



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

PROPAGACIÓN *in vitro* Y CONVENCIONAL DE TRES ESPECIES DE BAMBÚ

NOÉ LÁRRAGA SÁNCHEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA.

2011



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ

CAMPUS-43-2-03 ANEXO

**CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR
Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN**

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, el que suscribe, **Noé Lárraga Sánchez**, alumno de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección del Profesor Dr. **Nicolás Gutiérrez Rangel**, por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **Propagación *in vitro* y convencional de tres especies de bambú** y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, el Consejero o Director de Tesis y el que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla 30 de junio de 2011.

Firma

Vd. Go. Profesor Consejero o Director de Tesis

La presente tesis intitulada: **Propagación *in vitro* y convencional de tres especies de bambú;** realizada por el alumno: **Noé Lárraga Sánchez;** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS

ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL.

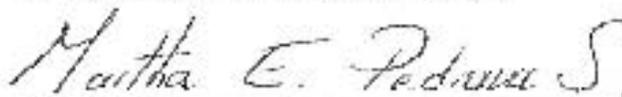
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO:



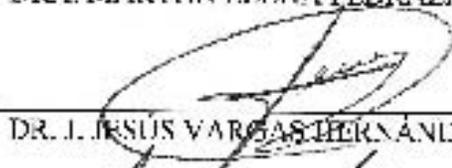
DR. NICOLÁS GUTIÉRREZ RANGEL

ASESOR:



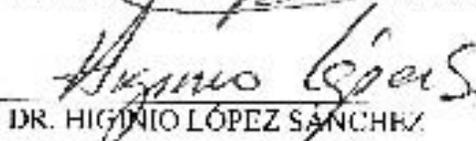
DRA. MARTHA ELENA PEDRAZA SANTOS

ASESOR:



DR. J. JESÚS VARGAS HERNÁNDEZ

ASESOR:



DR. HIGINIO LÓPEZ SÁNCHEZ

Puebla, Puebla, México, 30 de junio de 2011

PROPAGACIÓN *in vitro* Y CONVENCIONAL DE TRES ESPECIES DE BAMBÚ

Noé Lárraga Sánchez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2011

RESUMEN

Las condiciones fisiográficas y climáticas de México son apropiadas para la propagación y producción de bambú en todo el país. Sin embargo, su aprovechamiento comercial tiene dificultades porque los métodos comunes de propagación son lentos o poco viables. La propagación por semilla se descarta porque la mayoría de las especies de bambú tienen periodos juveniles de hasta 70 años, su floración es impredecible y su semilla recalcitrante. En cuanto a la propagación vegetativa, no existen suficientes centros de producción de plántula de buena calidad y en las cantidades requeridas. Sólo en Puebla se requieren al menos 20 000 ha para producir 1 000 t diarias de papel. Por lo anterior, es necesario desarrollar metodologías de propagación que permitan satisfacer las demandas actuales y futuras. En ese sentido, se realizaron dos estudios: uno para dar respuesta a la problemática de la desinfección de explantes en la fase de establecimiento del cultivo *in vitro* y otro para desarrollar una metodología eficiente de multiplicación del bambú en condiciones de vivero, al alcance de todo tipo de productores. En el primer trabajo se lograron resultados sobre la desinfección de explantes, se identificaron los hongos contaminantes que limitan el establecimiento del cultivo *in vitro* de *Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii* y *Bambusa vulgaris* y los fungicidas más efectivos para su control. En el otro estudio se determinaron los mejores métodos de propagación para cada especie de bambú y el sustrato más adecuado para realizarla.

Palabras clave: Sustratos, hongos, *Guadua*, *Bambusa*, Mixteca Poblana.

CONVENTIONAL AND *in vitro* PROPAGATION OF THREE SPECIES OF BAMBOO

Noé Lárraga Sánchez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2011

ABSTRACT

The physiographic and climatic conditions of Mexico are suitable for the propagation and production of bamboo in the country. However, their commercial use has some difficulty because the common propagation methods are slow and impractical. Propagation by seed is discarded because most of the bamboo species have young periods of up to 70 years; their flowering is unpredictable and its seed recalcitrant. As vegetative propagation goes, there are insufficient facilities to generate good quality seedlings and in the required quantities. For instance, in Puebla at least 20,000 ha are required to produce 1,000 tons of paper daily. Therefore, it is necessary to develop methods of propagation that would satisfy the current and future demands. With this said, two studies were conducted: one to address the problem of disinfection of explants in the *in vitro* culture establishment phase and another to develop an efficient methodology multiplication of bamboo in nursery conditions, available to all types of producers. In the first study results were achieved on disinfection of explants, on identification of fungal contaminants that limit the establishment of *in vitro* culture of *Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii*, and *Bambusa vulgaris* and the most effective fungicides for its control. In the other study the best methods of propagation for each species of bamboo and the substrate most suitable to do it were determined.

Keywords: substrates, fungi, *Guadua*, *Bambusa*, Mixteca Poblana

AGRADECIMIENTOS

A la Coordinación Sectorial de Desarrollo Académico entidad de la Subsecretaría de Educación Media Superior (CoSDAc) por su programa de formación docente de la Educación Media Superior y los programas para el Desarrollo Profesional del Personal Académico y Directivo, mediante la cual se proporcionó el financiamiento para la realización de mi Maestría en Ciencias y el proyecto de investigación.

A la Dirección General de Educación Tecnológica Agropecuaria y a la Subdirección de Enlace Operativo en el Estado de Puebla, por darme la oportunidad de realizar la Maestría en Ciencias.

Al Colegio de Postgraduados, que a través del Programa en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional, y de su planta académica, me facilitó todo lo necesario para que fuera posible mi formación de postgrado a nivel de Maestría.

A la Línea Prioritaria de Investigación número 6: Conservación y Mejoramiento de Recursos Genéticos, por haberme dado la oportunidad de complementar mi formación y desarrollar mi investigación con ese enfoque.

Al Dr. Nicolás Gutiérrez Rangel, distinguido y fino amigo, un agradecimiento muy sincero por haberme conducido durante todo el trabajo de investigación, por su entrega, disponibilidad, por su amistad, desmedida paciencia, y por su gran valor humano.

Un agradecimiento es poco para la Dra. Martha E. Pedraza Santos. Quiero reiterarle mi reconocimiento por su confianza y el haberme dado la oportunidad de aprender la técnica de cultivo de tejidos vegetales, por facilitarme las instalaciones de su laboratorio, el apoyo de sus alumnos para la realización de mi trabajo de investigación y ofrecerme parte de su tiempo muy valioso en su quehacer educativo, y finalmente su gran amistad.

Un especial reconocimiento al Dr. J. Jesús Vargas Hernández, por su valiosa participación en la conducción del trabajo de campo y la parte estadística de la investigación.

Quiero agradecer al Dr. Higinio López Sánchez, por su apoyo desinteresado, sus consejos y comentarios durante el desarrollo de la investigación, que fueron de gran valía para mi formación a nivel Postgrado.

Al Ing. Héctor René Becerril Toral, Subdirector de Coordinación de Enlace Operativo en el Estado de Puebla, por las facilidades otorgadas para la realización del Postgrado.

Al Dr. José Arturo Méndez Espinoza y al Dr. Antonio Macías López, por su contribución y el apoyo brindado para elaboración de esta Tesis.

A la M.C. Zaida Crispín del Río, por su apoyo en los primeros experimentos y las facilidades otorgadas para utilizar el laboratorio de biotecnología del Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala.

A Ricardo López Ortega, estudiante de la Universidad Autónoma Chapingo, por la traducción al inglés de los tres resúmenes de la tesis.

A mis familiares, amigas y amigos, que de alguna manera han influido en mi formación de Postgrado y de quienes involuntariamente omití su nombre: quiero expresarles mi mayor agradecimiento.

DEDICATORIAS

A los mexicanos que no han tenido la oportunidad de estudiar.

Además, y muy especialmente a:

A mi madre.

A mi mujer, mi hija y mi hijo.

A mi hermana y mis hermanos.

A mis amigas y amigos.

Les agradezco infinitamente su apoyo para el logro de un grado más de instrucción.

En repetidas ocasiones su apoyo me ha sido de mucha utilidad porque me impulsan para

probar una y otra vez mi capacidad para hacer las cosas.

Noé

CONTENIDO

RESUMEN GENERAL.....	iii
GENERAL ABSTRACT.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIAS.....	vii
CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO I. ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO <i>in vitro</i> DE BAMBÚ, IDENTIFICACIÓN Y CONTROL QUÍMICO DE HONGOS CONTAMINANTES.....	4
RESUMEN	4
ABSTRACT.....	5
INTRODUCCIÓN	6
MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
Establecimiento del cultivo aséptico	8
Identificación de los agentes causales asociados con la contaminación <i>in vitro</i>	10
Bioensayo con fungicidas para el control químico <i>in vitro</i> de los agentes contaminantes	10
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	11
Establecimiento del cultivo aséptico	11
Identificación de los agentes causales de la contaminación en la fase de establecimiento del cultivo <i>in vitro</i> de bambú.....	17
Bioensayo para el control químico de los agentes contaminantes.....	18
Crecimiento de <i>Alternaria</i> sp.	19
Crecimiento de <i>Fusarium roseum</i>	20
Crecimiento de <i>Fusarium solani</i>	21
CONCLUSIONES	22
CAPÍTULO II. PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE TRES ESPECIES DE BAMBÚ	24
RESUMEN	24
ABSTRACT.....	25

INTRODUCCIÓN	26
MATERIALES Y MÉTODOS	29
Localización del sitio experimental	29
Factores de estudio y diseño experimental	29
Establecimiento y manejo del experimento	29
Características de las especies utilizadas	30
Características y preparación de los sustratos	31
Variables evaluadas	32
Análisis estadístico	33
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
Porcentaje de supervivencia	34
Número de hijuelos	36
Número de hojas del primer hijuelo	37
Altura y diámetro del primer hijuelo	38
Número de raíces del primer hijuelo	39
Longitud de la raíz principal del primer hijuelo	40
CONCLUSIONES	40
CAPÍTULO III. DISCUSIÓN GENERAL	42
CAPÍTULO IV. PROPUESTA DE UNA ESTRATEGIA PARA DESARROLLAR EL CULTIVO DEL BAMBÚ EN LA MIXTECA POBLANA	46
Antecedentes	46
Factibilidad del cultivo del bambú en la Mixteca Poblana	47
Estrategia propuesta	47
Elementos de la estrategia	48
Condiciones necesarias para su funcionamiento	52
Contribución del trabajo realizado a esta estrategia	54
LITERATURA CITADA	55

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
Cuadro 1.	Análisis de varianza (cuadrados medios y significancia) del efecto de hipoclorito de sodio (NaClO) y la fecha (DDS) en la contaminación (CN), el número de explantes vivos con brote (EVCB) y la altura de brotes (ALB) de yemas axilares de <i>Bambusa vulgaris</i> cultivadas <i>in vitro</i>	11
Cuadro 2.	Efecto del NaClO en el porcentaje de contaminación (CN), el número de explantes vivos con brote (EVCB) y la altura del brote (ALB) en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bambusa vulgaris</i>	12
Cuadro 3.	Efecto de la fecha (DDS) en la contaminación (CN) y el número de explantes vivos con brote (EVCB) en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>Bambusa vulgaris</i>	13
Cuadro 4.	Efecto de fungicidas en los niveles de contaminación (%) por hongos con micelio blanco (HB), rosáceo (HR) y ocre (HO) en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>Guadua angustifolia</i>	13
Cuadro 5.	Efecto del estado físico del medio de cultivo en los porcentajes de contaminación por hongos con micelio blanco (HB), Rosáceo (HR) y ocre (HO) en el cultivo <i>in vitro</i> de <i>Guadua angustifolia</i>	13
Cuadro 6.	Análisis de varianza (cuadrados medios y significancia) del efecto de especie (SP), fungicida (FN) y pH en la contaminación (CN) por hongos de micelio blanco (HB), ocre (HO) y en los explantes vivos con brote (EVCB) de bambú.....	14
Cuadro 7.	Análisis de varianza (cuadrados medios y niveles de significancia) del efecto de fungicida (FN) y fecha (DDS) en diámetro de colonia de los hongos contaminantes del cultivo <i>in vitro</i> de bambú.....	19
Cuadro 8.	Características físicas de los sustratos utilizados para la propagación de especies de bambú por distintos métodos	32
Cuadro 9.	Análisis de varianza (cuadrados medios y significancia) del efecto de	

método de propagación (MP), especie (SP) y sustrato (ST) en la supervivencia (SPV), número de hijuelos (NH), número de hojas (NHA), altura (AL), diámetro (DI), número de raíces (NR) y longitud de raíz (LR) de propágulos de bambú, 136 días después de establecidos..... 33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
Figura 1.	Interacción especie por pH del medio de cultivo en los niveles de contaminación por hongos de micelio blanco (a) y ocre (b) en explantes de tres especies de bambú.	15
Figura 2.	Interacción especie por fungicida por pH del medio de cultivo en los niveles de contaminación del hongo de micelio blanco en el cultivo <i>in vitro</i> de bambú.	16
Figura 3.	Efecto de la interacción especie por fungicida por pH del medio de cultivo en el número de explantes vivos con brote en bambú.....	17
Figura 4.	Cepas puras en medio PDA y estructuras de los hongos vistas al microscopio. A) Cepa de <i>Alternaria</i> sp., B) Esporas vistas a 40 X, C) Cepa de <i>Fusarium roseum</i> , D) Macro y microconidios, E) Clamidosporas, F) Cepa de <i>Fusarium solani</i> , G) Conidios y H) Clamidosporas.....	18
Figura 5.	Interacción fungicida por fecha (DDS) en el crecimiento de colonias de <i>Alternaria</i> sp.....	20
Figura 6.	Interacción fungicida por fecha en el crecimiento de colonias de <i>Fusarium roseum</i>	21
Figura 7.	Efecto de nueve tratamientos en el crecimiento de colonias de <i>Fusarium solani</i>	22
Figura 8.	Efecto de la fecha (DDS) en el crecimiento de colonias de <i>Fusarium solani</i>	22
Figura 9.	Interacción método de propagación por especie en los porcentajes de supervivencia de propágulos de bambú.....	34
Figura 10.	Interacción método de propagación por sustrato en los porcentajes de supervivencia de propágulos de bambú.....	35
Figura 11.	Efecto del método de propagación (a) y la especie (b) en el número	

	de hijuelos de bambú.....	36
Figura 12.	Efecto del método de propagación –MP- (a) y la especie –SP- (b) en el número de hojas del primer hijuelo de propágulos de bambú.....	37
Figura 13.	Interacción método de propagación por especie en la altura (a) y diámetro (b) del primer hijuelo de propágulos de bambú.....	38
Figura 14.	Interacción método de propagación por especie en el número de raíces del primer hijuelo de bambú.....	39
Figura 15.	Efecto del método de propagación (a) y la especie (b) en la longitud de raíz del primer hijuelo de bambú.....	40
Figura 16.	Estrategia para desarrollar el cultivo del bambú en la Mixteca Poblana.....	48

INTRODUCCIÓN GENERAL

La sobreexplotación de los bosques por la extracción indiscriminada de especies forestales ha generado un constante deterioro de los recursos forestales en México y en el mundo. Ante esta situación se requiere implementar acciones que, además de que contribuyan a atenuar el deterioro forestal, satisfagan la demanda de papel, pulpa y madera (García-Ramírez *et al.*, 2008).

El establecimiento de plantaciones forestales se ha planteado como una alternativa para contribuir a la recuperación de los bosques (Layseca *et al.*, 1996); sin embargo, aún se carece de información suficiente para garantizar resultados satisfactorios en el corto plazo (Sánchez, 2008).

Actualmente, entre las especies con mayor potencial para reemplazar algunas maderables y como fuente de energía se encuentra el bambú (Muñoz *et al.*, 1998); gramínea perenne, leñosa y de porte arbóreo (Borges *et al.*, 2004), que se utiliza en diversas partes del mundo para plantaciones comerciales con fines de restauración ecológica y como un medio de desarrollo de las comunidades rurales (Castañeda, 2004; Cruz-Martín *et al.*, 2007).

El potencial de restauración ecológica del bambú se basa en su capacidad de producir hasta cuatro veces más oxígeno que cualquier otro árbol (Francis e Infante, 2003) y en que captura hasta 40% más de carbono que las coníferas y los eucaliptos (De León, 1987). Estas características la colocan como una de las especies con mayor potencial para contribuir a la lucha contra el cambio climático (Nath y Das, 2008).

Del bambú se obtienen alrededor de 1500 productos (Kibwage *et al.*, 2008), desde papel hasta viviendas (Sood *et al.*, 2002), por lo que este grupo de especies ha alcanzado gran importancia económica en el mundo (Wu *et al.*, 2005). Su industria actualmente genera alrededor de 12 mil millones de dólares por año y para 2017 se espera que alcance los 21 mil millones (Kibwage *et al.*, 2008).

En el mundo existen 75 géneros y alrededor de 1250 especies (Kumar y Sastry, 1999), en América se conocen 21 géneros y 345 especies (Mercedes, 2006); en México hay ocho géneros y

35 especies, de las cuales 14 son endémicas (Cortés, 2000). Debido a que los bambúes son originarios de regiones tropicales y subtropicales (Borges *et al.*, 2004), las condiciones fisiográficas y climáticas de México son apropiadas para su propagación y producción a lo largo y ancho del país (Rzedowski, 1981; Gib, 2005).

Sin embargo, su aprovechamiento comercial presenta dificultades porque los métodos comunes de propagación son lentos o poco viables (John y Rajanis, 1999). La propagación por semilla se descarta porque la mayoría de las especies de bambú tienen periodos juveniles de hasta 70 años, su floración es impredecible (Hidalgo, 1974; Ramanayake *et al.*, 2001) y su semilla recalcitrante (Muñoz *et al.*, 1998). En cuanto a la propagación vegetativa, no existen suficientes centros de producción de plántula de buena calidad y en las cantidades requeridas (Shirin y Rana, 2007).

Los métodos convencionales utilizan para su cultivo yemas, segmentos nodales, varetas y rizomas (Godbole *et al.*, 2002), que muchas veces mueren por necrosis y otros problemas (Ndiaye *et al.*, 2006). Por lo anterior, es necesario desarrollar metodologías de propagación que permitan restablecer y ampliar las plantaciones que se demandan (Jiménez *et al.*, 2006; Mercedes, 2006).

En el contexto nacional Puebla ocupa el séptimo lugar en grado de marginación; 71% de sus municipios están clasificados como de alta y muy alta marginación. Por ello, enfrenta grandes retos relacionados con la pobreza, el deterioro ambiental, el agotamiento de los recursos naturales y la dispersión de la población rural. Así, su desafío en el sector rural consiste en romper la inercia de rezago, marginación y pobreza (Villa, 2005).

En Puebla existen cuatro regiones potenciales para desarrollar el cultivo del bambú, las cuales desde 2005 tenían una demanda de plantas para establecer 10 000 ha (S. D. R., 2005). Esta necesidad no ha sido cubierta debido a la carencia de infraestructura, metodologías, técnicas de propagación y personal calificado (González, 2011).

Para contribuir a la solución de esta problemática se llevaron a cabo dos investigaciones: la primera de ellas, que se describe en el Capítulo I, se planteó inicialmente para desarrollar una

metodología (protocolo) para la propagación *in vitro* del bambú; sin embargo, por una serie de dificultades e inconsistencias en la etapa de establecimiento del cultivo aséptico y por limitaciones de tiempo, el estudio se limitó a tratar de resolver dichos problemas. A pesar de que se redujeron los alcances de esta investigación titulada: “Establecimiento del cultivo *in vitro* de bambú, identificación y control químico de hongos contaminantes” su importancia resalta al considerar que los hongos contaminantes de la fase de establecimiento del cultivo de bambú y su control han sido poco estudiados (Zhou y Hyde, 2001; Acosta-Suárez *et al.*, 2005).

En el segundo estudio titulado: “Propagación vegetativa de tres especies de bambú”, que se trata en el Capítulo II, se refiere al proceso de búsqueda de un método de propagación alternativo al alcance de los productores; para ello se evaluaron tres especies de bambú y tres sustratos. Con él se intenta dar respuesta a la dificultad de propagar el bambú a escala comercial y a la poca disponibilidad de plantas (Sood *et al.*, 2002; Mercedes, 2006; Gallardo *et al.*, 2008). Además de los dos capítulos ya mencionados, este documento consta de otros dos: El tercero está dedicado a la discusión general y conclusiones. En el cuarto se propone una estrategia para desarrollar el cultivo del bambú en la Mixteca Poblana.

CAPÍTULO I. ESTABLECIMIENTO DEL CULTIVO *in vitro* DE BAMBÚ, IDENTIFICACIÓN Y CONTROL QUÍMICO DE HONGOS CONTAMINANTES

RESUMEN

El propósito de la investigación fue dar respuesta a la problemática de la desinfección de explantes en la etapa de establecimiento del cultivo *in vitro* de bambú. Para contribuir a su solución se llevaron a cabo una serie de ensayos para la desinfección de los explantes, se identificaron los hongos contaminantes del cultivo *in vitro* en segmentos nodales de tres especies de bambú (*Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii* y *B. vulgaris*) y se realizó un bioensayo para identificar los mejores fungicidas para su control. La desinfección con 150 mL L⁻¹ NaClO comercial disminuyó significativamente la contaminación al inicio, pero en experimentos posteriores los resultados fueron inconsistentes. La contaminación frecuente de los explantes con al menos tres tipos de hongos, aún después de haber sido desinfectadas por distintos métodos, confirmó que el bambú coexiste con hongos endófitos que limitan la etapa de establecimiento *in vitro*. Las especies de bambú mostraron distinta susceptibilidad al ataque de los hongos y el desarrollo de éstos también fue afectado por el pH del medio de cultivo y el fungicida. Los hongos identificados como agentes contaminantes del establecimiento *in vitro* de las tres especies de bambú fueron: *Alternaria* sp., *Fusarium roseum* y *Fusarium solani*. Los mejores productos para el control de *Alternaria* sp. fueron Azoxystrobin, Mancozeb, Sulfato Tribásico de Cu y Clorotalonil; para *Fusarium roseum*, Benomyl y Tiabendazol; y para *Fusarium solani* Tiabendazol, Mancozeb y Benomyl. La aplicación específica de estos productos desde la preparación de las plantas madre, en la desinfección y como parte del medio de cultivo, fue una opción para solucionar el problema de la contaminación fúngica en el establecimiento *in vitro* del bambú.

Palabras clave: *Guadua*, *Bambusa*, *Alternaria*, *Fusarium*, desinfección, fungicidas.

CHAPTER I. ESTABLISHMENT OF *in vitro* CULTIVATION OF BAMBOO, IDENTIFICATION AND CHEMICAL CONTROL OF FUNGI POLLUTANTS

ABSTRACT

The purpose of this research was to answer the problem of disinfection of explants in the establishment phase of *in vitro* cultivation of bamboo. To contribute to their solutions a series of tests for the disinfection of explants were carried out; the fungal contaminants of *in vitro* culture were identified in nodal segments of three species of bamboo (*Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii* and *B. vulgaris*) and a bioassay was conducted to identify the best fungicides for its control. The disinfection with 150 ml L⁻¹ of commercial NaClO significantly reduced fungal pollution at first, but in later experiments the results were inconsistent. The frequent contamination of explants with at least three types of fungi, even after being disinfected by different methods, confirmed that the bamboo coexists with endophytic fungi that limit the establishment stage *in vitro*. The Bamboo species showed different susceptibility to attack by fungi and their development was also affected by the pH of the culture medium and the fungicide. The fungi identified as pollutants of the *in vitro* establishment of the three bamboo species were: *Alternaria* sp., *Fusarium roseum* and *Fusarium solani*. The best products for control of *Alternaria* sp. were Azoxystrobin, Mancozeb, Tribasic copper sulfate and Chlorothalonil; for *Fusarium roseum*, Benomyl and Thiabendazole; and for *Fusarium solani*, Thiabendazole, Mancozeb and Benomyl. The specific application of these products from the preparation of the parent plants in the disinfection and as part of the culture medium was one option to solve the problem of fungal contamination in the *in vitro* establishment of bamboo.

Keywords: *Guadua*, *Bambusa*, *Alternaria*, *Fusarium*, disinfection, fungicides.

INTRODUCCIÓN

El bambú es una especie forestal de la que se pueden obtener alrededor de 1 500 productos, los cuales van desde papel hasta viviendas (Kumar y Sastry, 1999; Kibwage *et al.*, 2008). Por ello, el bambú se ha convertido en una especie de gran importancia económica (Wu *et al.*, 2005). El mercado mundial del bambú es de aproximadamente 7 000 millones de dólares, los cuales se espera que se tripliquen para el 2017. Tan solo en China el valor de las exportaciones es de 600 millones de dólares y el valor total de las industrias del bambú se calcula en 12 000 millones (Kibwage *et al.*, 2008).

Debido a que el bambú puede establecerse en cualquier tipo de terreno, sirve para incorporar al cultivo tierras sin uso, evitar la erosión y rehabilitar suelos degradados. Además, tiene la capacidad de producir más oxígeno que las especies de *Pinus* o *Quercus*, produce seis veces más celulosa que el pino, genera hasta 40 t ha⁻¹ de biomasa por año y favorece la presencia de microclimas que propician la regeneración de los bosques (Kumar y Sastry, 1999).

Sin embargo, el cultivo comercial del bambú a gran escala está limitado porque no se satisfacen las necesidades de plantas con calidad para el establecimiento de nuevas plantaciones (Sood *et al.*, 2002; Shirin y Rana, 2007). Por lo anterior, se requiere desarrollar un método de propagación masiva eficiente como puede ser el cultivo *in vitro*, más aún al tomar en cuenta que pocas especies se han podido multiplicar con esta técnica (Gielis *et al.*, 2001) y que existe poca información disponible al respecto (Hassan y Debergh 1987; Huang *et al.*, 1989; Huang *et al.*, 2002).

Algunas ventajas que puede tener la propagación *in vitro* del bambú sobre los métodos convencionales son permitir su multiplicación masiva (Koshy y Gopakumar, 2005) y reducir el periodo juvenil (Nadgauda *et al.*, 1990; Lin y Chang, 1998). Por lo tanto, según Judziewicz *et al.* (1999) y Yasodha *et al.* (2008) la micropropagación de brotes axilares es una alternativa factible para la producción de plantas de bambú a gran escala.

Actualmente, la propagación *in vitro* se utiliza en varios tipos de bambú en el mundo (Marulanda *et al.*, 2005), pero existen muy pocos trabajos sobre las especies americanas (Manzur, 1988), posiblemente porque el método es relativamente reciente y hasta ahora sólo se encuentra al alcance de centros de investigación y empresas privadas (Giraldo y Sabogal, 2007).

En la propagación *in vitro* de bambú la desinfección exitosa de los explantes ha sido muy difícil. Con hipoclorito de sodio (NaClO) al 2%, se registraron respectivamente 91 y 57% de contaminación por hongos y bacterias durante el establecimiento *in vitro* de yemas de Guadua (Marulanda *et al.*, 2002). El mismo autor sólo obtuvo de 2 a 8% de brotación de yemas axilares con el uso de NaClO y mercurio (Hg) a diferentes concentraciones. En la desinfección de yemas de *Guadua angustifolia* se usó detergente alcalino, una mezcla de Benomyl (2 g L^{-1}) y Sulfato de Estreptomicina (1 ml L^{-1}), seguido por una inmersión en NaClO (1.5%) durante 10 minutos. Con estos productos y concentraciones, más del 50% de los explantes se contaminaron dentro de los primeros 10 días (Jiménez *et al.*, 2006). En la misma especie se menciona la muerte repentina de los explantes durante el establecimiento del cultivo atribuida a múltiples causas, sin ofrecer hasta el momento una explicación clara (Freire *et al.*, 2008).

En otro trabajo con meristemos apicales de tallo y rizomas, todos los explantes murieron dos semanas después de haber establecido el material *in vitro*; en segmentos nodales se presentó una contaminación por posibles levaduras hasta del 100% (Hernández *et al.*, 2001).

La taxonomía de los hongos que dificultan el establecimiento del cultivo *in vitro* del bambú ha sido poco documentado (Eriksson y Yue, 1998; Zhou y Hyde, 2001) y existen pocas investigaciones sobre la incidencia de estos hongos en bambú (Zhou y Hyde, 2002) u otras gramíneas (Dix y Webster, 1995). Debido a que la contaminación por hongos y bacterias endófitos es potencialmente seria para el cultivo *in vitro* de muchas especies, es necesario aislar e identificar los contaminantes primarios de los tejidos vegetales, para utilizar fungicidas y antibióticos selectivos y específicos para su control (Pence, 2005).

Por lo anterior, al considerar que pese a la importancia socioeconómica del bambú, éste se sigue propagando por métodos tradicionales que no satisfacen la demanda y limitan su

aprovechamiento intensivo, cómo primer paso para desarrollar una metodología para su propagación *in vitro*, se intentó dar respuesta a la problemática de la desinfección en la fase de establecimiento del cultivo aséptico.

Para ello, primero se presentan algunos ensayos para la desinfección de los explantes mediante distintos métodos, enseguida se hace la identificación de los hongos contaminantes y finalmente se describen los resultados de un bioensayo para su control.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó de febrero a junio de 2009. Se utilizaron plantas madre de tres años de edad de tres especies de bambú: *Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii* y *Bambusa vulgaris*, procedentes de Chietla, Puebla. La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de cultivo de tejidos vegetales de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, ubicada en la ciudad de Uruapan, Michoacán y consistió de tres etapas: 1) Establecimiento del cultivo aséptico; 2) Identificación de los patógenos asociados con la contaminación *in vitro*; y 3) Bioensayo para el control de los agentes contaminantes (*in vitro*).

Establecimiento del cultivo aséptico

En esta fase se realizaron tres experimentos: en el primero se probaron dos concentraciones (100 y 150 mL L⁻¹) de Hipoclorito de Sodio comercial (60 g L⁻¹ de ingrediente activo) y dos niveles de carbón activado (con y sin) en un arreglo factorial 2x2, en diseño completamente al azar con 15 repeticiones, en donde la unidad experimental fue un explante.

Se usaron como explantes segmentos nodales de 3.5 cm de longitud y de 2.5 a 3.5 mm de diámetro de *Bambusa vulgaris*, los cuales se sumergieron en una solución de detergente universal alcalino (5 g L⁻¹) con Mancozeb (2 g L⁻¹) durante 10 minutos. Se continuó con la desinfección con NaClO y una gota de Polisorbato 20 durante 10 minutos. Finalmente, los explantes se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril.

El medio de cultivo empleado fue el de Murashige y Skoog (1962) ajustado a pH 7 y adicionado con tiamina-HCl (0.1 mg L^{-1}), piridoxina-HCl (0.5 mg L^{-1}), ácido nicotínico (0.5 mg L^{-1}), glicina (2 mg L^{-1}), myo-inositol (100 mg L^{-1}), sacarosa (30 g L^{-1}), N⁶ bencilaminopurina (BAP) (3 mg L^{-1}) y phytagel (2 g L^{-1}) más el carbón activado (2 g L^{-1}) a los frascos correspondientes.

Los explantes se incubaron con fotoperiodo de 16 horas luz y 8 de oscuridad a una intensidad lumínica de $45 \mu\text{E m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ y temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. A los cinco y siete días se registró el número de explantes vivos con brotes y la altura de los mismos, así como el porcentaje de contaminación por microorganismos. A los datos se les realizó un análisis de varianza conjunto y las pruebas de medias respectivas.

En el segundo experimento se evaluaron tres fungicidas (Benomyl, Tiabendazol y Mancozeb) en dos estados (líquido y sólido) del medio de cultivo Woody Plant Medium -WPM- (Lloyd y McCown; 1981), en un arreglo factorial 3×2 , en diseño completamente al azar con cinco repeticiones, la unidad experimental fue un explante de *Guadua angustifolia*.

Se seleccionaron segmentos nodales de 2 cm de longitud y de 3 a 4 mm de diámetro, se lavaron con detergente, cepillo y agua hasta eliminar las impurezas superficiales, y se sumergieron en NaClO comercial a 400, 500 y 600 mL L^{-1} durante 20 min. En la campana de flujo laminar, los explantes se enjuagaron tres veces con agua estéril y se sembraron en medio de cultivo ajustado a pH 5.8 adicionado con 0.4 mg L^{-1} de tiamina, 100 mg L^{-1} de inositol, 2 mg L^{-1} de BA y 30 g L^{-1} de sacarosa y los fungicidas. En el caso del medio líquido se usaron soportes de papel filtro para los explantes. Once días después de la siembra se registró la contaminación por hongos, identificados en esta etapa únicamente por el color del micelio (blanco, rosado u ocre). A los datos se les realizó el análisis de varianza y las pruebas de medias respectivas.

En el tercer experimento se evaluaron tres fungicidas (Tiabendazol, Azoxistrobin y Quintoceno), tres niveles de pH del medio de cultivo (6, 6.5 y 7) y tres especie de bambú (*Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii* y *Bambusa vulgaris*) en un arreglo factorial 3^3 en diseño completamente al azar con cuatro repeticiones, donde la unidad experimental fue un explante. Se utilizaron secciones de tallo de aproximadamente 2 cm de longitud y de 3 a 4 mm de diámetro.

Éstos se colocaron en una solución de NaClO comercial (600 mL L^{-1}) durante 10 min y se lavaron con agua estéril.

Los segmentos se sembraron en el WPM líquido ajustado a los pH correspondientes en soportes de papel filtro. Se adicionaron 0.4 mg L^{-1} de tiamina, 100 mg L^{-1} de inositol, 2 mg L^{-1} de BA, 15 g L^{-1} de sacarosa y los fungicidas respectivos. Los explantes se incubaron en las condiciones ya descritas y a los 11 días se registraron la contaminación (CN) por hongos (de micelio blanco, rosáceo y ocre) y el número de explantes vivos con brotes (EVCB). A los datos se les realizó el análisis de varianza y las pruebas de medias respectivas. En éste y los demás casos, los datos se procesaron con el paquete Statistical Analysis System versión 9.0 (SAS, 2004).

Identificación de los agentes causales asociados con la contaminación *in vitro*

De los frascos con los explantes contaminados por hongos del tercer experimento se transfirieron muestras de micelio a cajas Petri con 10 mL del medio “papa-dextrosa-agar” (PDA) con 3 mL L^{-1} de Clorhidrato de Oxitetraciclina, mismas que se incubaron a $21 \text{ }^{\circ}\text{C}$, en oscuridad. Del micelio desarrollado, se tomaron discos de 8 mm de diámetro y se colocaron en el centro de otra caja Petri con medio fresco, para obtener colonias puras. De estas colonias, se tomaron muestras que se prepararon para su observación en microscopio con lactofenol blanco. Para la identificación de los hongos se utilizaron las claves de Barnett y Hunter (1972) y Toussoun y Nelson (1976).

Bioensayo con fungicidas para el control químico *in vitro* de los agentes contaminantes

Se tomaron discos de micelio de 8 mm de diámetro de los diferentes hongos purificados e identificados como los agentes causales de la contaminación *in vitro* del bambú. Éstos Se colocaron en el centro de cajas Petri con PDA. Alrededor del micelio se colocaron, en forma de cruz y de manera equidistante, cuatro discos de papel filtro estéril impregnados con soluciones de los fungicidas Tiabendazol, Benomyl, Azoxystrobin, Tiofanate metil, Mancozeb, Clorotalonil, Sulfato Tribásico de Cobre, Hidróxido de Cobre ($0.6, 0.6, 0.6, 0.6, 2.0, 2.0, 3.0$ y $3.0, \text{ g L}^{-1}$, respectivamente) y un testigo. Debido a que no se dispuso de la misma cantidad de inóculo y material de laboratorio para los tres hongos identificados, se llevaron a cabo ensayos con distinto

número de repeticiones. Así, mientras para *Fusarium solani* se evaluaron los nueve tratamientos (ocho fungicidas más el testigo) con cinco repeticiones, en *F. roseum* y *Alternaria* sp. se usaron 4 y 3 repeticiones, respectivamente. En los tres casos se usó el diseño completamente al azar y la unidad experimental fue una caja Petri.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Establecimiento del cultivo aséptico

En el primer experimento se detectaron diferencias significativas atribuidas a la concentración de hipoclorito de sodio (NaClO) y a la fecha (DDS). El NaClO afectó los niveles de contaminación (CN), el número de explantes vivos con brote (EVCB) y la altura del brote (ALB); la fecha tuvo efecto en los niveles de CN y los EVCB (Cuadro 1).

Cuadro 1. Análisis de varianza del efecto de hipoclorito de sodio (NaClO) y la fecha (DDS) en la contaminación (CN), el número de explantes vivos con brote (EVCB) y la altura de brotes (ALB) de yemas axilares de *Bambusa vulgaris* cultivadas *in vitro*.

Fuente de V.	G.L.	Cuadrados medios		
		CN	EVCB	ALB
NaClO	1	1.2000 ^{**}	1.2000 [*]	8.8020 ^{**}
DDS	1	2.7000 ^{***}	2.7000 ^{***}	0.6307 ^{NS}
CLxDDS	1	0.0333 ^{NS}	0.0333 ^{NS}	0.2520 ^{NS}
Error	116	0.1601	0.1601	0.3883

NS: no significativa; (*) P≤0.05, (**) P≤0.01y (***) P≤0.001.

Al incrementar la concentración de NaClO comercial, de 100 a 150 mL L⁻¹, los niveles de contaminación disminuyeron significativamente de 76 a 56%. Por el contrario, los explantes vivos con brote y la altura del mismo se incrementaron respectivamente un 20 y 54% (Cuadro 2.). Estos porcentajes de contaminación se esperaba que fueran diferentes a los reportados por Borges *et al.* (2004) y Dalal *et al.* (1992) quienes usaron NaClO puro (10, 20 y 30 mL L⁻¹) durante el establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia* y tuvieron altos porcentajes de contaminación (45 a 50%) provocados por hongos y bacterias. Los altos niveles de contaminación encontrados

comprueban la aseveración de Das y Pal (2005) quienes indican que la presencia de hongos es el mayor problema del cultivo *in vitro* de *Bambusa balcoa*, junto con los fenoles liberados por los explantes al medio de cultivo, que inhiben su crecimiento (Borges *et al.*, 2004). Ramanayake *et al.* (2006) también registraron niveles altos de contaminación (85%) al utilizar explantes provenientes de yemas axilares de *Bambusa vulgaris* cultivado en campo y vivero.

Lo anterior se explica con lo expuesto por Acosta-Suárez *et al.* (2009), quienes señalan que en especies leñosas sus características anatómicas dificultan la desinfección, por lo que se incrementan los porcentajes de contaminación. Esto es muy importante, porque el mismo tratamiento en experimentos posteriores dio resultados inconsistentes.

Por ello, Mroginski *et al.* (2004) proponen que las plantas donadoras de explantes se cultiven preferentemente en invernaderos y se traten con productos químicos que eliminen a los patógenos, de modo que disminuya la posibilidad de que el explante sea la principal fuente de inóculo (Acosta-Suárez *et al.*, 2008).

Cuadro 2. Efecto del NaClO en el porcentaje de contaminación (CN), el número de explantes vivos con brote (EVCB) y la altura del brote (ALB) en el cultivo *in vitro* de *Bambusa vulgaris*.

NaClO	CN (%)	EVCB (%)	ALB (%)
100 mL L ⁻¹	76.66 a	23.33 b	21.00 b
150 mL L ⁻¹	56.66 b	43.33 a	75.17 a
DSH	16.00	16.00	38.00

Letras iguales en la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey, P ≤ 0.05)
DSH: Diferencia significativa honesta.

El efecto significativo de la fecha fue evidente en un lapso de dos días únicamente: al pasar de 5 a 7 días después del establecimiento del experimento, los niveles de contaminación se incrementaron 30% y los explantes vivos con brotes disminuyeron en la misma proporción (Cuadro 3). La importancia de lo anterior radica en tomar en cuenta la velocidad con la que los patógenos se multiplican y dañan a los materiales, una vez establecidos, lo cual crea la necesidad de encontrar métodos más eficientes de desinfección.

Cuadro 3. Efecto de la fecha (DDS) en la contaminación (CN) y el número de explantes vivos con brote (EVCB) en el cultivo *in vitro* de *Bambusa vulgaris*.

DDS	CN (%)	EVCB (%)
5	51.66 b	48.33 a
7	81.66 a	18.33 b
DSH	16.00	16.00

Letras iguales en la misma columna son estadísticamente iguales (Tukey, $P \leq 0.05$)

DSH: Diferencia significativa honesta.

En el segundo experimento no se detectaron diferencias significativas para ninguna de las variables relacionadas con la presencia de hongos; sin embargo, se observaron tendencia en los aspectos siguientes:

Las infestaciones fueron de mayor a menor para los hongos con micelio blanco (53%), rosado (40%) y ocre (7%). Entre fungicidas, Mancozeb controló mejor a los hongos con micelio rosado y ocre, en tanto que los otros dos lo hicieron con los de micelio blanco (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto de fungicidas en los niveles de contaminación (%) por hongos con micelio blanco (HB), rosáceo (HR) y ocre (HO) en el cultivo *in vitro* de *Guadua angustifolia*.

Fungicida	HB	HR	HO
Benomyl	40 a	50 a	10 a
Tiabendazol	50 a	40 a	10 a
Mancozeb	70 a	30 a	00 a
Promedio	53	40	7

Respecto al efecto del estado físico del medio de cultivo, los hongos con micelio rosado y ocre desarrollaron menos en el medio líquido. Por el contrario, los de micelio blanco crecieron menos en el medio sólido (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto del estado físico del medio de cultivo en los porcentajes de contaminación por hongos con micelio blanco (HB), Rosáceo (HR) y ocre (HO) en el cultivo *in vitro* de *Guadua angustifolia*.

Estado del medio	HB	HR	HO
Sólido	40.00 a	46.67 a	13.33 a
Líquido	66.67 a	33.33 a	00.00 a
Promedio	53.33	40.00	6.66

Aunque con distintos grados de infestación, la presencia de tres tipos de hongos confirma que el bambú coexiste con varios hongos endófitos, de los cuales Doungporn *et al.* (2007) aislaron 257 y caracterizaron 71. En el establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia* y *Bambusa vulgaris*, Acosta-Suárez *et al.* (2008) identificaron nueve géneros, entre ellos *Fusarium* y *Alternaria*.

Respecto al efecto de los fungicidas, Acosta-Suárez *et al.* (2008) mencionan que Benomyl (5 g L⁻¹), Tebuconazol más Triadimenol (2.0 ml L⁻¹), Mancozeb pH 80 (5 g L⁻¹) y Oxiclورو de Cobre (2.0 ml L⁻¹) controlan los nueve géneros que identificaron. Esto difiere un poco de las tendencias aquí observadas, donde cada fungicida pareció tener efectos diferentes para cada tipo de hongo. Con relación al estado del medio, no se encontraron referencias que sustenten o refuten las tendencias observadas.

En el tercer experimento se detectaron efectos significativos para las interacciones especie por pH (SPxpH) y especie por fungicida por pH (SPxFNxpH). La primera afectó los niveles de contaminación por los hongos con micelio de color blanco (HB) y ocre (HO), en tanto que la segunda influyó en el desarrollo del hongo con micelio blanco y en los explantes vivos con brote -EVCB – (Cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis de varianza del efecto de especie (SP), fungicida (FN) y pH en la contaminación (CN) por hongos de micelio blanco (HB), ocre (HO) y en los explantes vivos con brote (EVCB) de bambú.

Factor de V.	G.L.	Cuadrados Medios		
		HB	HO	EVCB
SP	2	0.4814 ^{NS}	0.8425 ^{NS}	0.2592 ^{NS}
FN	2	0.0648 ^{NS}	0.0092 ^{NS}	0.1759 ^{NS}
pH	2	0.8425 ^{NS}	0.4537 ^{NS}	0.0648 ^{NS}
SPxFN	4	0.1620 ^{NS}	0.0370 ^{NS}	0.1481 ^{NS}
SPxpH	4	0.6481 ^{**}	0.4814 ^{**}	0.2037 ^{NS}
FNxpH	4	0.3981 ^{NS}	0.0648 ^{NS}	0.1203 ^{NS}
SPxFNxpH	8	0.6620 ^{***}	0.0925 ^{NS}	0.2800 [*]
Error	81	0.1666	0.0802	0.1049

NS: no significativa; (*) P≤0.05, (**) P≤0.01y (***) P≤0.001.

La contaminación por hongos de micelio blanco (Figura 1a) fue significativamente menor en *Guadua angustifolia* a pH 6 y 7 ($\leq 33\%$), estadísticamente igual a los niveles registrados en *Bambusa vulgaris* a pH 6 (33%) y *Bambusa oldhamii* a pH 7 (45%). Por el contrario, la mayor contaminación ($>80\%$) se observó en *Bambusa oldhamii* a pH 6, también estadísticamente igual a los porcentajes asociados con las tres especies a pH 6.5 y con los de *Bambusa vulgaris* a pH 7.

Los niveles de contaminación por hongo con micelio ocre (Figura 1b) fueron muy bajos ($<10\%$) en *Bambusa oldhamii* y *Bambusa vulgaris* en las tres condiciones de pH, estadísticamente iguales a los de *Guadua angustifolia* a pH 6.5. La última especie se asoció con las contaminaciones más altas a pHs de 6 y 7 ($>25\%$).

Con lo anterior se muestra que las especies de bambú tienen diferente susceptibilidad al ataque de los distintos hongos contaminantes y que el desarrollo de los mismos se modifica sustancialmente con el pH del medio de cultivo. El menor crecimiento de *Cladosporium* sp. y otros hongos ocasionado por alteraciones del pH ya fue señalado por (Agrios, 1985 y Ayala, 2004).

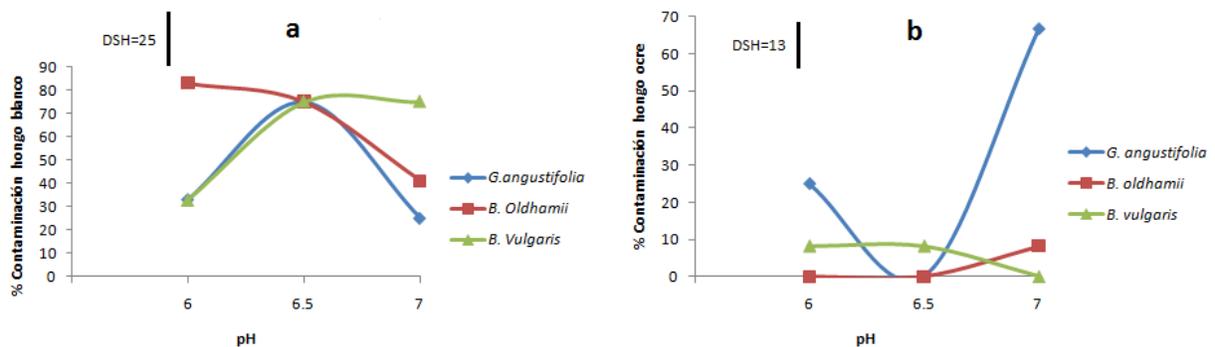


Figura 1. Interacción especie por pH del medio de cultivo en los niveles de contaminación por hongos de micelio blanco (a) y ocre (b) en explantes de tres especies de bambú. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los menores índices de contaminación por hongos de micelio blanco (0%) se obtuvieron en *Guadua angustifolia* con Azoxystrobin y *Bambusa vulgaris* con Azoxystrobin y Quintoceno, todas a pH 6 (Figura 2). Por el contrario, en *Bambusa oldhamii* con Azoxystrobin a pH 6.5 o con Quintoceno a pH 6 y 6.5 la contaminación fue total, igual que en *Bambusa vulgaris* con Tiabendazol a pH 6 y 6.5 o con Azoxystrobin y Quintoceno a pH 7.

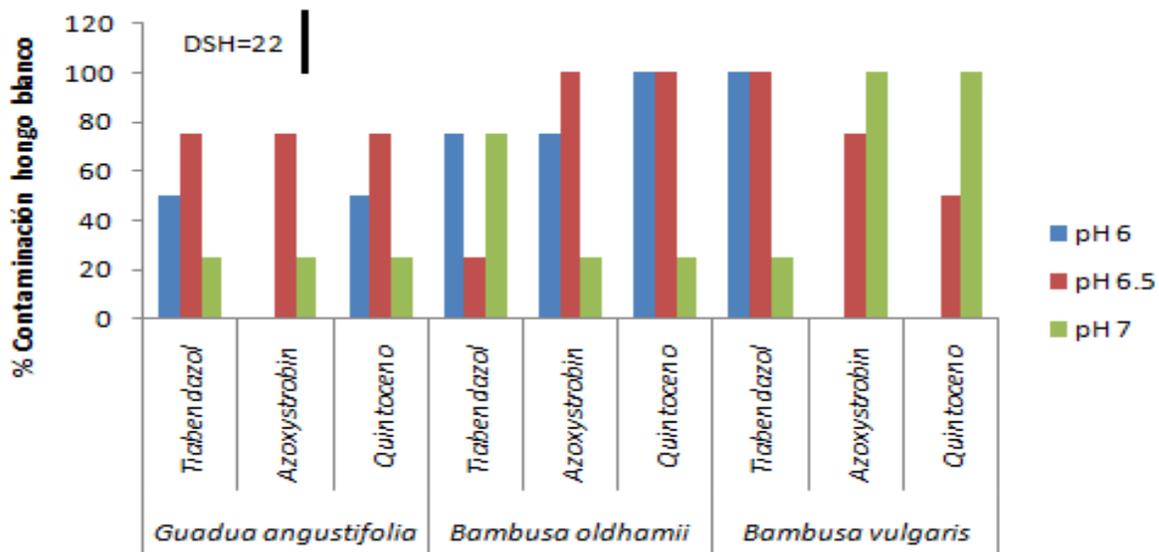


Figura 2. Interacción especie por fungicida por pH del medio de cultivo en los niveles de contaminación del hongo de micelio blanco en el cultivo *in vitro* de bambú. DSH= Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Como puede observarse, el desarrollo del mismo hongo es afectado por la especie de bambú, el fungicida y el pH del medio, aspectos muy importantes a considerar para desarrollar métodos eficientes de desinfección de explantes y control de agentes contaminantes.

Respecto a los explantes vivos con brote; los mayores porcentajes (75%) se obtuvieron en *Bambusa vulgaris* con Azoxystrobin a pH 6, significativamente diferentes de todas las demás combinaciones, que tuvieron menos de 50% de EVCB (Figura 3).

Como era de esperarse, los mayores porcentajes de explantes vivos brotados guardan relación con las combinaciones que resultaron con menores índices de contaminación en el caso anterior (Figura 2). Esto señala que es indispensable abatir la contaminación para incrementar la sobrevivencia y brotación de los explantes.

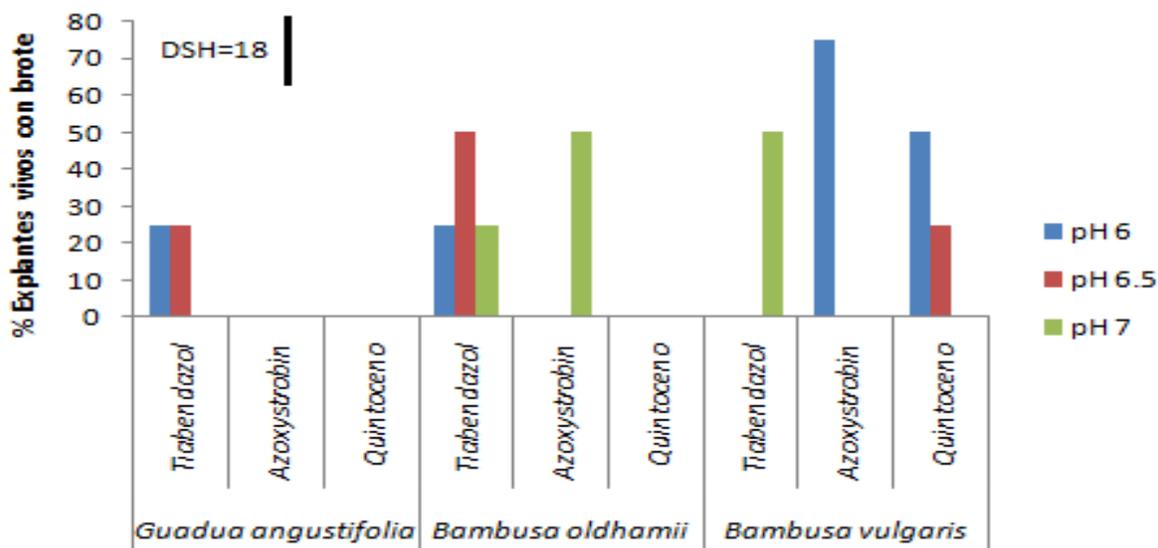


Figura 3. Efecto de la interacción especie por fungicida por pH del medio de cultivo en el número de explantes vivos con brote en bambú. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Finalmente, es importante destacar que los resultados tan inciertos de los experimentos hasta ahora mencionados, principalmente asociados con contaminaciones altas por hongos en la etapa de establecimiento del cultivo *in vitro* de bambú, explican los limitados avances que se tienen (al menos en México) para propagar estas especies mediante dicha técnica; que obliga a mejorar el proceso de desinfección de explantes y control de hongos endófitos.

Identificación de los agentes causales de la contaminación en la fase de establecimiento del cultivo *in vitro* de bambú

Los hongos identificados correspondieron a los géneros *Alternaria* y *Fusarium* (*Fusarium roseum* y *F. solani*). El género *Alternaria* presentó colonias con crecimiento radial, de color oscuro. Conidióforos simples, cortos o alargados que producen cadenas de conidios con células transversal y longitudinalmente septadas, de diversas formas; en ocasiones los conidios no nacen en cadenas sino individualmente y con apéndice apical simple o bifurcado. *Fusarium roseum* mostró un crecimiento rápido y abundante. El micelio aéreo fue de blanco, marrón a rojo y con frecuencia, produjo un color rojo profundo en la zona de contacto con el agar. Los microconidios generalmente estuvieron ausentes. Los esporodoquios fueron de color rojo a anaranjado. Las

clamidosporas, con frecuencia formaron cadenas largas o grupos. *Fusarium solani* tuvo variaciones de color del micelio; crema, canela, verde o azul, con microconidios abundantes, falsas cabezas y clamidosporas presentes (Figura 4).

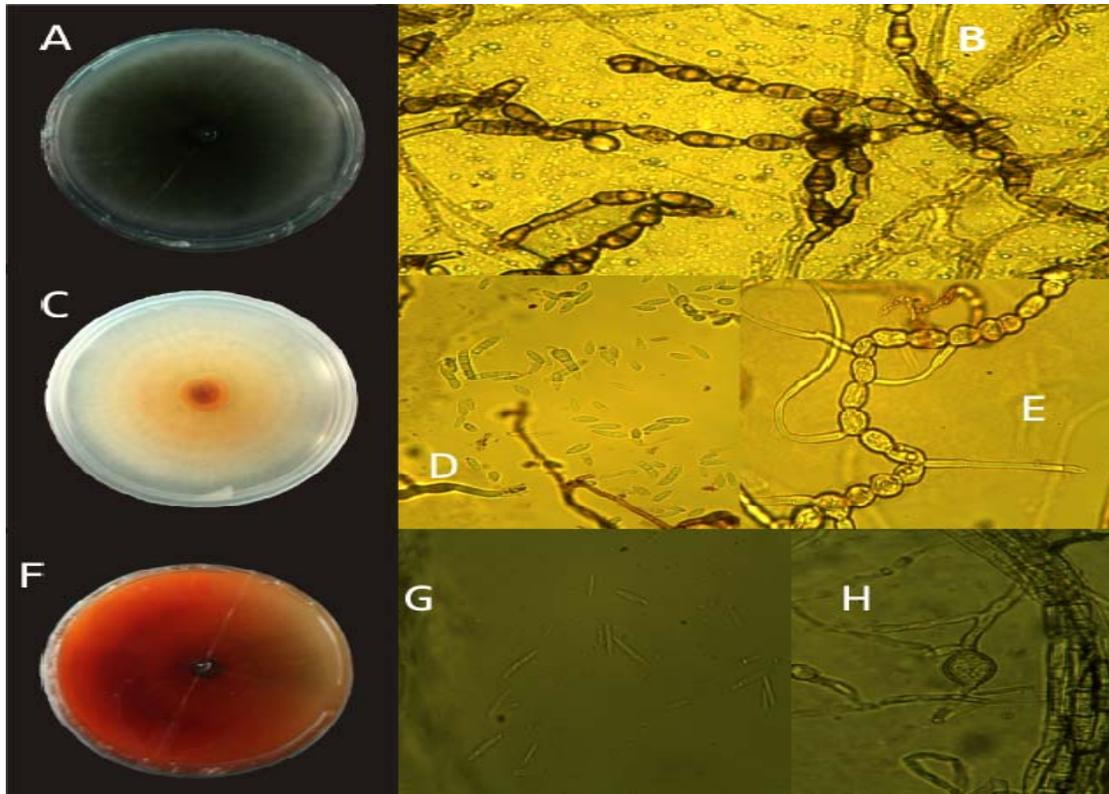


Figura 4. Cepas puras en medio PDA y estructuras de los hongos vistas al microscopio. A) Cepa de *Alternaria* sp., B) Esporas vistas a 40 X, C) Cepa de *Fusarium roseum*, D) Macro y microconidios, E) Clamidosporas F) Cepa de *Fusarium solani*, G) Conidios, H) Clamidosporas.

Bioensayo para el control químico de los agentes contaminantes

El análisis de varianza indicó efectos significativos para fungicida (FN) y fecha (DDS) en el desarrollo de los tres tipos de hongos. La interacción FNxDDS también resultó significativa para *Alternaria* sp. y *Fusarium roseum* (Cuadro 7).

Cuadro 7. Análisis de varianza (cuadrados medios y niveles de significancia) del efecto de fungicida (FN) y fecha (DDS) en diámetro de colonia de los hongos contaminantes del cultivo *in vitro* de bambú.

Factor de V.	Diámetro de la colonia (cm)					
	<i>Alternaria sp.</i>		<i>Fusarium roseum</i>		<i>Fusarium solani</i>	
	G.L.	C.M.	G.L.	C.M.	G.L.	C.M.
FN	8	2.6808 ^{***}	8	16.8623 ^{***}	8	6.7383 ^{***}
DDS	6	23.1084 ^{***}	6	8.4278 ^{***}	6	11.6572 ^{***}
FNxDDS	48	0.2662 ^{***}	48	0.3596 ^{**}	48	0.3182 ^{NS}
Error	126	0.0739	189	0.2395	252	0.3975

NS: no significativa; (*) $P \leq 0.05$, (**) $P \leq 0.01$ y (***) $P \leq 0.001$.

Crecimiento de *Alternaria sp.*

En la Figura 5 se presenta la interacción FNxDDS en el crecimiento de *Alternaria sp.* Como se observa, y era de esperarse, de manera general el crecimiento de las colonias se incrementó con el transcurso del tiempo hasta alcanzar un máximo a los 7 días, independientemente del fungicida empleado.

Aunque desde el primer día ya era posible identificar diferencias por efecto de fungicidas, éstas se evidenciaron a partir del tercer día, cuando se observa claramente que el Sulfato tribásico de cobre (ST), Clorotalonil (CL), Azoxystrobin (AZ), Mancozeb (MA) –que resultaron estadísticamente iguales entre sí- inhibieron significativamente el crecimiento de las colonias de *Alternaria sp.* en comparación con el resto.

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Loredó (1994), quien indica que Mancozeb y Clorotalonil fueron los mejores productos para el control de éste género, con 72% de efectividad. Mónaco *et al.* (2001) señalan que los mismos fungicidas aplicados con antagonistas de *Alternaria* hacen posible el control integrado del tizón temprano del tomate.

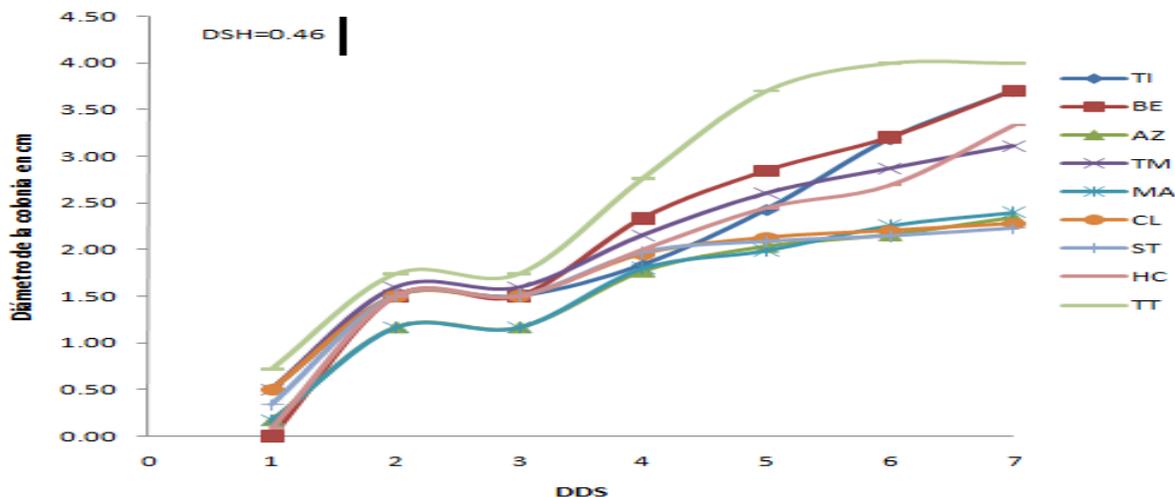


Figura 5. Interacción fungicida por fecha (DDS) en el crecimiento de colonias de *Alternaria* sp. TI: Tiabendazol, BE: Benomyl. AZ: Azoxystrobin. TM: Tiofanate Metil. MA: Mancozeb. CL: Clorotalonil. ST: Sulfato Tribásico de Cobre. HC: Hidróxido de Cobre. TT: Testigo. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Por su parte, Gastélum y Gálvez (2002) mencionan que la aplicación *in vitro* de Azoxystrobin reduce de 98.5 a 99.5% la germinación de conidios de *Alternaria alternata*. En otro estudio, Villanueva *et al.* (2005) encontraron que este fungicida proporciona los mejores resultados para el control de *Alternaria chrysanthemi* en el follaje de crisantemo.

Crecimiento de *Fusarium roseum*

En la Figura 6 se presenta la interacción FNxDDS en el crecimiento de colonias de *Fusarium roseum*. Sobresalen los fungicidas BE y TI pues ambos tuvieron un control excelente del hongo durante todo el periodo de estudio y resultaron estadísticamente diferentes a todos los demás a partir del quinto día. Estos resultados son parecidos a los obtenidos por Jiménez (2007), Negrete (2007) y Sánchez (2008), quienes encontraron que los mismos fungicidas fueron los mejores para inhibir el crecimiento de *Fusarium* sp. en plantas tropicales cultivadas *in vitro*, a partir del cuarto y quinto día de establecidos los experimentos.

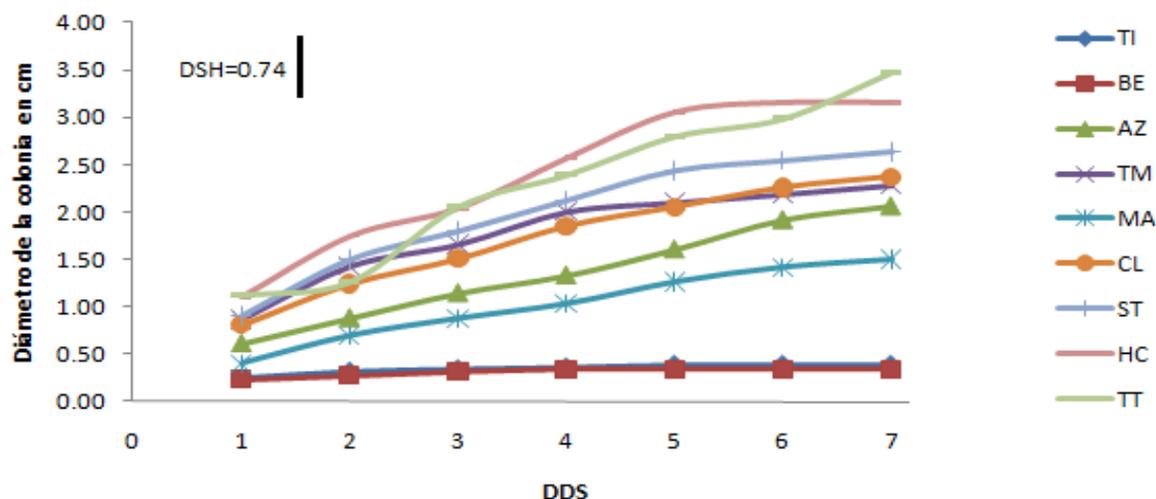


Figura 6. Interacción fungicida por fecha en el crecimiento de colonias de *Fusarium roseum*. TI: Tiabendazol. BE: Benomyl. AZ: Azoxystrobin. TM: Tiofanate Metil. MA: Mancozeb. CL: Clorotalonil. ST: Sulfato Tribásico de Cobre. HC: Hidróxido de Cobre. TT: Testigo. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Crecimiento de *Fusarium solani*

Los fungicidas TI, MA y BE resultaron los mejores para controlar el crecimiento de *Fusarium solani*, cuyas colonias alcanzaron un diámetro máximo de 1.23 cm, en comparación con otras que midieron hasta 2.47 cm (Figura 7). Con esto se confirma que el uso de BE y MA son efectivos para el control de *Fusarium* en plantas donadoras y en el establecimiento *in vitro* de especies de bambú, como lo indican Acosta-Suárez *et al.* (2008).

Respecto al efecto de la fecha o el tiempo transcurrido desde la siembra (DDS), en promedio el diámetro de la colonia de *Fusarium solani* se incrementó significativamente cada dos días (Figura 8). Esto indica que mientras no se encuentre un buen método de desinfección y control del hongo, los periodos de manejo de los explantes durante el cultivo *in vitro* deben ser lo más cortos posible.

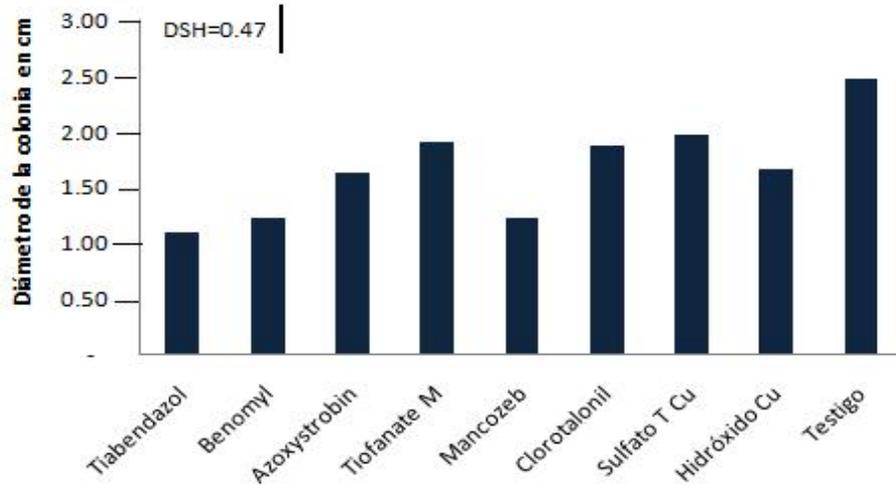


Figura 7. Efecto de nueve tratamientos en el crecimiento de colonias de *Fusarium solani*. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

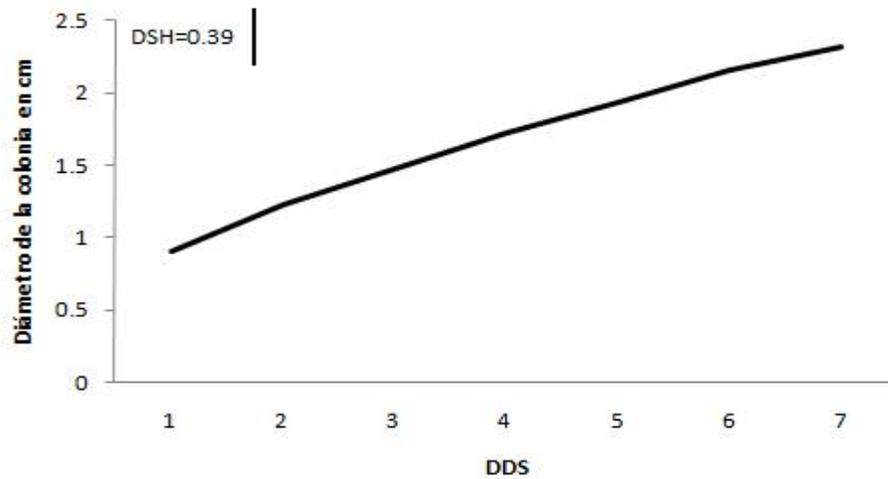


Figura 8. Efecto de la fecha (DDS) en el crecimiento de colonias de *Fusarium solani*. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

CONCLUSIONES

La desinfección con 150 mL L⁻¹ NaClO comercial disminuyó significativamente la contaminación al inicio, pero en experimentos posteriores los resultados fueron inconsistentes.

La presencia frecuente de al menos tres tipos de hongos en las especies de bambú estudiadas, aún después de haber sido desinfectadas por distintos métodos, confirma que el bambú coexiste con hongos endófitos que limitan la etapa de establecimiento *in vitro*.

Las especies de bambú tienen diferente susceptibilidad al ataque de los hongos contaminantes y el desarrollo de los mismos se modifica sustancialmente con el pH del medio de cultivo y el fungicida usado para su control, aspectos muy importantes a considerar para desarrollar métodos eficientes de desinfección de explantes y control de agentes contaminantes.

Los hongos identificados como agentes contaminantes del establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii* y *Bambusa vulgaris* fueron: *Alternaria* sp., *Fusarium roseum* y *Fusarium solani*.

Los mejores productos para el control de *Alternaria* sp. fueron Azoxystrobin, Mancozeb, Sulfato Tribásico de Cu y Clorotalonil; para *Fusarium roseum*, Benomyl y Tiabendazol; y para *Fusarium solani* Tiabendazol, Mancozeb y Benomyl.

La aplicación específica de estos productos desde la preparación de las plantas madre, en la desinfección y como parte del medio de cultivo, es una opción para solucionar el problema de la contaminación fúngica en el establecimiento *in vitro* del bambú.

CAPÍTULO II. PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE TRES ESPECIES DE BAMBÚ

RESUMEN

La obtención de planta de calidad para el establecimiento y producción comercial de bambú es un reto importante, debido a que los métodos convencionales de propagación han sido poco estudiados, difundidos y por lo tanto escasamente utilizados. El objetivo de este trabajo fue desarrollar una metodología eficiente de multiplicación del bambú en condiciones de vivero, que esté al alcance de todo tipo de productores. Para ello, se evaluó el efecto de tres métodos de propagación (chusquín, vareta y segmento nodal), tres especies (*Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii* y *Bambusa vulgaris*) y tres sustratos (atocle+cachaza+estiércol, tierra+cachaza+estiércol y un sustrato a base de insumos comerciales) en arreglo factorial 3^3 establecido en diseño completamente al azar con tres repeticiones. Las variables evaluadas fueron: supervivencia, número de hijuelos, altura, diámetro del tallo, número de hojas, número de raíces y longitud de la raíz principal. La propagación por chusquines resultó la mejor opción para reproducir *Bambusa vulgaris* y *Guadua angustifolia*. Para *Bambusa vulgaris*, la multiplicación por estacas también fue una buena alternativa. *Bambusa oldhamii* fue difícil de propagar con los métodos y sustratos estudiados. Para propagar *Bambusa vulgaris* y *Guadua angustifolia*, la mezcla de atocle, cachaza y estiércol caprino fue el sustrato más recomendable. Este sustrato tiene la ventaja adicional de estar compuesto por materiales regionales, altamente disponibles y al alcance de los productores.

Palabras clave: *Guadua*, *Bambusa*, chusquín, vareta, sustrato.

CHAPTER II. VEGETATIVE PROPAGATION OF THREE BAMBOO SPECIES

ABSTRACT

Obtaining quality plants for the establishment and commercial production of bamboo is a major challenge, since conventional methods of propagation have been little studied, diffused and therefore underutilized. The aim of this work was to develop an efficient methodology for the multiplication of bamboo in nursery conditions, to be available to all producers. To do this, we evaluated the effects of three propagation methods (chusquín, crochet and nodal segment), three species (*Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii* and *Bambusa vulgaris*) and three substrates (atocle + rum + manure, soil + rum + manure and a substrate based on commercial inputs) in 3³ factorial arrangement established in a completely randomized design with three replications. The variables evaluated were: survival, number of shoots, height, stems diameter, leaf number, root number and main root length. Chusquines propagation was the best option to reproduce *Bambusa vulgaris* and *Guadua angustifolia*. To *Bambusa vulgaris*, multiplication by cuttings fue also a good alternative. *Bambusa oldhamii* was difficult to propagate with the methods and substrates studied. To propagate *Bambusa vulgaris* and *Guadua angustifolia*, atocle, rum and goat manure mixture was the most recommended substrate. This substrate has the added advantage of being composed by regional materials, highly available and accessible to producers.

Keywords: *Guadua*, *Bambusa*, chusquín, crochet, Substrate.

INTRODUCCIÓN

Los bambúes son plantas leñosas, perennes, macollantes o monopódicas, con rizomas bien desarrollados, que poseen cañas duras, generalmente huecas. Crecen de manera natural en regiones con climas tropicales y templados, con excepción de Europa y Asia Occidental (Judziewicz *et al.*, 1999; Marín *et al.*, 2008). En América existen 21 géneros y 345 especies (Mercedes, 2006). En México se han identificado ocho géneros y 35 especies, de las cuales 14 son endémicas (Cortés, 2000).

En México, la sobreexplotación de los bosques por la extracción indiscriminada de especies forestales y la falta o ineficacia de los programas de reforestación ha generado un constante deterioro de los recursos forestales. Ante esta situación, se requieren acciones para satisfacer la demanda de papel, pulpa y madera; así como atenuar el deterioro forestal (García-Ramírez *et al.*, 2008) y remediar en parte la problemática social del campo (Cruz-Martín *et al.*, 2007).

Actualmente, el bambú representa una alternativa forestal sostenible prometedora, por su alta importancia económica, social y cultural (Gutiérrez, 2000; Embaye *et al.*, 2005; Ramanayake, 2006). De esta especie se obtienen hasta 1500 subproductos (Kibwage *et al.*, 2008) que van desde papel hasta viviendas (Sood *et al.*, 2002). En la India se utilizan 3.2 millones de toneladas de bambú en la producción de papel (Das y Pal, 2005). En China, las exportaciones de productos y subproductos de la especie alcanzan 600 millones de dólares y el valor total de su industria se estima en 12 mil millones de dólares (Kibwage *et al.*, 2008).

En Puebla existen alrededor de 1 000 ha de bambú, que resultan insuficientes para abastecer una demanda diaria de 1 000 t diarias para la producción de papel; por lo que se requiere de una superficie mínima de 20 000 ha (Tirzo, 2008).

Por otro lado, se estima que el bambú captura desde 18.75 a 37 o 40% más CO₂ que las coníferas o eucaliptos (De León, 1987; González, 2007). Por consiguiente, produce seis veces más celulosa que el pino y hasta 40 t ha⁻¹ de biomasa por año (Kumar y Sastry, 1999). La producción de 60 ha de *Guadua* equivale a la madera de 500 ha de árboles tropicales valiosos (Liese, 1999; Daquita *et*

al., 2007). También genera cuatro veces más oxígeno que otros árboles (Franquis e Infante, 2003) y por ello se le considera como el grupo de plantas con mayor potencial en la lucha contra el cambio climático (Embaye *et al.*, 2005; Kumar *et al.*, 2005; Das y Chaturvedi, 2006; Nath y Das, 2008).

Otras ventajas del bambú consisten en que prospera en todo tipo de suelos, sirve para incorporar al cultivo terrenos sin uso, evita la erosión, rehabilita tierras degradadas y favorece la formación de microclimas para la regeneración de los bosques (Kumar y Sastry, 1999). Crece tres veces más rápido que los eucaliptos, se puede cosechar continuamente a partir del quinto año, por periodos que alcanzan desde 80 a 120 años, lo cual no es común en otras especies maderables (Kibwage *et al.*, 2008). También posee un alto valor nutritivo (Godbole *et al.*, 2002) en la alimentación humana o ganadera, así como propiedades medicinales y ornamentales (García-Ramírez *et al.*, 2007a y b).

México reúne condiciones fisiográficas y climáticas apropiadas para la propagación y producción de bambú (Rzedowski, 1981), a lo largo y ancho del país (Gib, 2005). Sin embargo, su establecimiento y explotación a gran escala y con fines comerciales está limitada por la escasez de propágulos (Godbole *et al.*, 2002), su multiplicación lenta (Sood *et al.*, 2002) y la poca disponibilidad de semilla (Yasodha *et al.*, 2008). Estas dificultades para la propagación del bambú (Gielis *et al.*, 2001; Gielis y Oprins, 2002) obligan a la búsqueda de metodologías de propagación eficientes y al alcance de los productores, que permitan restablecer y ampliar plantaciones comerciales con características genéticas conocidas (Jiménez *et al.*, 2006; Mercedes, 2006).

Por otro lado, para producir plantas de calidad en los viveros son fundamentales la disponibilidad y características de los sustratos utilizados, tales como la fertilidad, aireación, drenaje, retención de agua, densidad, etc. Estas características pueden variar significativamente entre los componentes del sustrato y de un lugar a otro, e incidir en la mezcla final (Ansorena, 1995). Las mezclas pueden prepararse con materiales orgánicos, compostas, fibras u otros productos agroindustriales (Mollitor *et al.*, 2004). Para propagar bambú se han utilizado suelo (75%) y

arena (25%) (Giraldo y Sabogal, 2007), así como humus de lombriz (80%) con zeolita (20%) (Gallardo *et al.*, 2008).

De manera convencional, el bambú se propaga principalmente por chusquines (hijuelos), que se originan en la base de las plantas a partir de yemas adventicias de los rizomas. Los chusquines emergen continuamente de manera natural, pero su velocidad se incrementa cuando el tallo (también llamado culmo) ha sido cortado. Este método de propagación es recomendable porque se tienen altos niveles de prendimiento; cada chusquín puede producir de 2 a 12 plántulas en un periodo de cuatro meses; sin embargo, está limitado por la disponibilidad de material vegetal (Gallardo *et al.*, 2008).

El rizoma del bambú es una prolongación del tallo que posee varias yemas y sirve como órgano de reserva y propagación; por ello, también se utiliza para obtener asexualmente plantas nuevas (Mercedes, 2006), a partir de fracciones de 40 a 50 cm de longitud (Catasús, 2003). El método tiene baja tasa de multiplicación y es costoso porque requiere mucha mano de obra (Gielis *et al.*, 2001).

Otro método de propagación usado en bambú, es el de estacas obtenidas de ramas laterales de plantas adultas y chusquines en desarrollo. No es muy usado en *Guadua angustifolia* porque tiene bajos porcentajes de brotación y prendimiento (Gallardo *et al.*, 2008).

Un método similar es el de segmentos nodales, que consiste en obtener fracciones pequeñas de la zona basal de los tallos. Se separan secciones de 3 a 5 cm de longitud que posean una yema axilar latente y se siembran de manera horizontal, a 3 cm de profundidad (Giraldo y Sabogal, 2007).

También se emplean segmentos de tallo de tres a cuatro años de edad, con dos o más nudos con yemas, que se cortan en segmentos de alrededor de 30 cm de longitud. Al plantarlos se debe enterrar por lo menos un nudo. El método también requiere gran cantidad de material y por lo mismo, no permite la propagación masiva (Giraldo y Sabogal, 2007).

Por lo anterior, se llevó a cabo un estudio en el que se evaluaron tres especies, tres sustratos y tres métodos de propagación de bambú, con el objetivo de desarrollar una metodología eficiente de multiplicación de esta especie, que esté al alcance de todo tipo de productores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del sitio experimental

El estudio se desarrolló en un vivero del Municipio de Chietla, Puebla; este municipio se localiza al suroeste del Estado, entre los 18°24' y 18°37' de latitud norte y los 98°31' y 98°43' de longitud oeste, su altitud media es de 1 222 msnm. Sus climas predominantes son el cálido subhúmedo con lluvias en verano [A (w0)] y el semicálido subhúmedo con lluvias en verano [ACw0], que ocupan respectivamente 92.27 y 7.73% del área. La temperatura y precipitación media anual son 24.4 °C y 816 mm (INEGI, 2005).

Factores de estudio y diseño experimental

Los factores evaluados fueron: especie [*Guadua angustifolia* (Ga), *Bambusa oldhamii* (Bo) y *Bambusa vulgaris* (Bv)]; método de propagación [chusquín (CH), por vareta (V) y por segmento nodal (SN)] y sustrato [Atocle+cachaza+estiércol (ACE), Tierra+cachaza+estiércol (TCE) y un sustrato a base de insumos comerciales (SIC)]. Estos factores se combinaron en un arreglo factorial 3³ y se establecieron en un diseño completamente al azar con tres repeticiones. La unidad experimental consistió de tres propágulos.

Establecimiento y manejo del experimento

El experimento se estableció el 29 de septiembre de 2009 y se le dio seguimiento hasta el tres de febrero de 2010. Los propágulos (chusquines, varetas y segmentos nodales) se establecieron en bolsas de polietileno negras de 30x30 cm (tres por bolsa), previamente llenas con el sustrato correspondiente. Durante este periodo se estuvo regando diariamente con una lámina de agua de aproximadamente 4 mm.

Los hijuelos o chusquines se separaron y trasplantaron directamente a las bolsas. Las varetas se obtuvieron de ramas laterales de plantas madre de tres años; su tamaño aproximado fue de 23, 30 y 15 cm en *Guadua angustifolia*, *Bambusa oldhamii* y *Bambusa vulgaris*, respectivamente; cada vareta incluyó dos nudos y una yema visible por nudo; se plantaron en forma vertical, introduciendo uno de los nudos en el sustrato. Los segmentos nodales también se obtuvieron de las plantas madres de tres años, de las cuales se tomaron secciones de 7 cm que contenían yemas axilares latentes y visibles; que se colocaron horizontalmente en el sustrato, de 2 a 3 cm de profundidad.

Características de las especies utilizadas

La especie *Guadua angustifolia* es originaria de Colombia, una vez que el cultivo está bien establecido produce tallos verdes que alcanzan de 17 a 23 m de altura y de 10 a 14 cm de diámetro, en un periodo de 4 a 6 meses (Moreno *et al.*, 2006). Los nudos son blanquecinos y poseen pubescencias pequeñas (<1mm) de color café claro en forma de banda. Produce dos tipos de hojas: las caulinares o protectoras de las yemas, presentes en los nudos de rizoma y tallo (culmo), y las hojas foliares que son verdes, simples, lanceoladas, de 15 a 20 cm de largo y de 2 a 5 de ancho. Tiene espinas en tallo y ramas (Giraldo y Sabogal, 2007).

A *Bambusa oldhamii* también se le conoce como maderable gigante; es una especie procedente de China, con tallos verdes, rectos, sin espinas, cilíndricos, huecos y divididos por diafragmas. Alcanzan hasta 25 m de altura y 10 cm de diámetro, con entrenudos de 35 a 55 cm de largo (Mercedes, 2006). En Chietla, Puebla; esta especie presenta hojas caulinares de forma triangular y láminas foliares color verde, simples, lanceoladas, de 13 a 16 cm de largo y 3 a 3.8 de ancho.

El bambú común o *Bambusa vulgaris* es una planta originaria del sur de Asia (Francis, 1993), con hojas caulinares en las primeras etapas de crecimiento y hojas foliares verdes, lanceoladas, de hasta 15 cm de largo (De León, 1987). Su tallo es de color amarillo con rayas verdes, sin espinas, muy sólido en los nudos, que alcanza 20 m de altura y diámetro de 8.5 cm (Flores *et al.*, 1998; Hernández *et al.*, 2001).

Características y preparación de los sustratos

El primer sustrato (ACE) ya se mencionó que estuvo compuesto de atocle, cachaza y estiércol caprino; en tanto que el segundo (TCE) estuvo integrado por tierra agrícola, cachaza y estiércol.

El atocle es un material regional también conocido como tierra de lama, que se obtiene de los lechos de ríos y barrancas; retiene mucha agua, es fértil y de color café; es muy utilizado para todo tipo de cultivos y plantas ornamentales. La cachaza es el residuo más importante de la industria azucarera; rica en calcio, fósforo, nitrógeno y materia orgánica, muy utilizada para corregir suelos con problemas físicos o con exceso de sales (Zérega y Adams, 1991) ya que facilita la mineralización y disponibilidad de nutrientes para los cultivos (Hernández *et al.*, 2008). El estiércol caprino es un material altamente disponible y por lo tanto muy fácil de conseguir, debido a que las cabras son la especie ganadera principal en la región. Por su parte, la tierra agrícola también se puede obtener de cualquier terreno, pero lleva consigo el riesgo de agudizar los problemas de erosión.

Para las mezclas de ACE y TCE, primero se compostaron por separado la cachaza y el estiércol. Cada material se desmenuzó hasta obtener partículas pequeñas, se agregó agua a saturación y se cubrió con plástico por 20 días. Al término de este periodo se repitió el proceso por otros 20 días, para posteriormente preparar las mezclas correspondientes.

El tercer sustrato (SIC) es utilizado comercialmente en viveros de la región y se integra principalmente de insumos industriales en la siguiente proporción: turba (0.1614 m^3), agrolita (0.1 m^3), tierra agrícola (40 litros), biofertilizante natural con bacterias de rizosfera 3.4.3 (1.5 kg), fertilizante granulado (12-12-17+2) azul (1.5 kg), inoculante soluble para prevenir enfermedades de la raíz (18 ml) e inoculante de hongos micorrizantes utilizado para sustratos comerciales de propagación masiva de plantas en contenedor (36 ml).

Algunas características físicas de los sustratos utilizados, determinadas en el laboratorio de análisis de suelos del Colegio de Postgraduados se resumen en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Características físicas de los sustratos utilizados para la propagación de especies de bambú por distintos métodos.

Características	Sustratos		
	ACE	TCE	SIC
Saturación (% de humedad)	78.60	105.20	276.00
Densidad aparente ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	1.10	0.88	0.26
Densidad real ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$)	2.14	2.05	1.07
C. hidráulica (cm h^{-1})	6.29	8.56	45.10
Porosidad total (%)	55.00	68.00	73.00
Capacidad de aireación (%)	3.00	3.00	10.00
Retención de humedad (%)	52.00	66.00	63.00

ACE:Atocle+cachaza+estiércol de caprino. TCE:Tierra de suelo agrícola+cachaza+estiércol caprino. SIC: Sustrato con ingredientes comerciales.

Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron: supervivencia (SPV); número de hijuelos (NH); altura (AL), diámetro del tallo (DI), número de hojas (NHA), número de raíces (NR) y longitud de la raíz principal del primer hijuelo (LR).

La supervivencia se empezó a medir a los ocho días. A partir de entonces, cada semana se cuantificó el número de propágulos vivos.

El número de hijuelos y hojas se registraron de igual manera en periodos semanales, conforme fueron apareciendo, a partir de los 23 y 51 días después del trasplante, respectivamente.

El número de raíces y longitud de la raíz principal, se cuantificaron y midieron, respectivamente, al final del experimento. Para la medición de la longitud de la raíz principal (desde el cuello hasta la punta), se utilizó una cinta métrica de 1.5 m de longitud.

La altura se midió de la base del tallo hasta el último nudo. El diámetro del tallo se midió con un vernier digital, a la mitad de su longitud.

Análisis estadístico

Para este análisis sólo se consideraron los datos de la última medición, realizada a los 136 días después de establecido el experimento. Se realizaron análisis de varianza y comparaciones de medias (Tukey $P \leq 0.05$), con el paquete Statistical Analysis System versión 9.0 (SAS, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el análisis de varianza del porcentaje de supervivencia se encontró significancia para método de propagación (MP), especie (SP), sustrato (ST) y las interacciones MPxSP y MPxST. En número de hijuelos, hojas y longitud de raíces, sólo hubo significancia para MP y SP. Para altura y diámetro del tallo, los efectos significativos se encontraron en MP, SP y MPxSP; mientras que en el número de raíces lo fueron para MP y SP (Cuadro 9).

Cuadro 9. Análisis de varianza del efecto de método de propagación (MP), especie (SP) y sustrato (ST) en la supervivencia (SPV), número de hijuelos (NH), número de hojas (NHA), altura (AL), diámetro (DI), número de raíces (NR) y longitud de raíz (LR) de propágulos de bambú, 136 días después de establecidos.

F. de V.	G.L.	Cuadrados Medios						
		SPV	NH	NHA	AL (cm)	DI (mm)	NR	LR (cm)
MP	2	30129.9 ^{***}	11.7 ^{***}	195.9 ^{***}	2894.8 ^{***}	26.6 ^{***}	160.0 ^{***}	4078.0 ^{***}
SP	2	17305.2 ^{***}	7.5 ^{***}	80.2 [*]	940.8 [*]	6.9 [*]	56.3 ^{NS}	1369.5 [*]
ST	2	2088.6 [*]	0.0 ^{NS}	4.2 ^{NS}	79.8 ^{NS}	0.4 ^{NS}	21.5 ^{NS}	252.4 ^{NS}
MPxSP	4	15356.2 ^{***}	2.3 ^{NS}	29.7 ^{NS}	774.9 [*]	5.7 [*]	65.2 [*]	668.4 ^{NS}
MPxST	4	5650.3 [*]	0.5 ^{NS}	4.0 ^{NS}	32.0 ^{NS}	1.6 ^{NS}	17.9 ^{NS}	198.0 ^{NS}
SPxST	4	2686.4 ^{NS}	0.1 ^{NS}	8.2 ^{NS}	146.2 ^{NS}	1.1 ^{NS}	26.9 ^{NS}	239.1 ^{NS}
MPxSPxST	8	5865.1 ^{NS}	0.9 ^{NS}	9.8 ^{NS}	156.9 ^{NS}	0.0 ^{NS}	27.2 ^{NS}	559.3 ^{NS}
Error	54	438.7	1.2	17.9	258.0	2.1	19.7	412.4

NS: no significativa; (*) $P \leq 0.05$, (**) $P \leq 0.01$ y (***) $P \leq 0.001$.

Porcentaje de supervivencia

El análisis de varianza señala significancia para MP, SP y ST, pero sólo se hace referencia a las interacciones que los involucran.

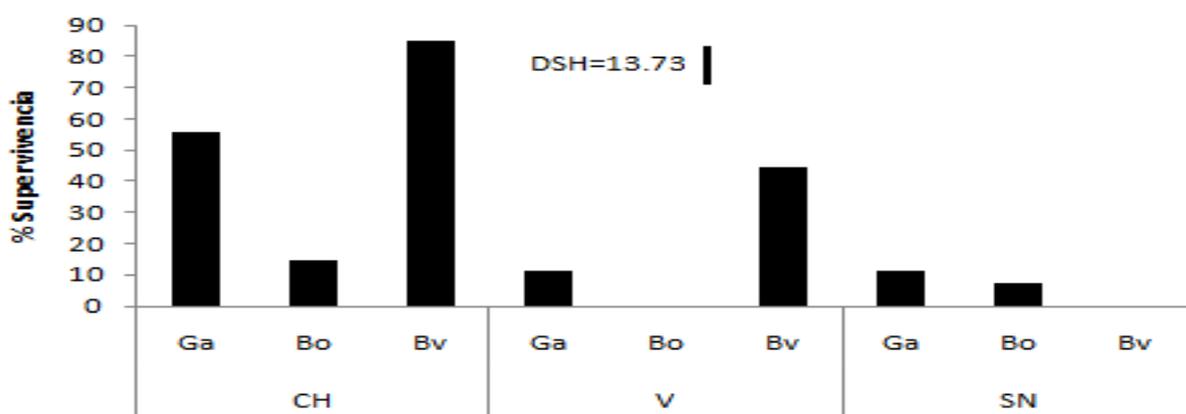


Figura 9. Interacción método de propagación por especie en los porcentajes de supervivencia de propágulos de bambú. CH: Chusquín. V: Vareta. SN: Segmento nodal. Ga: *Guadua angustifolia*. Bo: *Bambusa oldhamii*. Bv: *Bambusa vulgaris*. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los mayores porcentajes de supervivencia (85%) se obtuvieron en las plantas propagadas por chusquín de *Bambusa vulgaris*, seguido de *Guadua angustifolia*; y de *Bambusa vulgaris* multiplicada por vareta; las tres, estadísticamente diferentes entre sí (Figura 9).

Al respecto, Giraldo y Sabogal (2007) y Gallardo *et al.* (2008) coinciden al señalar que el mejor método de propagación de *Guadua angustifolia* es por chusquines. El hecho de que en general la propagación por chusquines sea la mejor, se debe a que se establece una planta completa, que por lo tanto ya tiene ventajas desde el establecimiento respecto a los otros métodos, menos viables porque provienen de fragmentos de ramas (Kapoor y Rao, 2006) más propensos a la oxidación de las yemas, que puede provocar la muerte del material vegetativo (Ndiaye *et al.*, 2006). Adicionalmente Francis (1993) señala que el chusquín de *Bambusa vulgaris* aparte del sistema radical posee un rizoma bulboso que le confiere otra ventaja.

Los resultados obtenidos por Vela (1982), quien señala que el mejor método de propagación de *Bambusa vulgaris* es por varetas con una o dos yemas visibles, porque tiene mayor capacidad de enraizamiento que otras especies (Francis, 1993), coincide sólo parcialmente con lo aquí encontrado.

La interacción MPxST (Figura 10) indica que la mayor supervivencia (74%) ocurrió con el sustrato ACE en los propágulos propagados por chusquín, estadísticamente diferente del resto de combinaciones. La propagación por chusquines en los otros sustratos se asoció con niveles de sobrevivencia mayores de 37%; estadísticamente iguales entre sí, pero superiores a sus demás combinaciones comparables.

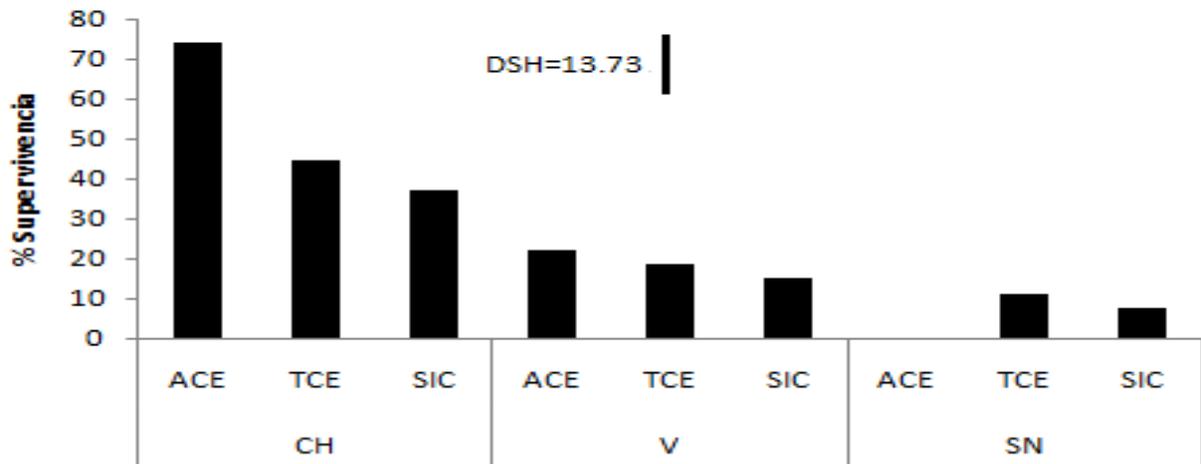


Figura 10. Interacción método de propagación por sustrato en los porcentajes de supervivencia de propágulos de bambú. CH: Chusquín. V: Vareta. SN: Segmento nodal. ACE: Atocle+cachaza+estiércol caprino. TCE: Tierra de uso agrícola+cachaza+estiércol caprino. SIC: Sustrato a base de ingredientes comerciales. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Estos resultados confirman que en general el mejor método convencional para propagar bambú es por chusquines (Giraldo y Sabogal, 2007) pero se debe considerar que los resultados varían entre especies y por efecto del sustrato utilizado; que según (Cabrera, 1999) su densidad aparente óptima es menor a $0.4 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$; con 20 a 30% de retención de humedad (De Boodt *et al.*, 1974). En este estudio, las propiedades físicas de los sustratos difieren sustancialmente de lo antes indicado; pero hay que tomar en cuenta que tal vez otras propiedades físicas o químicas (que no se analizaron), hayan sido fundamentales para determinar el comportamiento observado.

En ese sentido, Morales (2009) indica que el atocle, es un sustrato ideal para todo tipo de cultivos. Por otro lado la materia orgánica proporcionada por la cachaza y el estiércol caprino debe tomarse en cuenta, por su aportación y conservación de sustancias húmicas y nutrientes (Abad y Noguera, 2000; Juárez *et al.*, 2007), que seguramente contribuyen a crear condiciones óptimas para la propagación de plantas en las mezclas que las contienen, como en este caso y en otros (Acosta y Medina, 2005).

Por lo anterior, en la propagación por chusquín; de *Bambusa vulgaris* y *Guadua angustifolia*, el uso de de la mezcla ACE parece ser la mejor opción. La misma mezcla es la más prometedora para la propagación de *Bambusa vulgaris* por vareta. Una ventaja adicional de la mezcla es que se compone de materiales de la región, altamente disponibles y al alcance de todo tipo de productores.

Número de hijuelos

La propagación de bambú por chusquines también resultó la que produjo el mayor número de hijuelos (1.29), significativamente diferentes de los otros dos métodos (Figura 11a). Entre especies *Guadua angustifolia* y *Bambusa vulgaris* resultaron estadísticamente iguales entre sí, pero superiores a *Bambusa oldhamii* (Figura 11b).

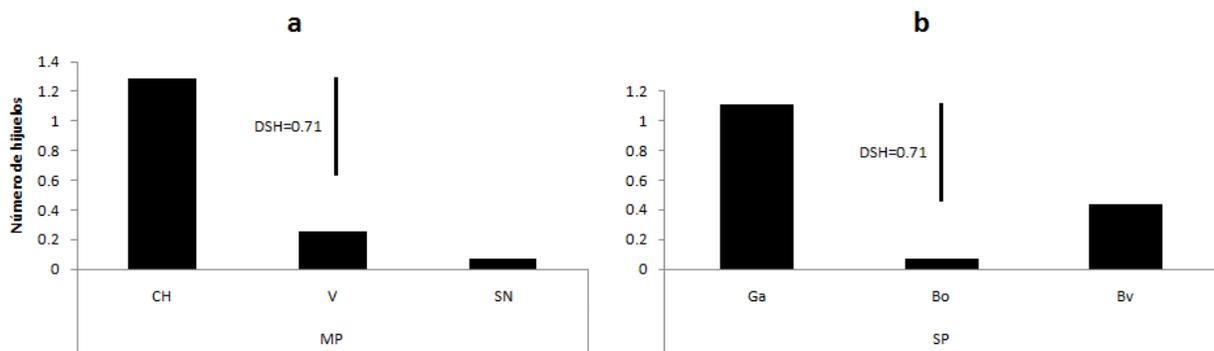


Figura 11. Efecto del método de propagación (a) y la especie (b) en el número de hijuelos de bambú. CH: Chusquín. V: Vareta. SN: Segmento nodal. Ga: *Guadua angustifolia*. Bo: *Bambusa oldhamii*. Bv: *Bambusa vulgaris*. MP: Método de propagación. SP: Especie. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Nuevamente, el comportamiento sobresaliente de la propagación por chusquines está relacionado con la consideración que hace Catasús (2003) de que son plantas completas y por tanto aventajan a los otros métodos que primero tienen que brotar, aproximadamente de 20 a 40 días después de plantados (Giraldo y Sabogal, 2007). Las diferencias encontradas entre especies resaltan la necesidad de considerar otras variables aparte de la supervivencia, para definir la mejor forma de propagación convencional de bambú.

Número de hojas del primer hijuelo

En esta variable, las respuestas hacia los métodos de propagación y la especie fueron similares al caso anterior: el número de hojas del primer hijuelo en las plantas propagadas por chusquin fue significativamente mayor que las de las multiplicadas por vareta (4.29 hojas) o segmento nodal (4.96 hojas), estadísticamente iguales entre sí (Figura 12a). Con relación a la cantidad de hojas de los chusquines, los resultados difieren de los encontrados por Giraldo y Sabogal (2007), quienes señalan que a los 60 días de plantados deben tener de 10 a 12 hojas y estar listos para establecerse en el lugar definitivo; a diferencia de las varetas, que necesitan permanecer de 20 a 24 meses en el vivero para poder trasplantarse (Hasan *et al.*, 1976). Entre especies, *Guadua angustifolia* también superó en número de hojas (3.85) a *Bambusa vulgaris* (1.6) y *Bambusa oldhamii* (3.45), aunque las diferencias resultaron significativas únicamente respecto a la última (Figura 12b).

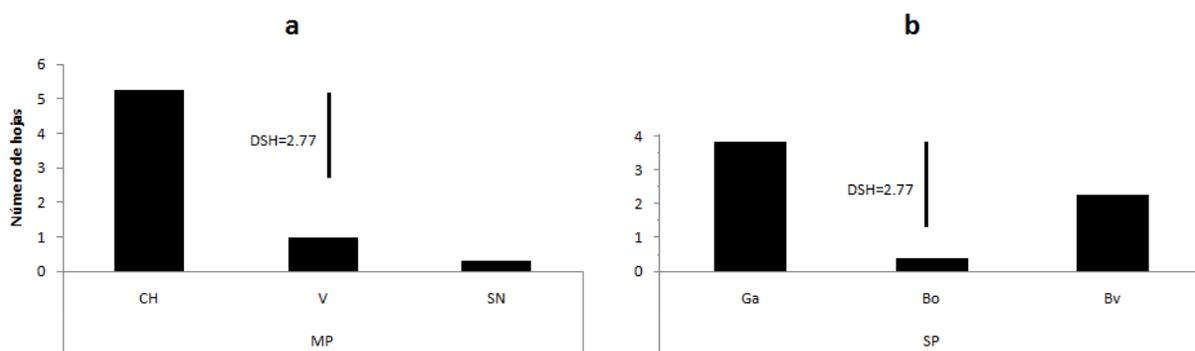


Figura 12. Efecto del método de propagación –MP- (a) y la especie –SP- (b) en el número de hojas del primer hijuelo de propágulos de bambú. CH: Chusquin. V: Vareta. SN: Segmento nodal. Ga: *Guadua angustifolia*. Bo. *Bambusa oldhamii*. Bv. *Bambusa vulgaris*. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Altura y diámetro del primer hijuelo

El desarrollo en altura y diámetro del primer hijuelo respecto al método de propagación y especie fue similar (Figura 13a y b), los valores más altos (34 cm y 3.21 mm, respectivamente) correspondieron las plantas de *Bambusa vulgaris* propagadas por chusquín, seguidas de las de *Guadua angustifolia*, también multiplicadas por chusquín (22 cm y 2.0 mm, respectivamente), las cuales resultaron estadísticamente iguales entre sí, pero diferentes al resto de combinaciones en altura; pero diferentes entre ellas y con relación a las demás en diámetro.

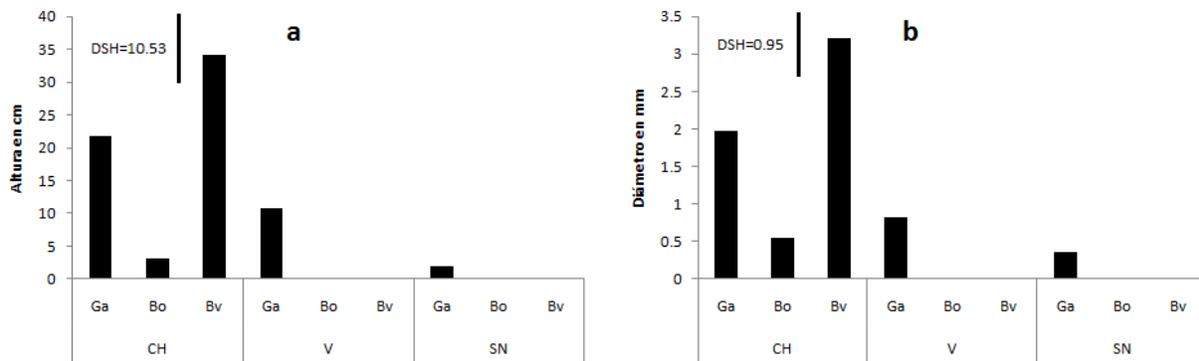


Figura 13. Interacción método de propagación por especie en la altura (a) y diámetro (b) del primer hijuelo de propágulos de bambú. CH: Chusquin. V: Vareta. SN: Segmento nodal. Ga: *Guadua angustifolia*. Bo: *Bambusa oldhamii*. Bv: *Bambusa vulgaris*. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Lo anterior confirma la estrecha relación que existe entre la altura y el diámetro del tallo en los vegetales, motivo por el cual la segunda variable se usa frecuentemente como indicadora del vigor de la planta. Las diferencias encontradas en *Guadua* con relación al método de propagación ya fueron explicadas anteriormente. El desarrollo rápido de *B. vulgaris* ya fue señalado por D'Esezarte y Goszczyński (2005) y Chaturvedi (1988) quien, menciona que esta especie crece hasta de 20 cm diarios; en cuanto al diámetro, *B. vulgaris* alcanza 8.15 cm (Chaturvedi, 1988); *B. oldhamii* cinco (Catasús, 2003) y *Guadua* de cuatro a seis en los primeros tres a cuatro años (Giraldo y Sabogal, 2007). Lo anterior confirma que *B. vulgaris* es la especie más vigorosa de las tres estudiadas.

Número de raíces del primer hijuelo

En la Figura 14 se muestra que la cantidad de raíces del primer hijuelo fue estadísticamente mayor (9.44) en las plantas de *B. vulgaris* procedentes de chusquin, respecto a las de todas las demás combinaciones de método de propagación y especie.

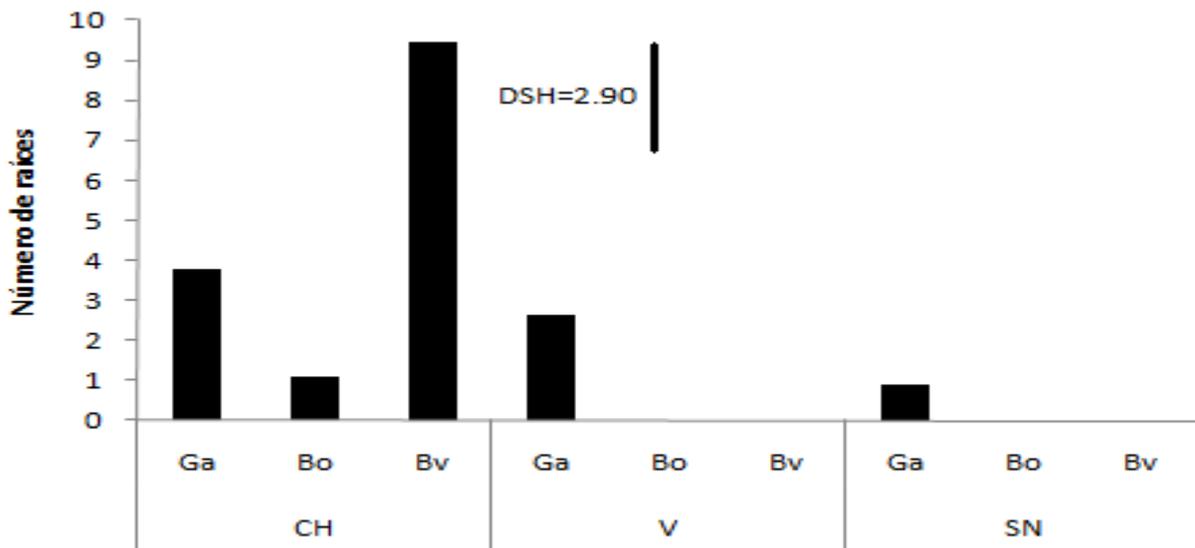


Figura 14. Interacción método de propagación por especie en el número de raíces del primer hijuelo de bambú. Ga: *Guadua angustifolia*. Bo: *Bambusa oldhamii*. Bv: *Bambusa vulgaris*. CH: Chusquin. V: Vareta. SN: Segmento nodal. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

Para el caso de las plantas propagadas por chusquín, los resultados confirman que *B. vulgaris* tiene alta capacidad de producir rizomas visibles y gran cantidad de raíces (Francis, 1993). Este comportamiento también puede deberse a que en los vegetales existe una relación entre el desarrollo de la raíz y la parte aérea; pues debe recordarse que esta especie es la más vigorosa y como tal, a mayor crecimiento del tallo, se espera que tenga más raíces. Respecto a la escasa cantidad de raíces en plantas propagadas por vareta o segmento nodal en las tres especies, las diferencias están claramente asociadas con las desventajas que ya se mencionaron que tienen estos métodos respecto al de chusquín. Finalmente, la poca o nula cantidad de raíces producidas por *Bambusa oldhamii*, propagado por cualquiera de los tres métodos, que también se asoció con bajos porcentajes de supervivencia y desarrollo escaso de la parte aérea; indica que esta especie es muy difícil de propagar, al menos con los métodos y sustratos aquí estudiados.

Longitud de la raíz principal del primer hijuelo

Como ha sido casi una constante, las plantas propagadas por chusquín también se asociaron con la mayor longitud de raíces (24.57 cm), significativamente diferentes de las registradas con los otros métodos (Figura 15 a). Entre especies (Figura 15 b), las raíces de *G. angustifolia* y *Bambusa vulgaris* con 16.55 y 12.18 cm, respectivamente, resultaron estadísticamente iguales entre ellas, aunque en este caso la segunda también resultó similar a *Bambusa oldhamii*.

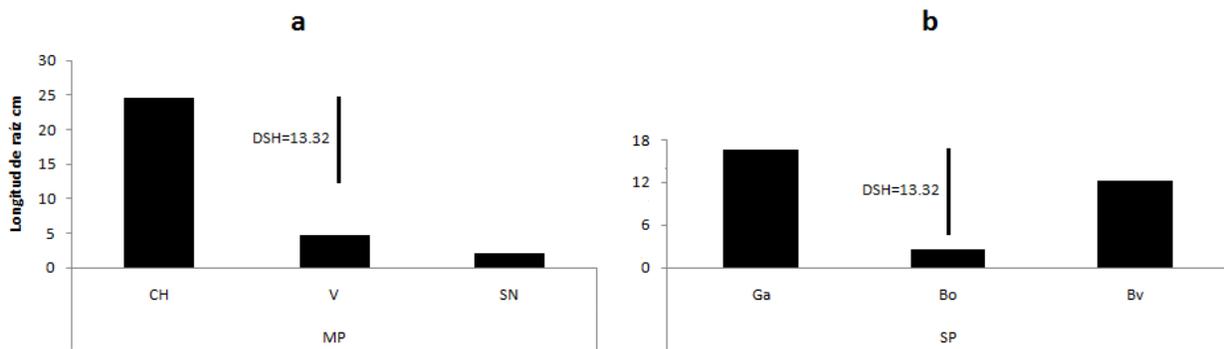


Figura 15. Efecto del método de propagación (a) y la especie (b) en la longitud de raíz del primer hijuelo de bambú. MP: Método de propagación. CH: Chusquin. V: Vareta. SN: Segmento nodal. SP: Especie. Ga: *Guadua angustifolia*. Bo: *Bambusa oldhamii*. Bv: *Bambusa vulgaris*. DSH: Diferencia significativa honesta (Tukey, $P \leq 0.05$).

La superioridad de la propagación por chusquines respecto a los otros métodos se ha mencionado reiteradamente. Con relación a las diferencias entre especies; se confirma que las características genéticas de cada una son determinantes para responder diferencialmente a distintas condiciones ambientales y de manejo (Marín *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

Con base en la respuesta de las variables evaluadas, la propagación por chusquines es la mejor opción para reproducir *Bambusa vulgaris* y *Guadua angustifolia*.

Para *Bambusa vulgaris*, la multiplicación por estacas también es una buena alternativa.

La propagación por segmento nodal se debe excluir en condiciones similares a las del presente trabajo.

Bambusa oldhamii es muy difícil de propagar, con los métodos y sustratos estudiados.

Para propagar *Bambusa vulgaris* y *Guadua angustifolia*, la mezcla de atocle, cachaza y estiércol caprino es el sustrato más recomendable; pues tiene la ventaja adicional de estar compuesto por materiales regionales, altamente disponibles y al alcance de todo tipo de productores.

CAPÍTULO III. DISCUSIÓN GENERAL

Para asegurar el abasto de plantas de bambú que se requieren para el establecimiento de plantaciones comerciales, se necesita contar con métodos eficaces y rápidos de propagación de las especies de interés. Por ello, el propósito del trabajo fue probar nuevas alternativas de propagación de tres especies de bambú, para lo cual se desarrollaron dos estudios: uno relacionado con la propagación *in vitro* y otro con la convencional.

Para la propagación *in vitro* de bambú, la desinfección exitosa de los explantes ha sido muy difícil; en segmentos nodales la contaminación llega hasta 100%. La muerte repentina de los explantes durante el establecimiento es atribuida a múltiples causas (Hernández *et al.*, 2001; Marulanda *et al.*, 2002; Jiménez *et al.*, 2006; Freire *et al.*, 2008). Además, Cruz-Martín *et al.* (2007) señalan que todavía no se cuenta con metodologías (protocolos) eficientes para disminuir la presencia de microorganismos contaminantes en el establecimiento del cultivo *in vitro*. En ese sentido, la identificación de los hongos contaminantes de plantas madre y de explantes permite diseñar estrategias apropiados de control (Acosta-Suárez *et al.*, 2008).

En el primer estudio, con 150 mL L⁻¹ de NaClO comercial, los niveles de contaminación disminuyeron significativamente; pero en un lapso de 2 días (al pasar de 5 a 7) todos los porcentajes se incrementaron de igual manera. Es importante señalar que el mismo tratamiento en experimentos posteriores dio resultados inconsistentes; esto debe considerarse junto con la velocidad con que los patógenos dañan los materiales, lo cual crea la necesidad de mejorar las técnicas de desinfección en el establecimiento *in vitro*.

La detección casi constante de al menos tres tipos de hongos (de micelio blanco, rosáceo y ocre) en las especies estudiadas de bambú, después de desinfectarse con distintos métodos, demuestra que el bambú coexiste con hongos endófitos que limitan el establecimiento del cultivo *in vitro*. Acosta-Suárez *et al.* (2008) en el establecimiento de *Guadua angustifolia* y *B. vulgaris* identificaron nueve géneros, entre ellos *Fusarium* y *Alternaria*. Las infestaciones fueron de mayor a menor para los hongos con micelio blanco (53%), rosado (40%) y ocre (7%). Entre fungicidas, pareció que Mancozeb controló mejor a los hongos con micelio rosado y ocre, en

tanto que Benomyl y Tiabendazol lo hicieron con los de micelio blanco. Acosta-Suárez *et al.* (2008) mencionan que Benomyl (5 g L⁻¹), Tebuconazol más Triadimenol (2.0 ml L⁻¹), Mancozeb pH 80 (5 g L⁻¹) y Oxiclورو de Cobre (2.0 ml L⁻¹) controlan los nueve géneros que identificaron, lo cual difiere de lo encontrado en este trabajo. Por otro lado, en el medio líquido el crecimiento de los hongos rosáceo y ocre fue menor; en tanto que en el sólido desarrolló menos el hongo blanco.

La presencia de hongo de micelio blanco fue menor en *Guadua angustifolia* a pH 6 y 7 ($\leq 33\%$), estadísticamente igual a los niveles registrados en *Bambusa vulgaris* a pH 6 (33%) y *Bambusa oldhamii* a pH 7 (45%). En el caso del hongo con micelio ocre las infestaciones fueron muy bajas (<10%) en *Bambusa oldhamii* y *Bambusa vulgaris* en las tres condiciones de pH, estadísticamente iguales a las de *Guadua angustifolia* a pH 6.5. Esto explica que las especies responden diferente al ataque de los hongos y que el pH del medio de cultivo modifica el crecimiento de éstos. Agrios (1985) y Ayala (2004) mencionan que alteraciones en el pH reducen el crecimiento de otros hongos.

Los menores índices de contaminación por hongos de micelio blanco (0%) se obtuvieron en *Guadua angustifolia* con Azoxystrobin y *Bambusa vulgaris* con Azoxystrobin y Quintoceno, todas a pH 6. Como puede observarse, el desarrollo del mismo hongo es afectado por la especie, el fungicida y el pH del medio. Respecto a los explantes vivos con brote; los mayores porcentajes (75%) se obtuvieron en *Bambusa vulgaris* con Azoxystrobin a pH 6. Esto señala que es indispensable abatir la contaminación para incrementar la sobrevivencia y brotación de los explantes.

Los hongos identificados como agentes contaminantes del establecimiento *in vitro* de las especies en estudio fueron: *Alternaria* sp., *Fusarium roseum* y *Fusarium solani*. Los mejores productos para el control del primero fueron Azoxystrobin, Mancozeb, Sulfato Tribásico de Cu y Clorotalonil, productos que también controlan al tizón del tomate; además, Azoxystrobin disminuye la contaminación de *A. alternata* en *A. chysanthemi* (Loredo, 1994; Mónaco *et al.*, 2001; Gastélum y Gálvez, 2002; Villanueva *et al.*, 2005). El mejor control de *Fusarium roseum* se logró con Benomyl y Tiabendazol, resultados similares a los encontrados por Jiménez (2007),

Negrete (2007) y Sánchez (2008) quienes inhibieron a *Fusarium* sp. con los mismos fungicidas. Para controlar *Fusarium solani* los fungicidas más efectivos resultaron Tiabendazol, Mancozeb y Benomyl, como en el estudio de Acosta-Súarez *et al.* (2008) para controlar *Fusarium* en bambú. Por lo anterior, para abatir la contaminación durante el establecimiento del cultivo *in vitro* es importante utilizar los fungicidas identificados y aplicarlos desde la preparación de las plantas madre, en la desinfección de explantes y como parte del medio de cultivo.

Con relación al segundo estudio, ante el desconocimiento o escaso dominio de las técnicas de propagación convencional de bambú por parte de los productores de la Mixteca Poblana, el objetivo fue proporcionar alguna alternativa eficiente y al alcance de los productores para multiplicar masivamente este grupo de especie. Entre los hallazgos más importantes del estudio se pueden mencionar los siguientes:

De acuerdo con el comportamiento de las variables evaluadas, la propagación por chusquines es la mejor opción para reproducir *Bambusa vulgaris* y *Guadua angustifolia*. Para *Bambusa vulgaris*, la multiplicación por estacas también es una buena alternativa. La superioridad de la propagación por chusquines respecto a los otros métodos se ha mencionado reiteradamente (Francis, 1993; Ndiaye *et al.*, 2006). Pues se establece una planta completa que ya tiene ventajas desde el establecimiento respecto a los otros métodos, menos viables porque provienen de fragmentos de ramas (Kapoor y Rao, 2006). Con relación a las diferencias entre especies; se confirma que las características genéticas de cada una son determinantes para responder diferencialmente a distintas condiciones ambientales y de manejo (Marín *et al.*, 2008).

Con relación al sustrato, la mejor mezcla para propagar *Bambusa vulgaris* y *Guadua angustifolia* tanto por chusquín como por vareta fue la compuesta por atocle, cachaza y estiércol caprino (ACE). Morales (2009) indica que el atocle, es un sustrato ideal para todo tipo de cultivos. Por otro lado la materia orgánica proporcionada por la cachaza y el estiércol caprino debe tomarse en cuenta, por su aportación y conservación de sustancias húmicas y nutrientes (Abad y Noguera, 2000; Juárez *et al.*, 2007), que seguramente contribuyen a crear condiciones óptimas para la propagación de plantas en las mezclas que las contienen, como en este caso y en otros (Acosta y Medina, 2005). Según (Cabrera, 1999) el sustrato ideal debe tener densidad aparente menor a 0.4

$\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$; con 20 a 30% de retención de humedad (De Boodt *et al.*, 1974). En este estudio, las propiedades físicas de la mezcla ACE difieren sustancialmente de lo antes indicado; pero hay que tomar en cuenta que tal vez otras propiedades físicas o químicas (que no se analizaron), hayan sido fundamentales para determinar el comportamiento observado. Por lo tanto, para la propagación por chusquines de *Bambusa vulgaris* y *Guadua angustifolia* (o por vareta de *Bambusa vulgaris*) se recomienda el uso de esta mezcla pues tiene una ventaja adicional, que se compone de materiales de la región, altamente disponibles y al alcance de todo tipo de productores.

CAPÍTULO IV. PROPUESTA DE UNA ESTRATEGIA PARA DESARROLLAR EL CULTIVO DEL BAMBÚ EN LA MIXTECA POBLANA

Antecedentes

En el estado de Puebla existen 2 000 ha de bambú en barrancas y orillas de ríos de manera natural; pero esta superficie es insuficiente para satisfacer una demanda diaria de 1 000 t para la producción de papel, para lo cual se requieren por lo menos 20 000 ha (Tirzo, 2008).

Los productores de bambú de Puebla están integrados a seis organizaciones con 250 elementos y 800 ha distribuidas en 22 municipios de las cuatro regiones potenciales para el cultivo del bambú (Norte, Nororiental, Sierra Negra y Mixteca); de las 800 ha, a la fecha sólo se aprovechan 150. En la región Mixteca se encuentra la organización denominada “Pioneros Mixtecos”, que posee 130.8 ha distribuidas los municipios de Acatlán de Osorio, Coayuca de Andrade, Chiautla de Tapia, Chietla, Jolalpan, Tehuitzingo, Teotlalco y Tulcingo del Valle (González, 2011).

El cultivo y aprovechamiento a gran escala de las especies de bambú de interés comercial están limitados por diversas causas, entre ellas: a) la insuficiente disponibilidad de plantas de vivero e invernadero en cantidad y calidad para abastecer la demanda; b) la escasa o deficiente difusión del cultivo; c) el desconocimiento de los adelantos sobre su cultivo y mercado, por la mayoría de los actores; d) la baja productividad del eslabón primario; e) la producción a baja escala que limita su comercialización fuera del estado; f) la baja calidad de los productos obtenidos; g) los limitados recursos económicos de los productores; y, h) la ausencia de financiamiento y aseguramientos (González, 2011).

Por otro lado, a semejanza de lo encontrado por Díaz *et al.* (1999), el agricultor de la Mixteca también carece de capital, posee poca tierra, usa tecnología tradicional, obtiene bajos niveles de producción, destina la producción de básicos al autoconsumo, vive apegado a sus tradiciones y está poco expuesto a la comunicación y a la situación externa de la comunidad.

Factibilidad del cultivo del bambú en la Mixteca Poblana

El cultivo de bambú es factible en la Mixteca Poblana porque esta región posee condiciones ecológicas requeridas por esta gramínea, 900 a 1 600 m.s.n.m., temperaturas promedio de 20 a 26 °C (Giraldo y Sabogal, 2007) y precipitaciones de 1 100 a 2 100 mm anuales. En este caso aunque la precipitación puede ser insuficiente de acuerdo con algunos autores, los bordes y lechos de barrancas, arroyos y ríos, donde la humedad persiste durante gran parte del año, pueden destinarse para este fin, ya que el tipo de suelo no es ninguna limitante (Das *et al.*, 2008). Otros aspectos que favorecen su cultivo, son: en la región existe una considerable extensión de tierras sin uso (4 663 km²) que pueden ser utilizadas para el cultivo, y para realizar las actividades que demanda el proceso productivo se puede incorporar a la población que no trabaja (2 082) y la que si trabaja pero no percibe ningún salario (21 379) (Semarnat-Colegio de Postgraduados, 2003).

Estrategia propuesta

El concepto de estrategia, en sentido amplio, no existe como un término totalmente aceptado. Sin embargo, en este trabajo se considera como una guía de las acciones que hay que seguir para lograr un objetivo, y que, obviamente, es anterior a la elección de cualquier otro procedimiento para actuar (Nisbet, 1991). El concepto también se refiere a cómo resolver los problemas y por lo tanto, se debe diseñar para el futuro (Mintzberg, 1988). De acuerdo con Díaz *et al.* (1999), la estrategia debe abordarse desde adentro de su núcleo de acción, no desde afuera o desde arriba, para propiciar una dinámica de desarrollo regional.

A partir de la conceptualización, para revertir en parte la problemática del agricultor de la Mixteca Poblana, la presente propuesta estratégica tiene como objetivo: promover el cultivo del bambú en dicha región para diversificar la producción, disminuir el deterioro ambiental, contribuir a generar ingresos y al bienestar de los habitantes.

Para la elaboración de esta estrategia se tomaron como base los trabajos de Díaz *et al.* (1999), Domínguez y Aguilar (1999) y el de García-Herrera *et al.* (2004). De acuerdo con estos autores, para su implementación, se requiere la participación coordinada de tres grupos de actores: a)

productores, b) técnicos, y c) instituciones involucradas o interesadas en el desarrollo del cultivo, cada uno con funciones específicas (Figura 16). Gran parte del éxito dependerá de la coordinación de todos y del cumplimiento de las funciones, para reflejarse en lo económico, lo social y lo ecológico.

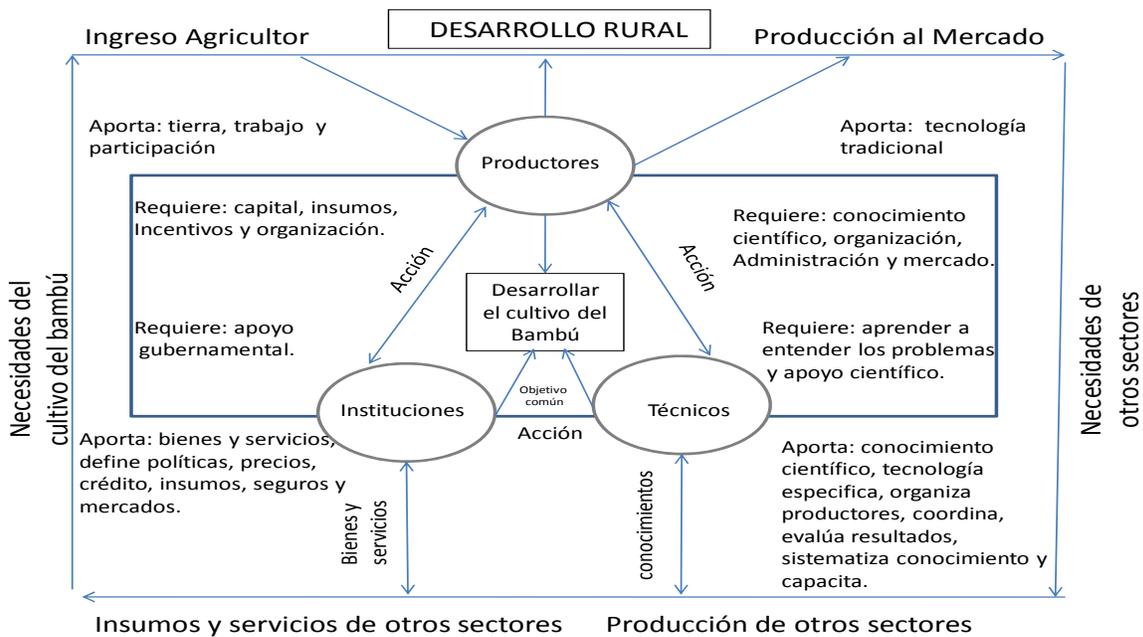


Figura 16. Estrategia para desarrollar el cultivo del bambú en la Mixteca Poblana (adaptado de Jiménez *et al.*, 1979).

Elementos de la estrategia

a) Coordinación. Este elemento consiste en la acción de conectar medios, acciones y esfuerzos para una acción común. Por lo tanto, se requiere de una institución con capacidad de convocatoria para los actores (productores-instituciones-técnicos) y que maximice las posibilidades de servicios ya institucionalizados, tanto privados como públicos. Estos atributos los reúne el Distrito de Desarrollo Rural No. 6 de Izúcar de Matamoros (DDR), por lo que se sugiere que esta institución sea quien coordine las acciones de los actores para desarrollar algunos de los elementos de la estrategia.

b) Organización de productores. Es el proceso social cualitativo cuyo objetivo y fin en sí mismo es el desarrollo económico y social de los productores como base del desarrollo rural. Es el aspecto más importante por ser el instrumento que facilita los cambios en lo técnico, en lo económico y en lo institucional (Rondot y Collión, 2001). En la implementación y operación del cultivo del bambú, van a definir los requerimientos del cultivo, las capacidades técnicas necesarias para desarrollar las actividades productivas, la disponibilidad de acceso a los servicios mínimos para aumentar la producción (suministro de recursos, procesamiento de la producción, comercialización, entre otros) y distinguir las habilidades necesarias para: aceptar las innovaciones; optimizar sus recursos, mejorar la relación costo beneficio; mejorar su control sobre los medios de producción y tomar parte activa en la planeación y ejecución del programa para desarrollar el cultivo. Se propone recurrir al DDR, al Gobierno del Estado y a las instituciones interesadas por contar con los técnicos y éstos apoyados en los lineamientos de las instituciones y programas gubernamentales se puede acceder a los servicios que ofertan, en este caso para la organización legal de los productores.

c) Financiamiento. Es el conjunto de recursos monetarios para llevar a cabo una actividad económica, con la característica de que generalmente se trata de sumas tomadas a préstamo que complementan los recursos propios. En este caso, se requiere para acopiar insumos, bienes y servicios, infraestructura básica, manejo de plantaciones e incursionar en la investigación, entre otros. Para atender estas exigencias, existen en el estado de Puebla: Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA), Programa de Apoyo para el Establecimiento de Plantaciones Forestales Comerciales de la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR), Opciones Productivas de la Secretaría de Desarrollo Social, Programa para la Adquisición de Activos Productivos, Programa de Inducción y Desarrollo del Financiamiento al Medio Rural (PIDEFIMER), Programa de Uso Sustentable de Recursos Naturales para la Producción Primaria, Programa de Fortalecimiento a la Organización Rural (ORGANÍZATE), Programa de Apoyos a la Agricultura por Contrato, Programa de Apoyos para Acceder al Sistema Financiero Rural, Programa de fortalecimiento a la cadena del bambú y presidencias municipales (ramo 33). Para dar cumplimiento a este elemento se sugiere que se lleva a cabo a través de los especialistas técnicos del DDR, Sistema Producto Bambú, instituciones educativas y regidores de presidencias municipales. Primeramente éstos deberán realizar un padrón de las fuentes de financiamiento

disponibles para que hagan llegar las inquietudes de financiamiento de los productores y éstas a través de su personal técnico y cumplimiento de los lineamientos asignen los recursos económicos en cantidad y oportunidad.

d) Investigación. Se refiere a la búsqueda intencionada del conocimiento o de soluciones a problemas de carácter científico. El cultivo del bambú demanda la generación de conocimiento y tecnologías sobre métodos de propagación, manejo de viveros, densidad de plantas, adaptación de especies comerciales, control de plagas y enfermedades, requerimientos hídricos, cosecha, manejo de plantaciones, transformación, diseño de vivienda, muebles y artesanías, resistencia de materiales, preservación, secado, y comercialización, con bases experimentales a fin obtener formas de trabajo más operacionales y eficientes. Esto pudiera estar bajo la responsabilidad del personal técnico del DDR, sistema producto, instituciones educativas, viveros y laboratorios particulares. Por ser actores con facultades para seleccionar el personal con experiencia en proyectos de investigación, espacios factibles para desarrollarla y priorizar los procesos, que aseguren el éxito de este elemento.

e) Difusión y divulgación. La difusión se refiere al intercambio de conocimientos entre personas agrupadas por intereses específicos y la divulgación es una función social que sirve para acortar la distancia entre el público y los expertos. La información obtenida de la investigación en las parcelas, laboratorio y viveros, deberá hacerse llegar a los tres actores, a través de folletos, la radio local (sistema de información y comunicación del estado de Puebla), cursos de capacitación, parcelas demostrativas, giras de intercambio tecnológico y de las experiencias exitosas. Esta actividad puede ser responsabilidad de los técnicos, misma que permitirá retroalimentar a los actores y mantenerlos motivados durante todo el proceso productivo del bambú.

f) Comercialización. Es un conjunto de actividades desarrolladas con el objetivo de facilitar la venta de un producto, es decir, se ocupa de aquello que los clientes desean. Con esta actividad se busca establecer canales de comercialización atractivos que ofrezcan precios aceptables al momento de las ventas del producto. Por lo cual, es primordial que se generen los mecanismos necesarios para formalizar la comercialización local y estatal, de material vegetativo (planta de

vivero) y la producción de culmos o tallos en tiempo y forma, ya sea en la plantación, o en centros comerciales, a particulares, artesanos o en el centro de acopio. Ésta debe estar en función de un análisis de las necesidades de los consumidores, a qué cantidad de consumidores se pretende llegar, cuántos pueden estar vendiendo lo mismo en los próximos años, el precio que los consumidores estarán dispuestos a pagar por los productos, definir la promoción que más alcance tenga, la competencia a que estaremos enfrentando en un futuro, entre otras. Esta actividad se propone que se realice a través de los especialistas de que se disponga en las diferentes Instituciones o que el Sistema Producto Bambú pudiera contratar.

g) Industrialización. Conjunto de procesos que tienen como finalidad transformar las materias primas en productos elaborados, de forma masiva. Con una visión a corto plazo se debe considerar que los productores deben pasar de abastecer materia prima (mal pagada) a productores de la construcción (vivienda, muebles, artesanía), del vestido, alimentos, medicinas, forraje, captura de carbono, entre otros. A ser ellos, para que de manera organizada acaparen su producción, la preserven y transformen en sus miles de productos que ofrece el bambú y establecer los mecanismos para ingresar al mercado de bonos por captura de carbono para atenuar por una parte el deterioro ambiental y por la otra, ampliar el abanico de oportunidades de venta. Se sugiere llevar a cabo a través de personal contratado por el sistema producto del país y del extranjero si fuera necesario. Por ser una actividad que requiere de incorporar el diseño industrial en los productos, determinar características y tecnificación de la industria de la transformación.

h) Infraestructura. Se precisa como el conjunto de elementos necesarios para que una actividad se desarrolle efectivamente. Con este elemento se busca satisfacer los requerimientos básicos de infraestructura que demanda el cultivo del bambú, como: construcción de viveros, centros de acopio para la preservación y transformación del bambú (laminados, muebles y artesanía), hornos para secado, cortadoras de esterilla, maquinas especializadas para la preservación y hacer reglilla para paneles de vivienda, talleres de carpintería, bodegas, asoleaderos, maquinaria para la elaboración de papel y laboratorios de biotecnología para actividades específicas como la propagación de especies comerciales y nativas del bambú por la técnica *in vitro*. Se propone que sea a través de personal especializado del país como del extranjero contratado por el Gobierno del Estado y el Sistema Producto Bambú, para evitar pérdidas de recursos y tiempos en el

abastecimiento del equipamiento y construcción de los espacios necesarios para desarrollar el cultivo.

i) Abastecimiento de insumos. Se entiende como la obtención de algún bien consumible para producir otro bien. Esta acción permite tener todos aquellos materiales necesarios (planta de vivero, fertilizantes, sustratos, herramientas, equipo para manejo de la plantación y otros) para abastecer todo el proceso productivo del cultivo; desde el establecimiento hasta la industrialización. Esta actividad se sugiere que la realice el personal técnico del DDR, instituciones educativas, regidores de presidencias municipales y del sistema producto. Solamente si se requiere de insumos para la transformación del bambú en productos de mayor valor agregado (pisos, paneles) como maquinaria importada de China, India y Colombia, entonces sería necesario el apoyo de personal extranjero que puede ser contratado por el Gobierno del Estado a través de algunas de sus dependencias.

j) Evaluación. Es un proceso que tiene como finalidad determinar el grado de eficacia y eficiencia, con que han sido empleados los recursos destinados a alcanzar los objetivos, posibilitando las desviaciones y la adopción de medidas correctivas que garanticen el cumplimiento de las metas. Ésta se deberá realizar a través de un departamento de evaluación y llevarla a cabo, como lo señala Domínguez y Aguilar (1999), que sea en forma paralela a la ejecución de los planes para tener oportunidad de hacer las correcciones en su momento; es importante disponer de la información acerca de lo que está sucediendo en la realidad y así estar en condiciones de determinar si se está alcanzando y en qué grado el objetivo y las metas formuladas en el plan de trabajo. A fin de que los resultados obtenidos de ésta, permitan retroalimentar a todos los elementos de la estrategia.

Condiciones necesarias para su funcionamiento

Para un adecuado funcionamiento de la estrategia y de acuerdo con Jiménez *et al.* (1979), deben procurarse ciertas condiciones necesarias para generar un ambiente propicio de operación: a) un ambiente de políticas favorables al mejoramiento de la agricultura a niveles de gobierno local, estatal y federal, b) interés de los productores para mejorar la producción de sus cosechas c)

interés y capacidad del personal técnico para la operación eficaz del proyecto y d) disponibilidad de bienes y servicios para impulsar la producción agrícola.

En Puebla existe interés por el cultivo del bambú desde el año 2005 del Gobierno Estatal, de instituciones y sectores que tienen alguna participación en los procesos del bambú (INIFAP, FONAES, CONAFOR, FIRA, Fundación PRODUCE Puebla). Esto favorece a la implementación del cultivo porque estas autoridades poseen aquellos elementos de información y conocimientos indispensables para ejercer acciones ejecutivas encaminadas a la resolución de la problemática de los procesos del cultivo.

A nivel local los productores, el DDR, instituciones educativas, presidencias municipales y auxiliares, mantienen un interés especial por el cultivo del bambú, porque se ha convertido en una alternativa interesante de producción para enfrentar los vulnerables rendimientos que viven los productores rurales.

Aunque se dispone de personal técnico no es suficiente y requiere de cierta especialización. Para ello, a través de los programas de apoyo al cultivo y el Gobierno del Estado se pueden contratar técnicos y a instructores que ofertan capacitación especializada dirigida a organizaciones de productores y al personal de las instituciones.

Cualquier actividad productiva requiere de elementos externos para garantizar la competitividad de la actividad económica. Por el momento, en la Mixteca no se dispone de infraestructura básica para desarrollar el cultivo del bambú. Sin embargo, existen los mecanismos para promover desde los productores hasta el Gobierno del Estado a través del DDR y las instituciones que participan en los diferentes procesos, la gestión de: viveros, laboratorios, centros de acopio y transformación del bambú. De acuerdo con esto se concluye que si es factible la implementación de esta estrategia para desarrollar el cultivo del bambú en la Mixteca.

Contribución del trabajo realizado a esta estrategia

Con la aplicación de los resultados obtenidos en la fase del establecimiento *in vitro* del bambú, se pretende establecer en el corto plazo las bases de la técnica *in vitro* porque a partir de un pequeño segmento inicial de tejido es posible regenerar en poco tiempo miles de plantas iguales a la planta madre. En la Mixteca, sería de gran utilidad por ser una tecnología de punta que permitiría el abastecimiento de planta de diferentes especies de bambú que demandan las plantaciones. Así como, difundirla en las instituciones y organizaciones de productores que cuenten con la infraestructura para el desarrollo de la técnica.

Por otro lado, la aplicación de lo obtenido en la propagación convencional del bambú, intenta ser una opción a la propagación *in vitro*, que en el corto plazo puede contribuir a la producción de planta. Además, es una tecnología hecha a las condiciones de cualquier productor de la Mixteca que desee producir su propia planta ya que usa materiales muy económicos y de la región. También, puede retomarse en la capacitación de productores y técnicos por haberse desarrollado de manera muy sencilla, barata y en condiciones de la región, por lo tanto debe difundirse apoyándose en las instituciones interesadas como un hecho central o primordial en la implementación del cultivo.

LITERATURA CITADA

- Abad B., M. y P. Noguera M. 2000. Los sustratos en los cultivos sin suelo, pp: 137-183. *In:* Manual de Cultivo sin Suelo. Urrestarazu G., M. (Ed.). Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Acosta R., D. y R. Medina M. 2005. La cachaza como sustrato para la producción de plantas de *Eucalytus* en vivero de tubetes [En línea]. Cuba. ISBN 959-250-156-4. Disponible en: www.dama.gov.co.
- Acosta-Suárez, M.; Y. Alvarado, M. Cruz, M. Leiva y L. Delgado. 2005. Micobiota epífita y contaminantes fungosos del establecimiento *in vitro* de *Eucalyptus grandis* Revista Manejo Integrado de Plagas y Agroecología 75: 60-63.
- Acosta-Suárez, M.; Y. Alvarado-Capó, M. Cruz-Martín, M. Leiva-Mora, C. Sánchez-García, Berkis Roque, E. Quiala, Maité Chávez, F. Jiménez-Terry, Mariana la O, R. Barbón, R. Collado, Mayelín Rodríguez, M. De Feria, Ivan Borroto, Martha Pérez. 2009. Micobiota de plantas donadoras y hongos filamentosos contaminantes del establecimiento *in vitro* de cinco especies forestales. Biotecnología Vegetal 9: 99 – 103.
- Acosta-Suárez, M.; Y. Alvarado-Capó, M. Cruz-Martín, R. Berkis, C. Sánchez-García, M. Leiva-Mora, M. Freire-Seijo, Y. García-Ramírez, Z. Pérez, T. Salabarría, M. Tejeda, M. González y O. Hurtado. 2008. Micobiota de plantas donadoras y contaminantes fúngicos del establecimiento *in vitro* de especies de bambúes. Biotecnología vegetal 8: 57-61
- Agrios, G. 1985. Fitopatología. Limusa. México. 756 p.
- Ansorena, J. 1995. Propiedades físicas de los sustratos. Chile Agrícola, 20: 217-218.
- Ayala, R. D. M. 2004. Etiología de la mancha foliar de la *Cyca* (*Cyca revoluta* Beed). Tesis Profesional, Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 51 p.
- Barnett, H. L. and B. B. Hunter. 1972. Illustrated genera of imperfect. Third Edition. Euges Publishing Company. 241 p.
- Borges G., M.; C. Ros A., Y. Castellanos R., S. Milanés R. y R. Velásquez F. 2004. Efecto de diferentes métodos de desinfección en el establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia* Kunth. Biotecnología Vegetal 4: 237 – 242.
- Cabrera I., R. 1999. Propiedades, uso y manejo de sustratos de cultivo para la producción de plantas en maceta. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 5-11.

- Castañeda M., A. 2004. Acumulación de carbono y productividad primaria neta en una plantación de *Bambusa oldhamii* en Huatusco, Ver. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 60 p.
- Catasús G., L. 2003. Estudio de los bambúes arborescentes cultivados en Cuba. Ministerio de Relaciones Exteriores de la República de Cuba. 56 p.
- Chaturvedi, A. N. 1988. Management of bamboo forests. *Indian Forester*. 114: 489-495.
- Cortés R., G. R. 2000. Los bambúes nativos de México. *CONABIO. Biodiversidad* 30: 12 – 15
- Cruz-Martín, M.; Y. García-Ramírez, C. Sánchez-García, Y. Alvarado-Capó, M. Acosta-Suárez, B. Roque, M. Leiva-Mora y M. Freire-Seijo. 2007. Identificación y control de *Bacillus* sp., contaminante del establecimiento *in vitro* de *Guadua angustifolia* Kunth. *Biología Vegetal* 7: 9 – 13
- D' Esazarte L., E. y T. J. Goszczyński D. 2005. Adaptabilidad de bambú en el estado de Veracruz. Primer congreso mexicano del bambú. Xalapa, Veracruz. 112 p.
- Dalal, M. A.; B. B. Sharma and R. M. Srinivasa. 1992. Studies on stock plant treatment and initiation culture mode in control of oxidative browning *in vitro* cultures of grapevine. *Scientia Horticulture* 51: 35-41.
- Daquita, M.; A. Gregori, M. Cid, Y. Lezcano y F. Sagarra. 2007. Formación de callos e inducción de brotes a partir de tejido intercalar de ramas de plantas adultas de *Guadua angustifolia* Kunth. *Biología Vegetal* 7: 119 – 122.
- Das, D. K. and O. P. Chaturvedi. 2006. *Bambusa bamboos* (L.) Voss plantation in eastern India: I. Culm recruitment, dry matter dynamics and carbon flux. *J. Bamboo Rattan* 5: 47–49.
- Das, M. and A. Pal. 2005. *In vitro* regeneration of *Bambusa balcooa* Roxb.: Factors affecting changes of morphogenetic competence in the axillary buds. *Plant Cell Tiss Organ Cult.* 81: 109-112.
- Das, M.; S. Bhattacharya, P. Singh, T. Figueiras and A. Pal. 2008. Bamboo Taxonomy and Diversity in the Era of Molecular Markers. *Advances in Botanical Research* 47: 225-267.
- De Boodt, M.; O. Verdonck and I. Cappaert. 1974. Method for measuring the water release curve of organic substrates. *Acta Horticulturae*. 37: 2054-2062.
- De León, J. 1987. Botánica de los Cultivos Tropicales. Costa Rica: IICA, 1987, c1968. *XXT* (Colección de libros y Materiales Educativos/IICA; No. 84: 445 p.

- Díaz C., H.; L. Jiménez S., R. L. Laird y A. Turrent F. 1999. El Plan Puebla 25 años de experiencia: 1967-1992. Análisis de una estrategia de desarrollo de la agricultura tradicional. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 174 p.
- Dix, N. J. and J. Webster. 1995. *Fungal Ecology*. Chapman & Hall. Londres. 549 p.
- Domínguez T., T. y A. Aguilar A. 1999. Elementos de estrategia para el desarrollo agrícola en una unidad de riego en el Estado de Veracruz, México. *TERRA Latinoamericana* 17: 355-360.
- Doungporn, M.; K. Hiroko and S. Tatsuji. 2007. Molecular diversity of bamboo-associated fungi isolated from Japan *FEMS Microbiology Letters* 266: 10–19.
- Embaye, K.; M. Weih, S. Ledin and L. Christersson. 2005. Biomass and nutrient distribution in a highland bamboo forest in southwest Ethiopia: implications for management. *For. Ecol. Manag* 204: 159–169.
- Eriksson, O. E. and J. Z. Yue. 1998. Bambusicolous pyrenomycetes, an annotated check-list. *Myconet* 1: 25-78.
- Flores, M. L.; M. Montiel L. y M. Musmani Q. 1998. Propagación y desarrollo de cuatro variedades de bambú en condiciones de campo. *Revista de Biología Tropical* 46: 36-40.
- Francis, J. K. 1993. *Bambusa vulgaris* Schrad ex Wendl. Common bamboo. SO-ITF-SM- 65. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 6 p.
- Franquis, F. y A. Infante. 2003. Perspectivas del bambú en América Latina y en Venezuela. *For. Lat.* 33: 1-10.
- Freire S., M.; Y. García R., M. Tejada, G. Gallardo C., L. Fajardo R., M. Cruz, C. Sánchez G., Y. Álvaro C., M. Acosta S., B. Roque y M. Leiva M. 2008. Empleo de la biotecnología en la propagación *in vitro* de especies de bambú. *In: Segundo Congreso Mexicano de Bambú*. Puebla, México. 1-7 p.
- Gallardo, J.; M. Freire, J. León, Y. García, S. Pérez y M. González. 2008. Comportamiento en la brotación de las yemas de estacas de *Guadua angustifolia* Kunth empleadas en la propagación. *Cultivos tropicales*. 29: 17-22.
- García-Herrera, E. J.; B. Peña O., N. Estrella Ch., F. Manzano R. y R. Delgado W. 2004. Componentes de una estrategia para el desarrollo agrícola regional en Pinos, Zacatecas: El

- nopal tunero como su elemento central. Comunicaciones en Socioeconomía, Estadística e Informática 8: 83-102.
- García-Ramírez, Y.; M. Freire-Seijo, L. Fajardo, M. Tejeda y M. Reyes. 2007b. Establecimiento *in vitro* de yemas axilares de *Bambusa vulgaris* var Vittata. Biotecnología Vegetal 7: 155 – 159.
- García-Ramírez, Y.; M. Freire-Seijo, M. Tejeda y M. Reyes. 2007a. Germinación *in vitro* de semillas de *Dendrocalamus strictus* (Rosb.) Nees. Biotecnología Vegetal 7: 41 – 44.
- García-Ramírez, Y.; M. Freire-Seijo, M. Tejeda y M. Reyes. 2008. Formación de callos de *Dendrocalamus strictus* (Rosb.) Ness a partir de semillas. Biotecnología vegetal 8:31-34.
- Gastélum R., F. y C.A. Gálvez F. 2002. Control del moho negro, *Alternaria alternata* (Fr.:Fr) en el fruto de tomate (*Lycopersicon esculentum* MILL.) considerando unidades calor y variables ambientales para la aplicación . Revista Mexicana de Fitopatología 20: 72-76.
- Gib, C. 2005. El bambú: su importancia en la ecología y la conservación de las especies nativas. Primer congreso mexicano del bambú 8, 9 y 10 de diciembre del 2005 Xalapa de Enríquez, Veracruz de Ignacio de la Llave México. 112 p.
- Gielis, J. and J. Oprins. 2002. Micropropagation of temperate and tropical woody bamboos— from biotechnological dream to commercial reality. *In: Bamboo for sustainable development. Proceedings of the Vth International Bamboo Congress and the VIth International Bamboo Workshop, San Jose, Costa Rica.* pp 333–344.
- Gielis, J.; H. Peeters, K. Gillis, J. Oprins and P. C. Debergh. 2001. Tissue culture strategies for genetic improvement of bamboo. *Acta Hortic.* 552: 195–203.
- Giraldo H., E.; y A. Sabogal. 2007. Una alternativa sostenible: la Guadua técnicas de cultivo y manejo. Corporación Autónoma del Quindío C.R.Q. Tercera edición e impreso en Colombia. 192 p.
- Godbole, S., A. Sood, R. Thakur, M. Shama and P. S. Ahuja. 2002. Somatic embryogenesis and its conversion into plantlets in a multiplurpose bamboo. *Dendrocalamus hamiltonii* Nees et Arn. Ex Munro. *Current science.* 83: 885-889.
- González P., G. 2007. Características y usos del bambú. Acción Agraria. Lima, Perú. 45 p.
- González D., L. S. J. 2011. Plan rector del comité sistema producto bambú Puebla Asociación Civil. 47 p.

- Gutiérrez J., A. 2000. Structural adequacy of traditional bamboo housing in Latin America. Technical Report No. 19. International Network for Bamboo and Rattan, Beijing. 112 p.
- Hasan, S. M.; J. Skoupy and E. Vaclav. 1976. Recent trends in bamboo growing and use in Bangladesh. *Silvaecultura Tropica et Subtropica*. 5: 59-69.
- Hassan, A. A. E. and P. Debergh. 1987. Embryogenesis and plantlet development in the bamboo *Phyllostachys viridis* (Young) McClure. *Plant Cell Tiss Org Cult* 10: 73–77.
- Hernández M., G. I.; S. Salgado G., D. J. Palma L., L. del C. Lagunes E., M. Castelán E. y O. Ruiz R. 2008. Vinaza y composta de cachaza como fuente de nutrientes en caña de azúcar en un gleysol mólico de Chiapas, México. *Interciencia*. 33: 855 – 860.
- Hernández S., A.; A. Gatica A. y M. Guerrero. 2001. Establecimiento *in vitro* de *Bambusa vulgaris* (Bambú amarillo). Instituto Tecnológico de Costa Rica, Centro de investigación en biotecnología. 1-24 p.
- Hidalgo, J. 1974. Bambú: Su cultivo y aplicación. Estudios Técnicos Colombianos Ltda. Cali, Colombia. 315 p.
- Huang, L. C.; B. L. Huang and W. L. Chen. 1989. Tissue culture investigations of bamboo—IV. Organogenesis leading to adventitious shoots and plants in excised shoot apices. *Environ Exp. Bot.* 29: 307–315.
- Huang, L. C.; Y. L. Lee, B. L. Huang, C. I. Kuo and J. F. Shaw. 2002. High polyphenol oxidase activity and low titratable activity in browning bamboo tissue culture. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 38: 358–365.
- INEGI. 2005. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Integración territorial del estado de Puebla. Segundo conteo de población y vivienda.
- Jiménez C., M. G. 2007. Etiología y control químico *in vitro* de la pudrición radical en Ginger (*Alpinia purpurata* K. Schum). Tesis Profesional, Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 39 p.
- Jiménez S., L.; M. Gómez, J. F. Escobedo y N. Estrella. 1979. Antecedentes, conceptualización, avances y perspectivas del Centro de Enseñanza Investigación y Capacitación para el Desarrollo Agrícola Regional. Unidad Puebla, Documento Interno. Colegio de Postgraduados, Puebla México. 128 p.

- Jiménez V., M.; J. Castillo, E. Tavares, E. Guevara y M. Montiel. 2006. *In vitro* propagation of the neotropical giant bamboo, *Guadua angustifolia* Kunth, through axillary shoot proliferation. *Plant Cell Tiss Organ Cult* 86: 389–395.
- John, K., and N. R. Rajanis. 1999. Review *in vitro*-induced flowering in bamboos. *In vitro Cellular and Developmental Biology Plant* 35: 309-315.
- Juárez, D. R., G. Fragoso C., A. Turrent F., A. Sandoval C., R. Ferreras C., I. Ocampo F. y J. Ocampo M. 2007. Manejo de la diversidad biológica del suelo en sistemas agroforestales. *In: López Olguín, J.F., Aragón García, A. y Tapia Rojas, A.M. (Comp.), Avances en Agroecología y Ambiente. Vol. 1 (pp. 227-249). Puebla, México: BUAP.*
- Judziewicz, E. J.; L.G. Clark, X. Londoño and M. J. Stem. 1999. *American bamboos. Smithsonian Institution Press. Washington D. C., Washington, Estados Unidos. 392 p.*
- Kapoor, P. and I.U. Rao. . 2006. *In vitro* induction and plantlet formation from multiple shoots in *Bambusa bambos* var. *gigantea* Bennet and Gaur by using growth regulators and sucrose. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 85:211-217*
- Kibwage, J. K.; J. A. J. Oondo and G.M. Momanyi. 2008. Structure and performance of formal retailmarket for bamboo products in Kenya. *Scientific Research and Essay* 3: 229-239.
- Koshy, K. C. and B. Gopakumar. 2005. An improvised vegetative propagation technique for self-incompatible bamboos. *Curr. Sci.* 89: 1474-1476.
- Kumar, A. y C. B. Sastry. 1999. “INBAR Red internacional del Bambú y el Ratán. Los productos forestales no madereros y la generación de ingresos. *Unasylva* 50: 48-53.
- Kumar, B. M.; G. Rajesh and K. G. Sudheesh. 2005. Aboveground biomass production and nutrient uptake of thorny bamboo [*Bambusa bambos* (L.) Voss] in the homegardens of Thrissur, Kerala. *J. Agricultura tropical* 43: 51–56.
- Layseca T., M.; S. Monreal R. y J. Fernández M. 1996. Plantaciones forestales comerciales. *Cuadernos Agrarios* 14: 16-24.
- Liese, W.1999. Bamboo: Past-Present Future. *American Bamboo Society Newsletter* 20: 1-7
- Lin, C. S. and W. C. Chang. 1998. Micropropagation of *Bambusa edulis* through nodal explants of field-grown culms and flowering of regenerated plantlets. *Plant Cell Rep* 17: 617–620
- Lloyd, G. and B. McCown. 1981. “Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture”, en: *Proc.Int.Plant.Prop.Soc.*30, pág.421-437

- Loredo A., R. 1994. Control Químico en papa de las enfermedades: tizón temprano *Alternaria solani* (Ellis y Martín) Jones y Grout y tizón tardío *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary, en la región del valle de Zamora, Mich. Tesis Profesional, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 40 p.
- Manzur, D. 1988. Propagación vegetativa de *Guadua angustifolia* Kunt. *Agronomía*. 2: 14-19.
- Marín, Ch. D.; Y. Guédez and L. Márquez de H. 2008. *Guadua* (*Guadua angustifolia* Kunth) and bamboo (*Bambusa vulgaris* Wendland) plantations in San Javier, Yaracuy state, Venezuela. I. Climate and litterfall. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 25: 261-285.
- Marulanda M., L.; L. G. Gutiérrez y M. del P. Márquez. 2005. Micropropagación de *Guadua angustifolia* Kunth. *Actual Biol.* 27: 5-15.
- Marulanda M., L.; M. Carvajalino, C. Vargas y X. Londoño. 2002. La biotecnología aplicada al estudio y aprovechamiento de la *Guadua*. Seminario - Taller Avances en la investigación sobre *Guadua* Pereira, mayo 16-17 y 18. pp: 1-5p.
- Mercedes J., R. 2006. Cultivo del Bambú. Guía Técnica. Centro para el Desarrollo Agropecuario y Forestal, Inc. CEDAF. Santo Domingo, República Dominicana. 37p.
- Mintzberg, H. 1988. Las Cinco Ps de la Estrategia. *In*: El proceso estratégico; conceptos, contextos y casos. Mintzberg H. y Q. Brian. (Editores). Prentice Hall, México. pp: 21-30
- Mollitor, H.; A. Faber, R. Marutzky and S. Springer. 2004. Peat substitute on the basis of recycled wood chipboard. *Acta Horticulturae* 644: 123-130.
- Mónaco, C.; A. Nico, M. Rollán y M. Urrieta. 2001. Efecto *in vitro* de dos fungicidas sobre la micoflora antagonista al tizón temprano del tomate. *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* 16: 325-332.
- Morales E., M. 2009. Clasificación y uso del suelo. Mi Axochiapan. Consultado en: http://www.miaxochiapan.com/aspectos_geograficos_2.html el 15 de febrero de 2010.
- Moreno M., L. E.; L. R. Osorio y E. E. Trujillo de los R. 2006. Estudio de las propiedades mecánicas de haces de fibra de *Guadua angustifolia*. *Ingeniería y Desarrollo*. Universidad del Norte. 20: 125-133.
- Mroginski, L.; P. Sansberro y E. Flaschland. (2004) Establecimiento de cultivos de tejidos vegetales. Parte V Métodos de propagación y conservación de germoplasma. *In*: Echenique, V, Rubinsten C y Mroginski L (Eds) *Biotecnología y Mejoramiento Vegetal*, pp: 35-42, editorial INTA Buenos Aires.

- Muñoz F., M.; E. Guevara B. y M. Montiel L. 1998. Regeneración *in vitro* del bambú gigante *Dendrocalamus giganteus* (Poaceae). *Revista de Biología Tropical* 46: 50–56.
- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiology plant.* 15: 473-479.
- Nadgauda, R. S.; V. A. Parasharami and A. F. Mascarenhas. 1990. Precocious flowering and seeding behavior in tissue cultured bamboos. *Nature* 344: 335–336.
- Nath, A. J. and A. K. Das. 2008. Bamboo resources in the homegardens of Assam: A case study from Barak Valley. *J. Trop. Agric.*, 46: 58–61.
- Ndiaye, A.; M. S. Diallo, D. Niang and Y. K. Gassama-Dia. 2006. *In vitro* regeneration of adult trees of *Bambusa vulgaris*. *African Journal of Biotechnology*. 5: 1245-1248.
- Negrete G., R. 2007. Etiología y control químico *in vitro* de la pudrición radical en heliconia (*Heliconia wagneriana* Petersen). Tesis Profesional, Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 48 p.
- Nisbet, J. 1991. Investigación reciente en estrategias de estudio y el enseñar a pensar. En MONERO, C. (comp.). Enseñar a pensar a través del currículum escolar. Barcelona: Calsals/COMAP: 11-19.
- Pence, V. C. 2005. *In vitro* collecting (IVC). 1. The effect of collecting method and antimicrobial agents on contamination in temperate and tropical collections. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 41: 324–332.
- Ramanayake, S. M. S. D. 2006. Flowering in bamboo: an enigma. *Cey. J. Sci. (Bio. Sci.)* 35: 95-105.
- Ramanayake, S. M. S. D.; V. N. Meemaduma and T. E. Weerawardene. 2006. *In vitro* shoot proliferation and enhancement of rooting for the large-scale propagation of yellow bamboo (*Bambusa vulgaris* Striata). *Scientia Hortic.*, 110: 109-113.
- Ramanayake, S. M. S. D.; W. A. V. R. Wanniarachchi, and T. M. A. Tennakoon. 2001. Axillary shoot proliferation and *in vitro* flowering in an adult giant bamboo, *Dendrocalamus giganteus* wall. Ex Munro. *In vitro cell. Dev. Biol.-Plant* 37: 667-671.
- Rondot, P. y M. H. Collion. 2001. Organizaciones de productores agrícolas: Su contribución al fortalecimiento de las capacidades rurales y reducción de la pobreza— informe de un seminario realizado en la ciudad de Washington, del 28 al 30 de junio de 1999. RDV, Banco Mundial, Washington. 80 p.

- Rzedowski, J. 1981. Vegetación de México. Editorial Limusa. México. 432 p.
- S. D. R., 2005. Presentación del programa estatal del bambú. Programa estatal de fortalecimiento a la cadena de bambú. 24 p.
- Sánchez L., J. L. 2008. Etiología y control químico *in vitro* del agente causal de la mancha foliar en orquídea, “Oreja de burro” *Oncidium cavendishianum* Bateman Y “Flor de muerto” *Laelia autumnalis* Lindl. Tesis Profesional, Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 42 p.
- Sánchez L., L. M. 2008. Influencia de la zanja trinchera en el estado hídrico y de crecimiento en reforestación del área de Perote, Ver. Tesis de Maestría, Postgrado Forestal, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 58 p.
- SAS Institute, (2004) SAS/STAT User’s Guide. Release 9 Edition. Cary, NC. USA.
- Semarnat-Colegio de Postgraduados. 2003. Evaluación de la degradación del suelo causada por el hombre en la República Mexicana. Escala 1:250,000. Memoria Nacional. México 2001-2002, México. 83 p.
- Shirin, F. and P. K. Rana. 2007. *In vitro* plantlet regeneration from nodal explants of field-grown culms in *Bambusa glaucescens* Willd. Plant Biotechnol Rep 1: 141-147.
- Sood, A.; P. S. Ahuja, M. Sharma, O. P. Sharma and S. Godbole. 2002. *In vitro* protocols and field performance of elites of an important bamboo *Dendrocalamus hamiltonii* Ness et Arn. Ex Munro. Plan cell, Tissue and Organ Culture 71: 55-63.
- Tirzo, I. 2008. Producen poblanos “oro verde” en la sierra norte. El Sol de Puebla. Consultado en: <http://www.oem.com.mx/elsoldepuebla/notas/n598226.htm> el 11 de junio de 2009.
- Toussoun, T. A. and P. E. Nelson. 1976. *Fusarium* a Pictorial Guide to the Identification of *Fusarium* species According to the Taxonomic System of Snyder and Hansen, Pennsylvania USA. 43 p.
- Vela, G. L. 1982. Los bambúes. Boletín Técnico No. 50. Instituto nacional de investigaciones forestales. Secretaría de agricultura y recursos hidráulicos. México, D.F. 2ª. Edición. 38 p.
- Villa Issa, M. R. 2005. Marco conceptual y metodológico para el diseño de políticas públicas para el campo. El caso del estado de Puebla. Colegio de Postgraduados, Campus Puebla-Colegio de Ingenieros Agrónomos de México A.C., Sección Puebla. 317 p.
- Villanueva, C. E., M. A. Sánchez B., J. Cristóbal A., E. Ruiz S. y J. M. Tún S. 2005. Diagnóstico y alternativas de manejo químico del tizón foliar (*Alternaria chrysanthemi* Simmons y

- Crosier) del crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) kitamura en Yucatán, México. Rev. Mex. Fitopatol. 23: 49-56.
- Wu, J. H.; M. J. Chung and S. T. Chang. 2005. Green color protection of bamboo culms using one-step alkali pretreatmentfree process. J. Wood Sci. 51: 622-627.
- Yasodha, R., S. Kamala, S.P. Anand Kumar, P. Durai Kumar and K. Kalaiarasi. 2008. Effect of glucose on *in vitro* rooting of mature plants of *Bambusa nutans*. Scientia Horticulturae. 116: 113-116.
- Zérega, L. y M. Adams. 1991. Efecto de la cachaza y el azufre sobre un suelo salino-sódico del estado Carabobo bajo condiciones de invernadero. FONAIAP -Estación Experimental Yaracuy. Yaritagua. Venezuela. 9: 110-126.
- Zhou, D. Q. and K. D. Hyde. 2001. Host-specificity, host-exclusivity and host-recurrence in saprobic fungi. Mycological Research 105: 1449-1457.
- Zhou, D. Q. and K. D. Hyde. 2002. Fungal succession on bamboo in Hong Kong. Fungal Diversity 10: 213-227.