- Sautu, A., J. M. Baskin, C. C. Baskin, and R. Condit. 2006. Studies on the seed biology of 100 native species of trees in a seasonal moist tropical forest,

Panama, Central America. *Forest Ecology and Management* 234: 245-263.

Scatena, V. L., S. Segecin, and A. I. Coan. 2006. Seed morphology and post-seminal development of *Tillandsia* L. (Bromeliaceae) from the "Campus Gerais" Paraná, Southern Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49: 945-951.

Sosa L., D., J. L. Chávez S., D. Mondragón C., J. A. Estrada G. y P. Ramírez V. 2012. Viabilidad y germinación de semillas de seis especies de *Tillandsia* (Bromeliaceae) de Oaxaca, México. *Revista Fitotécnica Mexicana* 35(5): 37-42.

Vilela, A. E. and D. A. Ravetta. 2001. The effect of seed scarification and soil-media on germination, growth, storage, and survival of seedlings of five species of *Prosopis* L. (Mimosaceae). *Journal of Arid Environments* 48: 171-184.

Wada, S. and B. M. Reed. 2011. Optimized scarification protocols improve germination of diverse *Rubus* germplasm. *Scientia Horticulturae* 130: 660-664.

Wang, W. Q., S. J. Liu, S. Q. Song and I. M. Møller. 2015. Proteomics of seed development, desiccation tolerance, germination and vigor. *Plant Physiology and Biochemistry* 86: 1-15.

## CAPITULO VIII

### GERMINACIÓN *IN VITRO* DE SEMILLAS DE *Cedrela odorata* L.

#### 8.1 RESUMEN

La especie más importante para la industria forestal del país es *Cedrela odorata* L. Sin embargo, los problemas con plagas, la baja producción de semillas y la baja viabilidad durante el almacenamiento ponen en riesgo a la especie. Es necesario evaluar técnicas para la germinación *in vitro* para obtener material aséptico para generar protocolos para la propagación masiva de materiales selectos. Además se evaluó el efecto de la escarificación en semillas de nueve familias superiores de un huerto semillero sexual y su germinación en diez medios de cultivo. Se prepararon cinco medios: medio B5, agua destilada, WPM, SH y MS. De los cuales se preparó una réplica a lo que se les adicionó carbón activado para obtener diez medios. La escarificación de semillas fue el mejor tratamiento con un 52.8 % de germinación y presentó la menor contaminación. El medio MS más carbón activado fue donde se obtuvo la mayor germinación con 59.5 %. Se presentaron diferencias significativas entre familias para la germinación y contaminación. En las interacciones entre los factores, la escarificación de las semillas en el medio MS con carbón activado fue la mejor interacción para la germinación. La mejor germinación se encontró en tres familias usando el medio MS con carbón activado.

**Palabras clave:** propagación, carbón activado, multiplicación.

## ***IN VITRO* GERMINATION SEED *Cedrela odorata* L.**

### **8.2 ABSTRACT**

The most important forest industry species is *Cedrela odorata* L. However, problems with pests, low production and low seed viability during storage threaten the species. Techniques for *in vitro* germination for aseptic material to generate protocols for mass propagation of selected materials need to be developed. In addition, the effect of seed scarification on nine families of sexual germination from a seed orchard and ten culture media were tested. Five culture mediums were prepared: B5 medium, distilled water, WPM, SH and MS. A replica with added activated charcoal for the ten medium was prepared. Seed scarification was the best treatment with 52.8 % germination and showed the lowest contamination. MS medium with activated carbon had highest percentage of germination (59.5 %). Significant differences between families for germination and contamination occurred. In the interactions between factors, seed scarification on MS medium with activated carbon was the best interaction for germination. The best germination was found in three families using MS medium with activated charcoal.

**Keywords:** propagation, activated carbon, multiplication.

### 8.3 INTRODUCCIÓN

*Cedrela odorata* L. es una de las especie más atractivas por su rentabilidad económica (Ramírez *et al.*, 2008), lo que la convierte en la de mayor importancia comercial para la industria forestal de México (Quinto *et al.*, 2009). Actualmente se encuentra incluida en la lista de especies en riesgo sujeta a protección especial en la NOM. 059 (SEMARNAT, 2010), razón por la cual su conservación, propagación y uso sustentable cobra especial importancia (Muellner *et al.*, 2009).

Rodríguez y Díaz (2011) mencionan que los principales problemas que limitan el éxito de ésta especie son: la baja producción de semillas, la susceptibilidad al ataque de *Hypsipyla grandella* Zeller, la dispersión corta de sus semillas y la baja viabilidad durante el almacenamiento. *C. odorata* se propaga naturalmente por semillas (Magnitskiy y Plaza, 2007).

La cubierta seminal protege a la semilla de los factores ambientales adversos y puede inhibir la germinación al impedir la entrada de agua y oxígeno (Ribeiro y Costa, 2015). Para romper la latencia de tipo física, acelerar la germinación y lograr mayores porcentajes de germinación se utilizan técnicas de escarificación (Pérez, 2004; Wada y Reed, 2011).

Para algunas especies, la germinación *in vitro* es la única forma de originar plántulas normales (Damon *et al.*, 2004). Según Bueno *et al.* (2009) la germinación *in vitro* permite obtener material vegetal para el establecimiento de

protocolos de propagación masiva. Donde a partir de estos explantes se pueden generar plántulas sanas, libres de patógenos (Gutiérrez *et al.*, 2008). La importancia de realizar la germinación *in vitro* en *C. odorata* reside en que se utilizan los explantes estériles para probar niveles de auxinas para la realización de embriogénesis somática y organogénesis directa e indirecta, para generar los protocolos para la especie (Hartmann *et al.*, 2001).

La respuesta de las semillas a las condiciones *in vitro* son muy diferentes a la respuesta a las condiciones naturales (Damon *et al.*, 2004), por lo que es necesaria la evaluación de diferentes medios de cultivo para encontrar los requerimientos óptimos de nutrientes necesarios, particularmente para ciertos genotipos que han mostrado superioridad genotipo, como es el caso de materiales selectos en México, desarrollados por el INIFAP. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del medio de cultivo para la germinación *in vitro* de semillas de nueve familias de *C. odorata* a las que se les aplicó tratamientos de escarificación, para la generación de protocolos para la propagación masiva y la conservación de germoplasma selecto a corto y mediano plazo.

## **8.4 METODOS Y MATERIALES**

### **8.4.1. Origen de las semillas**

Se evaluaron semillas de nueve familias del Huerto Semillero de *Cedrela odorata* L. que se ubica dentro del Campo Experimental El Palmar (18° 32' L.N., 96° 47' L.W.; 180 msnm), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), que se localiza en el Municipio de

Tezonapa, en el Estado de Veracruz (Sánchez *et al.*, 2003). El clima en el sitio es cálido húmedo con lluvias en verano, con una precipitación media de 2,888 mm anuales, y temperatura media anual de 24.4 °C. Los suelos son de tipo Acrisol, profundos y de buen drenaje, poseen una textura de migajón arcillo-arenoso y pH de 4.8 (Sánchez y Velázquez, 1998).

Las semillas se recolectaron en marzo del 2014 de genotipos que se obtuvieron a partir de un ensayo de procedencias-progenie. Este experimento forma parte de una estrategia de mejoramiento genético de *Cedrela odorata* L. del INIFAP. Los tratamientos de desinfección y siembra de las semillas se realizaron en las instalaciones del laboratorio de cultivo *in vitro* del Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG) del INIFAP, en Tepatitlán de Morelos, Jalisco.

#### **8.4.2. Preparación de medios de cultivo**

Se seleccionaron cinco medios de cultivo, de uso más común para especies forestales; 1) agua destilada (AD) (Bueno *et al.*, 2009), 2) medio B5 (Gambor *et al.*, 1968), 3) medio Woody plant (WPM) (Smith y McCown, 1982), 4) medio Schenk y Hildebrand (SH) (1972) y 5) medio Murashigue y Skoog (MS) (1962). A los cinco medios anteriores se les adicionaron 9 g L<sup>-1</sup> de agar y 30 g L<sup>-1</sup> de sacarosa. Se preparó una réplica de estos cinco medios de cultivo a los cuales se les adicionó carbón activado (CA), para obtener diez medios de cultivo. El pH de los medios se niveló a 5.7 y mediante un despachador se depositaron 10 ml de medio a los tubos de ensayo, los cuales después fueron esterilizados.

#### **8.4.3. Tren de desinfección de semillas**

Las semillas fueron puestas con jabón en agua corriente por 10 minutos, se enjuagaron tres veces con agua destilada. Después se dejaron 60 minutos en Captan® (3 g. L<sup>-1</sup>), después se enjuagaron tres veces con agua destilada. Se trataron con etanol al 70 % durante un minuto, después se enjuagaron tres veces con agua destilada. Posteriormente se dejaron en inmersión durante 15 minutos en cloro al 30 %. Después ya en la campana de flujo laminar se les dieron tres enjuagues con agua estéril.

#### **8.4.4. Siembra de semillas en medios de cultivo**

La siembra se realizó en condiciones asépticas en la campana de flujo laminar. Para el tratamiento de escarificación, las semillas se disectaron en cajas petri con bisturí estériles. Se sembró una semilla en cada tubo de ensayo, después fueron sellados con parafilm y se etiquetaron. Posteriormente fueron colocados en la cámara de incubación a 24±2 °C con un fotoperiodo de 16 horas luz, usando lámparas de alógeno con una intensidad lumínica de 28.05 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> y 8 horas de oscuridad. La siembra se realizó entre el 8 y el 15 de abril del 2015, durante un mes se realizaron conteos y se determinó el porcentaje de semillas germinadas y porcentaje de contaminación.

#### **8.4.5. Análisis de datos**

Se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2x10x9 (dos tratamientos de escarificación, 10 medios de cultivo y nueve familias) con 10 repeticiones. Al analizar los datos estos no cumplieron con los supuestos de normalidad. Previo al análisis de varianza las variables en porcentaje (Y)

fueron transformadas con la función arcoseno de la raíz cuadrada del valor original expresado en fracción decimal [ $T = \arcseno(\sqrt{Y})$ ]. Posteriormente los valores promedio fueron re-transformados a las unidades originales, con la función [ $Y = 100 \text{ seno}^2(T)$ ]. Se realizó una comparación múltiple de medias de Tuckey ( $p \leq 0.05$ ); estos análisis se realizaron con el programa estadístico SAS para computadora personal (SAS, 2004).

De acuerdo con el diseño experimental, para el análisis se utilizó el modelo lineal siguiente (1):

$$Y_{ijkl} = \mu + M_i + F_j + E_k + MF_{ij} + ME_{ik} + FE_{jk} + MFE_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:  $Y_{ijkl}$  = variable respuesta del j-ésimo genotipo, con el k-ésimo tratamiento de escarificación, en el i-ésimo medio de cultivo;  $\mu$  = media general;  $M_i$  = efecto aleatorio del i-ésimo medio de cultivo (diez medios);  $F_j$  = efecto aleatorio del j-ésimo genotipo (nueve familias);  $E_k$  = efecto aleatorio del k-ésimo tratamiento de escarificación (con escarificación y sin escarificación);  $MF_{ij}$  = efecto de la interacción entre el j-ésimo genotipo en el i-ésimo medio de cultivo;  $ME_{ik}$  = efecto de la interacción entre el k-ésimo tratamiento de escarificación en el i-ésimo medio de cultivo;  $FE_{jk}$  = efecto de la interacción entre el k-ésimo tratamiento de escarificación en el j-ésimo genotipo;  $MFE_{ijk}$  = efecto de la interacción entre el k-ésimo tratamiento de escarificación en el j-ésimo genotipo en el i-ésimo medio de cultivo y  $\varepsilon_{ijkl}$  = error aleatorio correspondiente a la observación  $Y_{ijkl}$ . Con este modelo se obtuvieron los estimadores de varianza y del error para cada característica de interés.

## 8.5 RESULTADOS

El efecto del tratamiento de escarificación en semillas, el medio de cultivo usado y el origen genético (familias) de las semillas resultaron significativos ( $p \leq 0.05$ ) para la germinación y contaminación de semillas germinadas *in vitro*, pero sus interacciones no fueron significativas, solo en el caso del tratamiento de escarificación y el medio de cultivo (Cuadro 8.1).

**Cuadro 8.1.** Valor de *P* del análisis de varianza para las variables evaluadas en la germinación *in vitro* de semillas de *Cedrela odorata* L.

Fuente de variación	Germinación	Contaminación
Escarificación	0.0040**	0.0029**
Medio	0.0397**	0.1492
Familia	0.0001**	0.0001**
Escarificación*Medio	0.0001**	0.0001**
Escarificación*Familia	0.3620	0.6463
Familia*Medio	0.9997	0.9751
Escarificación*Medio*Familia	0.9999	0.9998

\*\* Con diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

### 8.5.1. Efecto del tratamiento de escarificación

El tratamiento de escarificación tuvo un efecto significativo en las semillas germinadas y en la contaminación ( $p \leq 0.05$ ). La escarificación en semillas de *C. odorata* L. es el mejor tratamiento para lograr una germinación de casi 53 %, siendo superior en un 9 % al tratamiento testigo. Mientras que las semillas sin

escarificación se contaminaron más y su porcentaje de germinación fue inferior al 45 % (Cuadro 8.2).

**Cuadro 8.2.** Valores medio y error estándar del tratamiento de escarificación en los porcentajes de semillas *Cedrela odorata* L. germinadas y contaminadas.

Escarificación	Semillas (%)	
	Germinadas	Contaminadas
1	52.85 ± 2.47 a	20.4 ± 1.65 a
0	43.20 ± 2.60 b	26.4 ± 2.06 b
<b>Promedio</b>	<b>48.02 ± 2.51</b>	<b>23.40 ± 1.92</b>
CV (%)	5.5	6.2
Valor de F	8.54	9.12

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

1: Semillas con escarificación y 0: Semillas sin escarificación, CV: Coeficiente de variación.

### 8.5.2. Efecto del medio de cultivo

El medio de cultivo usado en la germinación *in vitro* tuvo un efecto significativo en los porcentajes de germinación ( $p \leq 0.05$ ). El medio de cultivo MS más carbón activado usado para germinar semillas de *C. odorata in vitro* fue el mejor tratamiento para lograr la mayor germinación, siendo superior a los tratamiento testigo. Mientras que los medios de cultivo usados en la germinación de las semillas no tuvieron efectos significativos en los

porcentajes de contaminación. Sin embargo, el medio MS más carbón activado presentó el menor porcentaje de contaminación (Cuadro 8.3).

**Cuadro 8.3.** Valores medio y error estándar de los medios de cultivo en los porcentajes de semillas de *Cedrela odorata* L. germinadas y contaminadas.

Medio	Semillas (%)	
	Germinadas	Contaminadas
MS + CA	59.5 ± 2.11 a	17.3 ± 6.84 a
WPM + CA	54.4 ± 2.20 ab	25.1 ± 1.65 a
MS	51.6 ± 2.68 ab	19.6 ± 2.01 a
B5 + CA	51.6 ± 2.53 ab	25.1 ± 2.12 a
AD +CA	51.1 ± 2.70 ab	24.5 ± 1.92 a
AD	47.2 ± 2.30 b	22.8 ± 1.78 a
SH + CA	45.5 ± 2.66 bc	20.7 ± 1.76 a
SH	45.0 ± 2.04 bc	22.3 ± 1.44 a
WPM	41.6 ± 2.48 b c	31.2 ± 5.40 a
B5	32.7 ± 2.63 d	25.7 ± 1.85 a
<b>Promedio</b>	<b>48.02 ± 2,52</b>	<b>23.43 ± 2.48</b>
CV (%)	8.4	2.6
Valor de F	2.02	1.51

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

MS: Murashigue y Skoog, WPM: Medio Woody Plant, B5: Medio B5 o Gambor, AD: Agua destilada, SH: Medio Schenk y Hildebrand, CA: Carbón activado, CV: Coeficiente de variación.

### 8.5.3. Efecto de la familia

El origen genético conocido de las semillas en la germinación *in vitro*, tuvo un efecto significativo en los porcentajes de germinación y contaminación ( $p \leq 0.05$ ). Las familias 1, 6 y 39 de semillas de *C. odorata* usadas en la germinación *in vitro*, fueron las de mayor germinación promediando los demás factores. Mientras que las semillas de la familia 59 presentó los menores porcentajes de contaminación (Cuadro 8.4).

**Cuadro 8.4.** Valores medio y error estándar del origen genético de las semillas de *Cedrela odorata* L en la germinación *in vitro*.

Familias	Semillas (%)	
	Germinadas	Contaminadas
1	66.5 ± 3.23 a	14.0 ± 3.24 ab
6	62.5 ± 2.87 a	13.5 ± 3.17 ab
39	61.2 ± 2.39 a	21.0 ± 2.35 ab
5	57.5 ± 2.21ab	17.5 ± 2.78 ab
59	47.5 ± 2.61 abc	4.0 ± 2.16 a
99	46.5 ± 2.43 abc	21.0 ± 2.13 ab
45	38.0 ± 3.85 bc	33.5 ± 3.79 c
26	36.5 ± 2.97 c	36.5 ± 3.18 c
110	16.0 ± 3.24 d	49.0 ± 4.21 d
<b>Promedio</b>	<b>48.02 ± 2.51</b>	<b>23.33 ± 2.37</b>
CV (%)	9.7	8.4
Valor de F	11.96	21.64

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

CV: Coeficiente de variación.

#### **8.5.4. Efecto de la interacción entre factores**

En la interacción de los factores (cuadro 1) en la germinación *in vitro* se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) para la interacción del tratamiento de escarificación y medio de cultivo. Las semillas de *C. odorata* con escarificación puestas en el medio de cultivo MS más carbón activado fueron la mejor interacción para lograr una mayor germinación *in vitro*. A la vez que ésta misma interacción presentó el menor porcentaje de contaminación.

### **8.6. DISCUSIÓN**

#### **8.6.1. Efecto del tratamiento de escarificación**

Los resultados indicaron que escarificar las semillas de *C. odorata* es el mejor tratamiento para obtener la mejor germinación *in vitro*. Esto puede ser explicado por que según Wada y Reed (2011) la escarificación permite el paso de agua que inmediatamente hidratará el embrión, iniciando el proceso de germinación. Lo cual coincide con Vilela y Ravetta (2001) que mencionan que todos los tratamientos de escarificación promovieron la germinación en *Prosopis* L. Mientras que Ribeiro y Costa (2015) encontraron que la escarificación aumento los porcentajes de germinación en semillas de *Myrsine parvifolia* A.

Chan *et al.* (2012) menciona que la técnica de remojo en agua por 6 horas de semillas de *Cedrela odorata* L. incrementa el porcentaje de germinación en un 15%.

### **8.6.2. Efecto del medio de cultivo**

Los resultados indicaron que el medio MS más carbón activado fue el que presentó la mayor germinación de semillas y la menor contaminación. Para Flores *et al.* (2011) esto puede deberse a que el medio MS presenta altos contenidos de nitrógeno y potasio que seguramente ayudaron a la germinación, ya que según Mitra (1987) durante la germinación la mejor fuente de nitrógeno es el nitrato de amonio. Además Flores *et al.* (2011) menciona que el carbón activado fomenta una mayor aireación, además de establecer un medio oscuro que propicia el desarrollo de las raíces y absorbe sustancias inhibitoras indeseables como el etileno o los pigmentos tóxicos.

Las especies forestales tienen diferentes necesidades de nutrientes para su germinación y desarrollo, por lo que es necesario evaluar el medio de cultivo más adecuado para cada una de ellas. Salazar *et al.* (2012) menciona que el medio MS es el más utilizado con éxito en muchas especies. Sin embargo, Rodríguez *et al.* (2014) menciona que por la presencia de sales en el medio MS, en varias especies provoca la disminución del vigor y una baja germinación debido a efectos osmóticos y tóxicos. Un medio rico en sales disminuye el potencial hídrico, lo que provoca una menor disponibilidad de agua para las semillas. Cadenas y Villegas (2012) señalan que el medio MS presenta el potencial osmótico más negativo, lo que dificulta la entrada de agua a las semillas. Mientras que Righavendra *et al.* (2010) señala que el estrés osmótico potencia la síntesis de ácido abscísico (ABA), que es uno de los causantes de la latencia en semillas.

### **8.6.3. Efecto de la familia**

En el estudio se encontraron diferencias entre la respuesta de las familias de semillas de *C. odorata* a la germinación *in vitro*. Según Uribe *et al.* (2008) puede ser explicado por la interacción del genotipo con la disponibilidad de nutrientes cuya proporción y cantidad varían de acuerdo a la fisiología del genotipo en particular. Coincide con lo encontrado por Marín *et al.* (2009) en las respuestas *in vitro* que variaron de un clon a otro en yuca (*Manihot esculenta* Crantz), donde hay un efecto del genotipo en las condiciones *in vitro*. Además que Marini *et al.* (2010) menciona que para la germinación *in vitro* de granos de polen de *Cucurbita máxima* Duchesne está determinada por la composición genética. Mientras que Navarro *et al.* (2008) en la germinación de semillas de *Mammillaria* no encontró diferencias entre tratamientos de escarificación pero si entre los genotipos.

### **8.6.4. Efecto de la interacción entre factores**

El tratamiento de escarificación y el medio de cultivo MS más carbón activado fueron la mejor combinación de tratamientos para la germinación *in vitro* de semillas de *C. odorata*. Lo cual puede ser explicado por que al realizar un corte a la testa, ya no se impide el paso de agua y comienza la absorción por el embrión. Con lo que se resuelven los problemas del potencial osmótico negativo del medio MS, debido a la presencia de sales. Además si al medio se le adiciona carbón activado el embrión de la semilla estará hidratado y con buena aireación, que al estar en contacto con nitrógeno y potasio del medio, es probable que se potencie la germinación.

## 8.7. CONCLUSIONES

La escarificación de las semillas de *C. odorata* puestas a germinar en el medio MS con carbón activado, fue el tratamiento más efectivo con los más altos porcentajes de germinación. La técnica de escarificación en la germinación *in vitro* con el medio MS con carbón activado es una opción viable para obtener material vegetal aséptico para generar protocolos para la propagación masiva de la especie.

## 8.8. LITERATURA CITADA

- Bueno, M., C. Alzugaray, G. Giubileo, C. Severin, y N. Carnevale. 2009. Evaluación de la calidad fisiológica de semillas de *Maytenus vitis-idaea* cultivadas *in vitro*. *Bosque* 30(3): 146-150.
- Cárdenas L., M. A. y A. Villegas M. 2002. Potencial osmótico del medio de cultivo con diferentes componentes para la propagación *in vitro*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(2): 213-217.
- Chan Q., J. G., S. Ochoa G. y I. Pérez H. 2012. Germinación y sobrevivencia de especie arbóreas que crecen en suelos contaminados por hidrocarburos. *Teoría y Praxis* 12: 102-119.
- Damon, A., E. Aguilar G., L. Rivera, y V. Nikolaeva. 2004. Germinación *in vitro* de semillas inmaduras de tres especies de orquídeas de la región del Soconusco, Chiapas, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 10(2): 195-203.

- Flores E., G., I. Gil V., M. T. Colinas L. y M. Mata R. 2011. Propagación *in vitro* de la orquídea *Brassia verrucosa* Bateman Ex.Lindl. Revista Chapingo Serie Horticultura 17(1): 5-8.
- Gamborg, O. L., R. A. Miller, and K. Ojima. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Experimental Cell Research 50(1): 151-158.
- Gutierrez N., F., A. G. Ravelo, and R. Zarate. 2008. Seed germination and *in vitro* propagation of *Maytenus canariensis* through regeneration of adventitious shoots from axillary and apical buds. Biologia Plantarum 52(1): 173-176.
- ISTA. 2005. International Seed Testing Association. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. 243 p.
- Magnitskiy, S. V. y G. A. Plaza. 2007. Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. Agronomía Colombiana 25(1): 96-103.
- Mamo, N., M. Mihretu, M. Fekadu, M. Tigabu, and D. Teketay. 2006. Variation in seed and germination characteristics among *Juniperus procera* populations in Ethiopia. Forest Ecology and Management 225: 320-327.
- Marín, A., J. G. Albarrán, F. Fuenmayor, y D. Perdomo. 2009. Evaluación del efecto de los reguladores de crecimiento en la regeneración *in vitro* de cinco cultivares élites de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). UDO Agrícola 9(3): 556-562.

- Marini, G. V., R. O. Arenas y L. S. Togno. 2010. Efecto de los medios de cultivo sobre la germinación *in vitro* de granos de polen en poblaciones de *Cucurbita máxima*. Horticultura Argentina 29(70): 18-21.
- Mitra, G. C. 1987. Some aspects of asymbiotic nutrition of orchid's embryos. Journal of the Orchid Society of India 1(1-2): 91-103.
- Muellner, A. N., T. D. Pennington, and M. W. Chase. 2009. Molecular phylogenetics of Neotropical *Cedreleae* (mahogany family, Meliaceae) based on nuclear and plastid DNA sequences reveal multiple origins of "*Cedrela odorata*". Molecular Phylogenetics and Evolution 52: 461-469.
- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology 15: 473-497.
- Navarro C., M. C., G. Cervantes O. y J. O. Lázaro C. 2008. Efecto de la escarificación de semillas en la germinación de dos especies de *Mammillaria*. Zonas Aridas 12(1): 97-105.
- Perez, S. C. J. G. A. 2004. Envoltórios. In: Germinação: do básico ao aplicado. Artmed, Porto Alegre, pp. 125-134.
- Quinto, L.; P. A. Martínez H.; L. Pimentel B. y D. A. Rodríguez T. 2009. Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles tropicales. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 15(1): 23-28.
- Raghavendra, A., V. Gonugunta, A. Christmann, and E. Grill. 2010. ABA perception and signalling. Trends in Plant Science 15(7): 395-401.

- Ramírez G., C., G. Vera C., F. Carrillo A. y O. S. Magaña T. 2008. El cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) como alternativa de reconversión en terrenos abandonados por la agricultura comercial en el Sur de Tamaulipas. *Agricultura Técnica en México* 34(2): 243-256.
- Ribeiro, J. N. S. and C. S. B. Costa. 2015. The effect of temperatura regulation on seed germination of the tropical tree *Myrsine parvifolia* A. DC near its southern limit. *South African Journal of Botany* 98: 128-133.
- Rodríguez, M., M. Chacón y R. Carrillo. 2014. Efecto de la concentración y de los componentes del medio de cultivo MS sobre la germinación *in vitro* de *Ugni molinae*. *Bosques* 35(1): 119-122.
- Rodríguez R., L. y A. Díaz R. 2011. Introducción a la embriogénesis somática en cedro (*Cedrela odorata* L.). *Cuba Tabaco* 12(1): 8-15.
- Ruiz G., R.; J. J. Vargas H.; V. M. Cetina A. y A. Villegas M. 2005. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28(4): 319-326.
- Sánchez M. V.; J. G. Salazar G.; J. J. Vargas H.; J. López U. and J. Jasso M. 2003. Genetic parameters and response to selection for growth traits in *Cedrela odorata* L. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26(1): 19-27.
- Sánchez M., V. y C. Velázquez E. 1998. Evaluación de dos insecticidas biológicos en el control de *Hypsiphylia grandella* (Zeller). Barrenador de brotes de las Meliaceas. *Ciencia Forestal en México* 23(83): 33-39.

- Salazar M., S. A. y G. Orlando C. 2012. Evaluación del efecto de dos suplementos orgánicos en la germinación *in vitro* de orquídeas nativas de la provincia de Pamplona, Colombia. Revista Colombiana de Biotecnología 14(1): 53-59.
- SAS Institute. (2004) SAS/STAT 9.1 Guide for Personal Computers. SAS Institute Inc. Cary, N.C. 378 p.
- Schenk, R. U. and A. C. Hildebrandt. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Canadian Journal of Botany 50(1): 199-204.
- SEMARNAT. 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental -Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario oficial. p. 67.
- Smith, M. A. L. and McCown, B. H. 1982. A comparison of source tissue for protoplast isolation from three woody plant species. Plant Science Letters 28: 149-156.
- Uribe, M. E., C. Delaveau, M. Garcés, y R. Escobar. 2008. Efecto de asepsia y fitohormonas en el establecimiento *in vitro* de *Berberidopsis corallina*, a partir de segmentos nodales. Bosque 29(1): 58-64.
- Vilela, A. E. and D. A. Ravetta. 2001. The effect of seed scarification and soil-media on germination, growth, storage, and survival of seedlings of five species of *Prosopis L.* (Mimosaceae). Journal of Arid Environments 48: 171-184.

Wada, S. and B. M. Reed. 2011. Optimized scarification protocols improve germination of diverse *Rubus* germplasm. *Scientia Horticulturae* 130: 660-664.

## CAPITULO IX

### CONCLUSIONES GENERALES

- ✓ La respuesta al ataque de *Hypsipyla grandella* tuvo un moderado control genético lo que justifica que ésta variable se incorpore al proceso de selección genética. Con una intensidad de selección del 10 %, con los mejores clones en la característica de volumen se tiene una ganancia genética de 350.2 % y en la respuesta al ataque de *H. grandella* una ganancia genética del 24.1 %.
  
- ✓ El acodo en contenedor de *C. odorata* tiene mayor éxito de ser enraizado con el anillado completo. La aplicación exógena de AIB, amplifica la respuesta en producción y morfología de raíz del acodo en contenedor. Eliminar el portainjerto mediante la técnica de acodo en contenedor en *C. odorata* es posible.
  
- ✓ *Cedrela odorata* L. después de 20 semanas utilizando estacas juveniles se logró un enraizamiento general del 52.7 %. En la interacción de los factores no se encontraron diferencias significativas. Sin embargo, el uso de estacas de tipo apical, con 1,500 ppm de AIB puestas a enraizar en agrolita fue la mejor combinación con 90 %.

- ✓ El clon 14 generó el mayor porcentaje de enraizamiento (68.7 %) de acodos aéreos, siendo superior en más del 30 % y presentó un 20 % más de longitud en raíces de segundo orden, que lo observado en el clon 15. En la interacción del clon 14 y la aplicación de 1,500 ppm de AIB se obtuvo el mejor enraizamiento (95 %), además de favorecer la mayor longitud de raíces de segundo orden, siendo superior en un 41 %.
  
- ✓ Para la fase de multiplicación el medio MS adicionado con 1 ml L<sup>-1</sup> de BA y 0.1 ml L<sup>-1</sup> de ANA fue significativamente superior en la supervivencia (100 %), mientras que la elongación de los brotes el uso del medio MS adicionado con 4 ml L<sup>-1</sup> de BA y 0.4 ml L<sup>-1</sup> de ANA fue significativamente superior. En la fase de enraizamiento el medio MS adicionado con 0.1 ml L<sup>-1</sup> de AIB y 0.1 ml L<sup>-1</sup> de ANA presentó la mayor supervivencia y fue significativamente superior en la generación de raíz en un 12 %.
  
- ✓ Semillas de diez familias de *Cedrela odorata* L. presentaron un contenido de humedad de 6.153 %, y una viabilidad del 97.7 % en promedio, por lo que se contó con semilla viva. En la prueba de germinación el 87.9 % de las semillas formaron plántulas normales.
  
- ✓ La escarificación de las semillas de *C. odorata* puestas a germinar en el medio MS con carbón activado, fue el tratamiento más efectivo con los más altos porcentajes de germinación.