

**UNIVERSIDAD DE SANTIAGO
DE COMPOSTELA
FACULTAD DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA
VEGETAL**

**CONSEJO SUPERIOR DE
INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS (CSIC)
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
AGROBIOLÓGICAS DE GALICIA
(IIAG)**

- TESIS DOCTORAL -

**“MICROPROPAGACIÓN DE CUATRO ESPECIES
MADERABLES TROPICALES DE INTERÉS PARA
COLOMBIA, MEDIANTE TÉCNICAS DE CULTIVO *IN
VITRO*”**

**Liliana Millán Orozco
Santiago de Compostela, 2006**

IMPRIME: LÁPICES 4

**ANTONIO BALLESTER ALVAREZ-PARDIÑAS, (DNI 32.301.215),
PROFESOR DE INVESTIGACIÓN DEL CONSEJO SUPERIOR DE
INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS (CSIC) DE SANTIAGO Y JEFE DEL
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA VEGETAL DEL INSTITUTO DE
INVESTIGACIONES AGROBIOLÓGICAS DE GALICIA (IIAG):**

CERTIFICA:

Que la presente Memoria titulada “**Micropropagación de cuatro especies maderables tropicales de interés para Colombia, mediante técnicas de cultivo *in vitro***” que para optar al Grado de Doctora en Biología Vegetal, presenta la licenciada en Biología-Botánica **Liliana Millán Orozco (Pasaporte 31983755 de Colombia)**, ha sido realizada bajo mi dirección y supervisión en el Departamento de Fisiología Vegetal del Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia.

Que considera que representa trabajo de Tesis y autoriza su presentación en el Departamento de Fisiología Vegetal de la Facultad de Biología de la Universidad Santiago de Compostela.

Y para que conste, expido el presente certificado en Santiago de Compostela, a de Abril de 2006.

MARIA LUZ GONZÁLEZ CAAMAÑO, (DNI 78456458), PROFESORA TITULAR DE LA FACULTAD DE BIOLOGÍA, DEPARTAMENTO DE FISILOGÍA VEGETAL DE LA UNIVERSIDAD SANTIAGO DE COMPOSTELA, EN CALIDAD DE TUTORA:

INFORMA:

Que la presente Memoria titulada “**Micropropagación de cuatro especies maderables tropicales de interés para Colombia, mediante técnicas de cultivo *in vitro***” que para optar al Grado de Doctora en Biología Vegetal, presenta la licenciada en Biología-Botánica **Liliana Millán Orozco (Pasaporte 31983755 de Colombia)**, ha sido realizada bajo mi tutoría.

Que considera que representa trabajo de Tesis y autoriza su presentación en el Departamento de Fisiología Vegetal de la Facultad de Biología de la Universidad Santiago de Compostela.

Y para que conste, expido el presente certificado en Santiago de Compostela, a de Abril de 2006.

DEDICATORIA

A las personas más importantes de mi vida:

A la memoria de mamá, María Edna; a papá, Luis Hernán y a mis hermanos,
David, Beatriz Elena, María Leonora y Hugo Hernán.

AGRADECIMIENTOS

Indudablemente en una Tesis Doctoral, participa no solamente el investigador principal sino que detrás hay siempre un gran número de personas que ayudan o simplemente interactúan de una u otra forma hasta que el producto final está listo.

Todo empezó cuando la Dra. Angela Restrepo Moreno, de la Corporación de Investigaciones Biológicas (CIB), de Medellín, Colombia, dentro del Programa Educación, Ciencia y Desarrollo recorrió varias universidades colombianas buscando jóvenes potenciales investigadores con el fin de promovernos un futuro en investigación. Muchísimas gracias porque con su sueño me ayudó a cumplir también uno de los míos, aprender micropropagación.

Luego COLCIENCIAS, del gobierno de COLOMBIA, que también hace parte del Programa Educación Ciencia y Desarrollo, cumplió con la promesa de enviarnos a estudiar al extranjero en el país del mundo que nosotros escogiéramos. Me otorgó la beca-crédito condonable para estudios de doctorado en el extranjero durante cuatro años (Noviembre 1997- Octubre 2001), que me permitió tener tranquilidad económica durante este tiempo. Les agradezco inmensamente el apoyo institucional en los momentos críticos y la paciencia y comprensión infinita que han tenido hasta ahora que estoy en condiciones de entregar la memoria final.

Durante algunos meses, varios años atrás, los becarios más pilosos de Colciencias, lucharon desde sus respectivos países de estancia para no permitir que el gobierno de Andrés Pastrana nos quitara la beca ya otorgada. Gracias por toda la movilización y las gestiones realizadas y por dedicarnos tiempo valioso de sus estudios e investigaciones para luchar por todos nosotros.

En el caso de mi beca, existieron dos entidades internacionales administradoras, una fue el British Council, con la funcionaria Audrey Muñoz en Madrid y posteriormente LASPAU con la funcionaria Lisa Tapiero en USA. Ambas fueron siempre cordiales, además de eficientes. Cuando necesitaba viajar a Colombia, viajes pagados casi todos por Colciencias, era la oficina de la OIM en Bogotá la encargada de tramitarme los pasajes. Les agradezco que me consiguieran siempre pasajes con derecho a transportar más equipaje del normal.

El Ministerio del Medio Ambiente colombiano, especialmente el funcionario Rodrigo Moreno, me permitió traer a España las semillas que sirvieron de base a mi investigación. En verdad fueron ágiles cuando los necesité. Y el ICA del Aeropuerto El Dorado de Bogotá me expidió de forma rápida el certificado fitosanitario para poderme traer las semillas a España.

El Dr. Antonio Ballester-Alvarez Pardiñas, investigador del IIAG, ha sido mi director de tesis todos estos años. Durante mis dos primeros años de aprendizaje sobre cultivo *in vitro* me concedió varias horas extras de enseñanza personalizada, lo que me preparó para adquirir posteriormente mucha independencia en mi investigación. Cuando yo empecé a obtener plántulas tropicales en el laboratorio, él tomaba las fotos hasta que también aprendí a hacerlo por mi cuenta. Al cabo de cuatro años y medio, cuando ya estaba finalizando mi parte práctica, el Dr Ballester me empezaba a corregir los primeros borradores del capítulo Introducción con los apartados que él me sugirió. Así hasta el día de hoy me ha corregido los borradores de la tesis, que yo escribía desde mi ordenador personal en mi piso. Estas dos ultimas semanas me facilitó un ordenador con Windows[®] en el IIAG para terminar los retoques finales, y también costeará la impresión y encuadernación final de la tesis. Le doy las gracias por todo esto y por algunas llamadas a mi móvil preguntando como iba la escritura.

La Dra. María Luz González Caamaño, profesora del Departamento de Fisiología Vegetal, de la Universidad Santiago de Compostela, aceptó ser mi tutora sin contactarme con ella, fue así como mi solicitud de admisión pudo entrar a la reunión del Departamento y ser admitida en el programa de doctorado. También me ha dado apoyo moral durante mis tiempos menos productivos y me corrigió algunos manuscritos. Muchas gracias.

La Dra. María del Carmen San José, investigadora del IIAG, me dirigió de forma muy amable y desinteresada la parte experimental de histología del enraizamiento en *Cedrela odorata* cuando obtuve buena producción de plántulas. De la nueva Dra. Nieves Vidal, recibí algunas enseñanzas de la técnica de cultivo *in vitro* y parte de Bioquímica del enraizamiento. Les agradezco su aporte.

En el Dr. Antonio Vilariño, investigador del IIAG, encontré el profesor que me enseñó los primeros pasos con el estudio de las micorrizas en cedro, su forma personalizada de enseñanza en el laboratorio me resultó alentadora; además se tomaba la molestia de darme apoyo moral. Beatriz González, su alumna también fue muy amable, me resolvió algunas dudas sobre el trabajo experimental y me facilitó algunos de sus datos en trébol que muestro en esta memoria.

La Dra Tarsy Carballas, anterior directora del IIAG, y la Dra Mary Cruz Mato, exdelegada del CSIC-Santiago, donde realicé toda mi parte experimental, se mostraron preocupadas cuando se me acabó la beca de Colciencias. Ellas, poco antes de jubilarse intentaron conseguirme una beca de un año con el CSIC, pero

desafortunadamente no fue posible. De todas formas estoy muy agradecida con su buena intención. Recuerdo que la Dra Tarsy me llamo al móvil interesándose por mi salud durante mi estado depresivo más fuerte.

De la Dra. Ana María Vieitez Martín, recibí beneficios indirectos, pues es la que dirige el laboratorio de micropropagación donde yo hice mi parte experimental. De una u otra forma se me transmitió por medio de sus alumnas, algunos de sus conocimientos en micropropagación de forestales europeos. Tuvo dos buenos elogios para mis plántulas de cedro.

El profesor Ignacio Zarra Cameselle catedrático del Departamento de Fisiología Vegetal de la USC, me dio las instrucciones vía correo electrónico y por teléfono sobre los requisitos de ingreso a la Universidad de Santiago, e instrucciones adicionales cuando acudí a él después de mi llegada. Gracias por su orientación inicial. El secretario Juan Dopico, del mismo departamento, ha sido un encanto de persona, su trato siempre me resultó familiar; es muy idóneo para atender público.

Cuando yo estaba en la mitad de mi tesis, llegó al IIAG el Dr Francisco Rodríguez-Tréllez. Aparte de que decidí ser su alumna en dos asignaturas de bioinformática, inicialmente me orientó un poco con el análisis estadístico de mis datos. Valoro mucho su objetividad y haber escuchado mis apreciaciones mientras permaneció en el instituto.

Fue un gran acierto del IIAG ofrecernos a todos el curso de análisis de datos con el SPSS, pues me sirvió bastante a la hora de hacer la estadística de mis datos.

Teresa Martínez “de los Martínez de toda la vida” y la Dra. Adelina (ahora jubilada) han sido dos de las personas más agradables que encontré en el IIAG. Entre los anfitriones también destaco a Marutxa por su amabilidad. A Don Francisco, por colaborar con algunas de las tareas del invernadero. A Jaime Paz (de mantenimiento) por demostrar muy buena voluntad cuando necesitaba su colaboración, lo mismo que a Belén, Jaime Penna, Alberto y Sole de conserjería por los recados telefónicos y de correspondencia. A los técnicos de laboratorio Cándido (jubilado) y José Manuel gracias por la preparación de las soluciones madres y por lavarme los potitos y tubos de ensayo. Agradezco a Silvia Valladares la asesoría en estas dos últimas semanas sobre el manejo del windows^{xp} y los trámites de tesis. A Conchi le agradezco la asesoría inicial con la estadística. Por último a “Elenita”.

Pocos años después llegó al mismo laboratorio el doctorando mexicano Gregorio Arellano, quien me resolvió muchas dudas sobre informática, sobre estadística y sobre la técnica de bioquímica. Y mucho después llegó la doctoranda Lorena, de Chile, que también ha sido buena compañera.

Cuando Alejandro García era Gerente del IIAG, también se portó amable conmigo.

El momento más crítico desde mi llegada a España ocurrió mes y medio después, cuando falleció mamá. Es de Madrid, María García de Muro-Sahelices, el ángel de la guarda que me hospedó la noche anterior a mi viaje repentino a Colombia. Recorrió conmigo Barajas, antes de ir a su trabajo, buscándome el único cupo que quedaba en el avión que me llevó a Colombia un 26 de Diciembre, pasando antes por Maiquetía, donde los venezolanos del aeropuerto me trataron muy bien sin conocer el motivo de mi tránsito por allí.

La Residencia de Estudiantes “Monte da Condessa” me hospedó a mi llegada. A las tres de la madrugada escuché un ruidito en el corredor y abrí la puerta de mi habitación, fue así como conocí a los primeros Erasmus de mi vida, que llegaban de la marcha de Santiago. Estos chicos simpáticos eran Sara Criffo, Paolo y Alexandro (de Italia), Laure, Offelie y Gael (de Francia), y el entrañable Gregorio (italo-francés). Les pregunté que hora era, pues mi cambio de horario era importante, así empezamos a relacionarnos. De Latinoamérica había pocos estudiantes, entre ellos estaban Adriana y Carlos (de México), Beatriz (de Martinica) y Nancy (de Cuba). Entre los anfitriones más sociables se encontraban en aquel año María, Nathalia, Jose, Eugenia y Moisés. De Africa estaba Albert (del Congo) que ahora es doctor en Física-matemática y trabaja en Brasil. Cuando llega el verano, hay la costumbre de trasladar los estudiantes de algunas residencias a otras, y a nosotros nos enviaron al “Burgo das Nacions”, el personal de allí era amable. Faustino, el marido de Nieves Vidal fue el que me hizo la mudanza en su monovolumen. En esta residencia conocí otros estudiantes, a Silvia Facall (de Uruguay) a Ahmed Moravii (de Marruecos), Faouzi (Túnez), Manuel Lorenzo (Chile), al pulpo (de Namibia) y otros; la convivencia en esta residencia universitaria fue muy grata.

Para mi satisfacción, tres años después veía como empezaban a llegar a Santiago de Compostela muchos estudiantes de posgrado del continente americano, con los que compartí inolvidables reuniones sociales y culturales durante la primavera y el verano. No faltaron los que me ayudaron en caravanas de a pie y a veces en taxi con mis siete mudanzas por las principales calles de Santiago de Compostela. Ahora quedamos muy pocos. Entre los que más tengo presente está Israel Ramos Masit (de Cuba) otro ángel de la guarda que siempre me arregló el ordenador cada vez que se estropeaba. Karelía, Oscar Chasagnes, Jacqueline y Sergio (de Cuba). También recuerdo a Lili y Julio “arroz” (Guatemala); a Patricia Carneiro y Julio, a Eros, a Ricardo, a Fran y Alcides, a Marilén Cordulino, y a Ieda (de Brasil). A Leonardo Granados (de Costa Rica), que conducía muy pacientemente el coche que alquilábamos para recorrer la ruta de la Plata y sus alrededores, el Cantábrico y Picos de Europa. Gracias a todos los que fundamos la Casa Latinoamericana en Galicia (CLAM), con los

encuentros y desencuentros durante la creación de los estatutos. Agradezco también a los pocos estudiantes llegados más recientemente que sostienen a CLAM hoy día, especialmente a la psicóloga Mónica Alzate de Colombia, que consiguió buena financiación con entidades gallegas. Mis agradecimientos los manifiesto igualmente a Rocío, a Mario y Adenis, a Alvaro Benavides tan humano como siempre, a Laura la guitarrista y cantadora, a mi apreciado amigo Juan Carlos Quintero, a mis apreciadas amigas Amparo Acosta, a Lola Roldán y a César “el pimiento” y cirujano plástico de los transexuales (de Colombia). A Esther, Alejandro, Fito, Silvia, a Camilito el exchef del antiguo restaurante mexicano, a Marcos con su siempre oportuna cámara digital (de México). A Gabriela Zelada, a María Luz, a mi apreciado amigo celestino Germán Vargas (de Bolivia). A Andrea y Verónica (de Ecuador). Saem (Coreana-Panameña) y ahora portuguesa de corazón, a la explosiva Marylin (República Dominicana). A mi amiga Eugenia, eres una madre, a las trabajadoras y luchadoras Telma, Luz, Clara y Marina (de Perú); a Verónica, Claudio, los dos Manuel (de Chile), Mónica y Diego (de Argentina). Gracias a los que me tendieron la mano. Este último año y medio siento gratitud por dos compatriotas psicólogos, Mauricio Bonilla, actual compañero de piso y muy especialmente por Omar Calvache quien me escuchó durante varias sesiones intentando paciente e impacientemente desbloquearme de una buena vez.

Santiago de Compostela tiene el mérito de ser una ciudad estudiantil, una ciudad de cien mil habitantes con calles seguras, y como dicen con tristeza algunos universitarios gallegos, una ciudad de paso, pues no ofrece empleo. Aquí tuve la suerte de estar cuando celebraron dos “Años Xubileos o Xacobeos” y el año en que la declararon “Capital Cultural de Europa”. He de agradecer todo lo que me beneficié con los actos culturales programados, tuvieran o no algún coste. Su encanto reside en los más de cien “pubs” que posee especialmente en la zona antigua. Allí, encontré un sitio en el que me sentí siempre cómoda, el “Pub La Conga”, atendido por Mario, un chico tranquilo, sencillo y generoso con los gustos musicales de los que acudimos allí algunas veces.

Cuando se me acabó la beca y el dinero de mis ahorros, Santiago se me tornó verdaderamente gris. Mi hermana María Leonora que ahora ya es doctora y estudiaba entonces en Alicante, me sostuvo durante seis meses; este gesto es inolvidable pues me salvó de la desesperación que ya empezaba a invadirme. Al cabo de este tiempo continuó ayudándome mi gran hermano David durante dos años. La deuda que tengo con ambos especialmente con David es infinita. Aparte de su apoyo económico estuvo más pendiente y solidario que cualquiera de mí. El junto con mis otros hermanos Beatriz y Hugo en Colombia, se encargaban de cuidar a papá, evitando que yo abandonara mi proyecto. Gracias a los cuatro, porque sin su gran amor y constancia no hubiera podido llegar a la meta y regresar a Colombia con el título.

Entre los anfitriones que me prestaron dinerillo he de agradecer a la odontóloga Carmen (de Zamora), a Loli, Ana, Laura y Yolanda (de Galicia) y a Isabel (de Valencia).

Gracias Marlén Abril porque sus potentes oraciones me han servido varias veces.

Como mi permanencia en Santiago se prolongó insosteniblemente, me tocó buscar empleo para inmigrantes, y el sitio al que acudimos sin falta es la entidad Caritas de San Roque, donde Angel, Miguel y Gemma aparte de ofrecer algunos empleos sencillos, nos prestan el periódico y el teléfono para llamadas gratuitas. En este mismo sentido también están Teresa y Marga de la Plataforma por el Empleo. Laura Bugallo de la CIGA es la persona más incansable en la consecución de documentación para los inmigrantes, lo mismo que Elomari (de Marruecos). Mi agradecimiento más grande en este sentido es para la Oficina de Emigración e Inmigración, Mancomunidad da Comarca de Compostela, en especial la trabajadora social Lorena Alvite.

La Oficina de Extranjería de Santiago me atendió muy amablemente durante cinco años concediéndome la tarjeta de permiso de estancia como estudiante. Aunque en el sexto año no me recibieron la solicitud de renovación de la tarjeta por no contar con un saldo medio mensual de 500 euros en el banco, tampoco me pusieron problema por seguir libremente en su territorio.

Después solicité permiso de trabajo y residencia directamente a la Coruña y me fue negado por falta de la oferta laboral, sin embargo me enviaron al piso la tarjeta del SERGAS de Galicia con la cual me dan atención médica gratuita. Muchas gracias.

La uruguaya Mabel, consiguió un préstamo y compró una lavandería. Ella me dio empleo de medio tiempo durante siete meses. Aunque no me ayudó a regularizar mis documentos, le agradezco esta oportunidad laboral.

La psicóloga Claudia (de Colombia) me consiguió el miniempleo que tengo ahora, el cuidado de una señora mayor, día y medio en la semana.

Mi amiga Lola Roldán (de Colombia), por intermedio de su novio gallego, el señor José Mato Bargo, me han hecho la oferta de empleo y me llevaron a la Coruña, para poder regularizarme de nuevo en España. Es un favor impagable que no me lo hizo nadie. Si este trámite llega a feliz término, podré salir de forma legal del territorio español y volver a entrar en otro estado de la CEE si lo necesitare.

La hermosa Catedral de Santiago de Compostela me ha servido de refugio durante muchos minutos después de que decidí volver a creer en Dios.

Desde Colombia mis colegas biólogos botánicos Héctor Julio Rodríguez y Robert Tulio González me ayudaron en la búsqueda de bibliografía colombiana. También me sugirieron el tipo de Doctorado que más necesitaba Colombia y las especies más importantes.

Mis más apreciadas excompañeras de Univalle Sneyder Rodríguez (ahora Doctora en Valencia), Alix Patricia Ziebell (en USA), Helena (en Francia), Vicky (en Colombia-Inglaterra), Clemencia (en Colombia-Brasil) y Alejandra, me acompañaron muchas veces por medio del correo electrónico. A Olga Mora, del Departamento de Química de Univalle, le debo haber decidido entregarme el último formulario de solicitud de admisión a examen de la primera convocatoria de La Misión Educación, Ciencia, y Desarrollo, que finalmente me trajo aquí. Agradezco también a mis amigos en Colombia: Francia Elena Riascos, la familia Vega Hernández, Carmen y Nelson. También agradezco a Rocío Varela su acogida en Valencia.

En uno de mis viajes a Colombia, Dagoberto Castro Restrepo, de la Universidad Católica de oriente (Medellín) me facilitó su producción bibliográfica acerca de especies tropicales. Y a la profesora Susana Carrizosa de la Universidad Javeriana de Bogotá me dio consejos prácticos sobre su experiencia en la micropropagación de *Cedrela*.

El biotecnólogo Marcos Daquinta de Cuba, también me facilitó bibliografía.

Papá, gracias por intentar transmitirme por teléfono tu valentía, tu capacidad de lucha y tu admirable fortaleza y por insistirme inicialmente en que regresara a España a continuar mi estudio. Mis hermanos me han contado que el Alzheimer casi te ha consumido y que no distingues a nadie; espero verte de nuevo.

Mis queridísimos primos Diego Fernando Mejía Millán y Felipe Millán Constaín fueron los que me brindaron su apoyo legal sirviendo como fiadores de la beca-crédito de Colciencias. Se los agradezco inmensamente y lamento haberlos puesto a penar al ver que yo aun no cumplía mi compromiso. También debo las gracias a mi primo Francisco Millán y a las tías maternas y paternas que rezaron por mí.

En varias ocasiones papá permaneció solo en casa y eran los vecinos más cercanos del barrio Unión de Vivienda Popular y Antonio Nariño en Cali, los que le hacían compañía mientras tres de nosotros estudiábamos el doctorado en España. Gracias por el cariño y apoyo que mostraron siempre con mis padres.

El espíritu de mamá me ayudará siempre. Gracias por despertarme súbitamente con tus dos llamadas y la tercera vez por tu invitación a acompañarte.

ABREVIATURAS

ABA	Acido Abscísico	MA, MVA	Micorriza arbuscular, Micorriza Vesículo Arbuscular
ADN	Ácido desoxirribonucleico	MeOH	Metanol
AIA	Ácido Indolacético	MLG	Modelo Lineal General
AIAsp, AIA-asp	AIA aspartato	MMA	Ministerio del Medio Ambiente
AIB	Acido Indolbutírico	MS	Murashige y Skoog
AIP	Acido indol propiónico	NPK	Nitrógeno, fósforo, potasio
ANA	Acido α Naftalén Acético	PAFC	Plan de Acción Forestal para Colombia
ANOVA	Análisis de Varianza	PAFT	Plan de Acción Forestal Para los Trópicos
ATP	Adenosín Trifosfato	PMRN	Programa de Manejo de Recursos Naturales
BA	6-Benzilaminopurina	PNDF	Programa de Manejo de Recursos Naturales
BHT	Butyl Hidroxitolueno	PNUD	Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo
BID	Banco Interamericano de Desarrollo	SH ó SyH	Medio Schenk y Hildebrandt
BIRF	Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento	SINA	Sistema Nacional Ambiental
CDMB		SINANP	Sistema Nacional de Areas Naturales Protegidas
CIF	Certificado de Incentivo Forestal	TAM	Triptamina
C.M.	Coeficiente de multiplicación	TPA	Transporte polar de auxinas
CONIF	Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal	trp	triftofano
CONPES		v/v	Volumen/volumen
2,4-D	Acido 2,4-diclorofenoxiacético	WPM	Woody Plant medium
DKW	Medio Driver Kuniyuki Walnut	WRI	Instituto de Recursos Mundiales
DEPAC		w/v	Peso/ volumen
DNP	Departamento Nacional de Planeación	Z	Zeatina
DMS	Diferencia Mínima Significativa	ZR	Ribósido de Zeatina
EDTA	Acido Etileno-diaminotetracético		
FAA	Formol Acido acético Alcohol etílico		
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations		
FONADE	Fondo Financiero de Proyectos de Desarrollo		
GA₃	Acido Giberélico		
GD	Gresshoff y Doy		
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Resolución		
IAN	Indol-3- Acetonitrilo		
IAOx	Indol-3-Acetaldoxime		
IGP	Indol-3-Glicerolfosfato		
IPA	IsoPentenilAdenosina		
INDERENA	Instituto Nacional de Recursos Naturales		
Kin ó Kn	Kinetina		
L	Medio Lepoivre		
LS	Medio Linsmaier y Skoog		

TABLA DE CONVERSIONES
[μM]

mgL^{-1}	BA	Kin	AIB	AIA	ANA	GA_3	2,4-D	2iP	TDZ	Zeatina
0,1	0,44	0,36	0,49	0,57	0,54	0,30	0,45	0,49	0,45	0,20
0,2	0,88	0,73	0,98	1,14	1,07	0,58	0,90	0,98	0,91	0,40
0,3	1,33	1,39	1,48	1,71	1,61	1,87	1,36	1,48	1,36	0,60
0,4	1,78	1,86	1,97	2,28	2,15	1,15	1,81	1,97	1,82	0,80
0,5	2,22	2,32	2,46	2,85	2,69	1,44	2,26	2,46	2,27	1,00
0,6	2,66	2,79	2,95	3,42	3,22	1,73	2,72	2,95	2,72	1,20
0,7	3,11	3,25	3,44	3,99	3,76	2,02	3,17	3,44	3,18	1,40
0,8	3,55	3,72	3,94	4,57	4,30	2,31	3,62	3,94	3,63	1,60
0,9	3,99	4,18	4,43	5,14	4,83	2,60	4,07	4,43	4,09	1,80
1,0	4,44	4,65	4,90	5,71	5,37	2,89	4,52	4,92	4,54	2,00
2,0	8,87	9,29	9,80	11,42	10,74	5,77	9,05	9,84	9,08	4,00
5,0	22,19	23,23	24,60	28,54	26,85	14,43	22,62	24,61	22,71	10,00
10,0	44,38	46,47	49,00	57,08	53,71	28,89	45,25	49,21	45,41	20,01
20,0	89,77	92,94	98,00	114,16	107,41	57,74	90,50	98,42	90,82	40,02

RESUMEN

En esta investigación se puso a punto la técnica de micropropagación en cuatro especies maderables tropicales: *Cedrela odorata* y *Cedrela montana* (Meliaceae); *Chlorophora tinctoria* (Moraceae) y *Quercus humboldtii* (Fagaceae), incluyendo las etapas de establecimiento, multiplicación y enraizamiento.

En el caso de *Cedrela odorata* se trabajó con semilla madura y con yemas terminales y axilares de plantas de invernadero de cuatro, doce y catorce meses de edad. El mejor tratamiento para el establecimiento de la semilla y de las yemas fue el medio Murashige y Skoog (1962) adicionado con $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de Bencilaminopurina (BA) + $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de Kinetina, durante el establecimiento y las dos primeras transferencias. Obteniéndose porcentajes de sobrevivencia en el primer mes de 47,91% para semilla, 64,58% para yemas de cuatro meses, 62,50% para yemas de doce meses y 18,75 para yemas de catorce meses de edad.

Posteriormente durante la misma etapa de establecimiento, solo se adicionó al medio MS, $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ de BA. Esta misma concentración se utilizó durante la etapa de multiplicación la cual se extendió hasta diecinueve meses de subcultivos. El máximo coeficiente de multiplicación en semilla de *C. odorata* fue 2,62 ocurrido en el noveno mes de subcultivo; en las yemas de cuatro meses fue 2,25 en el mes diecisiete de subcultivo y en las yemas de doce meses el c.m. fue 1,97 ocurrido también en el mes diecisiete de subcultivos.

Los brotes procedentes de la etapa de multiplicación se utilizaron para la inducción de enraizamiento la cual duraba 24 horas. Con este fin, la concentración de los macronutrientes del medio MS fue reducida a la mitad. Se adicionó al medio $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB y se comparó con el control (ausencia de auxina). Las respuestas de enraizamiento (datos transformados) después de cuatro semanas fueron 69% (control) y 48% (AIB) para semilla; para yemas de cuatro meses fue 27% (control) y 71% (AIB); para yemas de doce meses fue 54% (control) y 62% (AIB). Hubo diferencias significativas entre el control y el AIB en los tres ensayos. A todos los medios se les adicionó 3% de sacarosa y se solidificaron con 0,6% de agar Sigma. La citoquinina se eliminó durante el enraizamiento.

En *C. montana* inicialmente se trabajó con yemas procedentes de plantas de nueve y doce meses de edad. Los medios de cultivo fueron iguales a los empleados en *C. odorata* durante las tres etapas estudiadas. El porcentaje de sobrevivencia de las yemas de nueve y doce meses fue 83,33 % en el quinto mes de subcultivo, en ambos. Esta especie se subcultivó durante veintiocho meses. El máximo coeficiente de multiplicación en las yemas de nueve meses fue 2,71 obtenido el último mes de subcultivo. Solamente se indujo el enraizamiento en las yemas de nueve meses de edad. Los porcentajes (datos transformados) fueron 66,06% en el control y 61,83% en AIB, sin diferencias significativas entre ambos. También se eliminó la citoquinina durante el enraizamiento.

En *Chlorophora tinctoria* el material utilizado fueron yemas de plantas de invernadero de cuatro, seis y siete meses de edad. Tanto en el establecimiento como durante las multiplicaciones se empleó el medio MS adicionado con $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de Bencilaminopurina. Los porcentajes de sobrevivencia en el tercer mes de subcultivo fueron 79,16% en los explantos procedentes de semilla; 47,91% en las yemas de cuatro meses de edad; y 71,05% en las yemas de seis meses. En las yemas de siete meses de edad el porcentaje de sobrevivencia fue 68,75% el primer mes de subcultivo.

Las yemas de cuatro meses de edad se subcultivaron durante quince meses y su máximo coeficiente de multiplicación fue 3,25 correspondiente al noveno mes de subcultivo. Las yemas de seis meses de edad se subcultivaron durante diecinueve meses, y el máximo coeficiente de multiplicación fue 2,98 en el sexto mes de subcultivo. Las yemas de siete meses de edad se subcultivaron durante trece meses, y el coeficiente de multiplicación máximo fue 2,82 correspondiente al último mes.

El enraizamiento en *Chlorophora tinctoria* también se indujo con el medio MS a la mitad de sus macronutrientes, y adicionado con $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB, comparándolo con el control (ausencia de auxina). La fuente carbonada fue sacarosa al 3%. El medio se solidificó con 0,6% de agar *vitro*. La inducción también duró 24 horas. Aparte, se indujo enraizamiento en un medio solidificado con sustrato (perlita), en las yemas procedentes de plantas de cuatro y siete meses de edad. Los porcentajes de enraizamiento (datos transformados) fueron 52,64% (control) y 57,49% (AIB) en yemas de cuatro meses de edad; 3,00% (control) y 4,40% (AIB) en yemas de cuatro meses enraizadas en sustrato; 35,25% (control) y 51,71% (AIB) en yemas de seis meses; 45,59% (control) y 49,70% (AIB) en yemas de siete meses de edad; 10,41% (control) y 20,81% (AIB) en yemas de siete meses enraizadas en sustrato.

En *Q. humboldtii* se trabajó con yemas de plantas de invernadero de dos y seis meses de edad. El medio utilizado fue GD adicionado con BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ durante el establecimiento y primeras dos transferencias. Posteriormente la BA se alternó durante los siguientes subcultivos en concentraciones de $0,1$ y $0,2 \text{ mgL}^{-1}$. La fuente carbonada fue sacarosa al 3% y el agente solidificante agar *vitro* 0,65%. El porcentaje de sobrevivencia en el tercer mes de subcultivo fue 79,16% en las yemas de dos meses de edad, y 66,66% en las yemas de seis meses de edad. Esta especie se subcultivó durante diecinueve meses. El coeficiente de multiplicación máximo en las yemas de dos meses fue 3,83 a los diecisiete meses de subcultivo. El medio de enraizamiento fue GD con los macronutrientes reducidos a un tercio de su concentración inicial y adicionado con 25 mgL^{-1} de AIB. La inducción se prolongó durante veinticuatro horas. Los porcentajes de enraizamiento fueron 3,00% con el control y 36,45% en el AIB, con diferencias significativas entre ambos.

Adicionalmente durante la etapa de multiplicación de *C. odorata* se realizaron otros ensayos. Por ejemplo se evaluó la adición al medio de cultivo de diferentes concentraciones de aluminio ($0,2$; 10 ; 20 ; 30 y 100 mgL^{-1}) durante siete meses de subcultivos. El medio de cultivo fue ajustado a pH 4.3-4.4 antes del autoclavado. Las dosis mas altas causaron deformación de tallos y hojas, el limbo adquirió forma de aguja, las plantas crecieron de forma anormal y los coeficientes de multiplicación disminuyeron con el incremento de la dosis.

En *Cedrela odorata* también se estudió la influencia de la adición al medio de cultivo de cantidades extras de nitrato de amonio (330 mgL^{-1}), dihidrógenofosfato de sodio monohidrato (9 mgL^{-1}) y sulfato de potasio ($49,5 \text{ mgL}^{-1}$), durante diez meses de subcultivos. Los coeficientes de multiplicación más altos fueron 2,41 el segundo mes de subcultivo en el control; 3,05 el cuarto mes de subcultivo en el tratamiento con nitrato; 2,51 el cuarto mes de subcultivo en el tratamiento con fósforo; 2,50 el cuarto mes con el tratamiento potasio.

Otra de las evaluaciones hechas en *C. odorata* fue la adición al medio de cultivo de tres concentraciones de sacarosa (3%, 4% y 5%) durante seis meses de subcultivo. Este ensayo sirvió para confirmar que la mejor concentración de sacarosa fue 3%. Cuando se adicionó 5% de sacarosa al medio, se produjo callo en la base de los explantos y posteriormente deformación.

Para modelo del estudio histológico de enraizamiento adventicio también se escogió la especie *C. odorata*. Se realizó una comparación entre el control y el AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. Los procesos de enraizamiento los podemos dividir en las tres fases principales descritas por De Klerk y col (1995) y De Klerk (2002), la desdiferenciación, la inducción y la diferenciación morfológica. En nuestro caso la fase de desdiferenciación ocurrió entre las doce y las treinta y seis horas, y se caracterizó por el aumento de las divisiones mitóticas en diferentes estados (profase, metafase y anafase). La fase de inducción comprendió entre las cuarenta y ocho a setenta y dos horas que se caracteriza por la polarización de los grupos meristemáticos de los meristemoides de la raíz tanto en el cámbium vascular como en el floema; hasta el día cuatro cuando se distinguen bien los primordios de raíz con una clara polarización hacia el exterior del tallo, atravesando la corteza de éste. Finalmente la fase de diferenciación empieza a ocurrir también a partir del cuarto día en el cedro rosado, cuando se empiezan a diferenciar los haces vasculares de la nueva raíz adventicia y otros tejidos especializados como la caliptra, las células iniciales, la epidermis radical y la corteza. Las diferencias entre el control y el tratamiento con AIB fueron mínimas.

El estudio del contenido endógeno del ácido indolacético durante el proceso de enraizamiento en *Cedrela odorata* demuestra que hay un incremento significativo (tanto en los brotes tratados con AIB como en los del control) que va desde el día inicial de la experiencia hasta los 2-2,5 días precisamente cuando las células están en diferentes estados de divisiones mitóticas activas, llamada la fase de desdiferenciación. Posteriormente, se produce una disminución paulatina en los brotes tratados y en el control hasta alcanzar los valores mínimos a los 4-5 días de iniciar el proceso coincidiendo con la fase de diferenciación morfológica.

Finalmente, se realizó un ensayo de inoculación con endomicorizas arbusculares en explantos de *C.odorata* enraizados *in vitro* con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$; con las especies *Glomus aggregatum*, *Glomus deserticola*, *Glomus macrocarpa*, suelo de la parcela y control. La aclimatación en fitotrón duró cuatro semanas, al cabo de las cuales se escogieron las plántulas sobrevivientes para inocularlas y aclimatarlas en el invernadero durante tres meses adicionales. En el caso del ensayo de micorizas, el inóculo que produjo mejores resultados durante la aclimatación de *Cedrela odorata* en el invernadero fue *Glomus deserticola*, este produjo mayor número de raíces, número de hojas y longitud de la raíz principal. Los mayores porcentajes de sobrevivencia los produjeron *G. aggregatum* y *G. macrocarpum*. Sin embargo no se observó especificidad absoluta de alguno de los tres inóculos (*G. aggregatum*, *G. deserticola* y *G. macrocarpum*) con las raíces de *Cedrela odorata*, las diferencias fueron graduales.

Índice

INDICE

Pág.

RESUMEN

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1. ESTADO ACTUAL Y PROBLEMÁS GENERALES DE LAS ESPECIES FORESTALES COLOMBIANAS.....	3
1.1 Aspectos biológicos y geográficos	3
1.2 Aspectos sociales	4
1.3 Políticas forestales colombianas	5
2. ESPECIES FORESTALES EN LOS TRÓPICOS	7
2.1 Investigaciones forestales y reforestación en Colombia	8
3. FASES DE DESARROLLO DE LOS ÁRBOLES	8
3.1 Fase juvenil	9
3.2 Fase de Transición	9
3.3 Fase adulta	10
4. PROPAGACIÓN CLONAL DE ESPECIES FORESTALES	10
4.1 Ventajas de los métodos de propagación vegetativa	10
4.2 Desventajas de los métodos de propagación vegetativa	13
5. CULTIVO IN VITRO DE ESPECIES FORESTALES	13
5.1 Dificultades en la propagación clonal de especies forestales mediante cultivo <i>in vitro</i>	14
5.2 Ventajas del cultivo <i>in vitro</i>	15
5.3 Desventajas del cultivo <i>in vitro</i>	16
6. INICIACIÓN Y ESTABLECIMIENTO DE UN CULTIVO ASÉPTICO	17
6.1 Esterilización de los explantos	17
6.2 Cultivos de yemas apicales y axilares	18
7. MULTIPLICACIÓN	19
8. ENRAIZAMIENTO ADVENTICIO <i>IN VITRO</i> Y PAPEL DE LAS AUXINAS	20
9. AUXINAS	35
9.1 Biosíntesis de auxina	36
9.2 Catabolismo de auxinas	38
9.3 Transporte de auxinas	39
10. CITOQUININAS	41
11. HISTOLOGÍA DEL ENRAIZAMIENTO DE <i>Cedrela odorata</i>	42
11.1 Aspectos anatómicos, histológicos y ultraestructurales de la formación de raíces adventicias	42
12. INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE CANTIDADES EXTRAS DE NITRÓGENO, FÓSFORO Y POTASIO	44
13. FUENTE CARBONADA	46
14. TOXICIDAD POR ALUMINIO EN PLANTAS	46
14.1 Posibles soluciones a la toxicidad por aluminio	47
15. ACLIMATACIÓN	48
15.1 Micorrización	48
16. ESPECIES UTILIZADAS EN ESTE ESTUDIO	50
16.1 <i>Cedrela odorata</i> (L.) (Cedro rosado)	50
16.2 <i>Cedrela montana</i> (Turczaninov) (Cedro de montaña)	53
16.3 <i>Clorophora tinctoria</i> (L.) Gaud. (Dinde)	54
16.4 <i>Quercus humboldtii</i> (Bonpland) (Roble colombiano)	56
17. RESUMEN DE TODA LA METODOLOGÍA EMPLEADA	59

	Pág.
CAPÍTULO II. OBJETIVOS	61
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	65
1. MATERIAL VEGETAL	67
2. ESTERILIZACIÓN DE LAS YEMAS Y SEMILLAS	68
3. COMPOSICIÓN Y ESTERILIZACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO	71
4. ESTABLECIMIENTO DE LOS CULTIVOS INICIALES	73
5. MULTIPLICACIÓN <i>IN VITRO</i>	73
5.1 Cálculo de las tasas de multiplicación	74
6. ENRAIZAMIENTO <i>IN VITRO</i>	74
6.1 Cálculo del porcentaje y cinética de enraizamiento	75
7. INFLUENCIA DEL ALUMINIO, NITRÓGENO, FÓSFORO, POTASIO, SACAROSA Y pH SOBRE EL DESARROLLO DEL CULTIVO DE <i>Cedrela odorata</i>	76
8. HISTOLOGÍA DEL ENRAIZAMIENTO DE <i>Cedrela odorata</i>	76
8.1 Preparación del tejido	76
8.2 Seccionado en micrótopo y montaje en portaobjetos	77
8.3 Tinción con safranina y verde rápido (Jensen, 1962)	77
8.4 Tinción Ácido Periódico- Reactivo de Schiff (PAS)-Naftol Azul (O'Brien y McCully, 1981)	78
8.5 Análisis de las muestras y microfotografía	80
9. ESTUDIO DE LOS CAMBIOS BIOQUÍMICOS OCURRIDOS DURANTE EL ENRAIZAMIENTO DE <i>Cedrela odorata</i>	80
9.1 Extracción de auxinas	81
9.2 Filtración	81
9.3 Purificación	81
9.4 Cuantificación de auxinas	82
10. ACLIMATACIÓN EN FITOTRÓN Y CRECIMIENTO EN INVERNADERO	82
10.1 Micorización	83
11. MACROFOTOGRAFÍA	85
12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	85
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	87
1. ESTABLECIMIENTO <i>IN VITRO</i>	89
1.1 <i>Cedrela odorata</i>	89
1.2 <i>Cedrela montana</i>	97
1.3 <i>Chlorophora tinctoria</i>	99
1.4 <i>Quercus humboldtii</i>	103
2. MULTIPLICACIÓN	106
2.1 <i>Cedrela odorata</i>	106
2.2 <i>Cedrela montana</i>	114
2.3 <i>Chlorophora tinctoria</i>	118
2.4 <i>Quercus humboldtii</i>	123

	Pág.
3. INFLUENCIA DE ALUMINIO, NITRÓGENO, FÓSFORO, POTASIO Y SACAROSA SOBRE EL DESARROLLO DEL CULTIVO DE <i>Cedrela odorata</i>	126
3.1 Influencia de la adición de aluminio al medio de cultivo sobre la micropropagación de <i>Cedrela odorata</i>	126
3.2 Influencia de una fuente adicional de nitratos, fósforo y potasio	128
3.3 Influencia de la adición de tres concentraciones de sacarosa (3, 4 y 5% al medio de cultivo)	130
4. ENRAIZAMIENTO <i>IN VITRO</i>	131
4.1 <i>Cedrela odorata</i>	131
4.2 <i>Cedrela montana</i>	137
4.3 <i>Chlorophora tinctoria</i>	140
4.4 <i>Quercus humboldtii</i>	147
4.5 Comparación de la capacidad de enraizamiento entre las cuatro especies	150
5. CINÉTICA DE ENRAIZAMIENTO EN <i>Cedrela odorata</i> , <i>Cedrela montana</i> , <i>Chlorophora tinctoria</i>	151
6. HISTOLOGÍA DEL ENRAIZAMIENTO EN <i>Cedrela odorata</i>	154
6.1 Día cero	155
6.2 Doce horas	157
6.3 Veinticuatro horas	157
6.4 Treinta y seis horas	162
6.5 Cuarenta y ocho horas	162
6.6 Día tres	167
6.7 Día cuatro	167
6.8 Día cinco	172
6.9 Día seis	172
6.10 Día ocho	177
6.11 Tinción con PAS	177
7. BIOQUÍMICA DEL ENRAIZAMIENTO EN <i>Cedrela odorata</i>	180
7.1 Identificación de las auxinas AIA, AIA-Asp y AIB	180
7.2 Cuantificación de los niveles endógenos de auxinas en brotes de <i>Cedrela odorata</i> inducidos a enraizamiento con AIB 1,0 mgL ⁻¹ y en ausencia de AIB	183
8. MICORRIZACIÓN CON ENDOMICORRIZAS ARBUSCULARES	185
8.1 Control del enraizamiento de <i>Cedrela odorata</i>	185
8.2 Efecto de la inoculación de <i>Cedrela odorata</i> con distintos hongos formadores de Micorriza Arbuscular (MA) sobre el crecimiento	185
8.3 Resultados de la colonización	193
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	195
1. ESTABLECIMIENTO	197
1.1 Esterilización de semillas	197
1.2 Esterilización de las yemas procedentes del invernadero	198
1.3 Germinación de semillas	199
1.4 Desarrollo de los brotes de las especies del género <i>Cedrela</i>	199
1.5 Desarrollo de los brotes de <i>Chlorophora tinctoria</i>	202
1.6 Desarrollo de los brotes de <i>Quercus humboldtii</i>	203

	Pág.
2. MULTIPLICACIÓN	204
2.1 <i>Cedrela odorata</i>	204
2.2 <i>Cedrela montana</i>	204
2.3 <i>Chlorophora tinctoria</i>	205
2.4 <i>Quercus humboldtii</i>	205
3. INFLUENCIA DE ALUMINIO, NITRÓGENO, FÓSFORO, POTASIO Y SACAROSA SOBRE EL DESARROLLO DEL CULTIVO DE <i>Cedrela odorata</i>	206
3.1 Influencia de la adición de aluminio al medio de cultivo sobre la micropropagación de <i>C. odorata</i>	206
3.2 Influencia de una fuente adicional de nitratos, fósforo y potasio	209
3.3 Influencia de la adición de tres concentraciones de sacarosa (3, 4 y 5%) al medio de cultivo	210
4. ENRAIZAMIENTO	211
4.1 <i>Cedrela odorata</i>	212
4.2 <i>Cedrela montana</i>	214
4.3 <i>Chlorophora tinctoria</i>	215
4.4 <i>Quercus humboldtii</i>	216
4.5 Cinética de enraizamiento	217
5. HISTOLOGÍA DEL ENRAIZAMIENTO DE <i>Cedrela odorata</i>	218
6. BIOQUÍMICA DEL ENRAIZAMIENTO DE <i>Cedrela odorata</i>	225
7. MICORRIZACIÓN DE <i>Cedrela odorata</i>	228
 CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	 233
 CAPÍTULO VII. BIBLIOGRAFÍA	 237
 ANEXOS	 263

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
TABLA 1. Revisión bibliográfica sobre la regeneración de algunas especies forestales, a partir de semilla, yemas apicales y axilares de material juvenil y adulto	24
TABLA 2. Cultivo <i>in vitro</i> de algunas especies de la familia Meliaceae	31
TABLA 3. Cultivo <i>in vitro</i> de algunas especies de la familia Moraceae	32
TABLA 4. Cultivo <i>in vitro</i> de algunas especies de la familia Fagaceae	33
TABLA 5. Tratamientos de esterilización de las semillas de las cuatro especies estudiadas	69
TABLA 6. Tratamiento de esterilización de yemas de invernadero en <i>C. tinctoria</i> y <i>Q. Humboldtii</i>	70
TABLA 7. Medios de cultivo empleados en las cuatro especies	71
TABLA 8. Material de vidrio utilizado en la propagación de las cuatro especies	71
TABLA 9. Composición de los medios de cultivo completos, Murashige y Skoog (1962) y Gresshoff, P.M. y Doy (1972)	72
TABLA 10. Medios de cultivo empleados durante las etapas de multiplicación	73
TABLA 11. Medios de cultivo empleados para la inducción de enraizamiento	75
TABLA 12. Efecto de la edad de la planta madre sobre la contaminación y sobrevivencia de los explantos de <i>Cedrela odorata</i>	89
TABLA 13. Efecto de la edad de la planta madre sobre el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Cedrela odorata</i> . Promedios $\pm$ la desviación estándar	90
TABLA 14. Efecto de la edad de la planta madre sobre la contaminación y la sobrevivencia de <i>Cedrela montana</i>	97
TABLA 15. Efecto de la edad de la planta madre sobre el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Cedrela montana</i> . Promedios $\pm$ la desviación estándar	98
TABLA 16. Efecto de la edad de la planta madre sobre los porcentajes de contaminación y sobrevivencia <i>in vitro</i> de <i>Chlorophora tinctoria</i>	99
TABLA 17. Efecto de la edad de la planta madre sobre el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Chlorophora tinctoria</i> . Promedios $\pm$ la desviación estándar	100
TABLA 18. Efecto de la edad de la planta madre sobre los porcentajes de contaminación y sobrevivencia de <i>Quercus humboldtii</i>	103
TABLA 19. Efecto de la edad de la planta madre sobre el establecimiento <i>in vitro</i> de <i>Quercus humboldtii</i> . Promedios $\pm$ la desviación estándar	104
TABLA 20. Efecto de la edad de la planta madre sobre la multiplicación de <i>Cedrela odorata</i> . Promedios $\pm$ la desviación estándar	107
TABLA 21. Efecto de la edad de la planta madre sobre la multiplicación de <i>Cedrela montana</i> . Promedios $\pm$ la desviación estándar	114
TABLA 22. Efecto de la edad de la planta madre sobre la multiplicación de <i>Chlorophora tinctoria</i> . Promedios $\pm$ la desviación estándar	119
TABLA 23. Efecto de la edad de la planta madre sobre la multiplicación de <i>Quercus humboldtii</i> . Promedios $\pm$ la desviación estándar	124
TABLA 24. Influencia de diferentes concentraciones de aluminio sobre las tasas de multiplicación de <i>Cedrela odorata</i> . Promedios $\pm$ desviación estándar	126
TABLA 25. Influencia de una fuente adicional de nitrógeno, fósforo y potasio sobre las tasas de multiplicación de <i>Cedrela odorata</i> proveniente de semilla. Promedios $\pm$ desviación estándar. N= 36 explantos por tratamiento.....	129
TABLA 26. Influencia de tres concentraciones de sacarosa (3, 4 y 5%) sobre las tasas de multiplicación de <i>Cedrela odorata</i> proveniente de semilla. N= 36 explantos por tratamiento	130
TABLA 27. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de brotes de <i>Cedrela odorata</i> . Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento. N= 24 explantos por repetición. Promedios $\pm$ la desviación estándar	132

	Pág.
TABLA 28. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de brotes de <i>Cedrela montana</i> . Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento. N= 24 explantos por repetición. Promedios $\pm$ la desviación estándar	138
TABLA 29. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de brotes de <i>Chlorophora tinctoria</i> . Se realizaron dos repeticiones por tratamiento para las yemas de plantas de cuatro meses de edad, y cuatro repeticiones para las demás. Se emplearon 24 explantos por repetición. Promedios $\pm$ la desviación estándar	141
TABLA 30. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de brotes de dos meses de <i>Quercus humboldtii</i> . Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento. N= 24 explantos por repetición. Promedios $\pm$ desviación estándar	147
TABLA 31. Efecto de la edad y dos sistemas de inducción de enraizamiento sobre la producción de raíces adventicias en cuatro especies maderables	150
TABLA 32. Ensayo para evaluar la capacidad de enraizamiento de <i>Cedrela odorata</i> al momento de inoculación. Valores promedios $\pm$ desviación típica de 24 plantas por tratamiento. Dentro de cada parámetro letras distintas indican diferencias significativas para una $P \leq 0,05$	185
TABLA 33. Efecto de la inoculación de los explantos de <i>C. odorata</i> con distintos hongos sobre el crecimiento. El primer mes corresponde a las medidas de enraizamiento <i>in vitro</i> con AIB 1,0 mgL ⁻¹ y el mes cuatro corresponde a los tres meses bajo los efectos de la inoculación. Valores promedios $\pm$ desviación típica	186
TABLA 34. Efecto de la inoculación de los explantos de <i>C. odorata</i> sobre el peso de raíces y de ramas de las plantas sometidas a cinco tratamientos de inoculación. Valores promedios $\pm$ desviación típica	187
TABLA 35. Suma de las medias de los meses uno y cuatro de los cinco tratamientos de inoculación. Valores promedios $\pm$ desviación típica	188
TABLA 36. Porcentaje de colonización radicular en <i>C. odorata</i> , inoculada o no inoculada	193
TABLA 37. Test (30 días) de funcionamiento infectivo de los inoculantes en trébol violeta (<i>Trifolium pratense</i>)	194

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1. Resumen de la metodología empleada en la micropropagación de <i>Cedrela odorata</i> , <i>Cedrela montana</i> , <i>Chlorophora tinctoria</i> y <i>Quercus humboldtii</i>	60
FIGURA 2. Semilla comercial de <i>Cedrela odorata</i> , <i>Cedrela montana</i> y <i>Chlorophora tinctoria</i>	67
FIGURA 3. Plantas de <i>Quercus humboldtii</i> crecidas en invernadero	67
FIGURA 4. Plantas de <i>Cedrela odorata</i> crecidas en invernadero	68
FIGURA 5. Metodología de tinción en enraizamiento de <i>Cedrela odorata</i>	79
FIGURA 6. Brote <i>in vitro</i> procedente de semilla de <i>Cedrela odorata</i> cultivada <i>in vitro</i>	93
FIGURA 7. Brote <i>in vitro</i> procedente de yemas de plantas de invernadero de doce meses de <i>Cedrela odorata</i>	93
FIGURA 8. Efecto de la edad de origen del explanto de <i>Cedrela odorata</i> sobre la productividad en la etapa de establecimiento	96
FIGURA 9. Brote procedente de yemas de plantas de invernadero de <i>Cedrela montana</i> de nueve meses de edad	101
FIGURA 10. Brote procedente de yemas de plantas de invernadero de <i>Chlorophora tinctoria</i> de siete meses de edad	101
FIGURA 11. Brote <i>in vitro</i> procedente de yemas de plántulas de invernadero de <i>Quercus humboldtii</i> de dos meses de edad	104
FIGURA 12. Efecto de la edad de los explantos sobre las tasas de multiplicación de <i>Cedrela odorata</i> . A: Número de brotes por explanto. B: Número de segmentos por explanto. C: Altura del brote	112
FIGURA 13. Efecto de la edad de los explantos sobre las tasas de multiplicación de <i>Cedrela montana</i>	117
FIGURA 14. Brotes <i>in vitro</i> procedentes de yemas de plántulas de invernadero de <i>Chlorophora tinctoria</i> de cuatro meses	120
FIGURA 15. Brotes <i>in vitro</i> procedentes de yemas de plántulas de invernadero de <i>Chlorophora tinctoria</i> de seis meses	121
FIGURA 16. Efecto de la edad de los explantos sobre las tasas de multiplicación de <i>Chlorophora tinctoria</i>	122
FIGURA 17. Efecto de la edad de los explantos sobre las tasas de multiplicación de <i>Quercus humboldtii</i>	125
FIGURA 18. Brotes de <i>Cedrela odorata</i> sometidos a la acción del aluminio (pH 4.3). Control (izquierdo), con aluminio (30 mgL ⁻¹)	127
FIGURA 19. Brotes de <i>Cedrela odorata</i> enraizados <i>in vitro</i> , procedentes de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad. AIB 1,0 mgL ⁻¹ (izquierda) y control (derecha)	135
FIGURA 20. Brote de <i>Cedrela odorata</i> enraizado <i>in vitro</i> , procedente de plantas de invernadero de doce meses de edad	135
FIGURA 21. Comportamiento de <i>Cedrela odorata</i> durante el enraizamiento	136
FIGURA 22. Brotes de <i>Cedrela montana</i> enraizados <i>in vitro</i> , procedentes de plantas de invernadero de nueve meses de edad. Tratamiento AIB 1,0 mgL ⁻¹ (izquierda) y control (derecha)	138
FIGURA 23. Comportamiento de <i>Cedrela montana</i> durante el enraizamiento	139

	Pág.
FIGURA 24. Brotes de dinde enraizados <i>in vitro</i> en sustrato, procedentes de plantas de invernadero de siete meses de edad.....	143
A, B.	
FIGURA 25. Comportamiento de <i>Chlorophora tinctoria</i> durante el enraizamiento	145
FIGURA 26. Brotes de roble colombiano enraizados <i>in vitro</i> , procedentes de plántulas de invernadero de dos meses de edad. Con AIB 25 mgL ⁻¹ (izquierda) y control (derecha)	148
FIGURA 27. Brotes de roble colombiano enraizados <i>in vitro</i> con AIB 25 mgL ⁻¹ , procedentes de plántulas de invernadero de dos meses de edad	148
FIGURA 28. Comportamiento de <i>Quercus humboldtii</i> durante el enraizamiento	149
FIGURA 29. Cinética de enraizamiento de <i>Cedrela odorata</i>	152
FIGURA 30. Cinéticas de enraizamiento de <i>Cedrela montana</i> y <i>Chlorophora tinctoria</i>	153
FIGURA 31. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Día cero	156
FIGURA 32. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Doce horas, ausencia de auxina	158
FIGURA 33. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Doce horas, AIB 1 mgL ⁻¹	159
FIGURA 34. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . 24 horas, ausencia de auxina	160
FIGURA 35. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . 24 horas, AIB 1,0 mgL ⁻¹	161
FIGURA 36. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . 36 horas, ausencia de auxina	163
FIGURA 37. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . 36 horas, AIB 1,0 mgL ⁻¹	164
FIGURA 38. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . 48 horas, ausencia de auxina	165
FIGURA 39. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . 48 horas, AIB 1,0 mgL ⁻¹	166
FIGURA 40. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Día tres, ausencia de auxina	168
FIGURA 41. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Día tres, AIB 1,0 mgL ⁻¹	169
FIGURA 42. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Cuatro días, ausencia de auxina	170
FIGURA 43. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Cuatro días, AIB 1,0 mgL ⁻¹	171
FIGURA 44. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Cinco días, ausencia de auxina	173
FIGURA 45. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Cinco días, AIB 1,0 mgL ⁻¹	174
FIGURA 46. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Seis días, ausencia de auxina	175
FIGURA 47. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Seis días, AIB 1,0 mgL ⁻¹	176
FIGURA 48. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Ocho días, ausencia de auxina	178

	Pág.
FIGURA 49. Secciones transversales de brotes de <i>Cedrela odorata</i> durante el proceso de enraizamiento <i>in vitro</i> . Ocho días, AIB 1,0 mgL ⁻¹	179
FIGURA 50. Tiempos de retención para los estándares comerciales AIA-Asp, AIA, AIB y ANA	180
FIGURA 51. Curvas de calibración para el AIA, el AIA-Asp, el AIB y el ANA (productos comerciales marca Merck) en la primera repetición	181
FIGURA 52. Curvas de calibración para el AIA, el AIA-Asp, el AIB y el ANA (productos comerciales marca Merck) en el segundo experimento	182
FIGURA 53. Niveles endógenos de AIA, AIA-Asp y AIB en brotes <i>Cedrela odorata</i> durante las dos repeticiones de inducción de enraizamiento. Cada punto de los gráficos es la media de cuatro repeticiones y las barras representan el error estándar de la media	184
FIGURA 54. Plántulas de <i>Cedrela odorata</i> . Control	189
FIGURA 55. Plántulas de <i>Cedrela odorata</i> sometidas a inóculo de <i>Glomus aggregatum</i>	189
FIGURA 56. Plántulas de <i>Cedrela odorata</i> sometidas a inóculo de <i>Glomus deserticola</i>	189
FIGURA 57. Plántulas de <i>Cedrela odorata</i> sometidas a inóculo de <i>Glomus macrocarpum</i>	190
FIGURA 58. Plántulas de <i>Cedrela odorata</i> en el tratamiento suelo	190
FIGURA 59. Comparación de las plántulas de <i>Cedrela odorata</i> más sobresalientes de cada tratamiento en sustrato turba- perlita. De izquierda a derecha <i>G. aggregatum</i> , <i>G. deserticola</i> , <i>G. macrocarpum</i> y sin inóculo	190
FIGURA 60. Comparación de las plántulas de <i>Cedrela odorata</i> con crecimiento intermedio en los primeros tratamientos anteriores más el suelo	191
FIGURA 61. Plantas de <i>Cedrela odorata</i> . Control	191
FIGURA 62. Plantas de <i>Cedrela odorata</i> inoculadas con <i>Glomus aggregatum</i>	192
FIGURA 63. Plantas de <i>Cedrela odorata</i> inoculadas con <i>Glomus deserticola</i>	192
FIGURA 64. Plantas de <i>Cedrela odorata</i> inoculadas con <i>Glomus macrocarpum</i>	192
FIGURA 65. Plantas de <i>Cedrela odorata</i> . Suelo	193

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO 1. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Semilla. Prueba de los efectos inter-sujetos ..	265
ANEXO 2. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Semilla. Comparaciones por pares	266
ANEXO 3. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Semilla. Número de brotes	266
ANEXO 4. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Semilla. Número de segmentos	266
ANEXO 5. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Semilla. Altura del brote	267
ANEXO 6. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad cuatro meses. Prueba de los efectos intersujetos	267
ANEXO 7. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad cuatro meses. Comparación por pares	268
ANEXO 8. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad cuatro meses. Número de brotes	268
ANEXO 9. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad cuatro meses. Número de segmentos	268
ANEXO 10. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad cuatro meses. Altura del brote	269
ANEXO 11. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad doce meses. Prueba de los efectos inter-sujetos	269
ANEXO 12. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad doce meses. Comparaciones por pares	270
ANEXO 13. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad doce meses. Número de brotes	270
ANEXO 14. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad doce meses. Número de segmentos ...	270
ANEXO 15. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad doce meses. Altura del brote	271
ANEXO 16. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad catorce meses. Prueba de los efectos inter-sujetos	271
ANEXO 17. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad catorce meses. Comparaciones por pares	272
ANEXO 18. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad catorce meses. Número de brotes	272
ANEXO 19. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad catorce meses. Número de segmentos	272
ANEXO 20. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Edad catorce meses. Altura del brote	273
ANEXO 21. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Número de brotes. Pruebas de efectos intra-sujetos	273
ANEXO 22. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Número de segmentos. Pruebas de efectos intra-sujetos	273
ANEXO 23. Establecimiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Altura del brote más largo. Pruebas de efectos intra-sujetos	274
ANEXO 24. Establecimiento. <i>Cedrela montana</i> . Edad nueve meses. Modelo Lineal General opción Multivariante. Prueba de los efectos inter-sujetos	274
ANEXO 25. Establecimiento. <i>Cedrela montana</i> . Edad nueve meses. Modelo Lineal General opción Multivariante. Comparaciones por pares	275
ANEXO 26. Establecimiento. <i>Cedrela montana</i> . Edad doce meses. Modelo Lineal General opción Multivariante. Prueba de los efectos inter-sujetos	275
ANEXO 27. Establecimiento. <i>Cedrela montana</i> . Edad doce meses. Modelo Lineal General opción Multivariante. Comparaciones por pares	276
ANEXO 28. Establecimiento. <i>Cedrela montana</i> . Edad doce meses. Modelo Lineal General opción Multivariante. Número de brotes	276
ANEXO 29. Establecimiento. <i>Cedrela montana</i> . Edad doce meses. Modelo Lineal General opción Multivariante. Número de segmentos	277
ANEXO 30. Establecimiento. <i>Cedrela montana</i> . Edad doce meses. Modelo Lineal General opción Multivariante. Altura del brote	277
ANEXO 31. Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Semilla. Prueba de los efectos inter-sujetos	278
ANEXO 32. Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Semilla. Comparaciones por pares	279
ANEXO 33. Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Semilla. Número de brotes	279
ANEXO 34. Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Semilla. Número de segmentos	279
ANEXO 35. Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Semilla. Altura del brote	280
ANEXO 36. Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Prueba de los efectos inter-sujetos	280
ANEXO 37. Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Comparaciones por pares	281

ANEXO 38.	Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Pruebas de los efectos inter-sujetos	281
ANEXO 39.	Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Comparaciones por pares	282
ANEXO 40.	Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Edad meses cuatro y seis, subcultivos uno y tres. Número de brotes.	282
ANEXO 41.	Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Edad meses cuatro y seis, subcultivos uno y tres. Número de segmentos	282
ANEXO 42.	Establecimiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Edad meses cuatro y seis, subcultivos uno y tres. Altura del brote más largo. Pruebas de los efectos intra-sujetos	283
ANEXO 43.	Establecimiento. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad dos meses. Pruebas de los efectos inter-sujetos	283
ANEXO 44.	Establecimiento. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad dos meses. Comparaciones por pares	284
ANEXO 45.	Establecimiento. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Prueba de los efectos inter-sujetos	284
ANEXO 46.	Establecimiento. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Comparaciones por pares	285
ANEXO 47.	Establecimiento. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Número de brotes	285
ANEXO 48.	Establecimiento. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Número de segmentos	285
ANEXO 49.	Establecimiento. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Altura del brote	286
ANEXO 50.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Semilla. Prueba de los efectos inter-sujetos	286
ANEXO 51.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Semilla. Comparaciones por pares	287
ANEXO 52.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Semilla. Número de brotes	289
ANEXO 53.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Semilla. Número de segmentos	290
ANEXO 54.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Semilla. Altura del brote	290
ANEXO 55.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Prueba de los efectos inter-sujetos	291
ANEXO 56.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Comparaciones por pares	292
ANEXO 57.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Número de brotes	294
ANEXO 58.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Número de segmentos	295
ANEXO 59.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Altura del brote	295
ANEXO 60.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad doce meses. Pruebas de los efectos inter-sujetos	296
ANEXO 61.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad doce meses. Comparaciones por pares	297
ANEXO 62.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad doce meses. Número de brotes	299
ANEXO 63.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad doce meses. Número de segmentos	300
ANEXO 64.	Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad doce meses. Altura del brote	300

Continuación índice anexos

	Pág.
ANEXO 65. Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Número de brotes	301
ANEXO 66. Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Número de segmentos.....	301
ANEXO 67. Multiplicación. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Altura del brote más largo	301
ANEXO 68. Multiplicación. <i>Cedrela montana</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad nueve meses. Prueba de los efectos inter-sujetos	302
ANEXO 69. No se incluyó	302
ANEXO 70. Multiplicación. <i>Cedrela montana</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad nueve meses. Número de brotes	303
ANEXO 71. Multiplicación. <i>Cedrela montana</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad nueve meses. Número de segmentos	303
ANEXO 72. Multiplicación. <i>Cedrela montana</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad nueve meses. Altura del brote	304
ANEXO 73. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Prueba de los efectos inter-sujetos	305
ANEXO 74. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Comparaciones por pares	306
ANEXO 75. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Número de brotes	307
ANEXO 76. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Número de segmentos	307
ANEXO 77. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad cuatro meses. Altura del brote.....	308
ANEXO 78. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Prueba de los efectos inter-sujetos	308
ANEXO 79. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Comparaciones por pares	309
ANEXO 80. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Número de brotes	312
ANEXO 81. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Número de segmentos	313
ANEXO 82. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad seis meses. Altura del brote	313
ANEXO 83. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad siete meses. Pruebas de los efectos inter-sujetos	314
ANEXO 84. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad siete meses. Comparaciones por pares	314
ANEXO 85. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad siete meses. Número de brotes	318
ANEXO 86. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad siete meses. Número de segmentos	318
ANEXO 87. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Edad siete meses. Altura del brote	319
ANEXO 88. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Edad cuatro, seis y siete meses. Subcultivos siete, nueve, once y trece. Número de brotes. Pruebas de efectos intra-sujetos	319
ANEXO 89. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Edad cuatro, seis y siete meses. Subcultivos siete, nueve, once y trece. Número de segmentos. Pruebas de efectos intra-sujetos	319
ANEXO 90. Multiplicación. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Edad cuatro, seis y siete meses. Subcultivos siete, nueve, once y trece. Altura del brote más largo. Pruebas de efectos intra-sujetos	320
ANEXO 91. Multiplicación. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Prueba de los efectos inter-sujetos	320

	Pág.
ANEXO 92. Multiplicación. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Comparaciones por pares	321
ANEXO 93. Multiplicación. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Número de brotes	325
ANEXO 94. Multiplicación. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Número de segmentos	326
ANEXO 95. Multiplicación. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Altura del brote	326
ANEXO 96. Modelo Lineal General para analizar los efectos de las diferentes concentraciones de aluminio en <i>Cedrela odorata</i> . Medias marginales estimadas. Comparaciones múltiples. DMS	326
ANEXO 97. Anova para contrastar las medias de las cinco variables dependientes con la variable independiente (tratamiento con aluminio)	328
ANEXO 98. Anova para contrastar las medias de las cinco variables dependientes con los meses de medida	329
ANEXO 99. Anova I para el efecto de una fuente adicional de nitrógeno, fósforo y potasio sobre <i>Cedrela odorata</i>	330
ANEXO 100. Anova para comparar las medias del ensayo nitrógeno, fósforo y potasio	330
ANEXO 101. Anova para comparar las medias de las cuatro variables dependientes con las concentraciones de sacarosa	331
ANEXO 102. Anova para comparar las medias de las cuatro variables dependientes con los meses de medida	331
ANEXO 103. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Origen semilla. Pruebas de los efectos intersujetos	332
ANEXO 104. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Origen semilla. Comparaciones por pares	333
ANEXO 105. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Cuatro meses de edad. Pruebas de los efectos inter-sujetos	333
ANEXO 106. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Cuatro meses de edad. Comparaciones por pares	334
ANEXO 107. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Doce meses de edad. Prueba de los efectos inter-sujetos	335
ANEXO 108. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Doce meses de edad. Comparaciones por pares	336
ANEXO 109. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Número de raíces. Pruebas de efectos intra-sujetos	336
ANEXO 110. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Número de raíces. Estadísticos descriptivos	336
ANEXO 111. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Longitud raíz primaria. Prueba de efectos intra-sujetos	337
ANEXO 112. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Longitud raíz primaria. Estadísticos descriptivos	337
ANEXO 113. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Longitud raíz secundaria. Prueba de efectos intra-sujetos	337
ANEXO 114. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Longitud raíz secundaria. Estadísticos descriptivos	338
ANEXO 115. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Altura de la plántula. Pruebas de efectos intra-sujetos	338
ANEXO 116. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Altura de la plántula. Estadísticos descriptivos	338
ANEXO 117. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Número de hojas. Prueba de efectos intra-sujetos	338
ANEXO 118. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Número de hojas. Estadísticos descriptivos	339
ANEXO 119. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Porcentaje de enraizamiento (datos transformados). Prueba de efectos intra-sujetos	339

Continuación índice de anexos

	Pág.
ANEXO 120. Enraizamiento. <i>Cedrela odorata</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Porcentaje de enraizamiento (datos transformados). Estadísticos descriptivos	339
ANEXO 121. Enraizamiento. <i>Cedrela montana</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Prueba de los efectos inter-sujetos	340
ANEXO 122. Enraizamiento. <i>Cedrela montana</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Estimaciones	341
ANEXO 123. Enraizamiento. <i>Cedrela montana</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Comparaciones por pares	342
ANEXO 124. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Cuatro meses de edad. Prueba de los efectos inter-sujetos	342
ANEXO 125. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Cuatro meses de edad. Comparaciones por pares	343
ANEXO 126. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Seis meses de edad. Prueba de los efectos inter-sujetos	344
ANEXO 127. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Seis meses de edad. Comparaciones por pares	345
ANEXO 128. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Siete meses de edad. Prueba de los efectos inter-sujetos	345
ANEXO 129. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Multivariante. Siete meses de edad. Comparaciones por pares	346
ANEXO 130. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Porcentaje de enraizamiento (datos transformados) para los tres ensayos. Estadísticos descriptivos	346
ANEXO 131. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Porcentaje de enraizamiento (datos transformados) para los tres ensayos. Edades cuatro y seis meses. Pruebas de efectos intra-sujetos	347
ANEXO 132. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Porcentaje de enraizamiento (datos transformados) para los tres ensayos. Edades seis y siete meses. Estadísticos descriptivos	347
ANEXO 133. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Porcentaje de enraizamiento (datos transformados) para los tres ensayos. Edades seis y siete meses. Pruebas de efectos intra-sujetos	347
ANEXO 134. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro meses de edad. Pruebas de efectos inter-sujetos ...	348
ANEXO 135. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro meses de edad. Comparaciones por pares	349
ANEXO 136. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Siete meses de edad. Pruebas de efectos inter-sujetos	349
ANEXO 137. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Siete meses de edad. Comparaciones por pares	350
ANEXO 138. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Número de raíces. Cuatro, seis y siete meses de edad. Pruebas de efectos intra-sujetos	351
ANEXO 139. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Número de raíces. Cuatro, seis y siete meses de edad. Estadísticos descriptivos	351
ANEXO 140. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Longitud raíz primaria. Cuatro, seis y siete meses de edad. Pruebas de efectos intra-sujetos	351
ANEXO 141. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Longitud raíz primaria. Cuatro, seis y siete meses de edad. Estadísticos descriptivos	352
ANEXO 142. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Longitud raíz secundaria. Pruebas de efectos intra-sujetos .	352
ANEXO 143. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Longitud raíz secundaria. Estadísticos descriptivos	352

	Pág.
ANEXO 144. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Altura de la plántula. Cuatro, seis y siete meses de edad. Pruebas de efectos intra-sujetos	353
ANEXO 145. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Altura de la plántula. Cuatro, seis y siete meses de edad. Estadísticos descriptivos	353
ANEXO 146. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Número de hojas. Cuatro, seis y siete meses de edad. Pruebas de efectos intra-sujetos	353
ANEXO 147. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Número de hojas. Cuatro, seis y siete meses de edad. Estadísticos descriptivos	353
ANEXO 148. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Número de raíces. Pruebas de efectos intra-sujetos ..	354
ANEXO 149. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Número de raíces. Estadísticos descriptivos	354
ANEXO 150. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Longitud raíz primaria. Pruebas de efectos intra-sujetos	354
ANEXO 151. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Longitud raíz primaria. Estadísticos descriptivos.	354
ANEXO 152. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Longitud raíz secundaria. Prueba de efectos intra-sujetos ..	355
ANEXO 153. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Longitud raíz secundaria. Estadísticos descriptivos	355
ANEXO 154. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Altura de la plántula. Prueba de efectos intra-sujetos	355
ANEXO 155. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Altura de la plántula. Estadísticos descriptivos	355
ANEXO 156. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Número de hojas. Pruebas de efectos intra-sujetos	356
ANEXO 157. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Número de hojas. Estadísticos descriptivos	356
ANEXO 158. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Porcentajes de enraizamiento (datos transformados). Estadísticos descriptivos.....	356
ANEXO 159. Enraizamiento. <i>Chlorophora tinctoria</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Sustrato. Cuatro y siete meses de edad. Porcentajes de enraizamiento (datos transformados). Pruebas de efectos intra-sujetos	356
ANEXO 160. Enraizamiento. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Dos meses de edad. Pruebas de los efectos inter-sujetos	357
ANEXO 161. Enraizamiento. <i>Quercus humboldtii</i> . Modelo Lineal General opción Medidas repetidas. Dos meses de edad. Comparaciones por pares	358
ANEXO 162. Micorrizas. Test de Tuckey. Estadísticos de grupo para el ensayo de enraizamiento de <i>Cedrela odorata</i>	359
ANEXO 163. Micorrizas. Anova de un factor para el promedio de la longitud, peso de raíces y de ramas de las plantas sobrevivientes a los cinco tratamientos de inoculación .	359

Continuación índice de anexos

	Pág.
ANEXO 164. Micorrizas. Pruebas post hoc (comparaciones múltiples) para peso de raíces y ramas del ensayo de inoculación. DMS	360
ANEXO 165. Micorrizas. Anova que contrasta las medias de las cinco variables evaluadas con los cinco tratamientos de inoculación	361
ANEXO 166. Micorrizas. Anova que contrasta las medias de las cinco variables evaluadas con los meses de medida uno y cuatro	361
ANEXO 167. Micorrizas. Pruebas post hoc (comparaciones múltiples) del ensayo de inoculación. DMS.	362

I. Introducción

1. ESTADO ACTUAL Y PROBLEMAS GENERALES DE LAS ESPECIES FORESTALES COLOMBIANAS.

1.1 Aspectos biológicos y geográficos

En Colombia, la mayoría de las especies (de plantas y animales en general) aún no ha sido clasificada a pesar de ocupar el primer puesto a nivel mundial en diversidad de especies nativas por unidad de área y el segundo lugar en número total de especies, según el Informe Nacional para la Conferencia de Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y el Desarrollo, celebrada en Río de Janeiro en junio de 1992 (Mora, 1994). Actualmente se estima que el promedio de exploración botánica del territorio colombiano es de un 61%; sobre la base de estos datos, se puede afirmar que el total de las especies vegetales con área de distribución en Colombia alcanzaría las 45.000 unidades (Rangel y col, 1994).

El mapa de bosques publicado por el Instituto Geográfico “Agustín Codazzi” (1984), indicaba que Colombia contaba con una superficie de 55.940.000 hectáreas de bosque natural, mientras que el área indicada por la publicación del Ministerio del Medio Ambiente “Nuestros Bosques” (1996) era de 53.179.700 hectáreas, entre uno y otro existe una diferencia entre dichas cifras de 2.756.000 hectáreas. Del área total con bosques naturales con que cuenta el país, 53.179.700 hectáreas, sólo quedó como área boscosa de propiedad del Estado una extensión de 8.600.122 hectáreas, que corresponde al 16.2% del área total boscosa y al 7.5% de la superficie del país (Forero, 1996).

Colombia cuenta con un área de 114.7 millones de hectáreas de las cuales 78 millones son suelos de aptitud forestal; sin embargo, sólo 53.1 millones están cubiertas por bosques. La deforestación a la que éstas han sido sometidas alcanza valores de 600 mil hectáreas/año y ha significado la tala de 37.7 millones de hectáreas entre 1960 y 1984 (PAFC, 1997).

Las especies comunes más explotadas en el sur del Pacífico colombiano son el sajo (*Camptosperma* sp., Anacardiaceae) y el cuángare (varios géneros de la familia Myristicaceae), excepto los bloques que corrientemente son de maderas de mejor calidad como el **cedro** (*Cedrela* sp.), el tangare (*Carapa* sp., Meliaceae), la pega, el **roble** (*Quercus humboldtii*), la garza (*Simarouba* sp., Simaroubaceae) y el laurel (*Ocotea* sp., Lauraceae) (Arboleda, 1988). Cuando se aprovechan árboles para obtener madera maciza en vigas o tablones o para fabricar contrachapados sólo se pueden utilizar árboles casi perfectos, bastante maduros y además sólo se puede aprovechar un porcentaje del árbol que oscila entre el 50% y el 70% (Aldana, 1988).

Todos los tipos de bosques del Pacífico Colombiano poseen gran importancia debido al sinnúmero de endemismos y a las complejas cadenas e interrelaciones presentes, lo que ha dado lugar a que varios investigadores hayan llamado a esta región, junto con la Amazonia, “los mayores laboratorios vivientes del planeta”. Estos bosques han abastecido, durante los últimos años, cerca del 50% de la demanda de madera y otros productos forestales del país, debida a sus altos volúmenes de existencias, la presencia de especies de alto valor comercial e industrial y su relativamente fácil accesibilidad (Min.Med.Amb.-INDERENA, 1994).

Aproximadamente el 70% de las especies existentes en Colombia están confinadas a bosques nativos de donde se deduce la gravedad que implica la destrucción de estos ecosistemas.

En la actualidad existen treinta y siete áreas pertenecientes al sistema de parques nacionales, con una cobertura de 5.8 millones de hectáreas, que tan sólo representan el 5% del territorio. Adicionalmente, se hallan declaradas cuarenta y cinco reservas forestales protectoras con un área de 333000 hectáreas (PAFC, 1997). La gran diversidad de ecosistemas forestales, producto de factores de altitud, condiciones edafológicas y climáticas, hacen que éstos ecosistemas representen y sustenten en gran proporción la “megadiversidad” de nuestro país, que a su vez representa el 10% de la biodiversidad mundial. (PNDF, 1999).

De acuerdo con las cifras de la FAO (1999), Colombia ocupa el séptimo lugar en el mundo entre los países con mayor área de cobertura forestal en cuanto a bosques tropicales se refiere, representando el 6.42% de la oferta total para América del Sur Tropical y el 1,5% de los bosques del mundo. Asimismo en los informes de la FAO (1990), es el séptimo país que contiene la mayor parte de la “frontera forestal” del globo y el segundo con el mayor número de especies de plantas en su interior (Instituto de Recursos Mundiales, WRI- 1997). En el país, estos bosques corresponden a las selvas localizadas en el Tapón del Darién (límites con Panamá), del Chocó Biogeográfico (Panamá, Colombia y Ecuador) y de la Cuenca de la Amazonía (Brasil, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela, Surinam, Guyana Francesa y Guyana Holandesa) (PNDF, 1999).

1.2 Aspectos sociales

En las selvas que cubren el Andén Pacífico Colombiano, las comunidades negras e indígenas, en un proceso que duró siglos lograron desarrollar un sistema de adaptación apropiado para este complejo y frágil medio mediante la combinación de sistemas agrícolas y forestales (Mosquera, 1994 y Min.Med.Amb-INDERENA, 1994). Aquí aparece una de las grandes implicaciones forestales de la Ley 70 de 1993, puesto que las prácticas tradicionales de producción de los habitantes de la Cuenca del Pacífico siempre han incluido al sector forestal (Mosquera, 1994). En el Pacífico, donde se viven situaciones similares a las de la Amazonía, todavía no existe una organización en estas comunidades, lo que genera anomalías en el proceso del aprovechamiento, y por ende, una consecuencia directa sobre los costes (Arboleda, 1988).

De acuerdo con el estudio “Revisión de Políticas Sectoriales que promueven la deforestación en Colombia”- Min.Med.Amb (1997), la deforestación ha sido el resultado de la ausencia de políticas y planes específicos de colonización dirigida y de situaciones globales de planificación macroeconómica manifestadas especialmente en: primero, las prácticas agrícolas de roza y quema; segundo, los requerimientos de leña; tercero, la conversión de tierras para la actividad ganadera y para grandes proyectos agrícolas; cuarto, la construcción de grandes proyectos de infraestructura hidroeléctrica y minera; quinto, los efectos de ocupación territorial originados en las actividades de explotación y exploración petrolera; y sexto, la construcción de obras, o la ocupación territorial no planificada que promueven los colonos que llegan a instalarse en zonas nuevas para iniciar actividades agropecuarias no sostenibles (PNDF, 1999), incendios forestales y la producción maderera para la industria y el comercio (DNP, 1996).

Los orígenes de la deforestación de bosques naturales han sido principalmente la colonización causante del 76.3%, el consumo para fines dendroenergéticos que ha significado el

12.7% y la obtención de materia prima para la industria forestal responsable del 11% de la misma. Se estima que un millón de hectáreas anuales son destruidas para dar paso a la colonización (PAFC, 1997 y Ministerio Desarrollo Económico, 1999). Los colonos provienen de la zona andina, de donde son expulsados por conflictos sociales, pero su cultura choca con la de la selva. Esto es dinamizado por la expectativa de los cultivos ilícitos, la presencia de grupos al margen de la ley, la explotación de hidrocarburos, la demanda de maderas preciosas (Lauraceae, *Cedrela* y *Platymiscium*) y la deficiente atención estatal a la región (Min.Med.Amb-INDERENA, 1994). Los cultivos ilícitos han destruido miles de hectáreas de cobertura boscosa. En 1991 se encontraban afectados 323 municipios, y en 1994 eran 385. Los ecosistemas amazónicos y andinos son los más afectados. Se calcula que por cada hectárea de coca sembrada se destruyen dos hectáreas de bosque, y por cada hectárea de amapola se destruyen 2.5 hectáreas de bosque. Según estimaciones, durante 1992 se talaron 11.000 hectáreas de bosques primarios altoandinos para cultivar amapola (DNP, 1996). En la Región Andina quedan algunos bosques en estado regular al sureste del país con especies valiosas como ***Cedrela odorata*** y *Cedrelinga catenaeformis* (Min.Med.Amb.-INDERENA, 1994). También, el consumo de madera como fuente de energía, significa la deforestación de aproximadamente 76400 hectáreas anuales. El consumo de leña en el país se estima entre 9.8 y 12.7 millones de toneladas al año, además de un millón adicional que se transforma en carbón vegetal (PAFC, 1997).

En contraposición, en los bosques de la zona Pacífico Norte, Urabá y Serranías del Darién y del Baudó, existe el agudo problema de la colonización espontánea que ocasiona el deterioro de más del 80% del recurso debido al cambio de uso del suelo, mediante prácticas de agricultura migratoria; allí encima existe una explotación maderera de dos tipos: una selectiva, de especies de alto valor comercial varias de ellas en vías de extinción, de los géneros *Swietenia*, *Centrolobium*, *Cariniana*, ***Cedrela***, y de la familia Lauraceae, y la otra intensiva y altamente mecanizado en el catival (Min.Med.Amb.-INDERENA, 1994).

Para 1998 el número de empleos directos generados por la industria del aserradero fue de 20.400. La oferta total de madera aserrada para 1997 ascendió a 568.588 m³. En ese mismo año el 85% de madera aserrada provenía de los bosques naturales, el 13% de los bosques plantados y sólo un 2% de las importaciones. La demanda de madera aserrada en 1997 fue de 577.123 m³ y en 1998 de 522.988 m³. En la década de los setenta, el país fue un gran exportador de madera aserrada. No obstante en el período comprendido entre 1987 y 1997, la balanza comercial acusó un comportamiento negativo del orden de US \$ 13.277.056 (Informe Final Min.Med.Amb., 1999).

1.3 Políticas forestales colombianas

Debido a que la bibliografía referente a las políticas forestales en Colombia es bastante extensa, en este trabajo sólo se resumieron las leyes de la última década, ya que son las que mayor incidencia tiene en el objetivo de este análisis.

Colombia ha contado con diversas declaraciones gubernamentales de política Nacional Forestal, los más destacados son la de 1974, la de 1984 y la de 1996. En este último año el Ministerio del Medio Ambiente y el Departamento Nacional de Planeación (DNP) propusieron la Política de Bosques, que actualmente es conocida como “Documento CONPES 2834 de 1996” (PNDF, 1999).

En Junio de 1994 apareció la Ley 139; dicha ley creó el CIF (Certificado de Incentivo Forestal), un reconocimiento de hasta un 50% por parte del gobierno Nacional del total de costes de siembra y mantenimiento de una plantación forestal (Millán, 1997). La ley 30 de 1998 permite la titulación de tierras a personas jurídicas lo que deja al colono en libertad para desarrollar actividades contrarias a la aptitud de los suelos. Aunque Colombia cuenta con un excelente Código para el manejo de los recursos naturales renovables (Decreto/Ley 2811 de 1974) no ha sido posible su aplicación (PAFC, 1998).

Los programas del PAFC constituyen cuatro frentes básicos de trabajo que marcan las directrices de la Gestión Estatal en el campo forestal para los próximos años. Estos son: planificación territorial de áreas forestales, desarrollo de la industria forestal, desarrollo social basado en el bosque, y protección y recuperación de ecosistemas (PAFC, 1998). Los esfuerzos del país en la conservación de los ecosistemas boscosos se han centrado en las siete reservas forestales creadas por la Ley 2ª de 1959, las cuarenta y cinco áreas del Sistema de Parques Nacionales, las cincuenta y siete áreas de Reserva Forestal Protectora, unas pocas reservas regionales declaradas por las Corporaciones y ciento tres reservas privadas creadas por la sociedad civil. Sin embargo, la mayoría de las reservas públicas presentan problemas de administración, manejo, deforestación y deterioro (DNP, 1996).

Entre 1990 y 1993 el Gobierno Colombiano adelantó el proceso de diseño, evaluación, negociación y aprobación de dos programas. “El Programa de Manejo de Recursos Naturales - Banco Internacional de reconstrucción y Fomento (BIRF)”, y “El Programa Ambiental- Banco Interamericano de Desarrollo (BID)”, los cuales fueron protocolizados a principios de 1994 (PNDF, 1999). En mayo de 1998 el Consejo Nacional Ambiental aprobó el Plan Estratégico para la restauración y el Establecimiento de Bosques en Colombia (Plan Verde), elaborado por el Ministerio del Medio Ambiente (PNDF, 1999). A partir de 1996, en el marco del Programa de Manejo de Recursos Naturales (PMRN), se desarrolló una serie de estudios relacionados con temáticas del sector forestal para contribuir a la formulación del PNDP. Simultáneamente, en 1997 se realizó un estudio encaminado a definir las bases para la formulación del PNDP, dentro del cual se proponía el desarrollo de trece programas a largo plazo (veinte años), y un plan de acción para cuatro años, contemplando actividades relacionadas con la ejecución y puesta en marcha del PNDP (PNDF, 1999).

Colombia ha establecido cuarenta y seis unidades de conservación adscritas al Sistema de Parques Nacionales Naturales, que en conjunto abarcan una superficie superior a los nueve millones de hectáreas, que corresponden a cuatro de las cinco categorías existentes en la legislación; a saber, treinta y cuatro Parques Nacionales, dos Reservas Naturales, Un Area Unica Natural y nueve Santuarios de Flora y Fauna. Adicionalmente al Sistema de Parques Nacionales se han definido otras zonas bajo la categoría de Reservas Forestales Protectoras, que cubren alrededor de 275.000 hectáreas. Así mismo, se han registrado 453 hectáreas de reservas forestales protectoras, declaradas por entidades territoriales departamentales y municipales (PNDF, 1999).

El Ministerio del Medio Ambiente, a través de la Unidad Administrativa Especial del Sistema de Parques Nacionales Naturales, elaboró el documento "Estrategias para la consolidación de un sistema nacional de áreas naturales protegidas del país en el contexto del desarrollo humano

sostenible”, (1998) y propuso para el Sistema Nacional de Areas Naturales Protegidas (SINANP) las siguientes áreas: el Sistema de Areas Protegidas Nacionales, Regionales, Locales y el de la Sociedad Civil (PNDF, 1999).

Se puede destacar que adicionalmente a las promulgaciones oficiales de política sectorial forestal, la Política Nacional de Biodiversidad, contribuye a hacer realidad lo planteado en el Convenio de Diversidad Biológica (Ley 165 de 1994). Esta ley fue formulada por el Ministerio del Medio Ambiente y el Departamento de Planeación Nacional, contó con el apoyo del Instituto Alexander von Humboldt de Bogotá y fue aprobada por el Consejo Nacional Ambiental en 1997 (PNDF, 1999).

En agosto de 1991, el Conpes aprobó la política Ambiental para Colombia (DNP- 2544- DEPAC). El Instituto Nacional de los Recursos Naturales Renovables y del Ambiente, formuló una serie de proyectos en materia forestal, muchos de los cuales fueron presentados a la Organización Internacional de Maderas Tropicales (Min.Med.Amb.-INDERENA, 1994). En el año 1992 se desarrolló toda la negociación de la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Medio Ambiente y Desarrollo, la cual concluyó con la firma de dos convenciones (Biodiversidad y Cambio Climático), la Agenda 21 y una Declaración de Principios sobre Bosques. En 1993, se logró la aprobación de la ley de creación del Ministerio del Medio Ambiente (Min.Med.Amb.-INDERENA, 1994).

Los bosques públicos, los de propiedad privada, los de propiedad de las comunidades negras y los localizados en resguardos indígenas, están sometidos a las normas que sobre conservación expidan las Corporaciones Autónomas Regionales, correspondientes a cada jurisdicción y a los planteamientos de política forestal que señale el Ministerio del Medio Ambiente. La ley 99 concibe el manejo ambiental del país, conforme a la Constitución Nacional, de manera descentralizada, democrática y participativa. Además establece un Sistema Nacional Ambiental (SINA), cuyos componentes y su interrelación definen los mecanismos de actuación del Estado y la sociedad civil. Definido el Ministerio como un ente coordinador y formulador de políticas y como la máxima autoridad ambiental del país, la Ley 99 de 1993 confía a las Corporaciones Autónomas Regionales la administración de los recursos naturales renovables y la responsabilidad de su desarrollo sostenible (Min.Med.Amb.-INDERENA, 1994).

2. ESPECIES FORESTALES EN LOS TRÓPICOS

Los países ricos en diversidad biológica, pero pobres en capacidad de inversión en investigación y desarrollo tecnológico, plantearon en la cumbre de la tierra, nuevas preocupaciones al mercado mundial al reafirmar su soberanía y establecer que los recursos genéticos son patrimonio nacional de los países depositarios de los mismos, de allí la figura de “los derechos del país de origen”, la cual tiene implicaciones de orden ético, social, cultural, económico y político (Calle, 1994).

Los bosques de los Países Andinos, que corresponden principalmente a las cuencas de los ríos Orinoco y Amazonas, cubren aproximadamente el 60% del área de la subregión y abarcan unas 221×10^6 ha. **Se calcula que hay unas 2500 especies de árboles en los bosques naturales muy heterogéneos de los cuales la industria maderera solamente aprovecha unas 50 especies.** Por ejemplo en la zona de Barrancabermeja, en Colombia, en un área de 375.000 hectáreas, existen **260 especies** forestales conocidas, de las cuales sólo a veintiuna se les reconoce un valor comercial, y

sólo tres se explotan de forma regular. Sin embargo, el hecho de descubrir que algunas especies tropicales poseen buenas propiedades tecnológicas no significa que sean aceptadas automáticamente por el mercado (Keenan y Tejada, 1987).

La mayoría de los esfuerzos realizados en América Latina, durante un largo período y en varios países, para cultivar *Cedrela* en plantaciones puras y en hileras cortadas a través del bosque explotado han sido un fracaso, ya que existen pocos sitios donde las condiciones de crecimiento son óptimas para *Cedrela*. Además, tales sitios abarcan pequeñas áreas o superficies en la mayoría de los países y, en consecuencia, la plantación a gran escala de *Cedrela* es difícil (Betancourt, 1999).

Hace tres años surgió, por iniciativa de la FAO y de agencias multilaterales de cooperación, el Plan de Acción Forestal para los Trópicos (PAFT) como un programa internacional que apoya el desarrollo de planes locales de las naciones interesadas en preservar sus bosques, y a la vez, derivar de ellos el máximo beneficio económico y social. En Colombia se inició su formulación hace dos años, gracias a la cooperación del gobierno de Holanda, de la República Federal de Alemania, del PNUD, de la FAO, del Banco Interamericano de Desarrollo y del FONAIDE (PAFC, 1997).

América Latina en general es un exportador neto de productos forestales, excepto en tableros aislantes y residuos de madera. Los principales proveedores del mercado son Estados Unidos 45% y los países de la región como Brasil, Chile, Argentina, Ecuador, Paraguay, México y Colombia. Si bien este mercado es nueve veces menos que el de la Unión Europea y cinco veces menor que el de Estados Unidos, resulta importante para Colombia por su posición geográfica, acuerdos comerciales y políticas multilaterales de integración regional (Informe Final Min.Med.Amb., 1999).

2.1 Investigaciones forestales y reforestación en Colombia

Numerosos estudios realizados a través de años de investigación sin lograr resultados consistentes que ofrezcan viabilidad económica al cultivo de las Meliáceas, han ocasionado que **muchos silvicultores desistan de la tarea investigadora sobre especies como *Cedrela odorata* L.**, a pesar de su alto valor comercial. De forma particular, CONIF ha emprendido numerosos ensayos dirigidos a conocer las técnicas silviculturales más adecuadas para el manejo de algunas de las principales especies de los bosques tropicales colombianos. Producto de lo anterior, y para el caso del cedro, algunas investigaciones en diferentes ecosistemas han indicado bajos índices de ataque del barrenador *Hypsipyla grandella* Z., lo que ha permitido lograr árboles con buena forma y aumentar la productividad, mostrando así nuevas posibilidades en su uso (Guevara, 1988).

3. FASES DE DESARROLLO DE LOS ÁRBOLES

El proceso normal de crecimiento de los árboles se desarrolla desde un estado juvenil a un estado maduro. Sin embargo, la transición se desarrolla de forma paulatina, lo primero en adquirir características maduras son las partes formadas recientemente (las partes más superiores del árbol), mientras las partes más viejas siguen manteniendo características de estados juveniles (Motta, 1981).

Greenwood (1987) propuso cuatro fases de desarrollo en árboles, cada uno caracterizado por una serie de competencias morfogenéticas: primero, una fase embriogenética; segundo una fase de plántula; tercero una fase de transición y cuarto la fase madura.

3.1 Fase juvenil

El período juvenil se relaciona frecuentemente con el tamaño final de la planta. Generalmente, los arbustos tienen un período juvenil más corto que los árboles (Hackett, 1987), lo normal es que esta fase sea de tan solo un año en algunos arbustos (Carpita, 1994), treinta a cuarenta años en ciertos árboles forestales (Hackett, 1987) y hasta cuarenta años en el haya (*Fagus silvatica*) (Carpita, 1994). Durante esta etapa no ocurre floración y no se puede inducir por tratamientos o condiciones normales (Hackett, 1987). Estas fases juveniles largas en coníferas y en otros árboles, imponen obstáculos serios a los programas genéticos diseñados para mejorar su calidad. Otra diferencia fisiológica común entre las especies perennes en fases juvenil y adulta es la capacidad de formar raíces adventicias, ya que en la fase adulta esta capacidad suele disminuir (Carpita, 1994).

El verdadero tipo de propagación vegetativa solo es posible frecuentemente en material juvenil muy joven (Bonga, 1982). Mientras más joven y menos diferenciado esté el tejido que se va a inocular, mejor será la respuesta *in vitro*. Los meristemos apicales y axilares han sido empleados con éxito en una amplia gama de especies (Villalobos y Thorpe, 1993). La juvenilidad no está necesariamente relacionada al vigor, ya que los ápices de brotes sobre las ramas de árboles maduros generalmente producen mucho más crecimiento anual que los ápices de un embrión o plántulas juveniles (Bonga, 1987). El estado fisiológico de la fuente de inóculo puede tener un efecto dramático sobre su comportamiento en cultivo (Piqueras y Debergh, 1999).

3.2 Fase de transición

En la mayoría de las plantas la transición de la fase juvenil a la fase madura no está claramente definida. Algunas partes del árbol pueden estar maduras o senescentes, mientras otras porciones continúan desplegando características juveniles (Bonga, 1982). El logro y mantenimiento de la habilidad o potencial para florecer es el único criterio útil para señalar la terminación del período juvenil. La floración puede indicar cuando una planta ha alcanzado la fase de madurez sexual, pero no puede indicar cuando ha ocurrido la transición (Hackett, 1987).

La diferencia entre una planta juvenil y una senescente no es sólo de tamaño y forma; implica una diferencia mucho más profunda, que abarca muchos aspectos fisiológicos y fisiogenéticos. A menudo la plántula presenta condiciones óptimas de temperatura diferentes a la planta adulta. Muchas especies presentan diferente susceptibilidad a las enfermedades según la edad. La capacidad de retener las hojas es mas alta en las ramas y árboles jóvenes. En ocasiones, aún la forma de las hojas varía con la edad (Rojas, 1993).

Algunas características juveniles, tales como potencial de enraizamiento y formación de yemas, pueden preservarse en la base de las plantas en tejidos ontogenéticamente jóvenes (meristemos) mientras ocurre la maduración en la periferia de la planta en tejidos ontogenéticamente más viejos pero cronológicamente jóvenes (Hackett, 1987).

3.3 Fase adulta

Una vez alcanzada la fase sexualmente madura, esta es relativamente estable. Generalmente, la condición juvenil no suele revertirse producto de la propagación asexual efectuada a través de un corte o injerto que involucre una yema y una pieza pequeña del tallo. Sin embargo con el tiempo, la habilidad para florecer se consigue y se mantiene bajo condiciones naturales. En la fase adulta el árbol ha logrado la madurez sexual (Hackett, 1987). La clonación de árboles maduros se desea cuando se establecen plantaciones de especies dióicas, es importante destacar que en algunas sólo los árboles femeninos tienen valor económico. Debido a que el género de éstos árboles no se conoce antes de la madurez, la clonación se efectúa preferiblemente en árboles sexualmente maduros (Bonga, 1987).

El proceso de madurez o cambio de fase en árboles es un fenómeno poco estudiado. Se ejemplifica por características tales como velocidad de crecimiento y eficiencia reducidas en el enraizamiento de los esquejes, habilidad reducida para propagar plantas maduras en cultivo de tejidos, cambios en morfología foliar, y el inicio de la floración (Greenwood, 1987).

4. PROPAGACIÓN CLONAL DE ESPECIES FORESTALES

La reproducción asexual, esto es, la reproducción empleando partes vegetativas de la planta original, es posible porque cada célula de la planta contiene la información genética necesaria para generar la planta entera. La reproducción puede ocurrir mediante la formación de raíces y tallos adventicios o por medio de la unión de partes vegetativas por injerto. A la propiedad de las células vegetativas de las plantas de contener toda la información genética necesaria para regenerar el organismo completo se le llama **totipotencia** (Hartmann y Kester, 1989).

Si bien es deseable que exista una uniformidad genética en los monocultivos, el manejo de bosques tropicales diversos de especies debería tratar de mantener e incluso de promover el entrecruzamiento de muchos árboles de la misma especie (Ricker y Daly, 1998). Los progresos en la liberación de nuevas variedades de cultivos de plantas, usando ingeniería genética, dependen del desarrollo de tecnología apropiada de ADN recombinante y procedimientos genéticos celulares. Estos últimos incluyen la tecnología de fusión de protoplastos, producción de plantas haploides, cultivo de embriones e inducción *in vitro* de variabilidad genética celular (variación somaclonal). Además, se pueden seleccionar genotipos celulares nuevos de cultivos de células o a través de tecnología de ADN recombinante. La multiplicación de plantas modificadas genéticamente puede obtenerse a través de cultivo de tejidos (Sharp y Evans, 1986).

4.1 Ventajas de los métodos de propagación vegetativa

Hartmann y Kester (1989) mencionan seis razones por las que se debe emplear la propagación vegetativa:

- a) **Mantenimiento de clones.** En la clonación las características específicas de cualquier planta individual son perpetuadas por propagación. La clonación es de particular importancia en horticultura debido a que la mayoría de los cultivares de gran parte de las

plantas frutales y ornamentales tienen un genotipo altamente heterocigoto y las características únicas de dichas plantas se pierden de inmediato al propagarlas por semillas.

- b) **Propagación de plantas sin semilla.** La propagación asexual es necesaria para mantener cultivares que no produzcan semillas viables, como ciertas clases de bananos, higueras, naranjas y vides.
- c) **Evitar períodos juveniles prolongados.** Las plantas que se cultivan a partir de semillas pasan por un período juvenil prolongado en el cual ocurre floración. Algunas plantas leñosas y ciertas herbáceas perennes como orquídeas y especies de bulbo, pueden necesitar de cinco a diez años para que se inicie la floración. Una vez que han llegado al estado de floración, florecen con regularidad. La propagación vegetativa retiene esa capacidad de floración y con ella se evita la fase juvenil.
- d) **Control de la forma de crecimiento.** Durante el período juvenil las plantas originadas de semilla no sólo no producen flores y frutos sino que a menudo muestran características morfológicas diferentes. Algunas de ellas son caracteres muy inconvenientes (por ejemplo, presencia de espinas o vigor excesivo que se pueden evitar propagando la forma adulta por métodos vegetativos.
- e) **Combinación de clones.** Un aspecto importante de la propagación asexual lo constituye la posibilidad de combinar en una sola planta dos o más clones por injerto.
- f) **Razones económicas.** En general, la propagación en masa por medios vegetativos no es más económica que la propagación comparable por semilla, pero su empleo se justifica por la superioridad y uniformidad de clones específicos. La principal economía de la propagación vegetativa proviene de la eliminación de la fase juvenil y del acortamiento del tiempo necesario para llegar a la madurez reproductiva.

El tratamiento con auxina de esquejes ha sido una práctica agrícola rutinaria para asegurar el enraizamiento de varias especies (Garrido y col, 1998). A nivel de investigación se pueden citar las siguientes: El enraizamiento de esquejes de tallo de manglar con AIA y ANA (Basak y col, 2000); esquejes plagiotrópicos de árboles de quince y setenta años de *Keteleeria davidiana* con AIB y ANA (Chang y col, 1998); esquejes de tallo de *Diantus caryophyllus* con el objeto de medir el tiempo de curso de la formación y crecimiento longitudinal de raíces (Garrido y col, 1998); esquejes apicales y mediales de *Dorycnium* spp para examinar la habilidad de enraizamiento de la fuente del esqueje (Alegre y col, 1998); esquejes basales de la planta madre de *Syzygium paniculatum* (Lebrun y col, 1998). Basak y col (2001) efectuaron un experimento para valorar la respuesta de enraizamiento en esquejes de tallo de diferentes especies de manglar (*Bruguiera parviflora*, *Cynometra iripa*, *Excoecaria agallocha*, *Heritiera fomes* y *Thespesia populnea*), con auxinas aplicadas exógenamente. Midieron también los cambios en la actividad de la amilasa, AIA-oxidasa, peroxidasa y polifenol oxidasa en diferentes estados de desarrollo de raíz. Basak y col (2001) llegaron a la conclusión de que la eficiencia de enraizamiento en esquejes de tallos de manglar es específico de la especie y está regulado por los efectos sinérgicos de la combinación de las auxinas (AIA y AIB o AIB y ANA), así

como la acumulación de fotosintatos. Además mencionan que los efectos de auxinas que promueven la raíz están relacionados directamente con la actividad hidrolítica de la amilasa durante la iniciación de raíz. Según ellos, las enzimas oxidativas, semejantes a AIA-oxidasa, polifenol oxidasa o peroxidasa tienen un efecto indirecto durante la iniciación de raíz (Basak y col., 2001).

Chang y col. (1998) también enraizaron esquejes de árboles de *Keteleeria davidiana*, de cuatro a setenta años, con AIB en polvo y con una solución que contenía AIB + ANA + tiamina, obteniendo porcentajes de enraizamiento de 22,5% a 100%. Según ellos, los esquejes de árboles más jóvenes enraizaron mejor y más pronto que los de árboles viejos. Los esquejes con hojas juveniles de la parte más baja de la copa de árboles viejos obtuvieron porcentajes de enraizamiento más altos que los de hojas maduras del ápice de la copa (Chang y col, 1998).

Según Lebrun y col. (1998), la especie *Syzygium paniculata* (Familia Myrtaceae) se propaga fácilmente por semilla, pero el cultivar nuevo "Verlaine" solo puede ser multiplicado a través de cultivo vegetativo. Ellos determinaron que las mejores condiciones para el enraizamiento de esquejes de tallo son calor bajo (22 °C) y sustrato turba-perlita ácido (pH 3.5) bien aireado. La adición de auxinas no afecta el enraizamiento; además, la iniciación de raíz debe ser endógena (Lebrun y col, 1998).

Para Alegre y col. (1998), la fuente del esqueje (apical versus medial) no tiene efecto significativo sobre la habilidad del enraizamiento de *Dorycnium pentaphyllum*. El enraizamiento fue estimulado bajo condiciones de calor y la aplicación de auxina favoreció la capacidad de enraizamiento de los esquejes.

Por otro lado, Davies y col (2002), investigaron los efectos de la interacción entre diferentes concentraciones de AIB y la duración de la inmersión sobre el crecimiento de plántulas de *Quercus robur* y *Fagus sylvatica*. Según ellos, el AIB 250 mgL⁻¹, aplicado durante cien minutos incrementó el peso seco de raíces y brotes de *Fagus sylvatica*, pero que el tratamiento de plántulas de *Quercus robur* con AIB, a alguna concentración, no altera las tasas de iniciación y elongación de raíz. Observaron que la toma de AIB es muy baja (< 0,15% después de 300 minutos) en raíces cortadas de ambas especies, sin embargo, fue más rápida en *Fagus* que en *Quercus* (Davies y col, 2002).

Puhe (2003) describe el crecimiento de raíz, el desarrollo del sistema radical, la fenología, la ontogenia y las respuestas biológicas de las raíces de *Picea abies* a condiciones de crecimiento adverso. Dice que la acidez del suelo y la toxicidad de aluminio afectan frecuentemente el desarrollo del sistema radical del árbol joven, y que sus comunidades micorrícicas están afectadas por la deposición atmosférica de nitrógeno y la acidez; además, afirma que las condiciones de crecimiento adversas incrementan la formación de raíces adventicias (Puhe, 2003).

Otra de las ventajas de la propagación vegetativa es que el incremento de la productividad es inmediata, mientras que con la propagación sexual se requieren varias generaciones (Bonga, 1982; Margara, 1988). La multiplicación vegetativa asegura la estabilidad porque todos los individuos de un clon son idénticos, siempre que no sobrevengan mutaciones ni variaciones (Margara, 1988).

Algunas especies de cosechas tienen genotipos que no producen semillas. Otros como la patata (*Solanum tuberosum*), el ñame (*Dioscorea* sp.), la yuca (*Manihot* sp.), la patata dulce (*Ipomoea batata*) y la caña de azúcar (*Saccharum* sp.) poseen genotipos estériles o producen semillas ortodoxas que son altamente heterocigotas, y por lo tanto, son de interés limitado para la

conservación de combinaciones de genes particulares. Estas especies son principalmente propagadas vegetativamente para mantener genotipos clonales (Engelmann, 1987).

4.2 Desventajas de los métodos de propagación vegetativa

Las formas asexuales que se reproducen por apomixis o por medios vegetativos mantienen un genotipo uniforme. A pesar de estar bien adaptados a fuerzas selectivas presentes, carecen de habilidad para responder a condiciones de cambios. Hay una alta variación genética entre los individuos originados por reproducción sexual a través de los diferentes cigotos, y cero varianza genética entre la progenie vegetativa derivada únicamente por división mitótica de un simple cigoto. En muchas especies reproducidas vegetativamente es imposible conocer si dos plantas son derivadas de uno o de diferentes cigotos. En estas especies se pueden presentar problemas muy considerables para una colección y una conservación eficientes. La multiplicación de semilla está comprometida generalmente en un medio ambiente uniforme, o al menos, uno más uniforme que el medio ambiente ocupado por poblaciones naturales. El resultado es probablemente una presión de selección direccional favoreciendo un genotipo simple, y por lo tanto, una eliminación progresiva de otros genotipos, además de la reducción en varianza genética dentro de las accesiones (Hayward y Hamilton, 1997).

5. CULTIVO *IN VITRO* DE ESPECIES FORESTALES.

La micropropagación es definida como el verdadero tipo de propagación de genotipos seleccionados usando técnicas de cultivo *in vitro* (Kane, 2000). El objetivo de la micropropagación es obtener un gran número de plantas genéticamente idénticas, fisiológicamente uniforme con desarrollo normal y preferiblemente con un alto potencial fotosintético o fotoautotófico (utilizando CO₂ en el aire como la fuente de carbono) para que puedan sobrevivir en las condiciones *ex vitro*, en un período de tiempo reducidos a un coste rebajado (Jeong, 1995). Con respecto a la micropropagación, constantemente se incrementa la lista de especies que se pueden multiplicar eficientemente. Sin embargo, tales técnicas no se han podido aplicar con los mismos resultados a las especies leñosas y esto ha estimulado a muchos investigadores a realizar esfuerzos para elucidar el problema (Villalobos y Thorpe, 1993).

La formulación del medio de cultivo es importante en el desarrollo del cultivo de tejidos de plantas y de protocolos de micropropagación. En cultivo de tejidos de plantas, el volumen del medio usualmente es pequeño (4,0 a 10 ml por explanto) comparado con el del cultivo hidropónico y otros sistemas de producción de plantas. Además el medio de cultivo de tejidos no es abastecido para un período de tiempo largo, haciendo la composición inicial del medio críticamente importante. Un medio de cultivo ideal para un máximo crecimiento de tejidos debe proveer una cantidad suficiente de nutrientes esenciales (incluyendo azúcar como fuentes de energía y carbón) hasta el final del período de cultivo, de modo que la reducción de tales nutrientes no limite su crecimiento (Jeong, 1995).

5.1 Dificultades en la propagación clonal de especies forestales mediante cultivo *in vitro*

Los problemas más serios encontrados en la propagación de especies arbóreas *in vitro* son: la variación genética en las respuestas de regeneración y la propagación a partir de material adulto. Estos dos problemas dificultan considerablemente la ejecución de sistemas prácticos de propagación de fenotipos seleccionados. Otros problemas suelen ser la formación de órganos y plantas defectuosas, la dificultad para erradicar las infecciones internas, y la secreción de sustancias tóxicas como fenoles y sustancias volátiles (Villalobos y Thorpe, 1993).

Muchos cultivos de árboles incluyendo Gimnospermas, cuya propagación por métodos convencionales es difícil, tienen problemas remanentes en la propagación clonal *in vitro*. En ciclos repetidos de multiplicación de brotes *in vitro* un porcentaje de cultivos presenta frecuentemente absorción de agua y hojas casi traslúcidas. Tales brotes exhiben un descenso en la tasa de crecimiento y multiplicación y pueden morir eventualmente (Bhojwani y Razdan, 1983).

Zimmerman (1985), clasifica los problemas del cultivo de tejidos de plantas maderables como problemas económicos y problemas técnicos. Dentro de los problemas económicos menciona la gran cantidad de trabajo que hay que invertir si se desea enraizar el material *in vitro* y las pérdidas causadas por la muerte de decenas o cientos de explantos. Dentro de los problemas técnicos menciona la selección de material apropiado para el establecimiento de especies maderables, pues los árboles son seleccionados en el estado adulto y el tiempo que necesitan para establecerse sumado a la contaminación dificultan el establecimiento de los cultivos iniciales.

Las plantas maderables no son únicamente más difíciles de establecer en cultivo *in vitro* que las herbáceas, sino que los problemas con el enraizamiento y la aclimatación de propágulos producidos *in vitro*, complican la remoción desde el cultivo hasta la subsecuente comercialización (McCown, 1988; Margara, 1988; Blazich, 1988; Brown y Sommer, 1982).

Aún cuando algunas especies de árboles se pueden micropropagar de tejidos colectados de árboles maduros, actualmente muchas otras sólo se pueden propagar de tejidos de especímenes juveniles, ejemplos de estos son los embriones o plántulas jóvenes. Sin embargo, generalmente se prefiere la clonación de árboles maduros sobre la clonación de embriones o plántulas. Esto se debe a que frecuentemente no es posible determinar si estos embriones o plántulas tienen un potencial genético para desarrollar las cualidades deseadas después en su ciclo de vida (Bonga, 1987; Zimmerman, 1986).

Los explantos exhiben diferentes capacidades para el establecimiento *in vitro* dependiendo de su localización en la planta donante. Por ejemplo, la sobrevivencia y crecimiento de las yemas terminales son mucho mayores que las de las yemas laterales. En plantas maderables que exhiben desarrollo fásico, los explantos juveniles responden más fácilmente que aquellos obtenidos de tejidos maduros de la misma planta, que frecuentemente no responden (Kane, 2000). Las mayores dificultades con las que se encuentra la micropropagación de especies maderables son la multiplicación de brotes, la transferencia de plántulas al suelo, y el endurecimiento de las plántulas en invernadero (Chalupa, 1987).

5.2 Ventajas del cultivo *in vitro*

Las plantas superiores homocigotas propagadas clonalmente, producen semillas uniformes superiores, mejoran la progenie y tienen vigor y calidad mejorada. Además, la tecnología de la propagación clonal puede ser usada para la **eliminación de patógenos** y para la propagación de germoplasma libre de enfermedades para envío internacional (Sharp y Evans, 1986; Bhojwani y Razdan, 1983). Las plantas libres de virus pueden ser obtenidas a través de cultivo de meristemas en combinación con termoterapia (Engelmann, 1997). Usualmente los ápices meristemáticos están bien protegidos con el primordio foliar cuidándolo de la desecación y permitiendo un tratamiento de esterilización superficial (Bhojwani y Razdan, 1983). Las ventajas de clonar cultivos de tejidos con las técnicas de propagación convencional derivan de una **reducción en tiempo** para obtener propagación a gran escala (Sharp y Evans, 1986; Bhojwani y Razdan, 1983) y ventajas en peso y volumen (Engelmann, 1997; Bhojwani y Razdan, 1983).

Las técnicas de cultivos de tejidos ofrecen no solamente una oportunidad excelente para estudiar los factores derivados de la **totipotencia** de las células, sino que además permiten la investigación de factores de control citológico, diferenciación histológica y organogénica (Bhojwani y Razdan, 1983).

En la técnica de cultivo *in vitro* se ha visto incrementada la inducción de **embriogénesis somática** en un sinnúmero de especies **forestales** como *Betula pendula* (Hvoslef-Eide y Corke, 1997), *Acanthopanax koreanum* (Choi y col, 1997), *Aesculum hippocastanum* (Capuana y Deberg, 1997), *Quercus acutissima* (Kim y col, 1997), *Fagus sylvatica* (Vieitez y col, 1992), *Camellia sinensis* (Kato, 1996); **frutales** como *Prunus avium* (Garin y col, 1997), *Musa acuminata* (Navarro y col, 1997), *Musa* spp (Lee y col, 1997), *Theobroma cacao* (Alemanno y col, 1996); **medicinales** como *Azadirachta indica* (Wen Su y col, 1997; Murthy y Saxena, 1998), *Panax ginseng* (Choi y col, 1998), *Korean ginseng* (Choi y col, 1998); **ornamentales** como *Mussaenda* sp (Christopher y col, 1997) y *Alstroemeria* sp (Hutchinson y col, 1997) **leguminosas** como *Cajanus cajan* (Sreenivasu y col, 1998) y *Albizia julibrissin* (Burns y Wetzstein, 1998); **estimulante** como *Coffea canephora* (Berthouly y Michaux-Ferriere, 1996); **especies** como *Piper nigrum* (Joseph y col, 1996); **forrajera** como *Echinochloa colona* (Samantaray y col, 1997).

Otra de las ventajas del cultivo *in vitro* es que la propagación rápida de élites clonales puede superar las dificultades relacionadas con los cambios estacionales (Németh, 1985; Durzan, 1985), con la edad y el origen genético de la planta madre (Németh, 1985). Una tasa elevada de multiplicación *in vitro* puede reducir considerablemente el período entre la selección y la liberación de un cultivar nuevo (Bhojwani y Razdan, 1983). El futuro mejoramiento de árboles está en el punto de mayor revolución, y tiene el potencial de ser uno de los esfuerzos científicos más impresionantes del último tiempo. El cultivo de células y tejidos podría continuar siendo una herramienta útil, de un potencial considerable, para el estudio de especies perennes maderables. La heterocigosis ya establecida en el genoma es preservada usualmente por los procedimientos de cultivo de células y tejidos (Durzan, 1985).

A través de la técnica de cultivo de tejidos puede ser posible regenerar especies de árboles que tienen semillas con períodos cortos de viabilidad y con altas posibilidades de abortar antes de la

fructificación, característica que es típica de muchos árboles de bosques tropicales primarios. Además, la propagación y conservación de material genético en peligro de extinción puede acompañarse de técnicas de cultivo de tejidos (Lugo, 1985). El cultivo de embriones ha sido empleado como una herramienta útil para regeneración directa en árboles donde las semillas son latentes, recalcitrantes, o donde abortan en estados tempranos de desarrollo. En árboles como el café o el cacao las semillas son recalcitrantes, son sensibles a la humedad y a la temperatura y no pueden ser almacenadas. Así mismo en muchos árboles frutales como el cerezo, el melocotón, etc, el embrión degenera, sin embargo su oportuna excisión y cultivo permite la formación de plantas. Las semillas de un número de especies de árboles permanecen latentes por muchos años; sin embargo, el cultivo de embriones ha sido aplicado para una micropropagación eficaz (Bajaj, 1986).

La técnica de cultivo *in vitro* de tejidos y de órganos, puede aportar una importante contribución al estudio del determinismo de la rizogénesis al facilitar la experimentación en las condiciones mejor definidas y más rigurosas, favoreciendo los estudios histológicos e histoquímicos (Margara, 1988).

La tecnología del cultivo *in vitro* constituye un instrumento único para el estudio de la morfogénesis de las plantas. La morfogénesis *in vitro* puede realizarse de dos maneras; siguiendo una ruta organogénica, que conduce a la diferenciación de yemas adventicias (estructuras monopolares), o siguiendo una ruta embriogénica, que lleva a la formación de embriones somáticos (estructuras bipolares). La expresión de una u otra ruta es el resultado de la interacción de numerosos factores de entre los cuales, las fitohormonas, especialmente las auxinas y citoquininas, desempeñan un papel fundamental (Segura, 1993).

Los procesos de organogénesis proveen las bases para la propagación asexual de plantas de tejidos somáticos no meristemáticos. En la organogénesis directa no interviene el estado proliferativo de callo (Schwarz y Beaty, 2000), y las técnicas *in vitro* permiten un seguimiento del proceso de organogénesis.

Las plantas producidas *in vitro* bajo humedad relativa de un 100%, tienen capacidad limitada para regular la pérdida de agua inmediatamente después del trasplante. Presentan características como reducción en la cera epicuticular de la hoja, mesófilo pobremente diferenciado, función estomatal anormal, y conexión vascular pobre entre brotes y raíces (Kane, 2000).

La micropropagación se ha convertido ahora en una industria que genera millones de dólares, en todo el mundo. De los varios métodos usados para plantas micropropagadas, la embriogénesis somática y el desarrollo de yemas axilares se han convertido en los principales métodos de multiplicación (Rani y Raina, 2000).

5.3 Desventajas del cultivo *in vitro*

La naturaleza y la cantidad de la variación de la variabilidad genética *in vitro* se ha estudiado insuficientemente, especialmente lo que se refiere a cultivo de tejidos de especies perennes de larga vida. Estudios previos y actuales indican que ocurre un aislamiento genético significativo en los sistemas de cultivo de tejidos. Esto provee una oportunidad para la expresión de variación genética presente en plantas donadoras o creadas “de nuevo” *in vitro* (Parfitt y Arulsekhar, 1987).

La variación cromosomal es la forma más frecuente observada en cultivo de células, de protoplastos, de tejidos, de callo, y en plantas regeneradas de tales cultivos. Pueden ocurrir variaciones en el tamaño de los cromosomas, incluyendo el contenido total de DNA de los núcleos, aunque los estudios referentes a este tema son limitados. La incidencia de aberraciones cromosomales gruesas es mucho más grande en cultivos de células o callos que en plantas regeneradas desde el cultivo de meristemos. Las aberraciones que causan esterilidad son eliminadas en posteriores generaciones (Parfitt y Arulsekhar, 1987). Los cambios nucleares, incluyendo poliploidía, aneuploidía y mutaciones cromosomales, que ocurren comúnmente en células cultivadas, son responsables del cese de la organogénesis y embriogénesis en cultivos prolongados. La pérdida genética del potencial morfogénico puede ser irreversible (Bhojwani y Razdan, 1983; Margara, 1988).

6. INICIACIÓN Y ESTABLECIMIENTO DE UN CULTIVO ASÉPTICO

6.1 Esterilización de los explantos

El material que crece en el campo puede causar serios problemas a la hora de establecerlos *in vitro*, principalmente a causa de sus contaminantes. Las condiciones de crecimiento más apropiadas de la planta madre pueden ser la clave para la iniciación de procedimientos de micropropagación exitosas (Piqueras y Debergh, 1999).

Los explantos primarios obtenidos de las plantas élite pueden provenir de meristemos apicales de brotes desinfectados superficialmente, de meristemos apicales para la eliminación de patógenos o de ápices de brotes de yemas terminales o laterales. Si hay alguna sospecha de que pueda haber algún tipo de infección, es esencial que los cultivos sean indexados por la presencia de contaminantes microbiales internos, antes de servir como fuente de brotes apicales y de explantos nodales para el estado de multiplicación (Kane, 2000).

En la bibliografía se menciona gran variedad de productos químicos que son utilizados en la esterilización de los explantos, solos o en combinación de dos y tres. Entre los más universales destacan:

- **Etanol:** Bon y col (1998); Marks y Simpson (2000), Bergman y col (1985).
- **Etanol y NaOCl:** Mohammed y Vidaver (1990); Sala y col (1990); Linington (1991); Arrillaga y col (1991); Chang y col (2001); Karhu (1997); Al-Bahrany y Al-Khayri (2003).
- **Etanol y Cloruro de mercurio:** Joshi y Thengane (1996); Ishii y Maruyama (1992); Sunnichan y col (1998); Tiwari y col (2002); Naik y col (2003), Jain y Babbar (2000).
- **Etanol, Hipoclorito de sodio y Cloruro de mercurio:** Goyal y col (1985).
- **Hipoclorito de sodio:** Offord y col (1992); Sutter y Barker (1985); Hammatt (1999); Lee y Rao (1986); Heile-Sudholt y col (1986); Liew y Teo (1998); da Costa Nunes y col (2002), Castro y col (1997).
- **NaOCl, HgCl₂ y CaCl₂:** Manzanera y Pardos (1990).
- **Cloruro de mercurio:** Roy y col (1988); Amin y Jaiswal (1987), Mathur y Mukunthakumar (1992); Quraishi y Mishra (1998); Kaur y col (1998); Purohit y col (2002), Ajithkumar y Seenii (1998).
- **Cloruro de mercurio y Hipoclorito de sodio:** Scarpa y col (2000), D'Silva y D'Souza (1992).

6.2 Cultivos de yemas apicales y axilares

La propagación espontánea acude sobre todo a las yemas preexistentes en la planta madre, así como a los mecanismos adaptativos que utilizan la finalización de la dominancia apical con la proliferación de las axilares, lo que exige siempre una gran aptitud para el enraizamiento. Cuando se ponen en cultivo *in vitro* ápices que presentan un tipo determinado de morfogénesis, pueden observarse comportamientos diferentes según las especies y las condiciones del cultivo: primero, la conservación del tipo de morfogénesis observado en la planta madre, y segundo, la modificación de la morfogénesis con regreso eventual al estado juvenil característico de la plántula (Margara, 1988).

Se puede hacer una clara distinción entre el cultivo de yemas y el cultivo de meristemos apicales. Los cultivos del meristemo apical involucran solo el domo apical del brote, preferentemente sin primordios de hojas. El cultivo de las yemas involucra el brote vegetativo entero colectado justo antes de la apertura de la yema. La ventaja de este método, sobre la propagación por callo o cultivo en suspensión, es que está presente un ápice del brote a priori y no tiene que ser inducido. Solamente se induce formación de raíz. La principal desventaja es que un explanto solo puede formar un propágulo y no cientos o miles que son producidos algunas veces en cultivos de callos (Bonga, 1977).

Los meristemos apicales no tienen conexión con el sistema vascular del tallo. Las áreas de división celular y de elongación localizadas debajo del meristemo apical representan sitios de nuevo desarrollo foliar. Las yemas laterales, contienen cada una un meristemo apical que se desarrolla dentro de las axilas de las hojas. En la planta intacta, el crecimiento de las yemas laterales está inhibido usualmente por la dominancia apical del ápice terminal del brote. Los brotes axilares, producidos *in vitro*, son subdivididos en ápices y segmentos nodales de brotes que sirven como explantos secundarios para la futura proliferación, o son tratados como microesquejes para el enraizamiento (Kane, 2000).

▪ Tipos y cantidades de reguladores de crecimiento utilizadas durante la etapa de establecimiento *in vitro* de especies forestales

Todos los cultivos de tejidos y de órganos usados en las especies forestales hacen uso de los reguladores de crecimiento naturales y sintéticos. Sin la adición de hormonas, la mayoría de los tejidos no permanecen viables (Zaerr y Mapes, 1982), éstas son importantes en el inicio y la regulación del desarrollo organizado. Para que los reguladores de crecimiento sean efectivos en la iniciación y regularización del desarrollo deben tener un balance y/o una concentración crítica dentro del tejido específico (Joy IV y Thorpe, 1999). Entre los componentes de un medio de cultivo, los bioreguladores son los mejor documentados, aunque su acción probablemente es poco conocida, controlan la respuesta morfogénica en la micropropagación (Piqueras y Debergh, 1999).

No está claro que las cinco clases de fitohormonas reconocidas oficialmente (auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico y etileno) cumplan los requisitos de una hormona en el sentido de los mamíferos. La síntesis de todas las hormonas de las plantas, puede ocurrir en algún tipo de célula viva, aún si ciertos tejidos son sitios privilegiados de la síntesis y de la exportación de algunos tipos de hormonas (tejidos meristemáticos aéreos para auxinas, partes de la raíz en

crecimiento para citoquininas, por ejemplo). Así las fitohormonas pueden ser transportadas y tener una acción específica a distancia, pero está lejos de ser el caso general; además pueden actuar en el tejido o aún dentro de la célula en la cual son sintetizadas. Las hormonas de las plantas son compuestos naturales con una habilidad para afectar procesos fisiológicos a concentraciones muy por debajo de aquellos donde los nutrientes o vitaminas puedan afectar dichos procesos (Gaspar y col, 2003)

Muchos aspectos del crecimiento y desarrollo de las plantas están influenciados por la auxina (Muday y DeLong, 2001; Paquette y Benfey, 2001), incluyendo la formación de ápices primarios y laterales, la diferenciación del tejido vascular y el desarrollo del embrión (Muday y DeLong, 2001).

Los tipos y niveles de reguladores de crecimiento usados en el medio de establecimiento dependen de las especies, el genotipo y el tamaño del explanto. Para muchas especies, particularmente herbáceas y leñosas perennes, la consistencia, la tasa de crecimiento y de multiplicación de los brotes se alcanza solo después de múltiples subcultivos. La estabilización fisiológica puede requerir de tres a veinticuatro meses y de cuatro a seis subcultivos (Kane, 2000).

Los reguladores de crecimiento benziladenina (BA), el ácido naftalenacético (ANA) y el ácido giberélico (GA) son importantes por la alta frecuencia de regeneración. Algunos programas de regeneración en masa requieren el recultivo de brotes propagados *in vitro* para disminuir el tiempo de metas de producción (Sharp y Evans, 1986).

La bencilaminopurina es la citoquinina más utilizada durante el establecimiento. Diferiendo en las concentraciones, se utilizan concentraciones bajas, moderadas o altas, según la especie y el propósito del investigador (Tablas 1 a 4). Durante la etapa de establecimiento también se utilizan combinaciones de citoquininas o combinaciones de citoquinina con auxina (Tablas 1 a 4). La utilización del ácido giberélico, la 2iP ó la zeatina es menos frecuente (Tablas 1, 3 y 4).

▪ **Medios de cultivo utilizados durante el establecimiento *in vitro* de especies forestales**

El medio de cultivo más utilizado en el establecimiento, la multiplicación y el enraizamiento es el MS (Tablas 1 a 4). El medio WPM también se utiliza con alguna frecuencia (Tablas 1, 2 y 4). En otras especies se emplean alternancias entre dos medios de cultivo como Knop's y B5; MS y WPM; WPM y MS; WPM y DKW; LP y WPM; MS y SyH; Knop's y MS; SyH y MS (Tabla 1). También se utiliza la alternancia de tres medios de cultivo como; MS, WPM y N6; WPM, LS y MQ, o la evaluación de varios medios de cultivo como Heller, Lepoivre, Sommer, S y H, MS y Durzan (Tabla 1).

En otras especies no se emplean reguladores de crecimiento durante la germinación de la semilla (Tabla 1).

7. MULTIPLICACIÓN

El estado de multiplicación está caracterizado por el aumento repetido de formación de brotes axilares o yemas laterales, cultivadas sobre un medio suplementado con un nivel de citoquinina relativamente más alto para interrumpir la dominancia apical del brote. Un intervalo de subcultivo de

cuatro semanas, con un incremento del número de brotes de tres a ocho, es común para muchas cosechas propagadas por cultivo de brotes. Los cultivos son subdivididos en grupos más pequeños, ápices individuales o segmentos nodales que sirven como propágulos para una futura proliferación. Adicionalmente, los grupos de brotes axilares pueden ser cosechados como microesquejes individuales no enraizados, o con grupos de brotes múltiples para el enraizamiento *ex vitro* y la aclimatación (Kane, 2000).

Algunas especies pueden ser mantenidas con subcultivos mensuales desde ocho a cuarenta y ocho meses (Kane, 2000). Otras, como las propagadas en este laboratorio, pueden permanecer varios años. La selección del tipo y concentración de citoquinina está hecha sobre la base de la tasa de multiplicación de los brotes y la longitud del brote. Aunque la proliferación de brotes aumenta con concentraciones de citoquininas altas, los brotes producidos son usualmente más pequeños (Kane, 2000).

- **Tipos y cantidades de reguladores de crecimiento utilizados durante la etapa de multiplicación de especies forestales**

Los reguladores de crecimiento más utilizados son la BA sola (Tablas 1 a 4), la combinación de dos citoquininas como BA + Kinetina (Tabla 1), o también la combinación de citoquinina con auxina como la BA + ANA (Tablas 1, 2 y 4). Son menos frecuentes las combinaciones BA + Tidiazurón (Tabla 1); BA + GA₃ (Tablas 1, 3 y 4); BA + 2,4-D; BA + AIB, BA + AIA; o el empleo del ácido giberélico solo (Tabla 1). Algunas veces se utiliza en la misma especie la combinación de dos citoquininas o la combinación de una citoquinina con una auxina. Incluso se ha usado combinaciones triples como AIB + Kinetina + BA (Tabla 1). Las cantidades varían de bajas a moderadas (Tablas 1 a 4). El empleo de reguladores de crecimiento en esta etapa es casi imprescindible para los explantos (Tablas 1 a 4).

- **Medios de cultivo utilizados durante la etapa de multiplicación *in vitro* de especies forestales**

El medio de cultivo más utilizado es el MS (Tablas 1 a 4). Otros medios de cultivo utilizados son el WPM (Tablas 1, 2 y 4) y el B5 (Tabla 1). Son menos empleados los medios SH, LS, DKW y N6. A veces se emplean los medios de cultivos con las concentraciones de los macronutrientes a la mitad, los medios modificados, la combinación de dos medios o la eliminación de alguno de sus macronutrientes (Tabla 1).

8. ENRAIZAMIENTO ADVENTICIO *IN VITRO* Y PAPEL DE LAS AUXINAS

Las raíces que se originan en la planta en sitios diferentes a los normales, como en el embrión o la raíz primaria, se definen como **adventicias** (Esau, 1953 y Altamura, 1996), ya que se originan sobre explantos de tallo o tejidos de hoja cultivados (Altamura, 1996). Frecuentemente, la competencia de enraizamiento de algunos tipos celulares permanece sin expresarse en la planta, sin embargo, se puede provocar a través del cultivo *in vitro* como consecuencia de una reacción a la herida, combinado con la acción de inductores específicos, como la auxina (Altamura, 1996). Esto involucra cambios anatómicos asociados con respuestas a la herida, sumadas a las que están involucradas en

la autoformación de la raíz (Lovell y White, 1986). Las raíces adventicias pueden desarrollarse a partir de raíces grandes, a partir del hipocótilo de plantas jóvenes, a partir del cuerpo primario y secundario de los tallos y a partir de las hojas (Fahn, 1982) en nudos de tallos postrados y sobre rizomas o estolones (Lovell y White, 1968). En las raíces y en los tallos, de la mayoría de las plantas, las raíces adventicias se desarrollan endógenamente, pero existen ejemplos en los que el desarrollo es exógeno (Fahn, 1982).

Las raíces adventicias son comunes a todas las angiospermas. La forma y origen de las raíces ayuda a los miembros de una especie dada a adaptarse a sus características medioambientales. Asimismo, si unas especies forman un sistema de raíces adventicias pueden depender o no del medio ambiente (Barlow, 1986).

La formación de un sistema radical es un paso crítico en la propagación vegetativa de las especies de plantas (Jay-Alleman y col, 1995). Los brotes axilares desarrollados en cultivos en presencia de una citoquinina generalmente carecen de raíces (McCown, 1988). En algunos casos, los brotes de explantos desarrollados en cultivos forman raíces adventicias espontáneamente (Soh, Bhojwani y col. 1999). Para obtener plantas enteras, los brotes deben ser transferidos a un medio de enraizamiento diferente del medio de multiplicación de brotes, en su composición hormonal (Bhojwani y Razdan, 1983). El medio característico usado para el enraizamiento no incluye citoquininas, y los niveles de sales minerales son reducidos ya que ambos inhiben el enraizamiento (McCown, 1988). El medio Murashige y Skoog (1962), por ejemplo, (diluido al 50%) ha dado resultados positivos en diferentes especies. Asimismo, es necesario cambiar el balance hormonal, esto es, disminuir las citoquininas y aumentar las auxinas exógenas (Villalobos y Thorpe, 1993). Por ejemplo en *Acacia tortilis* el tipo de auxina usada para la inducción de rizogénesis tiene un efecto significativo tanto en el porcentaje de enraizamiento como en el sistema de morfología de raíz. Para el 80% de las plantas, el número de raíces es bajo con ANA (una a cinco) pero las raíces son gruesas (4.5 a 5.0 cm de promedio), en cambio las raíces inducidas con AIB son numerosas (diez a quince) pero delgadas (3.0 a 3.7 cm) para el 68% de las plantas enraizadas (Sané y col., 2001).

Existe una diferencia entre una especie vegetal y otra, en lo que respecta a su capacidad de producir raíces a partir de estaquillas (Fahn, 1982). De aquellas que podrían enraizar, el subgrupo más importante está entre aquellas que requieren ruptura y aquellas que no. Es probable que los eventos anatómicos puedan diferir marcadamente entre estos dos grupos. (Lovell y White, 1986). Las estaquillas que tienen primordios de raíces adventicias, latentes o preformados (por ejemplo *Salix*), enraízan fácilmente, al igual que las plantas con radios vasculares amplios, pero carentes de primordios (por ejemplo *Vitis vinifera*; *Tamaris* spp.). Las estaquillas de *Ceratonia*, *Pynus* y *Carya*, por ejemplo, que están desprovistas de primordios latentes y cuyos radios vasculares son estrechos, enraízan con dificultad (Fahn, 1982).

Por lo general, la bibliografía sugiere que la iniciación del primordio de raíz no está influenciado marcadamente por excesos o deficiencias de algún nutriente mineral particular, con la posible excepción del boro en frijol creciendo bajo luz, y de nitrógeno en muchas especies. Sin embargo, ésta conclusión está basada en una evidencia limitada (Haissig, 1986).

La tendencia actual es la de enraizar en condiciones no estériles, estimulando en brotes diferenciados *in vitro* la formación de raíces en sustratos como la agrolita, la vermiculita y otros; esta medida es simple, más económica y frecuentemente produce mejores raíces que cuando se desarrollan *in vitro* (Villalobos y Thorpe, 1993).

Los **factores genéticos** juegan un papel determinante en el enraizamiento. En una misma especie algunos cultivares enraízan fácilmente, mientras que otros lo hacen con dificultad (Margara, 1988 y Brown y Sommer, 1982). Las reservas aportadas por la estaquilla (en particular los glúcidos) favorecen la rizogénesis, lo mismo que la producción de sustancias tróficas ligadas a la actividad fotosintética (Margara, 1988). Por ejemplo *G. rosmarinifolia* y *G. semperflorens* muestran capacidad de enraizamiento endógeno diferente en un medio libre de hormona; el enraizamiento de los brotes jóvenes es más bajo en *G. rosmarinifolia* que en *G. x semperflorens*. En *G. rosmarinifolia*, el porcentaje de enraizamiento es 40% en el medio libre de auxina, mientras este alcanza más del 90% cuando es adicionado con auxina (Leonardi y col, 2001).

La capacidad para producir raíces adventicias varía con **la edad**. Generalmente la capacidad es mayor en plantas y órganos jóvenes (Fahn, 1982). Las estaquillas obtenidas de vegetales jóvenes tienen generalmente mejor aptitud para la formación de raíces que las que provienen de plantas más viejas. En los vegetales leñosos es frecuente que el enraizamiento de las estaquillas no sea posible mas que a partir de plantas jóvenes obtenidas en semillero (Margara, 1988). Por ejemplo, la tasa de enraizamiento de brotes micropropagados de *Pinus pinaster* está influenciada significativamente por la edad del explanto con mejores resultados para los microbrotes derivados de los explantos juveniles (98% versus 49% para el clon maduro). La edad del explanto tiene un efecto significativo sobre la longitud de la raíz más larga con mejores resultados para los explantos juveniles. La calidad de la raíz derivada del explanto juvenil es superior al del explanto maduro (Dumas y Monteuiis, 1995).

El aislamiento de un explanto suprime (o limita) las correlaciones fisiológicas, en particular las influencias que provienen de las yemas y de las hojas. Puede entonces ensayarse compensarlos mediante la aportación de reguladores de crecimiento conocidos, y de esta forma, analizar las interacciones de los factores en juego. Sin embargo, **el origen del explanto** (factores genéticos, edad fisiológica, etc.) puede tener una influencia determinante, lo que sugiere que los factores importantes son siempre desconocidos o indeterminados. Por otra parte, se puede perder esta aptitud durante los sucesivos repicados (Margara, 1988).

Los niveles absolutos de auxina son importantes para la estimulación de los eventos primarios de la iniciación de la raíz (Blakesley y Chaldecott, 1993, citado por Blakesley, 1994). El primordio que se desarrolla *in vitro*, puede requerir un nivel de auxina elevado para inducir los eventos anatómicos y bioquímicos de la iniciación de la raíz que precede las primeras divisiones celulares (Jarvis, 1986; Gaspar y col, 1990, citados por Blakesley, 1994). Varios estudios han mostrado una subida en los niveles de AIA en la zona de enraizamiento durante la inducción de la raíz adventicia (Blakesley y col, 1985, Gaspar y col, 1990, citados por Blakesley, 1994). Sin embargo la necesidad de tal aumento puede depender parcialmente de los niveles de las citoquininas en el tejido (Blakesley, 1994).

Ballester y col (1999) y Vidal y col (2003) han comprobado que la concentración endógena de auxina en la base del brote no limita la capacidad de enraizamiento del mismo. Brotes con baja capacidad de enraizamiento contienen mayor concentración de AIA endógeno que los brotes que presentan alta capacidad de enraizamiento.

Alvarez y col (1989) (citados por Caboni y col, 1997) sugieren que las diferencias en el enraizamiento *in vitro* de dos cultivares de manzana están relacionadas con diferencias en los niveles de AIA libre en la sección basal, a mayor nivel endógeno libre mayor es la respuesta de enraizamiento. Además Blakesley y col (1991) (citados por Caboni y col, 1997) encontraron una relación inversa para los niveles endógenos de AIA conjugado de la parte basal de los microesquejes.

8.1 Tipos y cantidades de reguladores de crecimiento empleados durante la etapa de enraizamiento en especies forestales

Las especies que son fáciles de enraizar normalmente no necesitan adición de auxina al medio de cultivo (Tabla 1). Otras especies requieren concentraciones moderadas de auxina para la inducción de enraizamiento (Tablas 1 a 4), mientras que las especies que presentan bastante dificultad para enraizar requieren concentraciones altas de auxina para poder conseguirlo (Tabla 1 y 4).

La forma de inducir el enraizamiento varía entre las especies, la auxina más utilizada es el AIB solo, seguida del AIA y el ANA (Tablas 1 a 4). En otras se emplean combinaciones de dos auxinas como ANA + AIA, AIA + AIB o AIB + ANA (Tablas 1, 2 y 3). Es menos frecuente la combinación de tres auxinas como AIA + AIB + AIP (Tablas 1 y 3), o la combinación de auxina con citoquinina como ANA + BA o AIB + BA para el enraizamiento (Tablas 1 y 4).

8.2 Medios de cultivo utilizados durante la etapa de enraizamiento *in vitro* de especies forestales

En la inducción de enraizamiento *in vitro* los medios más utilizados son el MS seguido del WPM (Tablas 1, 2 y 4) y el GD (Tabla 4). Los menos usados son el B5, el SH, el LS, el DKW, el Heller y el Knop's. Normalmente los medios son reducidos a la mitad de su concentración, y a veces, a la tercera y cuarta parte. Pocas veces se emplean medios modificados (Tabla 1).

8.3 Pelos radicales

Los pelos radicales se proyectan desde la superficie de la raíz para ayudar a la toma de nutrientes y agua y para sujetar la planta en el suelo. Son sitios de actividad intensa de H^+ - ATPasa y están involucrados en la toma de Ca^{2+} , K^+ , NH_4^+ , NO_3^- , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cl^- y $H_2PO_4^-$ (Gilroy y Jones, 2000).

Las células de *Arabidopsis* destinadas a ser células con pelo radical (tricoblastos), están presentes en la hendidura entre dos células de la corteza subyacente (en contacto con dos células corticales), mientras las células destinadas a ser maduras, células sin pelo (atricoblastos), están fuera, en una pared celular periclinal cortical (en contacto con una célula cortical simple) (Schiefelbein, 1998).

TABLA 1. Revisión bibliográfica sobre la regeneración de algunas especies forestales, a partir de semilla, yemas apicales y axilares de material juvenil y adulto.

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
ANGIOSPERMAS						
<i>Acacia auriculiformis</i>	Semilla	Iniciación	Knop's		Plántula in vitro	Mittal y col. 1989
	Yemas axilares de plántulas desarrolladas in vitro	Multiplicac	B5	BA (10 ⁻⁶ M)	Brotos múltiples	
<i>Acacia catechu</i>	Brote	Enraizami	B5	ANA (10 ⁻⁶ M) ó AIA (10 ⁻⁶ M)	Rizogénesis	Kaur y col (1998)
	Segmentos nodales de árbol maduro	Iniciación	MS	BA (4,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,5 mgL ⁻¹)	Brotos múltiples	
	Yemas de brotes	Multiplicac	MS	BA (1,0 mgL ⁻¹) + Kinetina (1,0 mgL ⁻¹)	Elongación de brotes	
	Brotos elongados	Enraizami	¼ MS	AIA (3,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
<i>Acacia mangium</i>	Semilla y explantos nodales árbol 4 años "maduro", previamente cultivado in vitro 3 años.	Iniciación	½ MS	BA (4,44 µM) AIB (2,5 µM)	Multiplicación de brotes	Monteuuis y Bon (2000)
	Brotos multiplicados in vitro	Multiplicac	½ MS		Elongación de brotes	
	Brotos elongados in vitro	Enraizami	1/3 S y H.	AIA (4,0 µM) + oscuridad total	Enraizamiento	
<i>Acacia mangium</i>	Nudos de plántula de 3 meses germinada in vitro	Iniciación	¾ B5 o 2/3 SH	BA (4,4 µM) + AIB (2,5 µM)	Formación brotes axilares	Bon y col. (1998)
	Brotos desarrollados in vitro	Multiplicac	2/3 SH	BA (4,4 µM) + ANA (2,7 µM)	Elongación brotes	
	Brotos desarrollados in vitro	Enraizami	2/3 SH	Ausencia	Enraizamiento	
<i>Acacia mearnsii</i>	Segmentos nodales plántulas 1 mes	Iniciación	¾ macronutrient MS + CA (2,0 gL ⁻¹)	GA ₃ (2,88 µM)	Brotos cloróticos	Quoirin y col (2001)
	Brotos desarrollados in vitro	Multiplicac	¾ macronutrient MS + CA (2,0 gL ⁻¹)	GA ₃ (2,88 µM)	Elongación brotes y enraizamiento	
<i>Acer rubrum</i>	Brotos procedentes de subcultivo in vitro	Multiplicac	MS	BA (1,0 µM) + TDZ (0,05 µM) + AIB (0,05 µM)	Multiplicación brotes	McClelland y col (1990)
	Brotos desarrollados in vitro	Enraizami	N.e.	Ausencia	Enraizamiento	
<i>Aegle marmelos</i>	Segmentos nodales de tallo joven de la copa de árbol de 25 años edad	Iniciación	MS	BA (2,5 mgL ⁻¹) o Kin (1,5 mgL ⁻¹) o Kin (1,5 mgL ⁻¹) + AIA (1,0 mgL ⁻¹)	Brotos múltiples	Ajithkumar y Seenii (1998)
	Segmentos nodales e internodales de los brotes y ápices in vitro.	Multiplicac	MS	BA (0,0- 2,5 mgL ⁻¹)	Multiplicación, formación brotes múltiples.	
	Explantos nodales in vitro	Elongaci	MS	BA (0,05- 0,1 mgL ⁻¹)	Brotos elongados	
<i>Alnus glutinosa</i>	Brotos desarrollados in vitro	Enraizami	½ macronutrientes MS	AIA (0,5 mgL ⁻¹) o AIB (10,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	Tremblay y Lalonde (1984)
	Apices de brotes en crecimiento activo de plántulas de 2 años	Iniciación	MS	BA (2,5 µM)	Grupos de brotes	
	Brotos proliferados in vitro	Multiplicac	WPM	BA (2,5 µM)	Multiplicación de brotes	
	Brote desarrollado	Enraizami	½ MS	AIB (1,0 µM)	Enraizamiento	

Continuación Tabla 1

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
<i>Alnus incana</i>	Brotos apicales y axilares de esquejes rejuvenecidos de árboles maduros (45-25 y 20 años)	Iniciación	MS modificado	BA (2.5 µM)	Desarrollo de yemas	Périnet y col (1988)
	Brotos desarrollados in vitro	Multiplicac	MS modificado	BA (2.5 µM)	Multiplicación brotes	
	Brotos desarrollados in vitro	Enraizami	½ MS modificado	AIB (1.0 µM)	Enraizamiento	
<i>Anacardium occidentale</i>	Frutos secos de árbol 5-10 años de edad (semilla)	Iniciación	Medio agar simple	–	Plántulas in vitro	D`Silva y D`Souza (1992)
	Nudos cotiledonares con cotiledones desarrollados in vitro	Multiplicac	MS	BA (22,2 µM) o Zeatina (44,4 µM)	Con BA yemas múltiples cortas. Con zeatina yemas elongadas	
<i>Aniba perutilis</i>	Yemas iniciales cultivadas in vitro	Elongaci	MS + agua de coco	BA (4,4 µM)	Elongación de yemas	
	Brotos > 1 cm cultivado in vitro	Enraizami	MS	AIA (2,9 µM) + AIB (4,9 µM)	Enraizamiento	
	Apices y nudos de plántulas de 1 año edad	Iniciación	WPM	BA(1,0 mgL ⁻¹)	CreCIMIENTO de yemas	Castro y col (1997)
	Brotos desarrollados in vitro	Multiplicac	WPM	BA(1,0 mgL ⁻¹)	Multiplicación brotes	
	Brotos desarrollados in vitro	Enraizami	WPM	AIB(1,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
	Brotos > 1 cm cultivado in vitro	Enraizami	MS	AIA (2,9 µM) + AIB (4,9 µM)	Enraizamiento	
	Brotos desarrollados in vitro	Enraizami	WPM líquido, 15 días oscuridad	ANA (4,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
<i>Artocarpus heterophyllus</i>	Apices ó 1º y 2º nudo de plántulas de cámara de crecimiento	Iniciación	½ macronutrientes y vitaminas MS	BA (5x10 ⁻⁶)	Proliferación de brotes	Rahman y Blake (1988)
	Brotos desarrollados in vitro	Enraizami	½ macronutrientes y vitaminas MS	AIB (10 ⁻⁶ M)	Enraizamiento	Rahman y Blake (1988)
<i>Avicennia marina</i>	Explantos nodales de plantas 1 año edad	Iniciación	MS	Kn (1,0 mgL ⁻¹) + BA (0,5 mgL ⁻¹)	CreCIMIENTO yemas axilares preexistentes	Al-Bahrany y Al-Khayri (2003)
	Brotos desarrollados in vitro	Elongaci	MS	AIB (0,01 mgL ⁻¹) + Kn (2,0 mgL ⁻¹) + BA (0,5 mgL ⁻¹)	Elongación brotes simples	
	Brotos elongados	Enraizami	MS	AIB (0,5 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
<i>Bauhinia variegata</i>	Explantos nodales de árboles de 6-8 años.	Iniciación	MS	BA (13,3 µM)	Proliferación de brotes	Mathur y Mukunthakumar (1992)
	Brotos simples con 3-4 nudos	Enraizami	MS	AIB (4,9 µM)	Enraizamiento	
<i>Betula nigra</i>	Brotos procedentes de subcultivos previos	Multiplicac	MS	BA (2,2 µM)	Multiplicación	McClelland y col. (1990)
	Brotos desarrollados in vitro	Enraizami	N.e.	Ausencia	Enraizamiento	
<i>Betula pendula</i>	Brotos procedentes de cultivo in vitro	Multiplicac	WPM	BA (2,5 µM)	Multiplicación brotes	
	Brotos desarrollados in vitro	Enraizami	WPM	AIB (5,0 µM)	Enraizamiento	

Continuación Tabla 1

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
<i>Caryocar glabrum</i>	Apices y nudos de plántulas de 1 año de edad	Iniciación	WPM	BA (0,1 mgL ⁻¹)	Crecimiento yemas	Castro y col. (1997)
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplacac	WPM	BA (0,1 mgL ⁻¹)	Multiplacación brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Elongaci	WPM	BA (0,1 mgL ⁻¹) + GA ₃ (0,1 mgL ⁻¹)	Elongación brotes	
	Brotes elongados in vitro	Enraizami	WPM	AIB (7,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
<i>Castanea sativa</i> y <i>C. sativa</i> x <i>C. crenata</i>	Apices y nudos de plántulas de 3 meses (<i>C. sativa</i>) y Apices y nudos de esquejes rejuvenecidos de árboles adultos (<i>C. sativa</i> x <i>C. crenata</i>)	Iniciación	GD	BA 0,5 mgL ⁻¹	Mejor respuesta en ápices que en explantos nodales	Sánchez y col (1997)
		Multiplacac	GD	BA 0,2 mgL ⁻¹	Producción de brotes	
		Enraizami		AIB 25 ó 50 mgL ⁻¹	Producción de raíces	
<i>Cleistanthus collinus</i>	b) Ramas forzadas a rebrotar		MS modificado	BA (1,5 mgL ⁻¹)	Crecimiento de yemas	
	c) Ramas forzadas a crecer después de tratamiento en frío	Iniciación	MS modificado	BA (1,0; 1,5 y 2,0 mgL ⁻¹)	Crecimiento de yemas	
	Yemas crecidas	Multiplacac	MS modificado	BA (0,5 mgL ⁻¹) + AIA (0,5 mgL ⁻¹)	Elongación de brotes	
	Brotes simples elongados	Enraizami	½ MS modificado	AIB (0,1- 1,0 mgL ⁻¹)	Regeneración de planta con raíces	
<i>Corylus avellana</i>	Segmentos nodales árbol 5 años de edad	Iniciación			Crecimiento yemas	Díaz-Sala y col. (1990)
	a) Tomados directamente del árbol	Iniciación	MS modificado	BA (1,0; 1,5 y 2,0 mgL ⁻¹)	Crecimiento de yemas	
<i>Couratari guianensis</i>	Embriones	Iniciación	MS		Plántula in vitro	Castro y col. (1997)
	Apices de plántula in vitro	Multiplacac	WPM	BA (1,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,2 mgL ⁻¹)	Brotes múltiples	
	Brotes 1 cm desarrollados in vitro	Enraizami	WPM	AIB (3,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
<i>Daphne cneorum</i>	Brotes procedentes de cultivo in vitro	Multiplacac	LS	BA (0,1 µM)	Multiplacación brotes	Marks y Simpson (2000)
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	½ macronutrientes LS	AIB (30 µM)	Enraizamiento	
<i>Dipterocarpus alatus</i>	Ejes embrionicos	Iniciación	WPM	2IP (5x10 ⁻³ M)	Plántula in vitro	Linington (1991)
	Nudos cotiledonares de plántulas in vitro	Multiplacac	WPM (-NH ₄ NO ₃)	—	Producción de brotes	
<i>Dipterocarpus intricatus</i>	Ejes embrionicos	Iniciación	WPM	BA (10 ⁻⁴ M)	Plántula in vitro	Linington (1991)
	Nudos cotiledonares de plántulas in vitro	Multiplacac	WPM (-NH ₄ NO ₃)	BA (10 ⁻³ M)	Producción de brotes	
	Brotes in vitro	Elongaci	WPM	BA (5x10 ⁻³ M)	Elongación de brotes	
	Brotes elongados in vitro	Enraizami	WPM líquido	AIB (10 ⁻³ M) dipeado	Enraizamiento	
<i>Fagraea fragrans</i>	Segmentos nodales de plántulas y de esquejes rejuvenecidos de un árbol de 10 años	Iniciación	½ macronutrientes MS modificado	BA (0-4,4 µM) o 2IP (0-40 µM)	Emergencia de brotes axilares	Lee y Rao (1986)
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplacac	½ macronutrientes modificado	BA (8,8 y 22 µM) + 2,4-D (0,5 µM)	Brotes múltiples	
	Brote individual desarrollado in vitro	Enraizami	½ macronutriente modificado	AIB (10,0 µM)	Enraizamiento	

Continuación Tabla 1

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
<i>Forsythia x Intermedia</i>	Brotes procedentes de cultivo in vitro	Multiplicac	LS	BA (10 μ M)	Multiplicación brotes	Marks y Simpson (2000)
<i>Forsythia x Intermedia</i>	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	$\frac{1}{2}$ macronutrientes LS	AIB (10 μ M)	Enraizamiento	Marks y Simpson (2000)
	Brotes axilares de árboles de 4 años de edad	Iniciación	LS	BA (10 μ M)	Producción de brotes	
<i>Ficus benjamina</i>	Brotes	Enraizami	LS modificado	AIB (3 μ M)	Enraizamiento	Kristiansen (1992)
	Apices de brotes de ramas laterales de árboles juveniles	Iniciación	MS	BA (8,9 μ M)	Proliferación brotes	
<i>Gmelina arborea</i>	Brotes	Enraizami	MS	Ausencia	Enraizamiento	Naik y Bhargava (2003)
	Segmentos nodales de plántulas de 1 mes edad	Iniciación	MS	Kn (1,0 μ M) + BA (1,0 μ M)	Brotes múltiples	
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac		Kn (1,0 μ M) + BA (1,0 μ M)	Multiplicación brotes	
	Brotes elongados desarrollados in vitro	Enraizami		Solución acuosa AIB (100 μ M) + CA	Enraizamiento	Heile-Sudholt y col. (1986)
	Ejes embrionicos	Iniciación	WPM	BA (8,8 μ M)	Plántula in vitro	
	Brotes axilares desarrollados in vitro	Multiplicac	DKW	BA (10 μ M)	Multiplicación de brotes	Goyal y col. (1985)
	Brotes desarrollados in vitro	Elongaci	DKW liquido	BA (5 μ M)	Brotes elongados	
	Brotes elongados	Enraizami	DKW	ANA (0,5 mM) o AIB (10 mM)	Inicio enraizamiento	
<i>Leucaena leucocephala</i>	Nudos simples de plántulas de 14 meses de edad	Iniciación	MS	BA (3,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,05 mgL ⁻¹)	Brotes múltiples	Goyal y col. (1985)
	Brotes individuales desarrollados in vitro	Multiplicac	$\frac{1}{2}$ MS	BA (3,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,05 mgL ⁻¹)	Multiplicación de brotes	Sutter y Barker (1985)
	Brote desarrollado in vitro	Enraizami	$\frac{1}{2}$ MS	AIB (3,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,05 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
	Apices brotes en crecimiento activo de plántulas de 1 año edad	Iniciación	WPM	BA (1,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,05 mgL ⁻¹) o ausencia de reguladores	Proliferación de brotes. Ausencia reguladores: brotes largos.	
<i>Liquidambar styraciflua</i>	Brotes proliferados en cultivo in vitro	Multiplicac	WPM	BA (1,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,05 mgL ⁻¹)	Multiplicación de brotes	Karthu (1997)
	Brotes individuales desarrollados in vitro	Enraizami	WPM	AIB (0,5 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
	Apices de brotes de árboles maduros	Iniciación	WPM	BA (1,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,05 mgL ⁻¹)	Proliferación de brotes	Karthu (1997)
	Brotes proliferados	Multiplicac	WPM	BA (1,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,05 mgL ⁻¹)	Multiplicación de brotes.	
	Brotes simples	Enraizami	WPM	AIB (1,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
<i>Lonicera caerulea f caerulea</i>	Yemas apicales de árbol de 7 años edad	Iniciación	MS modificado	BA (8,9 μ M)	Crecimiento brotes cloróticos	Karthu (1997)
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac	$\frac{1}{2}$ MS modificado	BA (8,9 μ M)	Proliferación brotes sanos	Desarrollo de brotes axilares y laterales
	Brotes 3 nudos	Multiplicac	$\frac{1}{2}$ MS modificado	BA (8,9 μ M)		

Continuación Tabla 1

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
<i>Malus x domestica</i>	Brotes procedentes de subcultivo in vitro	Multiplicac	MS	BA (9µM) + ANA (0,5 µM)	Multiplicación brotes	McClelland y col. (1990)
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	N.e.	AIB (7.4 µM) + 1 semana en oscuridad	Enraizamiento	
<i>Mitragina parvifolia</i>	Yemas apicales de árbol 40 años	Iniciación	MS	BA (4.4 µM)	Desarrollo de brotes	Roy Shyamal y col. (1998)
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	½ MS	AIA (5.7µM) + AIB (4.9µM) + AIP (5.28µM)	Inicio enraizamiento	
<i>Myrtus communis</i>	Brotes de plántula menor de 1 año de edad, colectado en mayo.	Iniciación	MS	BA (2,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,2 mgL ⁻¹)	Brotes múltiples	Scarpa y col. (2000)
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac	MS	BA (2,0 mgL ⁻¹) + ANA (0,2 mgL ⁻¹)	Multiplicación de brotes	
<i>Nectandra</i> sp.	Apices y nudos de planta de 6 meses	Iniciación	½ MS	AIA (1,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac	WPM	BA (1.0- 3.0 mgL ⁻¹)	Crecimiento yemas	Castro y col. (1997)
<i>Paraserianthes falcataria</i>	Nudos de plántulas de 3 meses	Iniciación	WPM	BA (5,0 mgL ⁻¹)	Multiplicación brotes	
	germinada in vitro	Iniciación	½ MS	BA (2,2 µM) + ANA (1,6 µM)	Formación brotes axilares	Bon y col. (1998)
	Brotes desarrollados in vitro	Elongaci	½ MS	BA (2,2 µM) + AIB (1,5 µM)	Elongación brotes	
	Brotes	Enraizami	½ MS	BA (4,4 µM) + Kn (2,3 µM)	Inicio enraizamiento	
<i>Populus x Wilsocharpa</i>	Yemas árboles de 8 años de edad, latentes, almacenadas a 0-2 °C	Iniciación	MS, WPM y N ₆	BA (0,5 mgL ⁻¹) + ANA (0,001 mgL ⁻¹)	Yemas nuevas	Welander y col (1989)
	Yemas nuevas desarrolladas in vitro		Macronut. N ₆ y micronut. de MS	BA(0,1; 0,5 mgL ⁻¹)	Brotes	
	Yemas apicales del primer subcultivo	Multiplicac	N ₆	ANA (0,02 mgL ⁻¹) + BA (0,5 mgL ⁻¹)	Multiplicación y elongación brotes	
	Brotes apicales 6° subcultivo	Multiplicac	WPM	BA (0,1 mgL ⁻¹)	Multiplicac. y elongación de brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	WPM	GA ₃ (1,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento espontáneo	
<i>Pouteria lucuma</i>	Apices de brotes de plántulas	Iniciación	MS	GA ₃ (2,89 µM)	Elongación de ápices	Jordan y Oyanedel (1992)
<i>Psidium guajava</i>	Apices de brotes de plántulas	Enraizami	WPM	ANA (1,61 µM) + BA (0,44 µM)	Enraizamiento	
	Apices de renuevos basales de un árbol de 15 años edad	Iniciación	MS	BA (4.5 µM)	Proliferación de brotes	Muhammad y Jaiswal (1987)
<i>Salix viminalis</i> x <i>purpurea</i>	Brotes proliferados in vitro	Elongaci	MS	BA (0.5 µM)	Elongación de brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	½ macrout. in vitro	AIB (1 µM) + ANA (1 µM)	Enraizamiento	
	Yemas laterales de esquejes rejuvenecidos de 1 año procedentes de árboles de 4-9 años	Iniciación	LP	Solución acuosa de BA (5x10 ⁻⁵ M) + Tween 20 (0,01%), 3 horas	Crecimiento de yemas	Bergman y col. (1985)
	Yemas crecidas	Multiplicac	WPM	BA (5x10 ⁻⁷ o 10 ⁻⁶)	Proliferación de brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	WPM	BA (0-10 ⁻⁷ M) o ANA (10 ⁻⁶ M)	Enraizamiento	

Continuación Tabla 1

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
<i>Sorbus domestica</i>	Semilla	Iniciación	MS	-	Plántula in vitro	Arrillaga y col. (1991)
	Apices de subcultivo de plántula in vitro 30 días		S y H macronut. y MS micronut.	BA (8,8 y 12,8 µM)	Proliferación de brotes	
	Segmentos nodales desarrollados in vitro	Multiplicac	S y H macronut. y MS micronut.	BA (22,2 µM) o BA (4,4 µM)	Proliferación y elongación de brotes.	
	Brotes elongados juveniles	Enraizami	Heller modificado	AIB (5,2 µM)	Enraizamiento	
	Apices de rebrotes de árbol 30 años edad	Iniciación	S y H macronut. + MS micronutrientes	BA (22,2 µM)	Proliferación de brotes	
	Subcultivos in vitro de yemas apicales	Multiplicac	S y H macronut. + MS micronutrientes	BA (22,2 µM)	Alta proliferación de brotes	
	Brotes	Enraizami	Heller modificado	ANA (26,0 µM)	Enraizamiento	
<i>Syringa vulgaris</i>	Brotes axilares de árboles	Iniciación	LS	Zeatina (10 µM)	Producción de brotes	Marks y Simpson (2000)
	Brotes	Enraizami	LS modificado	AIB (30 µM)	Enraizamiento	
<i>Syringa vulgaris</i>	Brotes procedentes de cultivo in vitro	Multiplicac	LS	BA (30 µM)	Multiplicación brotes	Marks y Simpson (2000)
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	½ macronutrientes LS	AIB (30 µM)	Enraizamiento	
<i>Syzygium cumini</i>	Semilla	Iniciación	Knop's ó MS	BA (1,0 mgL ⁻¹)	Plántulas	Jain y Babbar (2000)
	Segmentos de epicótilo de plántulas desarrolladas in vitro	Multiplicac	MS	BA (1,0 mgL ⁻¹)	Brotes múltiples	
<i>Tabebuia rosea</i>	Brotes desarrollados in vitro semilla	Enraizami	Knop's	A/A (1,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
	Apices plántulas in vitro	Iniciación	Sy H	Ausencia	Plántula desarrollada in vitro	Hodson y col (1990)
		Multiplicac	Sy H	BA (0,5- 1,0 mgL ⁻¹)	Brotes múltiples	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	Sy H	AIB (0,5 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
	Nudos plantas 4-12 meses edad	Iniciación	MS	ANA (0,1 mgL ⁻¹)	Elongación yemas	
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac	MS	ANA (0,1 mgL ⁻¹)	Brotes múltiples	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	MS	AIB (1,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	

Continuación Tabla 1

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
<i>Tectona grandis</i>	Explantos nodales árbol 45 años	Iniciación	MS transferencias seriales	BA (22,2 µM)	Desarrollo de brotes	Tiwari y col (2002)
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac	MS	BA (22,2 µM) + AIA (0,57 µM)	Multiplicación brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Elongación	MS	BA (22,2 µM) + AIA (0,25 µM)	Elongación brotes	
	Brotes elongados	Enraizami	MS	AIB (9,8 µM), 2 min.	Enraizamiento	
<i>Telopea speciosissima</i>	Brotes terminales de un esqueje rejuvenecido de un árbol adulto	Iniciación	MS	–	Brotes elongados	Offord y col. (1992)
	Microbrotes desarrollados in vitro	Multiplicac	MS	BA (1,25 µM)	Proliferación de brotes	
	Microbrotes desarrollados in vitro	Multiplicac	MS	BA (1,25 µM) + GA ₃ (2,5 µM)	Brotes elongados	
<i>Trattinickia aspera</i>	Embriones: ápices y nudos plántulas 6 meses y plántulas 1 y 2 años de edad.	Iniciación	WPM	BA (3,0 mgL ⁻¹)	Crecimiento de yemas	Castro y col (1997)
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac	WPM	BA (0,5 mgL ⁻¹)	Multiplicación de brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	WPM	AIB (0,5 mgL ⁻¹)	Inicio enraizamiento	
GIMNOSPERMAS						
<i>Parkinsonia aculeata</i>	Explantos nodales árbol 6-8 años de edad	Iniciación	MS	BA (8,9 µM)	Proliferación de brotes	Mathur y Mukunthakumar (1992)
	Brotes simples 3-4 nudos	Enraizami	MS	AIB (9,8 µM)	Enraizamiento con formación de callo	
<i>Taxus malirei</i>	Yemas de explantos de un árbol de 100 años de edad	Iniciación	½ macronutrientes MS	BA (1,0 mgL ⁻¹)	Brotes nuevos color marrón semielongados	Chang y col. (2001)
	Apices de brotes	Multiplicac	½ MS modificado	BA (2,5 mgL ⁻¹)	Multiplicación y elongación de brotes	
	Brotes	Enraizami	½ MS	AIB (2,5 mgL ⁻¹)	Inicio de raíz	
	Segmentos de brotes de un esqueje rejuvenecido de 1 año de edad, procedente del árbol de 100 años	Iniciación	½ macros	BA (1,0 mgL ⁻¹)	Brotes nuevos color marrón elongados	
	Apices de brotes	Multiplicac	½ MS modificado	BA (2,5 mgL ⁻¹)	Multiplicación y elongación de brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizami	½ MS	AIB (2,5 mgL ⁻¹)	Inicio de enraizamiento	

TABLA 2. Cultivo *in vitro* de algunas especies de la familia Meliaceae.

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
<i>Azadirachta indica</i>	Nudos simples plantas 2-5 años	Iniciación	MS	BA (0,5 mgL ⁻¹) + Kn (1,0 mgL ⁻¹)	Proliferación de brotes	Joshi y Thengane (1996)
<i>Azadirachta excelsa</i>	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac.	¾ macronutrientes MS	Kn (0,05 mgL ⁻¹) ó BA (0,1 mgL ⁻¹)	Elongación de brotes	Liew y Teo (1998)
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizam	MS líquido	AIA (2,0 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	
	Yemas axilares de plantas 5 meses	Iniciación	MS	BA (4,4 µM) + ANA (0,5 µM)	Crecimiento yemas axilares	
<i>Azadirachta excelsa</i>	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac.	MS	BA (3,3 µM) + ANA (0,27 µM)	Proliferación de brotes	Kool y col. (1999)
	Brotes in vitro	Iniciación	MS	BA 0,75 mgL ⁻¹ + ANA 0,05 mgL ⁻¹	Proliferación de brotes	
		Enraizam	MS			
<i>Cedrela fissilis</i>	Semilla	Iniciación	MS	–	Plántula in vitro	Da Costa y col (2002)
<i>Cedrela montana</i>	Segmentos nodales plántulas 30 días de edad	Multiplicac.	MS	BA (2,5 µM)	Multiplicación brotes	Carrizosa y Serrano (1997)
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizam	MS	AIB (5,0 µM)	Enraizamiento	
	Semilla	Iniciación	½ MS	–	Plántula in vitro	
<i>Cedrela odorata</i>	Nudos	Multiplicac.	½ MS	ANA (1,3 mM)	Proliferación brotes y enraizamiento	Ishii y Maruyama (1992)
	Apices de brotes de plántulas de 5 meses de edad	Iniciación	WPM	BA (2,0 mgL ⁻¹)	Brotes múltiples	
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac.	WPM	BA (0,2 mgL ⁻¹)	Elongación brotes	
<i>Cedrela odorata</i>	Brotes elongados in vitro	Enraizam	½ WPM	AIB (0,5 mgL ⁻¹) + ANA (0,05 mgL ⁻¹)	Enraizamiento	Maruyama y col. (1997)
	Apices de brotes de plántulas desarrolladas in vitro	Iniciación	Gel matrix: WPM + alginato sodio (4% wt/vol)	BA (1,0 µM)	Apices encapsuladas	
	Apices encapsulados		WPM	BA (1,0 µM)	Germinación	
<i>Cedrela sinensis</i>	Cultivo de suspensiones celulares	Iniciación	MS	Ausencia ó 2,4-D (0,5 mgL ⁻¹)	Embriogénesis somática	Woong-Young (1990)
<i>Cedrela tonduzii</i>	Embrión somático		MS	ABA (4,0 mgL ⁻¹)	Desarrollo de embriones	Guevara y col. (1992)
	Embrión somático a 4°C		Alginato de sodio + CaCl ₂ (50 µM)		Germinación semilla artificial	
	Apices de plantas de 6 meses de edad	Iniciación	MS	BA 0,5 mgL ⁻¹	Desarrollo de brotes y enraizamiento espontáneo de algunos de ellos.	
<i>Melia azedarach</i>	Explantos nodales de plántulas de 6 meses	Iniciación	MS	BA 17,75 µM	Brotes múltiples	Thakur y col (1998)
		Enraizam	½ MS	AIB 4,92 µM	Raíces largas y ramificadas	

TABLA 3. Cultivo *in vitro* de algunas especies de la familia Moraceae.

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
<i>Maclura pomifera</i>	Apices y explantos nodales de plántulas de 1-2 años edad	Iniciación	MS	BA 4 μ M	Producción de brotes	King y Morehart (1988)
	Brotes cultivados in vitro	Enraizamiento	MS	AIB 5 μ M	Raíces	
<i>Morus alba</i>	Yemas apicales de plantas crecidas in vitro		MS + colchicina (0,1%) 24 horas	BA (8,8 μ M)	Brotes tetraploides con poco crecimiento	Chakraborti y col (1998)
<i>Morus australis</i> syn. <i>Morus acidosa</i>	Brotes		MS	BA (8,8 μ M)	Proliferación de brotes	Pattnaik y col (1996)
	Microesquejes		MS	ANA (2,6 μ M)	Enraizamiento	
	Explantos nodales de árbol de 5 años edad	Iniciación	MS	BA 1,0 mgL ⁻¹	Rompimiento de yemas y desarrollo de brotes	
	Explantos nodales y apicales de cultivo in vitro	Multiplacac	MS	BA 1,0 mgL ⁻¹ + GA ₃ 0,3 mgL ⁻¹	Aumento frecuencia rompimiento yemas y desarrollo rápido de brotes	
<i>Morus cathayana</i>	Brotes in vitro	Enraizamiento	½ MS	AIA 1,0 mgL ⁻¹ + AIB 1,0	Raíces elongadas	Pattnaik y Chand (1997)
	Yemas apicales y explantos nodales de árboles maduros de 5 años de edad	Iniciación	MS	BA 2,0 mgL ⁻¹	Desarrollo de brotes	
		Multiplacac	MS	BA 1,0 mgL ⁻¹	Desarrollo de brotes desde yemas apicales	
		Enraizamiento	½ MS	AIA + AIB + AIP c/u 1,0 mgL ⁻¹	Producción de raíces	
<i>Morus ihou</i>	Yemas apicales y explantos nodales de árboles maduros de 5 años de edad	Iniciación	MS	BA 1,0 mgL ⁻¹	Desarrollo de brotes desde yemas apicales	Pattnaik y Chand (1997)
<i>Morus laevigata</i>	Explantos nodales árbol 10 años edad	Iniciación	MS	BA 2,5 mgL ⁻¹	Agrandamiento y rompimiento yemas axilares	Hossain y col (1992)
	Segmentos nodales de cultivo in vitro	Multiplacac	MS	BA 2,5 mgL ⁻¹	Multiplacación rápida de brotes	
<i>Morus laevigata</i>			MS	BA 1 mgL ⁻¹	Elongación de brotes	Islam y col (1993)
	Microesquejes de 3 cm	Enraizamiento	MS	0,1 mgL ⁻¹ AIB + 0,1 mgL ⁻¹ ANA	Inducción raíces adventicias	
	Nudos simples de brotes jóvenes de árbol 12 años edad	Iniciación y multiplacac	MS	BA 10 μ M ó Kin 10 μ M	Rompimiento de yemas	
<i>Morus serrata</i>	Brotes in vitro	Elongación	MS	BA 5 μ M	Elongación de brotes	Pattnaik y Chand (1997)
	Brotes 3 cm longitud	Enraizamiento	½ MS	AIB 0,5 μ M	Buena calidad de raíces	
	Yemas apicales y explantos nodales de árboles de 5 años	Iniciación	MS	BA 1,0 mgL ⁻¹	Desarrollo de brotes a partir de yemas apicales	
		Multiplacac	MS	BA 0,5 mgL ⁻¹	Elongación de brotes	

TABLA 4. Cultivo *in vitro* de algunas especies de la familia Fagaceae.

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
<i>Quercus leucotrichophora</i> y <i>Q. glauca</i>	Embriones		WPM	BA (22,19 µM)	Germinación	Purohit y col (2002)
	Nudos cotiledonares	Iniciación	WPM	BA (22,19 µM)	Inducción brotes múltiples	
	Brotes procedentes de embriones y nudos cotiledonares	Multiplicac.	WPM	BA (22,19 µM) + GA ₃ (2,89 µM)	Multiplicación y elongación brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizam	1/2 macronutrientes WPM	AIB (100 µM), 24 horas	Enraizamiento	
<i>Quercus robur</i>	Brotes juveniles procedentes de cultivo in vitro	Multiplicac.	WPM	BA (0,44 µM)	Multiplicación de brotes	Marks y Simpson (2000)
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizam	1/3 macronutrientes LS	AIB (5,0 µM)	Enraizamiento	
	Brotes de fase intermedia	Multiplicac.	MQ	BA (0,5 µM)	Multiplicación de brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizam	MQ	AIB (10 µM)	Enraizamiento	
<i>Quercus robur</i>	Yemas de plántulas 1-7 meses edad y material adulto	Iniciación	1/2 macronutrientes MS + 20g _L ⁻¹ carbón activado	ANA (2,7 µM) + BA (4,4 µM)	Rompimiento yemas y crecimiento brotes	Favre y Juncker (1987)
	Brotes esquejes rejuvenecidos árbol 150 años	Multiplicac.	1/2 macronutrientes MS + CA 20g _L ⁻¹	ANA (2,7 µM) + BA (4,4 µM)	Crecimiento brotes y enraizamiento espontáneo	
<i>Quercus robur</i>	Porciones de copa de un árbol de 100 años de edad esquejados sobre una plántula de 2 años edad y brotes plántulas de 3 meses edad	Iniciación	1/2 macronutrientes MS modificado	BA (0,44 µM)	Crecimiento brotes	Juncker y Favre (1989)
	Brotes individuales desarrollados in vitro	Multiplicac.	1/2 macronutrientes MS modificado	BA (0,44 µM)	Multiplicación de brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizam	1/2 macronutrientes MS modificado	AIB (4,9 µM)	Enraizamiento	
<i>Quercus robur</i> y <i>Quercus rubra</i>	Cultivo de brotes estabilizados árboles adultos (copa)	Multiplicac	GD (<i>Q. Robur</i>) WPM (<i>Q rubra</i>)	BA 0,2 mgL ⁻¹	Estabilización de cultivos	Sánchez y col (1996)
		Enraizam	1/3 GD (<i>Q. Robur</i>) 1/2 WPM (<i>Q rubra</i>)	AIB 25 mgL ⁻¹	Producción de raíces	
		Enraizam clon Monasterio		AIB 15 mgL ⁻¹	Producción de raíces	

Continuación Tabla 4

ESPECIE	TIPO DE EXPLANTO	FASE	MEDIO DE CULTIVO	REGULADORES DE CRECIMIENTO	RESPUESTA DE CRECIMIENTO	REFERENCIA
<i>Quercus robur</i>	Segmentos apicales y nodales de material rejuvenecido de árboles adultos	Iniciación	GD	4,4 μM BA	Desarrollo de brotes	Vieitez y col (1994)
		Multiplicac.	GD	0,89 μM BA	Desarrollo de yemas axilares en esquejes posición horizontal	
		Enraizam.	1/3 GD	AIB 14,8 μM	Producción de raíces	
<i>Quercus robur</i>	Explantos de tallo de plántulas y material adulto	Iniciación	WPM	BA (0,6 mgL^{-1})	Crecimiento brotes	Pierik y col (1997)
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac.	WPM oscuridad	PBA (0,1 mgL^{-1})	Multiplicación brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizam	WPM oscuridad	ANA (4,0 mgL^{-1}) + BA (0,4 mgL^{-1})	Enraizamiento	
<i>Quercus robur</i>	Explantos de tallo de plántulas y material adulto	Iniciación	WPM	BA (0,6 mgL^{-1})	Crecimiento brotes	Pierik y col (1997)
	Brotes desarrollados in vitro	Multiplicac.	WPM oscuridad	PBA (0,1 mgL^{-1})	Multiplicación brotes	
	Brotes desarrollados in vitro	Enraizam	WPM oscuridad	ANA (4,0 mgL^{-1}) + BA (0,4 mgL^{-1})	Enraizamiento	
<i>Quercus suber</i>	Segmentos nodales y apicales de plántulas de 3 meses	Iniciación	Heller (medio inicial)	BA (0,2 y 1 mgL^{-1}) + ANA (0,1 mgL^{-1})	Desarrollo de yemas	Manzanera y Pardos (1990)
	Yemas desarrolladas in vitro	Multiplicac.	Lepoivre, SH, Durzan mod., Sommer, GD, MS y Heller modificado	–	Producción de brotes y elongación	
		Multiplicac.	Sommer, Heller y Lepoivre	BA (0,1 mgL^{-1})	Multiplicación de brotes	
	Brotes de ápices de 1 cm desarrollados in vitro	Enraizam		AIB (1 gL^{-1}), 30 seg. AIB (1 mgL^{-1}), 7 días	Rizogénesis	
	Yemas de esquejes de árbol de 30-40 años, colectadas en Sept. Y Febrero	Iniciación	Sommer, Heller, GD	BA (0,2 y 1,0 mgL^{-1}) + ANA (0,1 mgL^{-1})	Brotación de yemas	
	Brotes	Multiplicac.	Sommer, Heller	BA (0,1 mgL^{-1})	Multiplicación de brotes	
	Brotes elongados	Enraizam		AIB (5 mgL^{-1}), 14 días	Enraizamiento	

El desarrollo de pelos radicales es un evento multicelular complejo. Las auxinas juegan un papel importante en la formación de los pelos radicales pero no son el único determinante. La presencia de pelos radicales más cortos sobre raíces formadas en cultivo de tejidos tiene implicaciones significativas para la aclimatación de las plantas producidas en cultivo de tejidos (Soh, Bhojwani y Lee, 1999).

9. AUXINAS

La auxina es una señal que coordina el desarrollo de varios tejidos de la planta con el estado y tamaño de los tejidos del brote que están cercanos a él morfológicamente. La auxina coordina el crecimiento de hojas nuevas con la iniciación de nuevas raíces. Al mismo tiempo determina la diferenciación y las relaciones entre las células de los nuevos órganos (Berleth y Sachs, 2001).

Las auxinas se encuentran en todos los miembros del reino vegetal; se producen en mayor abundancia en las áreas de crecimiento (meristemos) de la raíz y de los ápices de los brotes, pero también en los tallos y en las hojas. Aún no se conoce totalmente el método de distribución por toda la planta (The Columbia Electronic Encyclopedia, 2003). La auxina es liberada por las células meristemáticas cuando tienen suficiente azúcar y oxígeno para suministrarse así misma y a algunas células dependientes, y están en buenas condiciones de crecimiento. Esta es directa o indirectamente inducida por niveles altos de etileno (Wikipedia, 2001).

La acción del AIB o del AIA en general depende de la concentración de la auxina activa en el sitio de acción, de la sensibilidad del tejido, del transporte al sitio de acción y de la inactivación metabólica (Van der Krieken y col, 1997). El AIA no conjugado (llamado AIA libre) es la forma biológicamente activa de la molécula y está presente en concentraciones bajas (ng^{-1} g peso fresco al nivel de la planta entera) (Normanly, 1997).

El ácido indolbutírico (AIB) es una forma endógena de auxina en guisante, y puede producirse en el ápice del brote a un nivel mayor que el del AIA. El transporte basipetal del AIB en el tallo intacto es menor que el de AIA. El efecto residual del AIB en la estimulación del crecimiento es más fuerte que el del AIA, lo que sugiere que los conjugados de AIB pueden ser una mejor fuente de auxina libre a través de la hidrólisis que los conjugados de AIA (Yang y Davies, 1999).

En la yemas aisladas de *Pisum sativum* el crecimiento está acompañado por un incremento rápido transitorio del nivel del AIA endógeno durante las primeras dos horas (Balla y col, 2002).

Similar al AIA, el AIB es transportado predominantemente en una dirección basipétala (transporte polar). Los cultivares fáciles de enraizar absorben más la auxina y la transportan más a las hojas (Epstein y Ludwig-Müller, 1993).

Una concentración relativamente alta de AIA favorece la proliferación celular y la diferenciación de las raíces, mientras que los niveles relativamente altos de adenina o kinetina promueven la diferenciación de la yema (Bhojwani y Razdan, 1983).

Se han presentado algunas observaciones que indican que puede existir un control directo por parte de las **auxinas** sobre los niveles de las citoquininas. En los explantos de médula de tabaco la estabilidad del ribósido de zeatina está relacionada inversamente con la concentración de auxinas

(Burch y McGraw, 1993). Mientras las auxinas producidas apicalmente reducen las citoquininas en las raíces, la raíz produce citoquininas regulando las auxinas en las yemas laterales y terminales (Bangerth y col, 2000).

9.1 Biosíntesis de auxina

En las plantas superiores se han identificado las rutas dependiente e independiente del triftofano; la síntesis dependiente del triftofano está dividida al menos en tres rutas diferentes (Zazimalova y Napier, 2003); ver además las revisiones hechas por Bandurski y col. (1995) y por Normanly y Bartel (1999). Aunque los estudios de espectrometría de masas (Normanly, 1997) en conjunto con los estudios de isótopos radiactivos estables han permitido la comprensión de la biosíntesis de auxina y apoyan la existencia de las dos rutas (Normanly, 1997; Ljung y col, 2002) en ambas rutas la dependiente y la independiente del triftofano se sabe poco acerca de sus enzimas, sus intermediarios y las localizaciones celulares (Normanly y Bartel, 1999),

La biosíntesis de auxina puede ser catalizada no solo por enzimas endógenas de plantas, sino además por enzimas codificadas por plásmidos de patógenos de plantas, por ejemplo *Agrobacterium* (Bartel, 1997; citado por Zhao y col, 2001)

El AIB no es activo por sí mismo sino que ejerce su acción mediante la conversión (β -oxidación) en el ácido indolacético (Van der Kriecken, 1997). Por otra parte el AIA es convertido a AIB en plantas de maíz y *Arabidopsis*. La **biosíntesis del AIB** puede ocurrir por tres rutas, primero vía el triftofano (indol+serina) usando glutamato- γ - semialdehído en lugar de serina; segundo, por β -oxidación vía reacciones similares a la biosíntesis de los ácidos grasos; tercero, la ruta independiente del triftofano similar al demostrado por Wright y col. (1991; citado por Epstein y Ludwig-Müller 1993) en un mutante del pericarpo de maíz para AIA. La **biosíntesis del AIB** en maíz (*Zea mays*) involucra al AIA como el precursor directo (Ludwig- Müller, 2000).

Los ápices de coleóptilo de maíz que crecen en oscuridad pueden convertir Trp aplicado a AIA (Koshiba y col, 1995, citado por Ljung y col, 2002). Sin embargo hay muy poca biosíntesis de AIA en las plántulas jóvenes de maíz (Jensen y Bandurski, 1996; Pengelly y Bandurski, 1983; citados por Ljung y col, 2002). La diferencia puede ser explicada en parte por un estudio sobre germinación de ejes de frijol. Estos utilizaron la ruta independiente del triftofano hasta que sus cotiledones fueron removidos. Después de doce horas de la remoción se detectó la biosíntesis del AIA dependiente del triftofano. Después de un período de recuperación, la biosíntesis de AIA independiente del triftofano volvió a ser de nuevo la ruta predominante (Sztein y col, 2002; citados por Ljung y col, 2002).

▪ Ruta dependiente del triftofano

Una cantidad enorme de investigaciones demuestra que el AIA puede ser sintetizado desde el triftofano (Bandurski y col, 1995). La cantidad de triftofano es mayor en magnitud tres o más veces que la del AIA (Epstein y col, 1980; citado por Bandurski y col, 1995). Las rutas dependientes del triftofano predominan durante la embriogénesis temprana y la germinación de la semilla, mientras las rutas independientes del triftofano predominan durante la embriogénesis tardía y el crecimiento vegetativo (Cohen y Slovin, 1999 y Normanly, 1997; citados por Normanly, 1999).

Michalczyk y col (1992, citado por Normanly, 1997) fueron los primeros en mostrar que en *Daucus carota* ambas rutas biosintéticas del AIA la dependiente y la independiente del triftofano pueden ser utilizadas por una sola planta.

Se ha demostrado que **partes de una planta**, incluyendo órganos excisionados, secciones de tejidos, células cultivadas y preparaciones celulares libres, pueden convertir fácilmente triftofano en AIA (Müller y Weiler, 2000; Nonhebel y col, 1993; Sembdner y col, 1981, citados por Sztein y col, 2002). El sistema radical de *Arabidopsis thaliana* es un **sitio autónomo** de biosíntesis de ácido indol-3-acético desde el L-triftofano (Müller y col, 1998).

Las tres rutas paralelas de síntesis del AIA dependiente del triftofano son: Primero a través del **IPA (Indol-3-piruvato)**, segundo a través de la **TAM (triptamina)** y tercero a través del **citocromo P450** (ver más detalles en Zazimalova y Napier, 2003).

Las tres rutas dependientes del triftofano convergen a **AIA1d**, el cual es oxidado por la **AIA1d oxidasa** a AIA (Sekimoto y col, 1998 y Seo y col, 1998; citados por Zazimalova y Napier, 2003).

Por otro lado las raíces estériles de *Arabidopsis thaliana* son capaces de sintetizar **IAN** y AIA desde el L-triftofano. El tejido de la raíz es capaz de producir AIA desde el IAN. El sistema radical de *Arabidopsis thaliana* expresa la enzima funcional nitrilasa (Müller y col, 1998; Müller y Weiler, 2000).

▪ Ruta no dependiente del triftofano

La biosíntesis del AIA independiente del triftofano es importante no sólo en Angiospermas (Zazimalova y Napier, 2003), sino también en las plantas inferiores *Pallavicinia lyellii*, *Polytrichum ohioense* (musgo) y el teridófito *Selaginella kraussiana* (Sztein y col, 2000).

Parece que las células desorganizadas y los explantos heridos activan la ruta dependiente del triftofano para generar niveles altos de auxina necesarios para una proliferación celular rápida (Sztein y col, 2002). Por contraste, las plantas intactas parecen usar la ruta independiente del triftofano para mantener los niveles bajos de auxina requeridos para el desarrollo organizado (Michalczyk y col, 1992 y Sztein y col, 2002).

La biosíntesis del AIA en muchas plantas, incluyendo *Lemna gibba* involucra al menos dos rutas diferentes, una desde el triftofano y otra ruta independiente del triftofano (Rapparini y col, 1999).

La ruta dependiente del triftofano posee velocidades mucho más altas de biosíntesis de AIA que la ruta independiente del triftofano (Sztein y col., 2002). En el caso del maíz, las plántulas usan directamente el indol como precursor para formar el AIA (Östin y col, 1999; citado por Ljung y col, 2002). El endospermo de maíz puede sintetizar AIA desde el triftofano (Rekoslavskaya, 1995; citado por Ljung y col, 2002).

Una evidencia crucial de la ruta independiente del triftofano viene del análisis de los mutantes autotróficos del triftofano de maíz y *Arabidopsis* (Ljung y col, 2002). La adición de triftofano al medio no altera las cantidades de AIA en plántulas mutantes o normales de maíz, indicando que el triftofano no es un precursor inmediato para el AIA (Wright y col, 1991). Debido al bloqueo de la triftofano sintasa, el mutante *trp3-1* de *Arabidopsis thaliana* hiperacumula el precursor indol-3-glicerofosfato. La inestabilidad del indol-3-glicerofosfato conduce a la liberación del AIA desde este metabolito (Müller y Weiler, 2000).

Ninguna de las enzimas que catalizan la biosíntesis del AIA independiente del triptófano han sido identificadas (Bartel y col, 2001).

El mutante *trp-1* de *Arabidopsis thaliana* es defectuoso en la actividad antranilato fosforibosiltransferasa (Last y Fink, 1988; citado por Normanly y col, 1993). El mutante *trp2-1* es deficiente en la actividad triptófano sintasa β (15% del nivel del tipo silvestre) (Last y col, 1991; citado por Normanly y col, 1993), y el mutante *trp3-1* es deficiente en la actividad triptófano sintasa α (Last y Frink, 1988; citado por Normanly y col, 1993). Estos mutantes son autótrofos condicionales, en la condición permisiva de luz baja son viables sin la adición de triptófano (Normanly y col, 1993).

La biosíntesis del AIA dependiente e independiente del Trp comparten algunos pasos comunes que conllevan a la formación del **indol-3-glicerol fosfato (IGP)**. Los contenidos de AIA total en los mutantes biosintéticos de Trp *trp2-1* y *trp3-1* demuestran que en *Arabidopsis* la biosíntesis de nuevo del AIA independiente del triptófano se diversifica desde la ruta biosintética del Trp sobre la formación del indol (Ouyang y col, 2000).

En la imbibición de la semilla de *Pinus sylvestris* la síntesis de AIA dependiente del triptófano se inicia alrededor de los cuatro días y la síntesis independiente del triptófano ocurre siete días después (Ljung y col, 2001).

La biosíntesis del AIA vía la ruta independiente del triptófano es 44 pg AIA (μgChl)⁻¹h⁻¹ y 59 pg AIA (μgChl)⁻¹h⁻¹, respectivamente en *Nicotiana tabacum* y en preparaciones de protoplastos transformados (Sitbon y col, 2000).

9.2 Catabolismo de auxinas

La disminución irreversible del AIA libre ocurre por dos rutas principales: primero a través de la **oxidación** del ácido 2-oxindol-3-acético y segundo a través del ácido **indol-3-acetil-N-aspartico** (Chamorro y col, 2001; Kowalczyk y Sandber 2001; Ljung y col, 2001; citados por Zazimalova y Napier, 2003). Parece que la oxidación es la mayor ruta de desactivación en los tejidos o con la adición de poca auxina exógena, pero la conjugación prevalece a concentraciones más altas (Zazimalova y Napier, 2003).

▪ Catabolismo oxidativo

El catabolismo oxidativo del AIA es la modificación química del núcleo indol o de las cadenas laterales produciendo la pérdida de la actividad de la auxina, y ésta es la única salida irreversible de la regulación de los niveles de AIA. El catabolismo de AIA puede incluir dos vías, una es la **descarboxilación oxidativa** de la cadena lateral, y la otra es la **oxidación** de las posiciones dos, tres y siete del núcleo indol sin descarboxilación (Bandurski y col, 1995).

▪ Descarboxilación oxidativa

El catabolismo descarboxilativo del AIA usualmente involucra la modificación de la cadena lateral y del anillo indol. Estas reacciones son catalizadas por peroxidasas de plantas referidas como "AIA oxidasas". Los mayores productos in vitro son el indol-3-metanol, el indol-3-aldehído (el producto de indol-3-metanol reacciona con radicales libres), el 3-metilénoxindol, el ácido indol-3-carboxilo y el 3-

metil-oxindol (Reinecke y Bandurski, 1987; Barceló y col, 1990; Östin, 1995, citados por Ljung y col, 2002).

▪ **Catabolismo no descarboxilativo**

El catabolismo no descarboxilativo del AIA supone la oxidación del anillo indol (Normanly, 1997).

La oxidación no descarboxilativa del anillo indol es la mayor ruta catabólica del AIA en *Arabidopsis* (Östin y col, 1998; citado por Ljung y col, 2002). Se han descrito rutas similares en otras plantas, pero los productos finales oxidativos difieren significativamente entre especies (Ljung y col, 2002). *Pinus silvestris* comparte la misma ruta con *Zea mays*, en el primer paso, la hormona libre es oxidada en el segundo carbón, luego oxidada en el séptimo carbón del anillo indol y finalmente modificada por glucosylación de un grupo hidroxil formado nuevamente (Nonhebel y col, 1985; Ljung y col, 2002): AIA → ácido oxindol-3-acético → ácido glucósido 7-Hidroxi-oxindol-3-acético (Bandurski y col, 1995).

▪ **Catabolismo de AIA a través de la conjugación del 3-acetil-N-aspártico (AIA-Asp)**

El AIA existe de tres formas generales en las plantas, como AIA libre no conjugado, conjugado vía uniones ester a azúcares o al mio-inositol (AIA unido a ester) o conjugado vía amida unida a aminoácidos o a péptidos (amida unida a AIA) (Cohen y Bandurski, 1982; citado por Normanly y col, 1993).

El **AIAsp (indol 3- acetilaspártato)** es el **conjugado amida** predominante formado después de la aplicación de AIA (Andreae y Good, 1955; Venis, 1972; citados por Blakesley, 1994) y además se produce de forma natural (Law y Hamilton, 1982; Nordström y Eliasson, 1991; citados por Blakesley, 1994).

Las especies *Vicia faba*, tomate, zanahoria y un híbrido del álamo usan AIAsp como el sustrato para la primera oxidación (Riov y Bangerth, 1992; Sasaki y col, 1994; Tuominen y col, 1994, citados por Ljung y col, 2002). La segunda oxidación en estos sistemas involucra la formación de un grupo hidroxil en la tercera posición del anillo indol, y en la mayoría de los casos posterior glucosilación para formar el 3-O-glucósido de OXAIAsp (Ljung y col, 2002). En el caso de *Vicia faba* las reacciones son las siguientes: AIA → Indol-3-acetilaspártato → Dioxindol-3-acetilaspártato → Dioxindol-3-acetilaspártato-3-O-Glucósido (Bandurski y col, 1995).

9.3 Transporte de auxinas

El transporte de auxina ocurre por dos caminos principales: el primero es el **transporte no polar** o lateral de auxinas, no direccional en el floema (Friml y Palme, 2002). Este transporte ocurre en varias direcciones, basipétala y acropétala, avanza relativamente rápido (5 a 20 cmh⁻¹) y parece estar correlacionado con el transporte de asimilados y conjugados de auxina inactiva (Nowacki y Bandurski, 1980; citado por Friml y Palme, 2002). Un análisis directo de auxina revela cantidades relevantes de AIA libre dentro del exudado del floema (Baker, 2000; citado por Friml y Palme, 2002). El segundo es el **transporte polar de auxina (PAT)** es específico de la auxina libre activa, ocurre de célula a célula

y tiene un carácter estrictamente unidireccional. El principal flujo del TPA va desde el ápice basipétalmente con una velocidad de 5 a 20 mmhora⁻¹ hacia la base de la planta (Lomax y col, 1995, citado por Friml y Palme, 2002).

▪ Transporte no polar de auxinas

En el sistema vascular, el transporte ocurre por flujo de masas (Lomax y col, 1995). Un análisis directo de auxina revela cantidades fisiológicas relevantes de AIA libre dentro del exudado del floema (Baker, 2000, citado por Friml y Palme, 2002). Auxina marcada transportada dentro del floema de guisante es detectada después en el sistema del TPA indicando que ambos tipos de transporte pueden estar conectados (Cambridge y Morris, 1996, citado por Friml y Palme, 2002).

En *Ricinus* hay un transporte vascular de AIA libre a través del floema (13,0 ng ml⁻¹ de savia). La ausencia virtual de AIA en la savia del xilema conduce a la conclusión de que el AIA libre presente en la savia del floema está provista por síntesis y exportación desde las hojas maduras. Esto corrobora la hipótesis de Sheldrake (1973; citado por Baker, 2000), que los meristemos son importadores netos antes que sintetizadores de AIA en plantas superiores.

La localización de la permeasa de AIA auxin AUX1 en el ápice de la raíz de *Arabidopsis* reveló una nueva ruta de transporte de AIA basada en el floema. La AUX1 cumple una función dual de transporte de auxina facilitando el transporte de auxina acropetal y basipetal en el protofloema y las células laterales de la caliptra radical, respectivamente (Swarup y col, 2001).

▪ Transporte polar de auxinas

El **transporte polar de auxina** controla aspectos múltiples del desarrollo de las plantas incluyendo el crecimiento diferencial, el embrión, el patrón de raíz y la diferenciación del tejido vascular (Friml y Palme, 2002).

La auxina es transportada a través de los tejidos de las plantas, moviéndose de célula a célula de forma polar. Estudios recientes han identificado varias proteínas que median el transporte polar de auxina y han mostrado que algunas de estas proteínas están localizadas asimétricamente. La fosforilación reversible de proteínas puede controlar la cantidad de transporte de auxina, mientras que la secreción de proteína a través de las vesículas derivadas de Golgi y las interacciones con la actina citoesqueleto pueden regular la localización de los flujos complejos de auxina (Muday y DeLong, 2001).

El **transporte de auxina** en *Arabidopsis* es **polar**. En el hipocótilo, inflorescencia y otros tejidos del tallo, la auxina se mueve en una dirección simple, desde el ápice del brote hacia la base (basipetal) (Muday y DeLong, 2001). En las raíces, el movimiento desde el brote a la raíz es desde la base hacia el ápice de la raíz (acropetal) a través de las células en el cilindro central. En las raíces, la auxina se mueve además desde el ápice de la raíz hacia la base en una dirección basipetal a través de las células del córtex y/o la epidermis (Muday y DeLong, 2001; Rashotte y col, 2000, citados por Friml y Palme, 2002). En contraste el TPA en los brotes ocurre en dirección lateral (Morris y Thomas, 1978, citado por Friml y Palme, 2002) (Friml y Palme, 2002).

Otras especies como *Forsythia* (fácil para enraizar) muestra mayor habilidad de transporte polar de auxina que *Syringa* (difícil de enraizar). Las diferencias en la habilidad del transporte polar de auxina entre *Syringa* y *Forsythia* contribuyen a las diferencias en la habilidad del enraizamiento (Ford y col, 2001).

La velocidad del transporte basipétalo de la auxina, que generalmente disminuye con el aumento de la edad, puede mantenerse en o cerca a sus niveles en los esquejes jóvenes (Haissig, 1986).

La diferenciación de fibras organizadas que se conectan entre órganos está inducida por el flujo polar de auxinas, hacia las raíces (Sachs, 2000).

10. CITOQUININAS

Las citoquininas están involucradas en el control de procesos asociados con el crecimiento y desarrollo de las plantas. Toman parte en el control de la división celular, en el desarrollo de los cloroplastos, en la diferenciación de las yemas, en la iniciación y el crecimiento del brote o en la senescencia foliar (Brault y Maldiney, 1999). La tasa de multiplicación en los cultivos puede aumentarse mediante el crecimiento de los brotes en un medio conteniendo una concentración de citoquinina apropiada con o sin auxina. Este proceso puede ser indefinido incrementando el número de brotes en una escala logarítmica, o puede ser limitado (Bhojwani y Razdan, 1983). A una concentración débil, las citoquininas se utilizan frecuentemente para estimular la proliferación de los tejidos en un cultivo y a concentraciones muy fuertes para favorecer la proliferación *in vitro* de meristemas axilares en cultivo de ápices (Margara, 1988).

El primer “activador” de la división celular (citoquinina) que se logró caracterizar fue la **kinetina** y no se encuentra como un producto endógeno en las plantas. La **transzeatina** fue la primera citoquinina natural que se identificó en las plantas. La mayor parte de las citoquininas endógenas descritas son derivados de la **purina** (Burch y McGraw, 1993).

Las citoquininas modulan cambios en la expresión de los genes involucrados en efectos fisiológicos y morfológicos de las plantas con la cual está asociada la acción de la citoquinina (Hare y Staden, 1997).

Existen varios estudios acerca de las citoquininas endógenas, por ejemplo en plántulas de *Pistacia vera* (Dewitte y Onckelen; 2001), en plántulas de pistacho (Ahmadi y Baker, 2000), en plántulas rejuvenecidas y maduras de *Hevea brasiliensis* (Perrin y col, 1997), en yemas juveniles y adultas de *Pinus radiata* (Zhang y col, 2003), en el cámbium vascular de árboles de *Pinus silvestris* (Moritz y Sundberg, 1996), en yemas terminales de *Picea abies* (Chen y col, 1996), en *Phaseolus vulgaris* (Hammerton y col, 1996), en *Phalaenopsis hybrida* (Choau y col, 2000), en *Chenopodium rubrum* (Machacková y col, 1996), en brotes de *Petunia hybrida* (Aver y col., 1999), en raíz adventicia de frijol (Eshed y Riov, 1997), en hojas de *Actinidia deliciosa* (Moncaleán y col, 2003) y en yemas de *Paeonia suffruticosa* (Bouza y col, 1993).

Las citoquininas cambian su localización durante el período de cultivo en *Actinidia deliciosa*, aunque siempre se pueden encontrar en un mayor o menor grado en el núcleo y en el citoplasma. La existencia de una gran cantidad de citoquininas en el núcleo durante las primeras horas de cultivo es

probable debido a la activación de los mecanismos del ciclo celular que conduce a un desarrollo organogénico al inicio del cultivo (Moncaleán y col, 2001).

El AIA inhibe el transporte de BA a la yema más alta en tallos de avena. El AIA promueve el catabolismo de BA (Harrison y Kaufman, 1984).

El metabolismo de degradación de las citoquininas es un proceso importante que controla las formas, los niveles de citoquinina activa y su distribución en los tejidos de las plantas, y parece ser debido a la actividad de una enzima específica, la citoquinina oxidasa (Galuszka y col, 2000).

Hay dos caminos metabólicos principales que conducen a una pérdida completa de la actividad biológica de las citoquininas en las células de las plantas: la formación de conjugados de nitrógeno y la división de la cadena lateral N⁶ de la molécula de citoquinina (Letham y Palni, 1983 y Vanková, 1999; citados por Galuszka y col, 2000). La citoquinina oxidasa es la única enzima conocida de plantas capaz de degradar citoquininas naturales. Esto fue descubierto primero en un extracto crudo de cultivo de tejido de tabaco (Paces y col, 1971; citado por Galuska y col, 2000) y ha sido demostrado en un número de plantas superiores e inferiores.

La raíz portadora de citoquininas puede servir como señal para controlar otros procesos como la respuesta a un estado nutricional, particularmente la disponibilidad de nitrógeno (Schmülling, 2002).

La aplicación de dihidrozeatina a ápices de raíces de guisante decapitados supera el efecto de la remoción del ápice radical. Quizás las raíces laterales sintetizan citoquininas para ayudar al crecimiento de la plántula de guisante y el papel principal de las citoquininas sintetizadas en el ápice de la raíz es determinar el grado y la posición de iniciación de la raíz lateral (Stirk y Van Staden, 2001).

Según Beenster y Baskin (2000) la división y la expansión en el meristemo radical del mutante enano de *Arabidopsis* (*stp1*) son reguladas independientemente, las raíces elongan más lentamente que las de tipo silvestre. La citoquinina reduce la elongación de la raíz y bloquea el incremento de la longitud y el número celular de la zona meristemática (Beenster y Baskin, 2000).

11. HISTOLOGÍA DEL ENRAIZAMIENTO

11.1 Aspectos anatómicos, histológicos y ultraestructurales de la formación de raíces adventicias

En muchas situaciones, las técnicas histológicas proveen información esencial que no se puede evidenciar en una inspección visual (Trigiano y Dennis, 2000). El análisis estructural de la iniciación del primordio de raíz es un prerequisite para entender los procesos de organogénesis de la formación de raíces adventicias. Éstas generalmente, **se originan de forma endógena**, en las células de parénquima desdiferenciadas alrededor de los tejidos vasculares por acción de la auxina (Soh y col. 1999). Lo más frecuente es que se formen a partir del cámbium. Las células que las originan sufren una desdiferenciación que conduce a la formación de células meristemáticas primarias (Margara, 1988). Durante la diferenciación muchas células de la médula al córtex recobran el potencial para la división celular. Sin embargo, solo células definidas (como las células del

parénquima del floema meristemizadas), pueden diferenciarse en primordio de raíz (Soh, y col. 1999).

El origen del primordio de la raíz puede ser un indicio de la **totipotencia de las células** en la parte afectada; una propiedad evocada cuando la integridad del sistema es puesta a prueba química o físicamente (Barlow y Palma, 1997). Si el órgano es joven, el primordio adventicio es iniciado por un grupo de células situadas cerca de la periferia del sistema vascular. Si es más viejo, el origen es más profundo y se localiza cerca del cámbium vascular. En los tallos jóvenes, las células que forman el primordio de la raíz se derivan comúnmente del parénquima interfascicular; en los tallos más viejos, a partir de los radios vasculares (Esau, 1985)

La interpretación de los sucesos anatómicos, descritos en los libros son muchas veces arriesgados, ya que su terminología no siempre es consistente y porque las ilustraciones no siempre soportan sus descripciones (Lovell y White, 1986).

Las células en división en el parénquima no conducen necesariamente a la formación del primordio radical, solo células en divisiones localizadas y orientadas específicamente. Durante el desarrollo del primordio de raíz, ocurre diferenciación vascular en el tejido parental y se establece una conexión entre el tejido vascular diferenciado nuevamente y los del tejido parental. Los sucesos tempranos de la organogénesis de la raíz están caracterizados por células con núcleo agrandado localizado centralmente, nucléolo prominente y citoplasma denso (Soh y col., 1999). El origen de las raíces adventicias en la región interfascicular, en el radio vascular o en el cámbium, sitúa a la raíz joven cerca del xilema y del floema del eje principal y facilita el establecimiento de la conexión vascular entre los dos órganos (Esau, 1985).

Los procesos de iniciación de una raíz nueva de origen adventicio se ha dividido en cuatro estados principales: primero, la formación de un locus meristemático mediante la dediferenciación de una célula o células del tallo; segundo, la multiplicación de células del tallo en un grupo esférico; tercero la multiplicación de células nuevas con iniciación de divisiones celulares planares para formar un meristemo radical bilateral reconocible; y cuarto, la elongación celular de aquellas células localizadas en la parte basal del meristemo en desarrollo, produciendo la emergencia de la nueva raíz (Blakesley y col. 1991; citado por Schuarz y Beaty, 2000). La “**iniciación del primordio**” se refiere a la dediferenciación que producen directamente las células iniciales del primordio de raíz; el “**desarrollo de primordio**” se refiere a la división de las células iniciales y de las células adyacentes al primordio que se pueden diferenciar y empiezan la división después de aparecer las células iniciales; la “**diferenciación de primordio**” se refiere a la diferenciación morfológica de las células hijas que fueron producidas durante el desarrollo del primordio (Haisig, 1974).

En el caso de *Pinus radiata* (Smith y Thorpe, 1975; citado por Schuarz y Beaty, 2000), el primer evento de iniciación de raíz es la formación de un lugar meristemático visible definido por la expansión de una célula y la hinchazón de sus núcleos. Una o más de las células circundantes de los lugares meristemáticos (células periféricas) reparticiona su citoplasma e inicia una división celular desigual. Los meristemoides, o esferas de tejidos meristemáticos, son el resultado de la continuada división de las células periféricas. El desarrollo continuo del meristemoide da origen a raíces adventicias totalmente desarrolladas.

Los estudios histológicos sobre enraizamiento adventicio se han llevado a cabo por diferentes motivos: primero, para identificar las células o tejidos desde los cuales se originan; segundo, para establecer si está presente el primordio de raíz preformado o si el sitio para formación de primordio de raíz necesita ser creado; tercero, para determinar si la baja capacidad de enraizamiento está relacionada con características anatómicas (un ejemplo sería la presencia de un aro continuo de esclerenquima), y cuarto, para relacionar datos fisiológicos y bioquímicos con los estados anatómicos de formación de la raíz (Altamura, 1996).

Hay dos patrones de formación de raíces adventicias en explantos herbáceos y maderables, y estos pueden reflejar las habilidades obtenidas por el explanto. Cuando la competencia es alcanzada durante el cultivo *in vitro* el patrón es indirecto (por ejemplo, el primordio de raíz ocurre en un callo formado previamente). Cuando la competencia está ya presente al comienzo del cultivo el patrón es directo (por ejemplo, el primordio de raíz se desarrolla directamente desde las células en proximidades cercanas al sistema vascular del explanto primario). Se puede subrayar que ambos procesos rizogénicos, directo e indirecto pueden ser activados en el mismo explanto (herbáceos o leñosos). Los dos patrones se pueden originar desde células meristemáticas diferenciadas o en diferenciación. La dediferenciación es el evento celular temprano común a los dos patrones y es necesario en células diferenciadas y en diferenciación para la reactivación del ciclo celular. El término no expresa completamente que ocurre en las células meristemáticas (Altamura, 1996). En general, las especies maderables fáciles de enraizar exhiben el patrón directo (Altamura, 1996).

12. INFLUENCIA DE LA ADICIÓN DE CANTIDADES EXTRAS DE NITRÓGENO, FÓSFORO Y POTASIO

La habilidad de las plantas para responder apropiadamente a la disponibilidad de nutrientes es de importancia fundamental para su adaptación al medio ambiente. Nutrientes tales como nitrato, fosfato, sulfato y hierro actúan como señales que pueden ser percibidas. Estas señales disparan mecanismos moleculares que modifican la división celular y los procesos de diferenciación celular dentro de la raíz y tienen un profundo impacto sobre la arquitectura del sistema radical. Procesos importantes de desarrollo, tales como la formación de pelos radicales, el crecimiento de la raíz primaria y la formación de la raíz lateral, son particularmente sensibles a cambios en las concentraciones de nutrientes internas y externas. Las respuestas de la arquitectura de la raíz a los nutrientes puede ser modificada por reguladores de crecimiento de plantas tales como auxinas, citoquininas y etileno sugiriendo que el control nutricional del desarrollo de la raíz puede ser mediado por cambios en la síntesis de hormonas, transporte o sensibilidad (López-Bucio y col., 2003).

El nitrógeno (N), el fósforo (P), el hierro (Fe) y el azufre (S) son nutrientes que alteran los procesos pos-embrionarios del desarrollo de la raíz. El fósforo es el segundo factor más crítico en la determinación de la productividad en plantas porque la forma aniónica del fosfato, en la cual el fósforo es asimilado por las plantas, es extremadamente insoluble en la solución del suelo. Esta insolubilidad es debido a la afinidad del fósforo por cationes tales como Ca^{2+} , Mg^{2+} y Al^{3+} , y su fácil conversión en formas orgánicas que no son susceptibles a la toma de las plantas (López-Bucio y col., 2003).

Aunque el **nitrógeno** se presenta en un gran número de constituyentes vegetales, la mayor parte se halla en las proteínas. La absorción de NO_3^- y NH_4^+ que realizan los vegetales les permite formar numerosos compuestos nitrogenados, sobre todo proteínas. La mayor parte del nitrógeno es insoluble y no está disponible de inmediato para que lo utilicen las plantas. Las plantas cultivadas y muchas especies nativas absorben la mayor parte del nitrógeno en forma de NO_3^- , debido a que el NH_4^+ es oxidado a NO_3^- con mucha rapidez por bacterias nitrificantes (Salisbury y Ross, 1994).

La forma en que se absorbe no es indiferente ya que el ión amonio reduce la absorción de otros cationes (Ca^{+2} y Mg^{+2} fundamentalmente), y las distintas especies presentan diferencias marcadas en la preferencia y la tolerancia hacia ambas formas de nitrógeno. En general. Cuando el suministro en nitrato es bajo, una proporción elevada se reduce en las raíces, mientras al aumentar aquel se transporta una proporción creciente del nitrógeno por el xilema hasta las hojas en forma de NO_3^- , teniendo lugar en éstas su reducción. La capacidad de reducción de nitratos en las raíces de la mayor parte de las especies leñosas es muy elevada, por lo que la cantidad de nitratos en hojas es invariablemente muy bajo; por el contrario, en algunas especies herbáceas (por ejemplo tomate y remolacha) así como *Vitis*, la mayor parte del nitrato es reducido en las hojas. El ión amonio es extremadamente tóxico para las plantas. Tanto el absorbido por las raíces como el producido mediante la reducción de los nitratos, es metabolizado rápidamente mediante su incorporación en aminoácidos. Cuando éste tiene lugar en las raíces, el transporte del nitrógeno en el xilema se realiza fundamentalmente en forma de amidas (glutamina y asparagina), o de aminoácidos (arginina) (Guardiola y García, 1990).

Los mayores nutrientes limitantes de la productividad de las sabanas son el nitrógeno y el fósforo y un importante factor de estrés es la toxicidad por aluminio (Lüttge, 1997).

Como las plantas absorben el fosfato preferentemente en la forma PO_4H_2^- , la absorción de este elemento mineral depende marcadamente del pH. Las plantas presentan una elevada capacidad de acumulación de fosfato, que se encuentra en el fluido del xilema a una concentración hasta 400 veces mayor que en la solución del suelo (Guardiola y García, 1990).

Las limitaciones de **fósforo** pueden ser parcialmente aliviadas, al menos cuando las plantas leguminosas desarrollan una segunda simbiosis en adición a los nódulos de la raíz, llamadas micorrizas. La hifa fungal de micorriza aumenta la adquisición de nutrientes y puede tener efectos positivos, particularmente debido al incremento de suplemento de fósforo de las plantas huésped (Lüttge, 1997).

El potasio es muy soluble y tiene una baja afinidad por los ligandos orgánicos de los que se intercambia fácilmente. Se encuentra por tanto en forma iónica libre y es el catión más abundante en vacuolas y citoplasma. También se encuentra en forma libre en el fluido de los tejidos conductores, siendo muy móvil en la planta (Guardiola y García, 1990).

El potasio adicionado junto con la bencilaminopurina a plantas de *Lupinus angustifolia* incrementa la producción de semillas y el número de vainas por plantas (Liu y Lognecker, 2001). El transporte y acumulación de **potasio** en las raíces de las plantas superiores está regulada por el ABA, este regula la actividad del canal de K^+ en raíces de maíz y *Arabidopsis* (Roberts y Snowman, 2000).

El gen AKT2 es expresado predominantemente en tejidos vasculares y es capaz de mediar el influjo y el eflujo de K^+ . AKT2 está involucrado en el transporte de K^+ en el floema (Lacombe y col, 2000).

13. FUENTE CARBONADA

Los tejidos en cultivo *in vitro* son ampliamente heterotróficos con respecto al carbono, debido a la ausencia o insuficiencia de asimilación clorofílica. Resulta pues indispensable añadir glúcidos a los medios de cultivo. Podrían aportarse diversos azúcares pero los dos utilizados habitualmente son la sacarosa y la glucosa. El aporte de glúcidos no tiene por objeto exclusivo optimizar el crecimiento de los tejidos. Igualmente puede orientar la organogénesis ya que la falta de azúcares es con frecuencia un factor limitante (Margara, 1988). No obstante si se adiciona niveles altos (cuatro a seis por ciento) causa formación de callo, y si se adiciona a un nivel de ocho a diez por ciento resulta dañino como es el caso de *Eucalyptus sideroxylon* (Cheng y col, 1992).

La **sacarosa** ha sido el carbohidrato preferido en la mayoría de los trabajos sobre inducción de brotes en especies maderables (Thompson y Thorpe, 1987). La concentración más utilizada en investigaciones de diferentes especies es al 3%. Otros autores emplean la sacarosa a una concentración de 2% y pocos al 4%. En numerosas ocasiones los investigadores reducen la concentración de sacarosa durante el enraizamiento con respecto a la concentración inicial utilizada en el establecimiento. En pocos casos se emplea la alternancia de dos tipos de fuente carbonada o combinación de ellas.

14. TOXICIDAD POR ALUMINIO EN PLANTAS

La toxicidad causada por el aluminio limita la productividad de las cosechas en los suelos ácidos. La entrada del aluminio a las plantas tolerantes es prevenido por secreciones ácidas orgánicas en la solución del suelo, llevando el Al a componentes de la pared celular de la raíz y el mucílago cargados negativamente, o por alcalinización de la rizósfera. En general, las especies que hiperacumulan este elemento son perennes, plantas leñosas que habitan en regiones tropicales o subtropicales. La baja incidencia de hiperacumulación de Al en grupos evolutivamente avanzados y en las monocotiledóneas, parece estar correlacionada con sus hábitos herbáceos (White, 2002).

El suelo ácido y la toxicidad asociada al aluminio se consideran el factor abiótico número uno limitante de la producción de cultivos. A lo largo del mundo existen más de dos billones de hectáreas de suelos ácidos, ambos en zonas tropicales y zonas climáticas moderadas. La mejora genética de tolerancia al aluminio en las cosechas es la única alternativa a los suelos calcáreos, una opción agrícola costosa para aumentar el pH del suelo. Para ello se ha empleado una mutación inducida para la creación rápida de variabilidad de tolerancia a Al en cebada con un tratamiento mutagénico de N-metil-N-úrea nitroso y sodio azida (Nawrot y col., 2001).

El ión Al^{3+} es el principal contribuyente a la toxicidad de suelos acídicos alrededor del mundo (Yermiyahu y col., 1997). Las mayores coacciones para el desarrollo de la agricultura en la cuenca

del Amazonas son sobre todo suelos con baja capacidad de intercambio catiónico, deficiencia de nutrientes de plantas y toxicidad de aluminio (Nortcliff, 1989).

El aluminio tiene una afinidad grande por los carboxilos de las pectinas, una afinidad que puede estar relacionada con la toxicidad del Al en plantas sensibles al ión Al^{3+} (Franco y col., 2002). El aluminio es un elemento clave en los cálculos de pesos críticos de bosques. El contenido de Mg foliar en abetos maduros tratados con Al disminuye significativamente (De Wit y col., 2001). La traza de ^{26}Al en plantas de trigo puede mostrar el transporte de aluminio a través de varios compartimentos. Los procesos dominantes ocurren en el sistema radical y no en la parte superior de la planta (Johson y col., 1997).

Hay un debate sobre si las lesiones de toxicidad de Al son apoplásticas o simplásticas. La mayoría de la zona apical de la raíz de maíz sensible a Al aparece en el segmento 1-2 mm. La desorganización rápida del citoesqueleto que conduce a la inhibición del crecimiento de la raíz puede ser debida a la interacción del Al en el lado apoplástico de la pared celular – membrana plasmática – citoesqueleto (Horst y col., 1999). El daño de las plantas por los altos niveles de aluminio en el sustrato puede deberse mayoritariamente a los efectos extracelulares en la superficie de las raíces y células, aunque además puede estar involucrado la toma y translocación de aluminio en las plantas. Todos los efectos del aluminio son un disturbio de la nutrición mineral de las plantas (Lüttge y Clarkson, 1992; citado por Lüttge, 1997).

El aluminio tiene diferentes consecuencias para los bosques tropicales comparado con las sabanas. En los bosques, aún cuando las concentraciones de aluminio en el suelo son altas, el efecto sobre las plantas es pequeño a causa del ciclo de nutrientes, está ajustadamente acoplado entre la descomposición de la hojarasca y la vegetación y tiende a no involucrar mucho el mineral del suelo. En las sabanas, sin embargo, las plantas toman minerales de la solución del suelo, el cual está en equilibrio con un intercambio complejo enriquecido en aluminio (Lüttge, 1997).

14.1 Posibles soluciones a la toxicidad por aluminio

Las plantas con inclusión y exclusión de aluminio están relacionadas a grupos taxonómicos. Sin embargo, ambos pueden tener mecanismos para alcalinizar la rizósfera, para disminuir la movilidad del aluminio y evitar el estrés. Los “inclusores” pueden tener además mecanismos de tolerancia a niveles internos de aluminio, tales como la quelación del aluminio y la deposición en las vacuolas (Lüttge, 1997).

Una alternativa posible en las áreas de suelo rojo limitadas por la toxicidad con aluminio, es la aplicación de abono orgánico (Shen y Shen, 2001). La liberación de aniones carboxílicos simples tales como citrato, malato y oxalato han sido implicados en mecanismos de tolerancia a Al y favorecen la adquisición de fósforo del suelo (Ryan y col., 2003). Por otro lado la inhibición de la elongación de la raíz en *Zea mays* es mitigada por la adición de ácido salicílico (Feng Ma y col., 1997). Y en *Sorghum bicolor* la **sílica gel** mejora significativamente los efectos del aluminio sobre el crecimiento de la raíz (Hodson y Sangster, 1993).

Actualmente se conoce poco acerca de la composición cualitativa y cuantitativa de los exudados de la raíz. La sobreexpresión del gen bacteriano citrato sintasa en el citoplasma de las plantas de

tabaco dan como resultado la exudación de grandes cantidades de citrato en la rizósfera y el alivio parcial de estrés de toxicidad de aluminio (Rengel y col., 2002).

En cultivares silvestres de trigo el gen Atlas 66 le confieren tolerancia al aluminio (Johnson y col., 1997). El mapeo de cromosomas en mutantes de *Arabidopsis* resistentes a aluminio (*alr*), indican que la resistencia resulta de al menos dos locis únicos (Larsen y col., 1997).

15. ACLIMATACIÓN

Si el sistema radical es diferenciado *in vitro*, las plantas no se pueden transplantar directamente a las condiciones de invernadero sin una paulatina adaptación a las condiciones del suelo. A este período de adaptación se le ha denominado **período de endurecimiento** (Villalobos y Thorpe, 1993). Este involucra la aclimatación o el endurecimiento de las plántulas a condiciones de humedad relativa más bajas e intensidad luminosa más alta. Las plántulas micropropagadas son difíciles de transplantar por dos razones: primero, el modo heterotrófico de nutrición y segundo el control pobre de la pérdida de agua (Kane, 2000). Las raíces de las plantas son lavadas suavemente para remover el agar del medio adherido a él. Los requisitos esenciales para transplantes más exitosos son mantener las plantas bajo condiciones de humedad muy altas (90-100%). Los primeros diez a quince días se deben cubrir con un plástico transparente, se pueden hacer unos huecos pequeños en el plástico para la circulación del aire. Después las plantas son movidas al invernadero, pero continúan en la sombra. Cuatro a seis semanas después del transplante, las plantas pueden crecer bajo condiciones normales de invernadero (Bhojwani y Razdan, 1983). La transferencia de las plántulas del medio de cultivo al suelo es con frecuencia un proceso difícil (Bonga, 1977).

Este procedimiento es usado ampliamente en la propagación industrial de cultivo de tejidos comerciales porque las plantas producidas por este método son con regularidad genéticamente uniformes (Sharp y Evans, 1986). Aparentemente los procesos de transplante y aclimatación de plántulas maderables puede variar de un extremo a otro, dependiendo del sistema usado y la respuesta de las especies a manipulación poscosecha (Brown y Sommer, 1982).

15.1 Micorrización

La mayoría de las especies de plantas tienen un hongo superior viviendo alrededor de sus raíces en una asociación llamada micorriza. Existen varios tipos de simbiosis micorrícica definida por la combinación huesped/hospedero y por la morfología de las estructuras simbióticas. La micorriza arbuscular (MA) es antigua y puede haber coevolucionado con las plantas. Los estudios sobre expresión de genes sugieren que los subgrupos de genes MA han co-optado durante la evolución de otras simbiosis biotróficas (Barker y Tagu, 2000). El descubrimiento de arbuscúlos en *Aglaophyton major*, una planta terrestre del Devoniano temprano, provee una evidencia inequívoca de que las micorrizas fueron establecidas hace más de 400 millones de años. Sus arbuscúlos son morfológicamente idénticos a las micorrizas arbusculares vivas (Remy y col, 1994).

Más del 90% de las especies vegetales existentes en el planeta están micorrizadas cuando crecen en condiciones naturales, y de éstas, la asociación corresponde a la micorriza de tipo

arbuscular en el 95% de los casos. Las endomicorrizas arbusculares son escasas (más de ciento cincuenta especies fúngicas registradas) pero los huéspedes muy diversos, son el 97% de las plantas vasculares (se calcula en unas 300.000 especies vegetales). En los trópicos la endomicorriza arbuscular es diez veces más abundante que la ectomicorriza y están en la mayoría de las especies vegetales. El 97% de las fanerógamas, incluidas casi todas las especies de interés agronómico, pastoril y selvático, presentan este tipo de micorriza (Sánchez, 1999).

Los bosques de árboles dependen obligadamente de la simbiosis con las micorrizas para el crecimiento y desarrollo normal. Los beneficios derivados de diferentes especies y aislados de hongos micorrícicos varían para un árbol o sitio dado. La manipulación de éstos hongos pueden mejorar la uniformidad y la producción de los bosques regenerados artificialmente (Dixon y Marx, 1987).

En la **micorriza vesículo arbuscular** la hifa del hongo penetra las paredes celulares de la corteza de la raíz de la planta. Allí forma arbuscúlos ramificados densamente. El hongo y la membrana plasmática de la planta están separados por un apoplasto interfacialmente común (Guttenberger, 2000).

Según Buee y col. (2000), durante la fase presimbótica la planta hospedera libera metabolitos críticos necesarios para desencadenar el crecimiento fúngico y la colonización de la raíz. Estos autores demuestran la presencia de posibles flavonoides en exudados de raíces de ocho especies de plantas micotróficas evaluadas, una señal clave para el desarrollo del hongo MA. Posteriormente Blancaflor y col. (2001) afirman que las células corticales inician la modificación de su citoesqueleto antes de la entrada del hongo y es consistente con la señal de intercambio entre los simbiosantes antes de la penetración del hongo en las células.

Con relación a la presencia o ausencia de inóculo, en el caso de *Coffea arabica* los efectos de los hongos micorrizógenos sobre el área foliar se hacen visibles desde los sesenta días. Y entre los 180 y 240 días pos-inoculación la planta de café comienza a recibir los mayores beneficios de la endomicorriza (Sánchez, 1999). La acumulación de citoquinina es aumentada por la simbiosis MA a través de la planta (Barker y Tagu, 2000).

Clark (1996), menciona que la infección hifal en raíces de *Zea mays* varía con el tipo de suelo y es considerablemente mayor en los suelos alcalinos que en el suelo ácido. Por otro lado Ruíz-Lozano (1995), ha demostrado la importancia de especies de *Glomus* en el crecimiento de plantas expuestas a sequía.

En los últimos años, la micorrización también se ha empleado para el mejoramiento de la aclimatación de plántulas procedentes de cultivo *in vitro*, tal es el caso de las especies *Malus pumila* con la micorriza *Glomus mosseae* (Schubert y Lubraco, 2000), *Prunus* sp. con *Glomus mosseae* (Monticelli y col, 2000); *Musa* sp. con *Glomus intraradices* (Declerck y col, 2002); *Manihot esculenta* con *Glomus deserticola* (Azcón-Aguilar y col, 1997); *Psidium guajava* con una mezcla de *Glomus diaphanum*, *Glomus albidum* y *Glomus claroides* (Estrada-Luna y col, 2000); *Musa* sp. con *Glomus clarum* o *Glomus etunicatum* (Yano-Melo y col, 1999).

16. ESPECIES UTILIZADAS EN ESTE ESTUDIO

16.1 *Cedrela odorata* (Cedro rosado)

▪ Descripción botánica y morfológica de la especie

La familia Meliaceae a la cual pertenece el género *Cedrela*, incluye cerca de cincuenta géneros y ochocientas especies distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales de América, Asia, África, Australia y Nueva Zelanda (Guevara, 1988).

Los cedros son árboles que suelen tener entre quince y veinte metros de altura y de cuarenta a sesenta centímetros de diámetro a la altura del pecho; pero en casos excepcionales, se encuentran ejemplares que alcanzan hasta cuarenta metros de altura y unos dos metros de diámetro. Las hojas son compuestas, dispuestas en espiral, paripinnadas, alternas; miden entre veinte y setenta centímetros de largo (Betancourt, 1999); las inflorescencias de 2,0 a 3,5 cm; los pétalos oblongos de cinco a seis milímetros, pubérulo-aterciopelados; la cápsula elíptico-oblonga de cuatro centímetros; las semillas de oblongas a elíptico-oblongas de doce a veinte milímetros de longitud y de cinco a seis milímetros de ancho (Bisse, 1988).

Las infrutescencias péndulas miden hasta treinta centímetros de largo. Los frutos en cápsulas leñosas elíptico-oblongas, de 2,5 a 5,0 centímetros de largo y unos dos centímetros de diámetro; con cuatro a cinco lóculos, con dehiscencia septicida apical. En la madurez las cápsulas adquieren color marrón. Los frutos maduran y se cosechan durante los meses de febrero y abril (Betancourt, 1999).

Las semillas son samaroides, oblongas o elíptico-oblongas, de 1,2 a 3,0 centímetros de largo y entre cinco a ocho milímetros de ancho, con la parte seminal hacia el ápice del fruto. Cada cápsula puede contener entre veinticinco a cuarenta semillas fértiles. Una cantidad de semillas que puede variar de 45.000 a 60.000 pesa un kilogramo (Betancourt, 1999).

Los nombres comerciales son "Spanish cedar" y "cedro". En Latinoamérica, "cedro". En las Indias Occidentales Francesas, "acajou rouge". En Guayana Francesa, "cèdre rouge". En Surinam "ceder". La madera se usa para ebanistería, muebles finos, instrumentos musicales, construcción de embarcaciones, moldes, enchapado, contrachapado decorativo, envoltura y cajas de cigarros (la presencia de aceite volátil restringe el uso para algunas aplicaciones) (Ricker y Daly, 1998).

La producción de semillas de cedro es anual y abundante. Éstas son ampliamente dispersadas por el viento, sin embargo, la repoblación natural es escasa. En el bosque alto, la reproducción natural, por lo general, se limita a sitios próximos a árboles semilleros donde, por alguna razón, exista algún claro en la cubierta foliar de las copas. En los bosques de segundo crecimiento con un dosel ralo, o bien en campos que fueron dedicados a cultivos agrícolas y, posteriormente abandonados, se observa mayor cantidad de brinzales que en los bosques altos. La recolección de los frutos de cedro se realiza, preferentemente en marzo, aunque en algunos sitios o años se adelanta desde febrero o se retrasa hasta abril. Para comprobar si las cápsulas están maduras, se abren algunas y se observa el color de las semillas, éstas deben tener un color marrón claro (Betancourt, 1999).

La germinación de las semillas se inicia entre los seis y diez días después de la siembra, y se prolonga hasta el día veinte o veinticinco. Si las semillas son frescas, el porcentaje de germinación oscila entre sesenta y noventa por ciento. La germinación de éstas semillas es epígea; la radícula emerge desde un extremo de la semilla, el hipocótilo se arquea ligeramente y eleva la testa (en sentido contrario al suelo), pero ésta cae rápidamente. El tallo de la planta es erecto, delicado y de color verde (Betancourt, 1999).

En el mes de abril hay presencia abundante de flores en botón, las que abren en mayo en su lugar de origen. Se puede decir que durante el resto del año la frecuencia floral disminuye notoriamente. El porcentaje de la presencia de frutos verdes es mayor que el de frutos maduros. La ausencia de fructificación es notoria durante los primeros meses del año. En el mes de Noviembre se encuentran frutos dehiscentes (CONIF, 1996).

Los árboles de esta especie van perdiendo sus hojas a lo largo del año, hasta que se inicia la floración, época en la que la caída de follaje es menos frecuente. El máximo porcentaje de rebrote de hojas se obtiene cuando la precipitación aumenta en el segundo trimestre del año (CONIF, 1996).

▪ Origen, distribución y hábitat

Las especies de *Cedrela* están distribuidas ampliamente en América; forman parte de la flora autóctona de todos los países latinoamericanos desde México hasta Argentina (con excepción de Chile) y también de la flora de las Antillas (Betancourt, 1999). En Colombia se localiza en casi todo el territorio nacional (Guevara, 1988). Cinco de las otras siete especies de *Cedrela* producen madera con cualidades ligeramente diferentes: *Cedrela fissilis* Vellozo, *Cedrela lilloi* C. De Candolle, *Cedrela montana* Moritz ex Turczaninov, *Cedrela salvadorensis* Standley, y *Cedrela tonduzii* C. De Candolle. Algunas son menos susceptibles a las larvas de la polilla *Hypsipyla* spp. (mariposa nocturna), una plaga grave en plantaciones de todas estas especies (Pennington et al., 1981, citados por Ricker y Daly, 1998).

Cedrela odorata es una especie integrante de los bosques semicaducifolios. En algunos sitios el cedro forma agrupaciones, pero en otros son árboles aislados dispersos en el bosque natural. Es una especie heliófila aunque soporta sombra ligera durante los primeros años. Existe una estrecha relación entre el crecimiento longitudinal de las plantas y la cantidad de luz que éstas reciben; los brinzales deben estar iluminados intensamente en sus copas y, a la vez, tener sombra lateral, mediante la competencia que le proporcionen paredes contiguas de vegetación (Betancourt, 1999).

En la zona del Pacífico Colombiano, el género *Cedrela* se encuentra normalmente en el cauce medio del río San Juan (Departamento del Chocó).

▪ Propagación

El cedro tolera temperaturas máximas absolutas superiores a treinta y seis grados centígrados y mínimas absolutas por debajo de cinco grados centígrados. Requiere para su buen desarrollo un suelo fértil y con buen drenaje. La materia orgánica y la cal juegan un papel importante en el comportamiento de los árboles de ésta especie (Betancourt, 1999).

En el estado sucesional de los bosques intervenidos está considerada como una especie “secundaria tardía” por tolerar cierto nivel de sombra en su etapa juvenil. En algunas zonas de colonización en Chocó y Urabá (Colombia), el cedro de regeneración natural se asocia naturalmente a los cultivos agrícolas valiéndose de su capacidad de establecimiento dada por su abundante regeneración y rápido crecimiento inicial; en tales condiciones se encuentra asociado con arroz, maíz, yuca, plátano, caña, chontaduro, borojó, marañón y otros (Guevara, 1988).

En Colombia se dispone de semillas de cedro durante la mayor parte del año, pero también se puede propagar de forma vegetativa. La época adecuada para la obtención de material para propagación vegetativa de la especie, coincide con el inicio de las lluvias (Guevara, 1988).

En las condiciones de Bosque Húmedo Tropical, las experiencias sobre manejo de la regeneración natural no son factibles económicamente, aún bajo tratamientos intensivos. En primer lugar, por la dificultad en el establecimiento de la regeneración de *Cedrela* debido a la falta de árboles semilleros bien distribuidos, producción irregular de semillas y problemas de diseminación, además de la dificultad para predecir el número de árboles a esperar en la cosecha final (Vega, 1974, citado por Guevara, 1988).

La viabilidad de la semilla disminuye rápidamente, pero almacenada adecuadamente se conserva alrededor de un año. El almacenamiento debe realizarse en una atmósfera seca y a una temperatura entre tres y cinco grados centígrados (Guevara, 1988).

▪ Enfermedades

El grupo de los insectos es el que mayores daños económicos causa a los árboles del género *Cedrela*. Los principales órdenes de insectos dañinos son Coleópteros y Lepidópteros (dentro de los que se destaca la familia Piralide con su género *Hypsipyla*, más conocido como el barrenador de las Meliáceas. Los daños causados por el barrenador *Hypsipyla grandella* son de tal magnitud, que ha merecido atención en innumerables trabajos de investigación, con el propósito de encontrar un método de control adecuado, sin resultados positivos hasta el momento. Es recomendable experimentar el cultivo del cedro en combinación con especies inmunes al ataque del barrenador, por ejemplo *Toona ciliata* var. *australis* (Guevara, 1988).

Cedrela requiere un suelo de estructura migajosa y rico en humus, que permita buena aireación y drenaje, a la vez que mantenga un buen grado de humedad. En el suelo del bosque recién talado se presentan éstas condiciones, lo que permite a los brinzales de cedro crecer bien durante tres o cuatro años; pero luego, al irse perdiendo la estructura migajosa del suelo y disminuir la materia orgánica, se observa cierta disminución del crecimiento y robustez de los cedros (Betancourt, 1999).

▪ Importancia, producción y usos

Teniendo en cuenta que el cedro es una especie muy fotófila y que existe relación estrecha entre la cantidad de luz que reciben las plantas y su crecimiento vertical, es necesario protegerlas, oportunamente, de la competencia que le hagan otras plantas, a fin de que llegue suficiente luz a sus copas (Betancourt, 1999).

Cuando el cedro se planta en suelos buenos, se le facilita adecuada iluminación en la copa y sombra lateral, crece durante los primeros años a un promedio anual de 1,3 a 1,8 metros de altura y entre 1,3 y 1,6 cm de diámetro. A mayor edad el crecimiento en altura disminuye (Betancourt, 1999). Los resultados obtenidos por Del Valle (1985, citado por Guevara, 1988), muestran al cedro como una de las especies tropicales con mayor tasa de crecimiento en diámetro, únicamente superada por especies como balso, eucalipto o *Gmelina*, que pueden crecer de 2,8 a 5,0 cm/año. Sin embargo, ninguna se puede comparar con el cedro, en cuanto a la calidad de la madera. De acuerdo con los estudios de crecimiento y rendimiento de la especie, realizados en Colombia, el turno para su aprovechamiento se ha calculado dentro de un rango de quince a veinticinco años, dependiendo exclusivamente de la calidad de sitio sobre el que crece (Guevara, 1988).

16.2 *Cedrela montana* (Cedro de montaña)

▪ Descripción botánica y morfológica de la especie

Familia Meliaceae. Nombre científico: *Cedrela montana* Turczaninow. Sinónimos: *Cedrela bogotensis* Triana & Planchon, *Cedrela subandina* Cuatrecasas. Nombres comunes: Cedro (andino, clavel, rosado), cedro cebollo, cedro de tierra fría cedro de montaña, monde (Bartholomäus y col, 1995; Tokura y col, 1996).

El árbol mide veinticinco metros de altura aproximadamente. La corteza y las hojas presentan un olor similar al de la cebolla. Su tronco es recto con pequeños canales, de color marrón y raíces profundas; la ramificación empieza a los seis metros. La copa es de forma redondeada extendida y globosa; el follaje es verde claro; las hojas lisas compuestas de cuarenta centímetros de longitud, alternas, opuestas, brillantes, pubescentes paripinnadas de ocho a doce pares de folíolos y con el borde entero, caducifolias. Las flores son blancas (ocho milímetros de diámetro) en inflorescencia. Los frutos son cápsulas ovoides verdes (de dos centímetros de diámetro) que al secar toman la forma de flor de palo abriéndose y esparciendo sus semillas aladas. Este árbol pierde su follaje antes de iniciar la floración (Bartholomäus y col, 1995; Tokura y col, 1996).

▪ Origen, distribución y hábitat

La especie es originaria de las cordilleras colombianas; actualmente se encuentra en el norte de Suramérica. En Colombia se ha observado en zonas de entre los 1.200 y 3.000 metros de altitud (Bartholomäus y col, 1995), con temperaturas medias de doce a veinte grados centígrados y precipitaciones de 500 a 2.000 mm anuales. Se desarrolla bien en suelos francos de buena fertilidad y bien drenados (Tokura y col, 1996). Su hábitat está en las selvas subandinas y andinas, creciendo en relictos de bosques a lo largo de quebradas con poca pendiente (Silverstone y col, 1994)

▪ Métodos convencionales de propagación

Propagación y crecimiento por semilla. Los frutos se colectan del árbol un poco antes de que abran (maduración), después se secan protegidos del sol y se siembran las semillas (Bartholomäus y col, 1995; Tokura y col, 1996) en semillero a dos centímetros de profundidad, a tres centímetros entre sí, en líneas separadas de diez centímetros. El transplante se efectúa cuando la plántula alcanza veinte

centímetros. Exige suelos buenos, y produce retoños por la raíz (Bartholomäus y col, 1995). El número de semillas por kilogramo es de 30.500, con una pureza de 81% y germinación(epígea) 62%, en un período de dieciséis días (Tokura y col, 1996).

▪ **Enfermedades**

Los árboles jóvenes son atacados por la las larvas de *Hipsiphylla grandella* que dañan los fustes y atacan los brotes terminales. El cedro crece rápido a pesar de ser una especie de madera dura y preciosa, alrededor de 1,5 m/año. Se hacen entresacas desde séptimo año y un turno de cuarenta años. Puede producir unos 13 m³/año (Tokura y col, 1996). Este árbol pierde su follaje anualmente, antes de iniciarse la floración (Bartholomäus y col, 1995).

▪ **Importancia, producción y usos**

La madera es muy apreciada en la industria del mueble fino (Bartholomäus y col, 1995; Tokura y col, 1996), cajas, chapas, construcción de navíos, madera laminada. El cocimiento de su corteza se aplica en lavatorios para las úlceras y como enjuague bucal para los dolores de muelas. En plantaciones de café se utiliza como sombrío.

16.3 *Chlorophora tinctoria* (Dinde)

▪ **Descripción botánica y morfológica de la especie**

Familia Moraceae. Nombre científico *Chlorophora tinctoria* (L.) Gaud. Sinónimos: *Morus tinctoria* L., *Morus xanthoxylon* Jacq. Nombres comunes: Dinde, moral, mora, avinje, palo amarillo (Bartholomäus y col, 1995).

Morfología: El árbol mide veinte metros de altura aproximadamente y el tronco posee una corteza lisa de color crema; la ramificación espinosa empieza a los dos metros. La copa es de forma redondeada; el follaje es verde claro; las hojas son puntiagudas, de quince centímetros, alternas, con borde aserrado. Las flores son de color crema, masculinas y femeninas, ambas de siete milímetros de diámetro, en árboles separados; los frutos son bayas redondas carnosas verdes (de quince milímetros de diámetro), con varias semillas (Bartholomäus y col, 1995). El tronco es recto, a veces presenta raíces tablares, redondas, bajas, hasta de tres metros de alto. La altura comercial promedio es de treinta y siete metros. La altura total promedio es de cuarenta metros. El diámetro promedio a la altura del pecho es de un metro. (Junac, 1990)

Los retoños poseen espinas axilares; las hojas son penninervias enteras o variadamente dentadas; las flores son dióicas, las masculinas en espigas amentiformes; el fruto carnoso; aquenio comprimido (Bisse, 1994). La especie es dióica. Las flores estaminadas (masculinas) están conformadas por espigas cilíndricas densas; y las flores pistiladas (femeninas) en cabezuelas axilares subglobosas densas. Frutos y semillas: Infrutescencia carnosa de forma globosa, de doce a catorce milímetros de diámetro, pedunculo corto; verde cuando es joven y rojo en la madurez, de sabor dulce. Dentro de cada infrutescencia hay numerosas semillas (una en cada frutico pequeño), redondas y duras. La recolección de los frutos (semillas) se realiza durante los meses de junio y julio. Las hojas son simples, alternas, elípticas o elíptico-oblongas, enteras o dentadas, penninervias, glabras o algo

pubescentes. Son de color verde amarillento en el haz y verde más pálido en el envés, cortamente pecioladas, miden de cinco a doce centímetros de largo y entre 1,5 y 5,3 cm de ancho (Betancourt, 1999).

La madera es de color blanco o crema, el duramen de color amarillo cuando la madera está recién cortada; con el tiempo adquiere coloración amarillo dorado, o marrón con cierto tinte rojizo. No tiene olor ni sabor característicos, es de textura fina a media, es dura y pesada (Betancourt, 1999).

▪ Origen, distribución y hábitat

La especie es originaria de las zonas secas del valle del río Magdalena; actualmente se encuentra en Centro y Suramérica. En Colombia se ha observado entre los cero y 1.100 metros de altitud (Bartholomäus y col, 1995). La especie se distribuye en México, Guatemala, Brasil, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia (Junac, 1990)

Chlorophora tinctoria tiene un área de distribución geográfica extensa en el continente americano, que abarca las proximidades del Trópico de Cáncer en México, todos los países de América Central, Panamá, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú y Paraguay. Esta especie también se encuentra en Cuba, Haití, República Dominicana, Puerto Rico y las Antillas Menores (Betancourt, 1999).

En su extensa área de distribución habita, desde los sitios secos con precipitación anual de 750 a 800 mm, y temperaturas medias de veintiséis a veintisiete grados centígrados (Haití y regiones secas de Panamá), hasta las regiones climáticas húmedas donde las lluvias varían de 1.000 a 2.000 mm anuales y las temperaturas medias de veinte a veinticinco grados centígrados (Betancourt, 1999).

Esta especie es megatermófila, se encuentra casi desde el nivel del mar hasta unos 500 metros de altitud. Se encuentra preferentemente, en suelos calizos, pero, a veces, también se halla en los aluviales arenosos, relativamente cercanos a los cursos de los ríos (Betancourt, 1999).

▪ Métodos convencionales de propagación

Propagación y crecimiento por semilla: Los frutos se colectan cuando se tornan blandos, y luego se extraen las semillas; éstas se siembran en semillero a un centímetro de profundidad y a un centímetro de distancia entre sí, en líneas separadas de diez centímetros. El trasplante se efectúa cuando la plántula alcanza veinte centímetros. Es de crecimiento rápido y soporta sequías y suelos pobres (Bartholomäus y col, 1995).

La regeneración natural es escasa, pero en las cercanías de los árboles productores de semillas se observan, comúnmente algunos brinzales de diferentes edades. Las semillas se ponen a secar al aire y cuando están bien secas se envasan en recipientes metálicos y se sitúan en cámara de refrigeración, a temperatura que fluctúe entre cuatro y siete grados centígrados. Un kilogramo contiene entre 320.000 y 370.000 semillas. Estas semillas no requieren tratamientos pregerminativos. Cuando están frescas alcanzan buen porcentaje de germinación, pero las viejas, en ocasiones, no pasan de 20%. La germinación se inicia a los diez o doce días de su siembra (Betancourt, 1999).

▪ Enfermedades

Bruner y otros (1975, citado por Betancourt, 1999) reportan ataques a esta especie de la oruga *Marpesia marius* (Cramer) (*nymphalidae*). Van der Slooten y Martínez (1959 citado por Betancourt, 1999) dicen que el duramen de esta especie ha probado ser muy resistente a la acción de los hongos de la pudrición blanca y la pudrición marrón, pero que no es resistente a los ataques de los taladradores marinos.

▪ Importancia, producción y usos

La madera es de gran peso y dureza, lo cual es muy apreciado en construcción; además, de ella se extrae un colorante caqui empleado en textiles. Es una especie útil para control de erosión, y de su corteza también se extrae tanino. Los frutos se pueden consumir (Bartholomäus y col, 1995). Se usa en construcciones de tierra firme, construcciones navales, muebles y durmientes (Junac, 1990).

La madera se utiliza para pilotes, postes, puentes, durmientes, tablazón, pisos interiores y exteriores, carretería, cubiertas y armazones de embarcaciones, partes sólidas de muebles, implementos agrícolas, objetos torneados, mangos de herramientas, aisladores, chapas, viviendas rurales, artesanía en general (Van der Slooten y Martínez, 1959; Echenique- Manrique 1970; citados por Betancourt, 1999). Según Rangel Galindo (1949; citado por Betancourt, 1999), en Colombia se emplea también para ebanistería fina, decorado en interior de casas, para ruedas de carros, piezas de maquinaria, almacén de minas, estantillos de casas y polines de ferrocarril.

En cuanto a usos industriales de esta especie, Rangel Galindo (1949, citado por Betancourt, 1999), dice “Esta es una de las especies industrializables que tiene Colombia por sus cualidades tintorias, su aptitud para la ebanistería y las materias taníferas y medicinales. La madera y las hojas de dinde contienen una sustancia llamada maclurina (soluble en los álcalis), que es la base del colorante de madera que proporciona a la técnica los tintes verdes, castaños, amarillos y oliváceos de los kakis, a pieles, lanas y telas. La corteza tiene materias tanoides que la hacen apta para ser usada en pelambres tenerías y curtidurías”.

El dinde es una madera de gran valor por su resistencia; tiene espinas largas y raíces rojas, el látex cremoso se usa para sacar muelas sin dolor, y el fruto es sabroso (Mahecha, 1997). La madera de dinde (*Chlorophora tinctoria*) es una de las más valiosas que tiene Colombia (Betancourt, 1999).

Chlorophora tinctoria se puede utilizar para plantaciones bajo cubierta de bosques secundarios bien raleados (enriquecimiento individual) y para enriquecimiento en corredores o en grupos. También se puede emplear en métodos agrosilviculturales. Es necesaria una iluminación suficiente para el desarrollo normal de los brinzales (Betancourt, 1999). En bosques densos y condiciones óptimas de crecimiento, los árboles de *C. tinctoria* pueden tener los troncos rectos y alcanzar más de veinte metros de altura y sesenta centímetros de diámetro a la altura del pecho. Cuando la especie crece en lugares abiertos, los árboles tienen tendencia a ramificarse, formando una copa amplia y un fuste corto y algo torcido (Betancourt, 1999)

16.4 *Quercus humboldtii* (Roble colombiano)

▪ Descripción botánica y morfológica de la especie

Familia: Fagaceae. Nombre científico: *Quercus humboldtii* Bonpland Nombre común: Roble (Bartholomäus y col, 1995; Tokura y col, 1996).

El árbol alcanza treinta metros de altura, el tronco es grueso de un metro de diámetro, con corteza rugosa y negruzca (Bartholomäus y col, 1995; Tokura y col, 1996); la copa es globosa y densa. Las hojas son alternas lanceoladas, de catorce centímetros de longitud, de color verde oscuro y lustroso, de borde ondulado y pecíolos cortos, agrupadas en manojos (Bartholomäus y col, 1995; Tokura y col, 1996). La ramificación empieza a los cuatro metros (Bartholomäus y col, 1995). Las flores unisexuales en racimos, las masculinas son péndulas y las femeninas de un centímetro de longitud. Los frutos son cápsulas redondeadas de tres centímetros de longitud y dos centímetros de diámetro, con una copa en la base del fruto, de color marrón claro con una semilla (Tokura y col, 1996).

▪ Origen, distribución y hábitat

La especie es originaria de las cordilleras colombianas; actualmente se encuentra en el norte de Suramérica. En Colombia se ha observado entre 1.800 y 2.300 m de altitud (Bartholomäus y col, 1995), con temperaturas medias de catorce a dieciocho grados centígrados y precipitaciones de 1.000- 2.000 mm anuales. Se desarrolla bien en suelos arcillosos ácidos y con buen drenaje (Tokura y col, 1996).

Actualmente, el Jardín Botánico de Colombia, dentro del marco del proyecto Banco de Germoplasma, incluye la especie *Quercus humboldtii*, dentro del Banco Plantular, debido a las condiciones específicas que requiere el almacenamiento de las semillas, la pérdida progresiva de viabilidad y la disminución de la germinación (Pacheco y Pinzón, 1997)

Estudios palinológicos han mostrado que la migración del género *Quercus* ha venido desde la región holártica, pasando por México, hasta llegar a las montañas de Centroamérica y el noroeste de Suramérica (Berry 1918 y Van der Hammen, 1989, citados por Kappelle, 1996). Los robledales en las zonas altas de Costa Rica tienen mucha más afinidad florística con los bosques de *Quercus*, en los Andes de Colombia, que con los bosques mesófilos de México Central (Kappelle y col, 1992, citado por Kappelle 1996).

Los bosques de *Quercus humboldtii* ocuparon en el pasado grandes extensiones en Colombia, conservándose muchos de ellos hasta hace poco; ahora se han visto amenazados hasta casi su extinción (Pacheco y Pinzón, 1997). Los bosques de roble han sido talados con el fin de utilizar la madera en la construcción de viviendas (vigas y enchapados), para carrocerías, vagones, toneles, mangos de herramientas, ebanistería en general, y específicamente, como medio de combustión para la elaboración de carbón de palo. Esta especie también puede suministrar alquitrán (10%), ácido acético (10%), alcohol metílico (1 a 2%) y ácido piroleñoso en proporción de 500 litros de ácido por dos metros cúbicos de madera (Torres, 1983).

Es una de las pocas especies del género *Quercus* que están en los trópicos, puesto que la mayoría son de las zonas templadas del mundo. Se ha observado conviviendo en el Tatamá con

encenillo, siete cueros (*Tibouchina*), costillo redondo (*Aspidosperma*), otobo (*Otoba lehmannii*), caimos, carboneros, cargaderos, guascos, etc. El roble es una especie que va colonizando lugares abiertos hasta formar su propia asociación de aspecto selvático. Forma asociaciones puras, pero sus poblaciones se han reducido por el aserrío, el carbón y la leña; es alimento de roedores y del oso de anteojos (Mahecha, 1997).

En la cuenca alta del río Micay (Colombia), el roble *Quercus humboldtii*, es dominante entre los 1.800 a 2.800 metros sobre el nivel del mar, en la franja de la selva andina y la franja superior de la selva subandina. Lozano y Torres (1974, citado por Becking, 1994) mencionaron que en Colombia existía una distribución de altura más amplia de 1.000 a 3.600 metros. La selva subandina se caracteriza por una alta diversidad de Lauraceae (aproximadamente diez especies). Se distingue una franja inferior de selva subandina entre 1.000 y 1.800 metros sobre el nivel del mar, donde no hay presencia de *Quercus*. Entre el páramo y los robledales se encuentra una franja angosta de bosque altoandino dominado por *Clusia* sp. La transición del robledal andino al bosque altoandino es abrupta, lo cual parece ser característico de las vertientes húmedas (Becking y Smeets, 1988, citado por Becking, 1994) en el sur del Departamento del Cauca (Colombia), pero no ha sido descrito para esta zona por el momento (Becking, 1994).

▪ Propagación

Su propagación es por semilla. Los frutos se colectan (preferiblemente del árbol) durante los meses de febrero, marzo y abril. Las semillas se dejan en agua veinticuatro horas y luego se siembran en semillero a dos centímetros de profundidad, a cinco centímetros entre sí, en líneas separadas de diez centímetros. El transplante se efectúa cuando la plántula alcanza veinte centímetros. Exige buenos suelos (Bartholomäus y col, 1995). El número de semillas por kilogramo es de ciento treinta, con una pureza del 100%, germinación del 80%, en un período de veinte días, siendo esta germinación hipógea. Al momento de su siembra en vivero, se debe inocular con Micorriza Vesículo Arbuscular y Ectomicorriza, ya que son básicas para obtener un crecimiento rápido, lográndose incremento hasta 2,50 m/año en altura. Los terrenos donde se ha plantado comercialmente pino son apropiados para alcanzar óptimos rendimientos del roble, debido al contenido de Micorrizas que queda en el suelo (Tokura y col, 1996).

También se propaga fácilmente por esqueje y rebrote. Es tolerante a suelos adversos, su desarrollo óptimo se expresa en suelos de textura arcillo limosa, con pH ácido y en presencia de una capa gruesa de humus (CDMB y ACDI, 1989).

▪ Enfermedades

No se encontró bibliografía que hablara de las enfermedades de *Q. humboldtii*.

▪ Importancia, producción y usos

La madera, fina, dura y pesada, es utilizada en construcción, ebanistería, postes de cerca y mangos de herramientas; es usada igualmente, como leña, y sirve para producción de carbón vegetal. Esta especie se puede encontrar en riberas donde se planta para su protección. Las semillas son alimento

de fauna silvestre. Las ramas jóvenes están cubiertas de vellosidad blancuzca (Bartholomäus y col, 1995; (Tokura y col, 1996); de su corteza se obtiene taninos para curtir pieles (Tokura y col, 1996). La madera de color amarillo oscuro, es resistente a la pudrición que produce el contacto con el suelo (Torres, 1983).

17. RESUMEN DE TODA LA METODOLOGÍA EMPLEADA

El objetivo principal de esta investigación fue estandarizar la técnica de micropropagación para cuatro especies maderables tropicales de interés para Colombia, como son *Cedrela odorata*, *Cedrela montana*, *Chlorophora tinctoria* y *Quercus humboldtii*, incluyendo todas las etapas de esta técnica (establecimiento, multiplicación y enraizamiento). El material original constaba de semilla y de yemas de plántulas juveniles de invernadero. En el caso de *Cedrela odorata* se evaluó además durante la etapa de multiplicación, la adición al medio de cultivo de cantidades extras de nitrógeno, fósforo, potasio y sacarosa. En la misma especie pero durante la etapa del enraizamiento se evaluó la histología y la bioquímica del enraizamiento. Continuando con la misma especie, durante la etapa de aclimatación se evaluó la micorrización con *Glomus* spp. En la Figura 1 se resume toda la metodología empleada.

La autora seleccionó estas cuatro especies porque están dentro de las especies colombianas que poseen mayor potencial maderable y por lo tanto más presión humana, causando en gran medida su desaparición de los bosques naturales. Además aunque en Colombia se hayan realizado algunos experimentos in vitro previos en *Cedrela odorata* y *Cedrela montana* sus resultados no se pueden extrapolar a nivel comercial porque no consiguieron producción a gran escala, además la investigación no fue continuada en el tiempo.

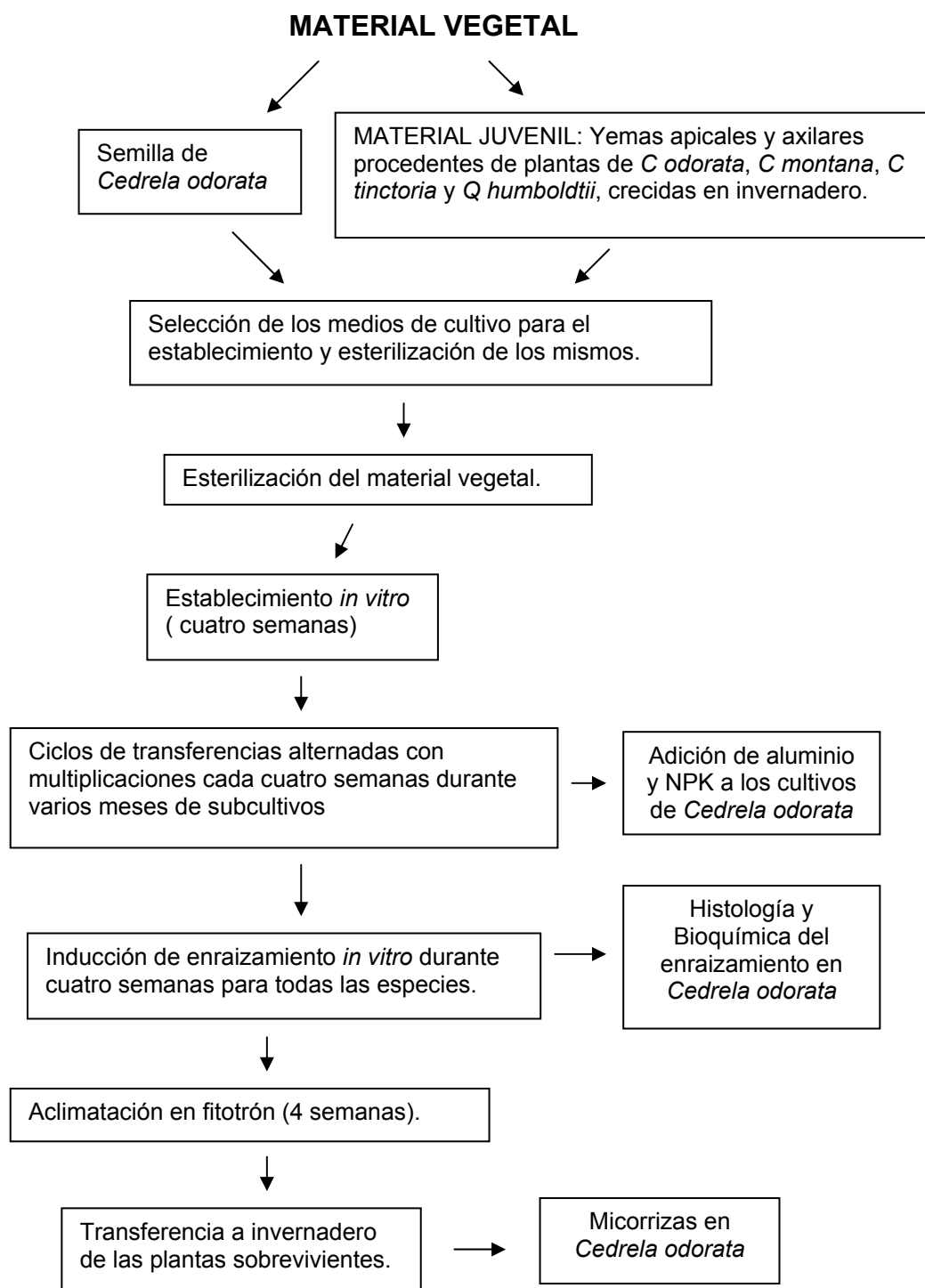


Figura 1. Resumen de la metodología empleada en la micropropagación de *Cedrela odorata*, *Cedrela montana*, *Chlorophora tinctoria* y *Quercus humboldtii*.

II. Objetivos

Los bosques que contienen las especies leñosas *Cedrela odorata*, *Cedrela montana*, *Chlorophora tinctoria* y *Quercus humboldtii*, en Colombia han sufrido presiones antrópicas a través de decenas de años, debido a la gran calidad de su madera, sin que hasta el momento exista para ellas una manera eficaz de conservar su germoplasma. La técnica de cultivo *in vitro* se manifiesta como una de las mejores vías alternativas para lograrlo, por este motivo en esta investigación se pretendió estandarizar los protocolos de micropropagación para estas especies, que a su vez también sirven, de forma indirecta, para la clonación de genotipos de élite, es decir seleccionados por sus buenas características como pueden ser vigor, calidad de la madera, resistencia a enfermedades o resistencia a estreses abióticos.

- En concreto en este trabajo se pretende estandarizar la técnica de micropropagación para *C. odorata*, *C. montana*, *C. tinctoria* y *Q. humboldtii*, incluyendo las etapas de establecimiento, multiplicación y enraizamiento *in vitro*.
- Realizar un estudio bioquímico e histológico durante el enraizamiento de brotes de *Cedrela odorata*.
- Comparar el efecto de la adición al medio de cultivo, durante la etapa de multiplicación *in vitro*, de *Cedrela odorata* de cuatro concentraciones de aluminio, de la adición extra de nitrógeno, fósforo y potasio y de tres concentraciones de sacarosa.
- Evaluar la inoculación de tres especies de micorrizas durante la etapa de aclimatación en invernadero de *Cedrela odorata*.

III. Materiales y Métodos

1. MATERIAL VEGETAL

En la micropropagación de las cuatro especies tropicales estudiadas *Cedrela odorata* L., *Cedrela montana* Turczaninov, *Chlorophora tinctoria* (L.) Gaud. y *Quercus humboldtii* Bonpland empleamos semillas maduras y secciones apicales y nodales de plántulas obtenidas en invernadero (Figuras 2, 3 y 4). Las semillas utilizadas fueron de tipo comercial, de buen vigor y calidad aceptable para investigación y se importaron directamente desde Colombia, por lo que los resultados expuestos aquí pueden variar en comparación con otras variedades locales existentes en otros países tropicales.

La época de siembra en invernadero estuvo comprendida entre los meses de Marzo y Septiembre, pues por ser semillas tropicales requerían una temperatura mayor de 20 °C para germinar. Las plántulas de invernadero se obtuvieron a partir de semillas escarificadas manualmente, en macetas, que contenían una mezcla de 50% tierra de la parcela y 50% arena. Las semillas no se sometieron a ningún tratamiento pregerminativo.

Las plántulas se regaron manualmente con agua corriente dos veces por semana en verano y una vez cada dos semanas en invierno, y se fertilizaron cada cuatro semanas con solución de Hoagland (1950). Los tres primeros nudos apicales de éstas plántulas del invernadero, sirvieron como fuente de explantos para el establecimiento *in vitro*, durante los meses anteriormente citados.



Figura 2. Semilla comercial de *Cedrela odorata*, *Cedrela montana* y *Chlorophora tinctoria*.

Figura 3. Plantas de *Quercus humboldtii* crecidas en invernadero.



Figura 4. Plantas de *Cedrela odorata* crecidas en invernadero.

2. ESTERILIZACIÓN DE LAS YEMAS Y SEMILLAS

Las yemas apicales y las dos sub-apicales obtenidas de las plántulas provenientes del invernadero de las cuatro especies, se sometieron a diferentes tratamientos de esterilización, según la edad de la plántula y la especie. Para el caso de las yemas de *Cedrela odorata* que provenían de plantas de invernadero de cuatro, ocho, doce y catorce meses de edad y para *Cedrela montana* proveniente de plantas de invernadero de nueve y doce meses, el protocolo de esterilización fue el siguiente: Inmersiones sucesivas en: primero, alcohol 70% (v/v), durante tres minutos; segundo, cloro activo al 0.5 % adicionado con dos gotas de Tween 80, durante doce minutos para los explantos de *Cedrela odorata* provenientes de plantas de invernadero de cuatro y ocho meses, y durante trece minutos para todas las demás incluyendo *Cedrela montana*; tercero, lavado en agua estéril, instantáneo; cuarto, lavado en agua estéril, durante diez minutos y quinto, permanencia en agua estéril mientras se establecía el cultivo.

La esterilización de las yemas de las especies *Chlorophora tinctoria* y *Quercus humboldtii* se especifica en la Tabla 6.

Alternativamente utilizamos semillas que germinaron *in vitro* bajo condiciones estériles; para ello, las semillas se escarificaron manualmente. Posteriormente, con el fin de evitar contaminación, las embebimos durante algunas horas en una solución de cloro activo mezclado con agua milliQ. El cloro se empleó a modo de tableta (marca Millipore), cada tableta contiene aproximadamente 2,5 gramos de cloro libre, cifra con la cual se realizó el cálculo del porcentaje de cloro utilizado (ver Tablas 5 y 6).

Pasado el tiempo de imbibición, procedimos a esterilizar estas semillas, dentro de la cabina de flujo laminar (ver Tabla 5), para su inoculación en el medio de cultivo.

TABLA 5. Tratamientos de esterilización de las semillas de las cuatro especies estudiadas.

	<i>Cedrela odorata</i>	<i>Cedrela montana</i>	<i>Chlorophora tinctoria</i>	<i>Quercus humboldtii</i>
Imbibición en cloro activo (%) /Tiempo (horas) ⇓	0,83% 20	0,83% 22	0,5% 20	Lavado en agua con jabón líquido y secado en microondas 30 seg
Inmersiones sucesivas en: ⇓				
Alcohol 70% (v/v). Tiempo (minutos) ⇓	1,5	1,5	1,5	8
Cloro activo (%) + (gotas Tween 80) /Tiempo (minutos) ⇓	2,5% + (2) /15	2,5% + (2) /17	1,67% + (2) /10	2,5% + (4) /17
Agua estéril Tiempo (minutos) ⇓	Instantáneo	Instantáneo	Instantáneo	Instantáneo
Agua estéril Tiempo (minutos) ⇓	5	5	5	10
Agua estéril Tiempo (minutos)	Mientras se establecía el cultivo	Mientras se establecía el cultivo	Mientras se establecía el cultivo	Mientras se establecía el cultivo

TABLA 6. Tratamiento de esterilización de yemas de invernadero en *C. tinctoria* y *Q. humboldtii*

Inmersiones sucesivas en:	<i>Chlorophora tinctoria</i>				<i>Quercus humboldtii</i>	
	Edad planta donadora (meses)				Edad planta donadora (meses)	
	4	6	7		2	6
Alcohol 70% (v/v). Tiempo. ⇩	50 segundos	45 segundos	55 segundos		5 minutos	7 minutos
Cloro activo (%) + (gotas Tween 80) /Tiempo (min.) ⇩	0,5% + (3) /7	0,5% + (3) /12	0,5% + (3) /8		0,5% + (4) /14	0,5% + (4) /20
Agua estéril Tiempo (min)	Instantáneo	Instantáneo	Instantáneo		Instantáneo	Instantáneo
⇩	10	10	10		10	10
Agua estéril Tiempo (min.)	Mientras se establecía el cultivo	Mientras se establecía el cultivo	Mientras se establecía el cultivo		Mientras se establecía el cultivo	Mientras se establecía el cultivo
⇩						
Agua estéril Tiempo (min.)	Mientras se establecía el cultivo	Mientras se establecía el cultivo	Mientras se establecía el cultivo		Mientras se establecía el cultivo	Mientras se establecía el cultivo

3. COMPOSICIÓN Y ESTERILIZACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO

La composición y esterilización de los medios de cultivo fue similar, tanto para el ensayo proveniente de semilla como para el de yemas de invernadero, pero con variaciones entre las distintas especies, excepto para *Cedrela odorata* y *Cedrela montana* que tuvieron el mismo medio mineral MS (Murashige y Skoog (1962) modificado, durante la etapa de multiplicación, adicionado con $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ de Bencilaminopurina (BA), (ver la Tabla 7).

TABLA 7. Medios de cultivo empleados en las cuatro especies.

MEDIO DE CULTIVO	E S P E C I E			
	<i>Cedrela odorata</i>	<i>Cedrela montana</i>	<i>Chlorophora tinctoria</i>	<i>Quercus humboldtii</i>
Durante el establecimiento y primeras dos transferencias	MS, adicionado con BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ + Kin $1,0 \text{ mgL}^{-1}$	MS, adicionado con BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ + Kin $1,0 \text{ mgL}^{-1}$	MS, adicionado con BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$	GD adicionado con BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$
Agente solidificante	Agar-agar Sigma 0,6 %	Agar-agar Sigma 0,6 %	Agar Vitro Pronadisa, Hispanlab S.A 0,6 %	Agar Vitro Pronadisa Hispanlab S.A. 0,65 %
Mio-inositol Merck ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)	100 mgL^{-1}	100 mgL^{-1}	100 mgL^{-1}	—

TABLA 8. Material de vidrio utilizado en la propagación de las cuatro especies.

MATERIAL DE VIDRIO Y CANTIDAD	E S P E C I E			
	<i>Cedrela odorata</i>	<i>Cedrela montana</i>	<i>Chlorophora tinctoria</i>	<i>Quercus humboldtii</i>
Tubos de ensayo de 2x16 cm, marca Álamo con tapa plástica de color oscuro. 16,5 ml de medio en cada uno. Usado en transferencias y multiplicaciones.			X	
Tubos de ensayo de 2x16 cm. Usados solo durante el establecimiento y las dos primeras transferencias.	X	X		X
Potitos de vidrio de 8 x 8,5 cm con tapa de plástico transparente. Para transferencias y multiplicaciones. 50 ml de medio en cada uno	X	X		
Potitos de vidrio de 9 x 8 cm. Con tapa de plástico transparente. Usados solo en enraizamiento. 50 ml de medio en cada uno.	X	X	X	X
Jarras de vidrio marca Le Pratique de 9 x 9,5 cm y 300 ml de capacidad. Con tapa de vidrio. Cubiertas después de la siembra con papel parafilm transparente. 70 ml de medio en cada una. Usadas en transferencias y multiplicaciones				X

Como agente solidificante empleamos agar-agar Sigma Chemical Co. A-1296, y agar *vitro* (ver concentraciones en la Tabla 7) y como fuente hidrocarbonada sacarosa Duchefa

Biochemie B.V., al 3%. Al medio Murashige-Skoog se le adicionó siempre 100 mgL^{-1} de mioinositol, marca Merck. El pH de todos los medios se ajustó a 5.6-5.7 antes del autoclavado.

Todos los medios los esterilizamos en el autoclave durante veinte minutos a 1,05 atmósferas de presión y a 121°C . Una vez esterilizados los medios, se dispensaron en diferentes cantidades y en los recipientes de vidrio especificados en la Tabla 8, según la especie y el ensayo correspondiente.

La composición de los medios de cultivo Murashige y Skoog (1962) y Gresshoff y Doy (1972), se señalan en la tabla 9.

TABLA 9. Composición de los medios de cultivo completos, Murashige y Skoog (1962) y Gresshoff y Doy (1972).

COMPUESTO (mgL^{-1})	MS	MS modificado	GD	GD modificado
MACRONUTRIENTES mgL^{-1}				
$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	170.00	170.00	300.00	-
NO_3NH_4	1650.00	1650.00	1000.00	-
$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-	370.00	-	25.00
MgSO_4	180.54	-	17.09	-
$\text{CL}_2\text{Ca}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-	440.00	-	-
NO_3K	1900.00	1900.00	1000.00	1000.00
CaCl_2	332.02	-	-	-
PO_4HNa_2	-	-	-	30
KCl	-	-	65.00	30.00
$\text{PO}_4\text{H}_2\text{Na}\cdot\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	90
$\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$	-	-	-	20
$\text{CL}_2\text{Ca}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	-	-	-	15
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$	-	-	241.30	-
HIERRO mgL^{-1}				
$\text{SO}_4\text{Fe}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	-	27.8	-	27.8
Na_2EDTA	-	37.3	-	37.3
FeNaEDTA	36.70	-	36.70	-
MICROS mgL^{-1}				
$\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25	0.25	0.025	0.025
KI	0.83	0.83	0.80	0.75
BO_3H_3	6.20	6.20	0.30	0.30
$\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$	16.90	16.90	1.00	1.00
$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60	8.60	0.30	0.30
$\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025	0.025	0.025	0.025
$\text{CoCL}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025	0.025	0.025	0.025
VITAMINAS mgL^{-1}				
Acido nicotínico	0.50	0.50	1	5
Tiamina (B1)	-	0.50	-	50
Tiamina HCl	0.10	-	10	-
Piridoxina	-	0.50	-	5
Piridoxina HCl	0.50	-	1	-
Glicina	2.00	-	4	20

4. ESTABLECIMIENTO DE LOS CULTIVOS INICIALES

En el caso de los cultivos iniciados a partir de semillas, éstas las escarificamos totalmente con la ayuda de pinzas, cuchillas y papel estériles en la cabina de flujo laminar. De éstas solo conservamos los ejes embrionarios con la mitad de los cotiledones más próximos a ellos. Posteriormente se introdujo cada eje embrionario en posición vertical en los tubos de ensayo que contenían 16,5 ml del correspondiente medio adicionado con $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BA. Dichos embriones dieron origen a plántulas que fueron la fuente de los explantos iniciales.

De las plantas provenientes del invernadero (cedro rosado, cedro de altura, dinde, y roble colombiano) utilizamos como explantos iniciales, la yema apical y los dos nudos siguientes a la yema apical, éstas las esterilizamos también dentro de la cabina de flujo laminar, eliminando el exceso de tejido inútil y los restos de hojitas con ayuda del bisturí, hasta tener un tamaño de 0,5 cm.

Como recipientes de siembra durante el establecimiento y las primeras dos transferencias empleamos tubos de ensayo. Posteriormente los explantos se transfirieron a potitos, en cantidades de seis explantos/ potito (para el caso de los dos cedros) y a jarras en cantidades de seis a siete explantos en el caso del roble. En el caso de los brotes de dinde, los continuamos trabajando en tubos de ensayo.

Una vez establecidos los explantos, los cultivos se mantuvieron en la cámara de crecimiento, a una temperatura de 25°C durante dieciséis horas de luz y 20°C durante ocho horas de oscuridad, y a intensidad luminosa de $30 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

5. MULTIPLICACIÓN *IN VITRO*

Los explantos de todas las especies los transferimos a medios de cultivo fresco (Tabla 10), cada cuatro semanas. Las multiplicaciones de los explantos fueron alternadas cada cuatro semanas con transferencias, en las cuales simplemente transferíamos el explanto intacto a un medio de cultivo fresco. Para el caso de las multiplicaciones, separábamos los brotes nuevos de los iniciales. Los brotes iniciales mayores de 2,0 cm se seccionaron en dos o tres. Cada explanto nuevo debía ser mayor de 0,8 cm y poseer al menos una yema axilar viable para garantizar la continuidad de los subcultivos.

TABLA 10. Medios de cultivo empleados durante las etapas de multiplicación.

MEDIO DE CULTIVO	ESPECIE			
	<i>Cedrela odorata</i>	<i>Cedrela montana</i>	<i>Chlorophora tinctoria</i>	<i>Quercus humboldtii</i>
Durante las transferencias y multiplicaciones	MS, adicionado con BA $0,2 \text{ mgL}^{-1}$	MS, adicionado con BA $0,2 \text{ mgL}^{-1}$	MS, adicionado con BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$	GD, alternando BA $0,1$ con $0,2 \text{ mgL}^{-1}$

Las concentraciones del agente solidificante (agar), la fuente hidrocarbonada (sacarosa) y el mio-inositol, fueron iguales que la de los medios de cultivo inicial.

5.1 Cálculo de las tasas de multiplicación

Los datos numéricos de los cultivos se tomaron durante la etapa de multiplicación. El coeficiente de multiplicación lo obtuvimos con la siguiente fórmula:

$$\text{C.M.} = \frac{\text{No. medio de segmentos} \times \text{No. medio de brotes viables}}{100}$$

El C.M. coincide con el No. Medio de segmentos, cuando el porcentaje de brotes viables es el 100%.

En la toma de datos numéricos se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros:

- Porcentaje de contaminación, que correspondió al número de explantos contaminados x 100 y divididos por el número total de explantos utilizados.
- Porcentaje de brotes viables: correspondió al número de brotes que se desarrollaban con normalidad dentro del total de la muestra.
- Longitud media del brote más largo: medido desde la base del tallo, por encima del callo basal, hasta el primordio apical. La suma total de longitudes se dividió por el número total de la muestra (n).
- Número medio de segmentos: correspondió a la suma del número total de segmentos obtenidos en cada unidad, dividido por n. Los segmentos se obtuvieron una unidad por brote si eran pequeños, o seccionado en dos o tres partes un brote grande, dependiendo del número de nudos.

6. ENRAIZAMIENTO *IN VITRO*

Una vez bien establecidos los cultivos y con buena tasa de producción de brotes, procedimos a realizar los ensayos de enraizamiento. Los medios de enraizamiento fueron los mismos tanto para los explantos provenientes de semilla como para los de yemas de invernadero: Se utilizaron los medios MS (Murashige y Skoog, 1962) y GD (Gresshoof y Doy, 1972), en los cuales, para el MS, los macronutrientes se redujeron a la mitad, mientras que los macronutrientes del medio GD se redujeron un tercio de su concentración original (Tabla 11).

En las cuatro especies evaluamos la ausencia de auxina (control) y la adición al medio de cultivo de Acido Indolbutírico (AIB).

TABLA 11. Medios de cultivo empleados para la inducción de enraizamiento.

MEDIO DE CULTIVO	ESPECIE			
	<i>Cedrela odorata</i>	<i>Cedrela montana</i>	<i>Chlorophora tinctoria</i>	<i>Quercus humboldtii</i>
Para inducción de enraizamiento	MS con macronutrientes reducidos a la mitad (1/2 macros MS)	MS con macronutrientes reducidos a la mitad (1/2 macros MS)	MS con macronutrientes reducidos a la mitad (1/2 macros MS)	GD con macronutrientes reducidos a un tercio (1/3 macros GD).
Adición de AIB (mgL ⁻¹)	1,0	1,0	0,5	25

A cada uno de los explantos utilizados para la inducción de raíces se les recortaron las hojas, exceptuando la hojita adyacente al primordio apical. Los explantos fueron sometidos a la acción de la auxina durante veinticuatro horas, al cabo de las cuales se transfirieron a un medio sin auxinas.

Como contenedores para el ensayo de enraizamiento empleamos potitos o jarras de vidrio. Cada ensayo constaba de dos tratamientos (con y sin auxina), cada tratamiento constaba de cuatro jarras (cuatro repeticiones) con seis explantos cada una. En cada ensayo el total de explantos fueron veinticuatro por tratamiento, o sea cuarenta y ocho explantos por ensayo. En concreto, en la mayoría de los casos realizamos cuatro ensayos de enraizamiento por cada edad de origen de cada una de las cuatro especies, lo que significó ciento noventa y dos explantos para cada una de las edades de origen.

Los explantos los sometimos a las mismas condiciones de cultivo empleadas en la etapa de multiplicación.

6.1 Cálculo del porcentaje y cinética de enraizamiento

Una vez inducido el enraizamiento, se hicieron observaciones diarias, con el fin de evaluar la cinética de enraizamiento en tres especies, *Cedrela odorata*, *Cedrela montana* y *Chlorophora tinctoria*. Consistió en anotar las fechas de aparición de las raíces desde el primer día de emergencia hasta completar las cuatro semanas del enraizamiento comparando cuál presentaba mejores resultados (el control o el AIB) sobre el porcentaje y velocidad de aparición de las raíces. Transcurridas las cuatro semanas se tomaron datos de la longitud de las plantas, del número y la longitud de la raíz primaria y la secundaria más larga, y del número de hojas.

El enraizamiento de los explantos de roble se llevó a cabo con todos los brotes que provenían del medio GD adicionado con BA 0,2 mgL⁻¹. Al cabo de cuatro semanas de inducción de enraizamiento se evaluó el porcentaje de sobrevivencia, la longitud de las plántulas, el número de hojas, y el número y longitud de raíces por cada plántula.

7. INFLUENCIA DEL ALUMINIO, NITRÓGENO, FÓSFORO, POTASIO Y SACAROSA SOBRE EL DESARROLLO DEL CULTIVO DE *Cedrela odorata*.

Del ensayo de cultivo *in vitro* proveniente de semilla, se separaron explantos para evaluar la toxicidad de aluminio en *Cedrela odorata*, que fueron cultivados en medios que contenían diferentes concentraciones (control; 0.2; 10; 20; 30 y 100 mgL⁻¹). El medio fue ajustado a pH 4.3-4.4 antes del autoclavado, para una mayor solubilidad del aluminio.

Del ensayo proveniente de semilla, también se utilizaron explantos para desarrollar otro ensayo *in vitro* con el fin de evaluar la incidencia en los explantos, de la adición al medio de cultivo, de concentraciones mayores de nitrógeno, fósforo y potasio. Las concentraciones adicionadas fueron: nitrato de amonio NO₃NH₄ (330 mgL⁻¹); dihidrogenofosfato de sodio monohidrato, PO₄H₂Na-H₂O (9 mgL⁻¹) y sulfato de potasio, K₂SO₄ (49,5 mgL⁻¹).

También se evaluó el efecto de tres concentraciones de sacarosa (3, 4 y 5%), en brotes obtenidos del mismo ensayo proveniente de semilla. Se tomaron datos numéricos de tasas de multiplicación, con el fin de determinar qué tratamiento incrementaba la producción de brotes y/o su longitud.

8. HISTOLOGÍA DEL ENRAIZAMIENTO DE *Cedrela odorata*

Este estudio se realizó con el fin de evaluar la evolución del desarrollo de las raíces adventicias a través del tiempo, desde sus primeras divisiones mitóticas hasta cuando la raíz emergió de la corteza del tallo de la plántula. La inducción del enraizamiento se realizó en el medio MS con los macronutrientes reducidos a la mitad y dos tratamientos, control y AIB 1,0 mgL⁻¹ (durante veinticuatro horas, al cabo de las cuales se transfirió a medio sin auxina). El ensayo constó de una sola repetición.

8.1 Preparación del tejido

Para cada uno de los tratamientos se tomaron nueve muestras al azar a las 0, 12, 24 y 36 horas, y los días dos, tres, cuatro, cinco, seis y ocho, con el fin de evaluar cual de los dos tratamientos tuvo mayor efecto sobre la calidad y velocidad de enraizamiento. En total se procesaron noventa muestras.

Se aisló aproximadamente 1,0 cm de la parte basal del brote y se seccionó de forma oblicua en la parte más proximal al ápice para diferenciarla de la zona distal productora de los primordios de raíz.

Los brotes seccionados se fijaron en una mezcla de FAA (Formol (Analema) – Ácido acético glacial (Probus S.A) – Alcohol etílico (al 50%, Analema), en una proporción de 0.5:0.5:9, durante cuarenta y ocho horas. Luego se transfirieron a etanol 50 % durante doce horas. Posteriormente el tejido se deshidrató en series graduales sucesivas de etanol al 50, 70, 85, 95 y 100%, durante cuarenta y ocho horas cada uno. Las series fueron preparadas de la siguiente forma:

Serie de 50 (50 ml de H₂O + 40 ml etanol 95° + 10 ml Butanol)

Serie de 70 (30 ml de H₂O + 50 ml etanol 95° + 20 ml Butanol)

Serie de 85 (15 ml de H₂O + 50 ml etanol 95° + 35 ml Butanol)

Serie de 95 (45 ml de etanol 95° + 55 ml Butanol)

Serie de 100 (25 ml de etanol 95° + 75 ml de Butanol)

Al final de las series, las muestras se sometieron a tres baños sucesivos de setenta y dos horas cada uno de Butanol-1 100% (R.P. NormapurTM AR). Una vez deshidratadas las muestras se trasladaron a un baño de parafina fundida (Histosec® Merck, punto de solidificación 56-58 °C), a 60 °C en la estufa, durante setenta y dos horas, seguido de un segundo baño de parafina durante veinticuatro horas y 60 °C. Finalmente a un tercer baño de parafina donde permanecieron veinticuatro horas.

Por último las muestras se incluyeron en parafina nueva, de la misma marca anterior, calentada previamente a 80 °C durante media hora, con el fin de formar bloques con la muestra incluida en su interior, la cual debía ir con la parte distal del brote dirigida hacia una de las caras de corte del bloque.

Los bloques con la muestra ya incluida se dejaron enfriar a temperatura ambiente y luego se introdujeron en una bandeja conteniendo agua con hielo, durante treinta minutos. A continuación se tallaron en forma de pirámide truncada, dejando indicada la superficie de corte, y después se adhirieron a cubitos de madera con la parafina (Merck, punto de solidificación 46-48 °C), fundida previamente sobre un mechero.

8.2 Seccionado en micrótopo y montaje en portaobjetos

Con el micrótopo rotativo se realizaron cortes transversales de 10 µm de grosor a las muestras que estaban inmersas en los bloques de parafina, estos cortes se colocaron sobre un portaobjetos previamente etiquetado y gelatinizado con adhesivo de Haupt (cuya preparación consiste en la disolución de 0,5 g de gelatina en 50 ml de agua a 90°C, se enfrió la muestra y se añadió 7,5 ml de glicerina. Como preservante se añadió un gramo de fenol). Los cortes histológicos se fijaron al portaobjetos con la ayuda de formol al 4%, se colocaron tres gotas sobre el portaobjetos y se depositaron encima los cortes que se estiraron sobre una plancha a 40°C.

Estas preparaciones se dejaron secar durante tres días sobre la plancha a 30 °C. Cuando las preparaciones estuvieron secas, se realizaron dos tipos de tinción paralelas: las provenientes de ocho bloques se tiñeron con safranina-verde rápido y la proveniente de un bloque con una tinción específica para proteínas y carbohidratos.

8.3 Tinción con safranina y verde rápido (Jensen, 1962)

Los portaobjetos se calentaron en la estufa a 70°C durante cuatro segundos, con el fin de derretir la parafina. Inmediatamente se acomodaron sobre una canastilla metálica que se introdujo en dos baños sucesivos con el disolvente citrosol (D.C Panreac), diez minutos cada uno, con el fin de eliminar los restos de parafina del tejido.

Una vez eliminada la parafina, se procedió a realizar una deshidratación progresiva con las series etanol de 95, de 70 y 50%, diez minutos cada uno (Figura 5)

Los tejidos se sometieron a una tinción con safranina (disuelta al 1% en etanol de 96%, pero al momento de usarla se disolvió en agua milliQ en una proporción de 1:1). El exceso de colorante se eliminó un segundo con agua del grifo, y se procedió de nuevo a deshidratar el tejido con un lavado de etanol de 96% durante un segundo con etanol absoluto, dos minutos cada uno. Una vez que el tejido estaba deshidratado se tiñó durante un segundo con el colorante verde rápido diluido al 5% de su concentración original (la cual consta de un gramo del colorante en una proporción de 2:1:1 de aceite de clavo Analema, xileno Probus S.A. y etanol absoluto Analema).

Para clarificar los tejidos se utilizaron dos baños sucesivos de aceite de clavo durante cinco minutos cada uno. Luego las muestras se pasaron a citrosol durante diez minutos donde permanecieron mientras se realizaba el montaje para evitar resecamiento del tejido. Finalizando el proceso de tinción se realizó el montaje, extrayendo un portaobjetos cada vez, y adicionándole una gota del adhesivo Eukitt® sobre la muestra de tejido, luego se tapó con un cubreobjetos y se presionó suavemente hasta la eliminación total de las burbujitas de aire.

Estas preparaciones se pusieron a secar durante tres días sobre la estufa a 40°C.

8.4 Tinción Ácido Periódico-reactivo de Schiff (PAS)-naftol azul (O'Brien y McCully, 1981)

Esta tinción es específica para carbohidratos. Los gránulos de almidón se tiñen de color fucsia. La metodología de esta tinción (Figura 5) es igual a la de safranina-verde rápido, en los primeros pasos de calentamiento de los portaobjetos, seguido inmediatamente de los dos baños sucesivos de diez minutos cada uno en citrosol, continuando con la hidratación progresiva desde etanol absoluto a etanol 50%, durante diez minutos y el lavado posterior con agua del grifo.

A partir de aquí las muestras se transfirieron a una solución acuosa de ácido periódico al 0,5% a 40°C durante treinta minutos. El exceso de ácido periódico se lavó durante cinco minutos con agua corriente debajo del grifo. A continuación los tejidos se sometieron a un baño a 40°C y en oscuridad en el reactivo de Schiff de los aldehídos (Merck KgaA) durante treinta minutos. El exceso del reactivo se lavó con agua destilada instantáneamente. Luego las muestras se trasladaron a un baño acuoso de metabisulfito sódico al 0,5%, seis minutos. Se lavó el exceso con agua del grifo, cinco minutos.

Para apreciar mejor los gránulos de almidón se realizó un baño de una hora con Azul Naftol (dos gramos del colorante en 14 ml de ácido acético glacial y se enrasó a 200 ml con agua). Posteriormente se pasó durante cinco minutos a la solución acuosa ácido acético glacial al 0,5%. El exceso de acético se lavó con agua destilada.

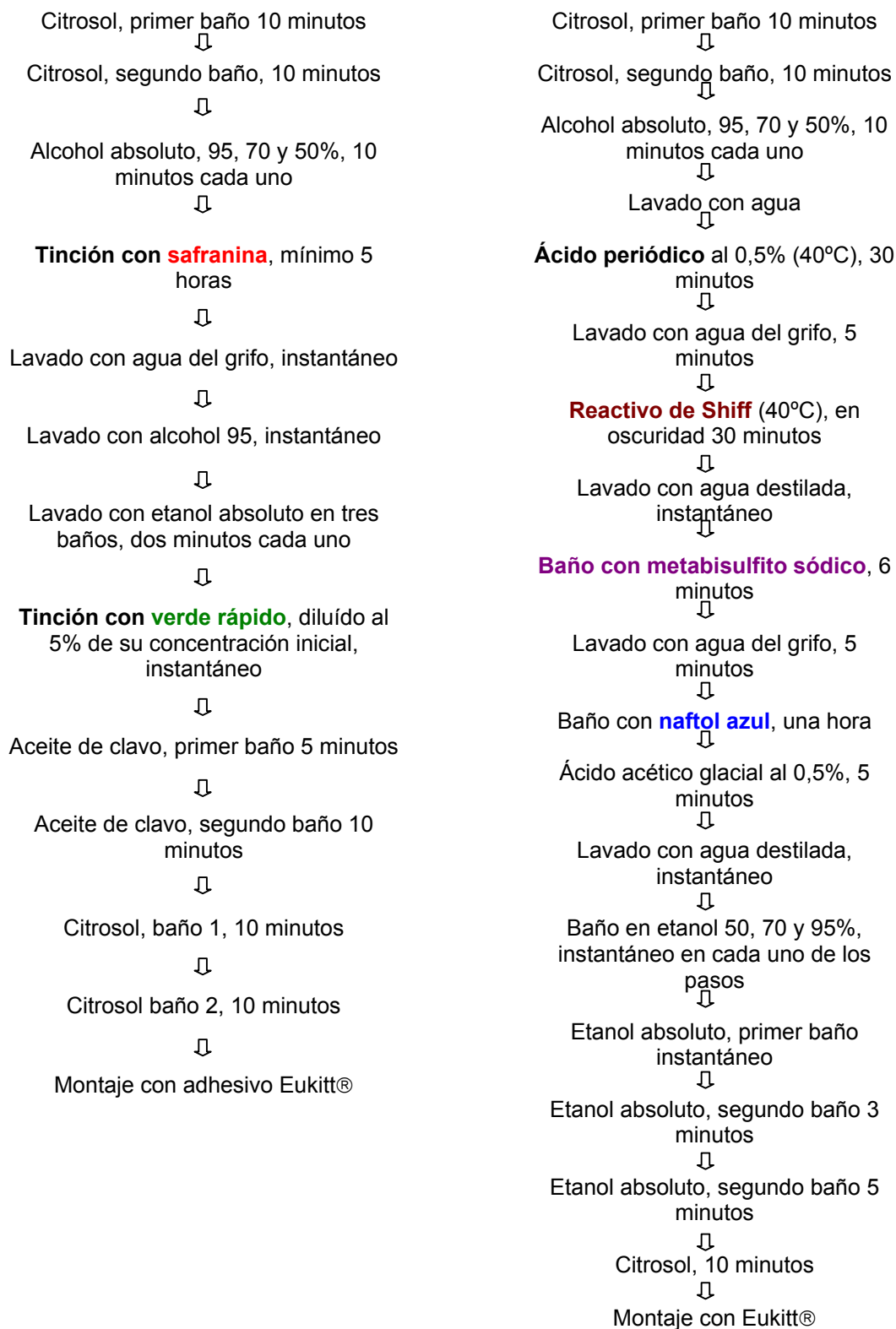


Figura 5. Metodología de tinción en enraizamiento de *Cedrela odorata*

Las muestras se deshidrataron con la serie ascendente de etanol 50, 70 y 95%, instantáneo en cada uno de los pasos. La deshidratación final se hizo en los tres baños sucesivos de etanol absoluto, el primero instantáneo, el segundo tres minutos y el tercero cinco minutos. Finalmente la canastilla metálica con las muestras se dejó inmersa durante diez minutos en citrosol y mientras se realizaba el montaje de forma individual. El montaje con el adhesivo Eukitt se realizó de la misma forma que con la tinción safranina-verde rápido.

8.5 Análisis de las muestras y microfotografía

Las preparaciones histológicas obtenidas de los sucesos de enraizamiento se evaluaron en el microscopio óptico marca Zeiss West Germany 67909 - 47 79 01- 9901, y se tomaron fotografías con la cámara digital marca Olympus DP10, que se adaptó al microscopio y se conectó a la pantalla del ordenador.

9. ESTUDIO DE LOS CAMBIOS BIOQUÍMICOS OCURRIDOS DURANTE EL ENRAIZAMIENTO DE *Cedrela odorata*

Con el fin de analizar los cambios bioquímicos ocurridos durante el enraizamiento de *Cedrela odorata* y de cuantificar los niveles endógenos de AIA, AIB y AIA aspartato (AIAsp), se realizó un ensayo con brotes procedente del experimento *in vitro* con semilla citado anteriormente.

La inducción del enraizamiento se realizó al final de la etapa de multiplicación, tras los subcultivos continuos de los brotes. Los tratamientos fueron ausencia de auxina y AIB 1,0 mgL⁻¹ (inducidos durante veinticuatro horas). El medio fue MS con los macronutrientes reducidos a la mitad (1/2 macros MS). Paralelamente se realizó otro ensayo control durante cuatro semanas, con los mismos tratamientos, para medir el porcentaje de enraizamiento de la especie al momento de iniciado el experimento.

Del material que se estaba enraizando, se extrajeron dieciocho explantos al azar (que no poseían callo), el día cero y cada 12, 24 y 36 horas y los días dos, tres, cuatro y cinco. En total se extrajeron ciento cuarenta y cuatro explantos por cada ensayo. A los explantos se les recortaron las hojitas, quedando solamente los tallos. Éstos se emplearon enteros sin seccionar y se sometieron inmediatamente a congelación con nitrógeno líquido (-196 °C). Al mismo tiempo que se iban poniendo en el liofilizador (Leybold- Heraeus Vacuum), durante veinticuatro horas para su deshidratación. Una vez que los brotes estuvieron deshidratados se guardaron en tarritos de plástico de 5,7 x 2,5 cm a una temperatura de -85 °C en la nevera Sanyo Ultralow MDF-U40865, mientras se realizaba la extracción de las auxinas.

La metodología empleada en la extracción, la purificación y la determinación de las auxinas (AIA, AIA-Asp y AIB) fue la descrita por Nordström y Eliasson (1991), modificada por Ballester y col. (1999).

9.1 Extracción de auxinas

Al momento de la extracción de las auxinas se trabajó con luz tenue para evitar posibles alteraciones en su composición. El protocolo que se utilizó se describe a continuación:

1. Las muestras se pesaron y se anotaron los pesos en miligramos. El material vegetal se trituró en morteros de porcelana (enfriados previamente a 5°C) sobre una bandeja con hielo. A los morteros se les adicionó 15 ml de tampón fosfato 5 mM (pH 6.5) frío.
2. Las muestras se vaciaron en tubos de centrifuga que se encontraban enfriando en hielo picado. Se les adicionó 100 µl del antioxidante BHT (Butyl Hidroxi Tolueno) por cada 100 mg de muestra. Luego se adicionó 100 µl de ANA 10⁻⁵ que se usó como control interno del proceso de extracción y purificación. El homogenizado se dejó reposar durante una hora en frío (5°C) y en oscuridad, luego se equilibraron los pesos en la balanza con la adición de gotas de tampón 6,5 (54 ml de Sorensen A + 23 ml de Sorensen B)/litro; Sorensen A: KH₂PO₄ 1/15 M, 9,073g en un litro de agua; y Sorensen B: Na₂HPO₄, 12H₂O 1/15 M, 23,873 g en un litro de agua.
3. Después de una hora en reposo, las muestras se centrifugaron durante quince minutos a una velocidad de 8500 r.p.m y 4°C en la centrífuga (con previa refrigeración) Beckman J₂-MI, Rotor A-18.
4. Posteriormente las muestras centrifugadas se filtraron al vacío dos veces con filtro de microfibras de vidrio de 200 µM GF/C de 5,5 cm (marca Whatmann), catálogo número 1822 055. Luego se lavó el embudo con 5,0 ml de tampón 6.5. A cada muestra se adicionó tampón 6.5 hasta completar 20 ml de muestra y luego se dividieron las muestras en dos alícuotas de 10 ml cada uno.

9.2 Filtración

Los pasos seguidos en la filtración de las muestras son los siguientes:

1. Las muestras divididas en las dos alícuotas se filtraron a continuación a vacío a través de columnas Supelco (Park Bellefonte Supelclean™ LC-18, catálogo número 504270), que se habían activado y acondicionado con etanol 96° y tampón fosfato pH 6.5 en la cámara fría.
2. Cuando las jeringas quedaron vacías se lavaron con 5,0 ml de tampón 6.5. El eluido colectado se acidificó a pH 2,5 adicionando tres gotas de ácido fosfórico 2,8 M a cada una.

9.3 Purificación

1. Las jeringas se lavaron con agua milliQ y se volvió a armar el equipo de vacío, pero con las dieciséis columnas Chromabond (C18/100mg Sílica Octadecil modificada Macherey-Nagel catálogo número 730 001) que habían sido activadas y acondicionadas previamente con etanol 96° y tampón fosfato pH 2,5 a 5°C. Se armaron cada dos columnas en serie. El eluido se purificó pasándolo por estas columnas.
2. Posteriormente, las columnas Chromabond donde estaban retenidas las auxinas se lavaron con:
a) 2,0 ml de agua destilada y des-ionizada y 2,0 ml de una solución de etanol: ácido acético: agua en proporción 20:2:78 v/v/v (debido a que gran parte del AIA-Asp eluye con esta disolución,

se recogió esta fracción) y c) lavado con 2,0 ml de agua. Luego se llevó a cabo una segunda elución separando las dos columnas y lavándolas cada una a presión en un mismo tubo con una jeringuilla que contenía 100 μ l de MeOH 100 (Supergradiente Lab-Scan, Analítical Sciences código número C2526, Batch no. 2230/9) más 500 μ l MeOH 80%, constituyendo el extracto rico en AIA AIB Y ANA.

3. La fracción correspondiente al AIAsp se guardó en la nevera hasta su concentración en el sistema de centrifugación al vacío Speed Vac SVC100 Refrigerated Condensation Trap RT100 Savant (unas dos horas y media con calor medio). Luego se guardaron en el congelador. Después se reconstituyó con 1,2 ml de MeOH 80% para su análisis posterior en el HPLC. Se sonicó con el ultrasonido y el vórtex y luego se filtró a presión con ayuda de la jeringuilla de insulina U-100 B/Braun.
4. Todas las muestras del primer ensayo se filtraron inicialmente con el filtro de membrana de Nylon 0,2 μ m de poro y 13 mm de diámetro Lida catálogo número NY 201300 Galiza analítica, sobre el portafiltros Swinny de acero XX3001200 de Waters. Las del segundo ensayo inicialmente con el mismo filtro y portafiltro mencionado y posteriormente con el filtro de jeringa comercial Gelman Sciences Supor® Acrodisc®, estéril, de 13 mm de diámetro y 0,2 μ m de tamaño de poro, con membrana Supor, referencia 4602. Las muestras se guardaron en la nevera a -85°C hasta que fueron procesadas en el cromatógrafo.

9.4 Cuantificación de auxinas

Los extractos metanólicos fueron inyectados en un sistema totalmente automatizado de HPLC-Waters a una columna de 6,0 cm de longitud Hypersil ODS). La separación de las auxinas se llevó a cabo en fase reversa. Se usó una fase móvil de 84% de solución A (10:2:88 v/v/v de acetonitrilo: ácido acético glacial:agua) y 16% de solución B (acetonitrilo) para la cuantificación de AIA, AIB y ANA. En cambio para la cuantificación del AIA-Asp se usó la fase móvil de 95% de solución A y 5% de solución B. En ambos extractos se usó una tasa de flujo de 1,0 mLmin⁻¹ y un detector con lámpara fluorescente marca Waters que trabajó a una excitación de 292 nm y a una emisión de 360 nm.

Los picos de AIA, AIA-Asp, AIB y ANA, se identificaron mediante la comparación de sus tiempos de retención con la de patrones comerciales. Los datos obtenidos se procesaron con el programa MillenniumTM, ver la versión 2.10 de Waters Co. La concentración de las auxinas de las muestras se calcularon comparándolas con rectas patrón que fueron elaboradas para cada sesión de HPLC.

10. ACLIMATACIÓN EN FITOTRÓN Y CRECIMIENTO EN INVERNADERO

La totalidad de los explantos que permanecieron durante cuatro semanas en medio de inducción de enraizamiento, se transfirieron a una bandeja que contenía una proporción de 1:1:1 turba: perlita: vermiculita, adicionado con solución nutritiva de Hoagland (1950). La parte superior de la bandeja se cubrió durante dos semanas con papel film de plástico transparente, para evitar el exceso de transpiración mientras las plántulas se adaptaban a las condiciones del fitotrón.

El fitotrón tiene una humedad relativa de 80%, temperatura 25°C durante las dieciséis horas de luz y 20°C durante las ocho horas de oscuridad.

Después de permanecer cuatro semanas en el fitotrón las plántulas que sobrevivieron se transfirieron al invernadero a macetas de 14 cm de diámetro que contenían una mezcla de 50% de arena y 50% de tierra. Al sustrato se le adicionó solución de Hoagland (1950) en el momento del transplante y cada cuatro semanas durante tres meses. El riego se realizó de forma manual con agua del grifo, una o dos veces por semana, según la necesidad de agua de la planta.

Las observaciones del invernadero fueron visuales y no se tomaron datos numéricos.

10.1 Micorrización

El ensayo de inoculación con endomicorizas arbusculares, se realizó con la especie *Cedrela odorata*, procedente del cultivo y enraizamiento *in vitro* de los brotes que provenían del ensayo de semilla. El enraizamiento se indujo en el medio Murashige y Skoog (1965), con los macronutrientes reducidos a la mitad, y adicionado con 1,0 mgL⁻¹ de AIB. No se empleó el tratamiento control para las plántulas que iban a ser inoculadas.

Paralelamente se realizó un ensayo de enraizamiento *in vitro* con los dos tratamientos usuales para cedro, control y AIB 1,0 mgL⁻¹, con cuatro repeticiones cada uno, con el fin de evaluar el porcentaje y la cinética de enraizamiento del cedro al momento de iniciar el ensayo de inoculación. Cuatro semanas después de la inducción del enraizamiento, se tomaron medidas de altura de las plantas, longitud y número de raíces primarias y secundarias; y número de hojas, para ambos ensayos.

De las plántulas enraizadas *in vitro* con AIB 1,0 mgL⁻¹, se seleccionaron cincuenta en total para los cinco tratamientos de inoculación. A cada uno de estos tratamientos le correspondieron diez plántulas que fueron transferidas a macetas de 12 cm de diámetro. Los cinco tratamientos fueron:

- 1) Turba- perlita- vermiculita 1:1:1 inoculado de *Glomus aggregatum*
- 2) Turba- perlita- vermiculita 1:1:1 inoculado de *Glomus deserticola*
- 3) Turba- perlita- vermiculita 1:1:1 inoculado de *Glomus macrocarpa*
- 4) Turba- perlita- vermiculita 1:1:1 sin inóculo
- 5) Suelo de la parcela portador de población Micorriza Arbuscular (MA) nativa

Los sustratos no se esterilizaron. Todos los tratamientos se fertilizaron con 10 ml por maceta, con solución de Hoagland (1950), diluida en agua al 5% de la concentración inicial, al momento de transferencia al invernadero, y posteriormente cada mes.

Los cinco tratamientos se aclimataron directamente en el invernadero durante cuatro meses. El riego se efectuó de forma automática por aspersión diaria de 8,0 ml/ maceta. La temperatura era de 25 °C durante el día y 20 °C en la noche. Transcurridos los cuatro meses se levantó el ensayo de inoculación y se tomaron las mismas medidas evaluadas anteriormente. También se realizó registro fotográfico de los cinco tratamientos. Posteriormente se llevaron las plantas al laboratorio, se introdujeron en sobres de papel filtro cada una, debidamente etiquetadas, y se

sometieron a secado en la estufa a 60 °C durante treinta y seis horas. Luego se dejaron enfriar y se tomó el peso seco de la parte aérea y de la raíz.

▪ Tinción de raíces

Para poner de manifiesto la susceptibilidad de las raíces de *Cedrela odorata* a ser inoculadas con los distintos inóculos, se empleó la técnica de tinción de raíces de Phillips y Hayman (1970), modificada.

Las raíces secas se introdujeron en tubos de vidrio con fondo plano y perforado dispuestos en una gradilla que se encontraba inmersa en una cubeta con agua del grifo. Las raíces permanecieron allí durante cinco minutos. Posteriormente se trasladó la gradilla con los tubos a una cubeta que contenía KOH al 10%, la cual se calentó en el horno microondas a temperatura de ebullición, durante doce horas, retirándola del horno cada media hora para reponerle el agua destilada evaporada.

Después del tratamiento en KOH, las raíces de cedro se lavaron con agua del grifo durante diez minutos para eliminar la alcalinidad, luego se lavaron en una cubeta con agua destilada otros diez minutos. Las raíces se clarificaron una segunda vez con una solución de agua oxigenada (peróxido de hidrógeno marca Foret 30% p/v), en una proporción de 1:7,5 con agua destilada (200 ml de agua oxigenada adicionada a 1500 ml de agua destilada). Se dejó a temperatura ambiente durante una hora y media. Luego se lavaron las raíces en una cubeta con agua del grifo durante diez minutos y después con agua destilada durante otros diez minutos.

Las raíces ya clarificadas se acidificaron con HCl 1N durante quince minutos. El exceso de ácido clorhídrico se eliminó lavando las muestras dentro de una cubeta con agua del grifo durante diez minutos, y luego con agua destilada durante diez minutos. Finalmente las raíces se tiñeron con el colorante azul Tryphan® al 0,025% en LGA (ácido láctico- glycerol- agua 4:2:1), calentándolo durante quince minutos en el horno microondas. El exceso de colorante se eliminó lavando directamente con agua destilada dentro de una cubeta, durante diez minutos. Las raíces se cortaron en fragmentos de 1,0 cm, dentro de una placa transparente grabada con cuadrículas de 1,2 cm, la cual contenía una solución de ácido láctico- glycerol- agua. Las raíces recortadas se esparcieron al azar y se miraron en el estereoscopio para calcular la longitud total de la raíz, contando el total de intercepciones de la raíz sobre las líneas del retículo (Ambler y Young 1977).

También se calculó el porcentaje de la longitud de raíz colonizada para cada tratamiento, para lo cual se realizaron cien recuentos en total, incluyendo el número de veces colonizadas y no colonizadas que coincidieran sobre cualquiera de las líneas del retículo.

Los segmentos de raíz fueron observados en el microscopio para poder comprobar el grado de penetración de las hifas en las raíces. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente con el programa SPSS versión 10.

▪ Prueba de infectividad

Se comprobó el funcionamiento colonizador de los hongos MA incorporados en los gránulos de inoculantes con varias dosis (uno, dos y cuatro gránulos) en trébol (*Trifolium pratense*), durante treinta días.

11. MACROFOTOGRAFÍA

Las fotografías macroscópicas en laboratorio, fitotrón e invernadero las tomamos con las cámaras fotográficas Nikon modelos f-55 y f-60.

12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos se analizaron estadísticamente con el programa SPSS (Paquete Estadístico para Ciencias Sociales) versiones 10.0 y 11.5, siguiendo la metodología de Manzano y col (1999), Arce y Real (2001) y Norusis (2000). Los análisis más detallados se pueden ver en el apartado Anexos.

12.1 Establecimiento y multiplicación de *Cedrela odorata*, *Cedrela montana*, *Chlorophora tinctoria* y *Quercus humboldtii*.

En las etapas establecimiento y multiplicación se realizaron dos tipos de análisis estadístico; el primero consistió de un Anova para cada una de las distintas edades de origen de las cuatro especies, mediante el Modelo Lineal General opción Multivariante. Las variables independientes fueron los meses de subcultivo y las repeticiones, y las dependientes fueron la altura del brote, el número de brotes y el número de segmentos por brote. Dentro de las pruebas post hoc se eligió el Test de Tukey B. El segundo análisis estadístico se hizo para comparar las diferencias entre las distintas edades de origen dentro de cada especie, también mediante el Modelo Lineal General pero con la opción Medidas Repetidas que es lo mismo que Análisis de Varianza de dos o más factores con medidas repetidas. En este caso se realizó un Anova para cada una de las siguientes variables, número de brotes, número de segmentos y altura del brote. El factor uno comprendió los niveles edades de origen, el factor dos los subcultivos, y el sujeto las repeticiones. El nivel de confianza empleado en ambos análisis fue 95%.

12.2 Enraizamiento de las cuatro especies mencionadas

El análisis estadístico para el enraizamiento de las cuatro especies se realizó de forma similar al de las etapas establecimiento y multiplicación. Primero se realizó un Anova para cada una de las edades de origen mediante el Modelo Lineal General con la opción Multivariante. Comparamos el efecto de la presencia y la ausencia de AIB en el número de raíces, la longitud de las raíces primaria y secundaria más larga, la altura del brote y el número de hojas. Para normalizar los valores en la variable porcentaje de enraizamiento éstos los transformamos con la función arcoseno $X^{1/2}$ antes de analizarlos estadísticamente. En el segundo análisis se realizó un Anova para cada una de las variables mencionadas pero comparando las diferentes edades de origen, mediante el Modelo Lineal General con la opción Medidas Repetidas. El factor 1 constó de dos niveles, presencia y ausencia de auxina, y el factor dos de las edades de origen de los cultivos. El nivel de confianza empleado en ambos análisis fue 95%.

12.3 Análisis estadístico del ensayo de aluminio, nitrógeno, fósforo, potasio y sacarosa

En la fase de multiplicación también se realizaron Anovas de un factor, pero posteriormente se realizaron otros análisis para contrastar las medias de las tres variables mencionadas con la edad de procedencia del explanto.

Con el modelo lineal general se comparó el efecto de las cuatro concentraciones de aluminio con la altura, el número de brotes y el número de segmentos en cedro. Luego dentro de las comparaciones múltiples se estudió la diferencia mínima significativa que analiza cual de los tratamientos tiene mejor efecto dentro de cada variable dependiente. Finalmente se realizó un Anova que contrasta las medias de las variables dependientes con la variable independiente (tratamiento con aluminio) y otro que contrasta las mismas variables pero con los meses de medida.

Para el ensayo con nitrógeno, fósforo y potasio, se realizó independientemente para cada una el Anova de un factor y después otro análisis para comparar las medias de los tratamientos anteriores. En cambio para el ensayo de sacarosa se realizó directamente el Anova que compara las medias de las variables evaluadas con las concentraciones.

12.4 Micorrización

En el ensayo de control de enraizamiento de *Cedrela odorata* se realizó un test de Tuckey. En el ensayo que constó de cuatro tratamientos y el control, se realizó un Anova I. Con el fin de hacer una evaluación más exhaustiva de las diferencias entre cada uno de los tratamientos entre sí se realizaron pruebas post hoc (comparaciones múltiples).

IV. Resultados

1. ESTABLECIMIENTO *IN VITRO*

1.1 *Cedrela odorata*

Establecimos semillas (ejes embrionarios acompañados de la mitad de los cotiledones) y yemas de plántulas crecidas en invernadero de diferentes edades, con el fin de estudiar la respuesta *in vitro* de la especie. Estos explantos se inocularon en el medio de cultivo empleado en el establecimiento con el fin de inducir el desarrollo de plántulas; en todos los casos fue MS adicionado con BA 1,0 mgL⁻¹ + kinetina 1,0 mgL⁻¹, se mostró como el más apropiado para las semillas comparándolo con otro ensayo no mostrado aquí (BA 2,0 mgL⁻¹ + kinetina 1,0 mgL⁻¹), que provocó la formación de callo.

Con esta especie se ha querido determinar la influencia que ejerce la edad del explanto original sobre su respuesta *in vitro*. Los porcentajes de contaminación y sobrevivencia se reflejan en la Tabla 12.

TABLA 12. Efecto de la edad de la planta madre sobre la contaminación y sobrevivencia de los explantos de *Cedrela odorata*.

Edad explanto original (meses)	Mes de subcultivo	Explantos iniciales	Contaminación exógena (%)	Sobrevivencia (%)
Semilla	1	48	41,66	47,91
	3	37	27,00	59,46
	5	65	15,38	84,61
4	1	48	20,83	64,58
	3	54	9,25	90,75
	5	100	0	100
12	1	48	22,22	62,50
	3	44	18,75	63,63
	5	51	16,66	88,23
14	1	48	59,28	18,75
	3	11	33,33	63,63
	5	9	22,22	33,33

▪ Cultivos a partir de semilla

A pesar de que las semillas comerciales venían pretratadas con fungicidas, presentaron diferentes grados de contaminación dependiendo de los lotes de procedencia. Hubo algunas que fueron imposibles de esterilizar aún con tratamientos más fuertes de imbibición y esterilización. Por este motivo, la experimentación se vio sometida al lote que logró esterilizarse medianamente, utilizando un protocolo que produjera un equilibrio entre desinfección de la semilla y su viabilidad, teniendo en cuenta el grado de contaminación externa de la testa y en el peor de los casos de los cotiledones. No utilizamos antibióticos ni otros sistemas de esterilización.

Las semillas que presentaron contaminación externa y/o endógena y que no fueron aptas para el cultivo *in vitro*, si lo fueron para la germinación en fitotrón e invernadero, con porcentajes

mayores del 80%. Las plántulas resultantes de éstas sirvieron de material de partida en los ensayos con yemas de invernadero, a diferentes edades.

TABLA 13. Efecto de la edad de la planta madre sobre el establecimiento *in vitro* de *Cedrela odorata*. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Edad explanto original (meses)	Mes De subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura brote más largo por explanto (Cm)	Coefficiente multiplicación
Semilla	1	1,56 $\pm$ 0,84 ^a	1,60 $\pm$ 0,83 ^c	0,56 $\pm$ 0,10 ^d	0,76
	3	2,86 $\pm$ 0,94 ^b	2,95 $\pm$ 0,95 ^{ch}	2,08 $\pm$ 0,59 ^e	1,75
	5	1,65 $\pm$ 0,78 ^a	1,92 $\pm$ 0,89 ^c	1,62 $\pm$ 0,48 ^f	1,62
4	1	1,74 $\pm$ 0,81 ^g	1,74 $\pm$ 0,81 ⁱ	0,80 $\pm$ 0,30 ^k	1,12
	3	2,28 $\pm$ 0,93 ^h	2,30 $\pm$ 0,93 ^j	1,24 $\pm$ 0,39 ^l	2,08
	5	2,18 $\pm$ 0,94 ^h	2,24 $\pm$ 0,99 ^j	1,51 $\pm$ 0,44 ^{ll}	2,24
12	1	1,43 $\pm$ 0,56 ^m	1,46 $\pm$ 0,57 ⁿ	0,67 $\pm$ 0,23 ^q	0,91
	3	1,60 $\pm$ 0,56 ^m	1,82 $\pm$ 0,61 ^o	0,96 $\pm$ 0,34 ^r	1,16
	5	2,04 $\pm$ 0,85 ⁿ	2,24 $\pm$ 0,93 ^p	1,14 $\pm$ 0,40 ^s	1,97
14	1	1,22 $\pm$ 0,44 ^t	1,22 $\pm$ 0,44 ^u	0,52 $\pm$ 0,04 ^v	0,23
	3	1,28 $\pm$ 0,48 ^t	1,28 $\pm$ 0,48 ^u	0,70 $\pm$ 0,26 ^v	0,81
	5	1,00 $\pm$ 0,00 ^t	1,00 $\pm$ 0,00 ^u	0,83 $\pm$ 0,41 ^v	0,33

Los superíndices muestran las diferencias de forma individualizada tanto para cada una de las variables como para cada una de las edades de origen, letras distintas señalan diferencias significativas. Test de Tukey B, alfa= 0,05

La semilla comercial tuvo la ventaja de garantizar buen porcentaje de germinación y buen vigor en las plantas, no obstante la casa comercial no tiene en cuenta si ésta se va a utilizar en ensayos de laboratorio, lo cual requiere garantía de sanidad más alta. Esta semilla germinó a los doce días en tierra-perlita (50 a 50%)

El porcentaje de contaminación de las semillas es alto (41,66 %) (Tabla 12), la contaminación endógena (bacterias con halo blanco en el medio de cultivo), se empezó a manifestar el tercer día de inoculación de las semillas, aumentando en la segunda semana y disminuyendo en la cuarta al menos externamente. Cuando se realizó el primer subcultivo aún seguían apareciendo explantos contaminados que expresaban su contaminación más tardíamente.

La concentración de hipoclorito de sodio utilizado (0,83 %) resultó ser un buen agente desinfectante, no causó efectos secundarios en las plántulas, éstas tuvieron un desarrollo inicial completamente normal.

Las semillas en cultivo *in vitro* empezaron a germinar a los diez a doce días, empezando primero con un ensanchamiento o aumento de volumen; el hipocótilo sobresalió con una longitud de 3,0 a 5,0 mm alcanzando una longitud de 5,0 a 8,0 mm a los diecisiete días del establecimiento. Esto ocurre cuando la semilla ha sido embebida previamente. A los diez días el 80% de las semillas tienen los cotiledones abiertos. Las plantas con raíz engruesan hasta 5,0 mm de ancho y aparecen una a cinco raíces secundarias, la longitud del epicótilo alcanza hasta 3,0 cm y la de la raíz hasta 3,5 cm.

Durante las primeras semanas del cultivo, los brotes de *C. odorata* presentaron crecimiento exagerado de una o dos hojas apicales que alcanzaban un tamaño hasta cinco veces mayor que el del explanto, semejando una hoja bandera, mientras que el resto del explanto tenía crecimiento moderado. Fue necesario eliminar esta hoja cuando se realizaron las transferencias o las multiplicaciones, porque estaba consumiendo más nutrientes que el explanto, además ejercía fuerza hacia arriba haciendo que el explanto perdiera contacto con la superficie del medio.

El crecimiento inicial de la plántula es rápido después de la germinación y disminuye un poco posterior a la primera multiplicación.

En el primer mes de subcultivo aún no era evidente que el material vegetal respondiera bien a las condiciones *in vitro* sometidas. Esto solamente se pudo ir apreciando a través de los siguientes subcultivos (Figura 6), teniendo en cuenta que el material de origen era heterogéneo. La germinación de la semilla dependió mayormente del período de almacenamiento. El material procedente de semilla finalmente sobrevivió bien a los subcultivos y pudimos continuar con su evaluación.

Los brotes originados a partir de las yemas axilares de cada plántula, se aislaron y multiplicaron en posteriores subcultivos para formar una población. Cuatro semanas después del establecimiento de las semillas en el medio MS adicionado con BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ + $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de kinetina, el aspecto general de las plántulas sobrevivientes era bueno, con poca formación de callo, y el color de las hojas era verde oscuro. Estas concentraciones de citoquinina ayudaron a fortalecer la germinación de las semillas y el vigor de la mayor parte de las plántulas iniciales.

El alto porcentaje de contaminación en el segundo subcultivo pudo deberse a problemas remanentes de contaminación de la semilla, que no se manifestaron en el establecimiento.

A los tres meses, el aspecto de los brotes derivados de las plántulas es bueno, el color de tallos y hojas es verde oscuro y tienen buen crecimiento. Un brote produjo una raíz. A los cuatro meses el cultivo continúa teniendo buena apariencia y producción de brotes, la producción de callo es poca. El Anova del Modelo Lineal General con la opción Multivariante (ver Anexo 1) muestra que hay diferencias significativas en el número de brotes por explanto, el número de segmentos y la altura de los brotes a través de los subcultivos ($P < 0.001$ en las tres variables), a un nivel de confianza del 95%. Sin embargo en el análisis posterior al Anova llamado "Comparación por Pares" (ver Anexo 2) el cual compara los meses de subcultivo uno, tres y cinco, muestra que no hay diferencias significativas entre los meses uno y cinco para el número de brotes ($P = 0.749$) ni para el número de segmentos ($P = 0.192$). En las pruebas "Post Hoc", el "Test de Tukey B" muestra dos subconjuntos en el número de brotes y de segmentos, uno para los meses uno y cinco (sin diferencias significativas entre sí) y otro para el mes tres, diferente significativamente con respecto a los meses uno y cinco (ver Anexos 3 y 4); y tres subconjuntos uno para cada uno de los meses (con diferencias significativas entre los tres) en la altura del brote (ver Anexo 5).

▪ Cultivos a partir de yemas de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad

El porcentaje de contaminación fue moderado inicialmente (20,83%) y bajo posteriormente (9,25%). La sobrevivencia fue relativamente alta 64,58% (Tabla 12). Los coeficientes de multiplicación (Tabla

13) presentaron buenos valores para esta especie. Con alguna frecuencia, a partir del quinto mes de subcultivo, las hojas de los brotes superaban en longitud la altura de los tallos, el extremo de los folíolos de estas tocaban la superficie del medio de cultivo o se introducían en él, provocando un levantamiento del tallo una vez que la hoja continuaba creciendo. En consecuencia debimos aislar estos explantos en condiciones estériles y recortarles esa gran hoja. La apariencia de estos brotes varió en comparación a los brotes procedentes de semillas; y además la población era menos uniforme en las yemas procedentes del invernadero, pues un pequeño grupo de explantos mostraban un vigor y tamaño notablemente superior a los otros. La dureza del tallo fue mayor en estos brotes que en los de semilla.

El medio de cultivo que empleamos fue el mismo que para el ensayo de semilla. La reactividad de las yemas que provenían de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad se empezó a observar a los cinco días, cuando las yemitas de los nudos empezaban a aumentar su tamaño unos pocos milímetros. A las dos semanas más del 50% de la población evaluada tenía las yemas de los nudos desarrolladas (Tabla 12).

El Anova (ver Anexo 6) muestra que hay diferencias significativas entre los meses de subcultivo para el número de brotes ($P=0.037$), el número de segmentos ($P=0.027$) y la altura del brote ($P=0.001$). En las "Comparaciones por pares" no hay diferencias significativas entre los meses tres y cinco para el número de brotes ($P=0.491$) y para el número de segmentos ($P=0.663$) (ver Anexo 7). El "Test de Tukey B" de las "Pruebas Post Hoc" (ver Anexos 8, 9 y 10), muestra dos subconjuntos en el número de brotes y el número de segmentos, uno para el mes uno y el otro para los meses tres y cinco, o sea que el mes uno es diferente significativamente con respecto a los meses tres y cinco; y tres subconjuntos en la altura del brote, uno para cada uno de los meses de subcultivo, o sea que hay diferencias significativas entre los tres meses de medida.

▪ **Cultivos a partir de yemas de plantas de invernadero de doce meses de edad**

La manipulación de los explantos procedentes de plantas de doce (Figura 7) o más meses se complicó a la hora de excisionarlos para introducirlos en el medio de cultivo, pues los tallos ya eran lo suficientemente leñosos para el corte con bisturí. El porcentaje de contaminación de estas yemas en los cultivos iniciales aumentó a 22,22% y el porcentaje de sobrevivencia disminuyó ligeramente (Tabla 12).

El Anova del Modelo Lineal General opción Multivariante (ver Anexo 11), muestra que hay diferencias significativas entre los meses de subcultivo para el número de brotes, el número de segmentos y la altura del brote ($P=0.001$). Sin embargo la "Comparación por Pares" muestra que no hay diferencias significativas entre los meses uno y tres para el número de brotes ($P=0.314$) (ver Anexo 12). El "Test de Tukey B" de las "Pruebas Post Hoc" (ver Anexos 13, 14 y 15) señala dos subconjuntos en el número de brotes, uno para los meses uno y tres y otro para el mes cinco; y tres subconjuntos para cada uno de los meses en el número de segmentos y la altura del brote.



Figura 6. Brote *in vitro* procedente de semilla de *Cedrela odorata* cultivada *in vitro*.

Figura 7. Brote *in vitro* procedente de yemas de plantas de invernadero de doce meses de *Cedrela odorata*.

▪ Cultivos a partir de yemas de plantas de invernadero de catorce meses de edad

El porcentaje de contaminación de estas yemas supera el 50% (59.28%) y la sobrevivencia de los brotes es baja (18,75%) (Tabla 12). Según el Anova (ver Anexo 16) no hay diferencias significativas entre los meses de subcultivo en el número de brotes ($P=1.00$), el número de segmentos ($P=1.00$) y la altura del brote ($P=0.146$). Las “Comparaciones por Pares” (ver Anexo 17) tampoco muestran diferencias significativas. El Test de Tukey B (ver Anexos 18, 19 y 20) muestra un solo subconjunto en los tres casos, el número de brotes, el número de segmentos y la altura del brote.

Posterior al análisis estadístico individualizado para cada edad, se realizó otro tipo de análisis que comparara todas las edades de origen, también con el “Modelo Lineal General” pero con la opción “Medidas repetidas”. El análisis se realizó para cada una de las variables por separado (número de brotes, número de segmentos y altura de los brotes). El factor edad ejerce un efecto significativo en el número de brotes ($P=0.014$) (ver Anexo 21), lo mismo que el factor subcultivo ($P=0.001$). La interacción entre estos dos factores es significativa ($P=0.001$). Con relación al número de segmentos (ver Anexo 22) el factor edad no tiene efecto significativo sobre esta variable ($P=0.107$), el factor subcultivo si tiene efecto significativo ($P=0.001$) y la interacción de los dos factores es significativa ($P=0.003$). En cuanto a la altura de los brotes el Anova de las “Medidas repetidas” (ver Anexo 23) indica que el factor edad si ejerce efecto significativo sobre la altura ($P=0.001$) lo mismo que el factor subcultivo ($P=0.001$); y la interacción entre los dos factores es significativa ($P=0.001$).

▪ Resumen del establecimiento *in vitro*

Como muestra la Tabla 13, los mayores coeficientes de multiplicación durante la fase de establecimiento los presentaron los explantos provenientes de las yemas de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad, seguidos del el material proveniente de semilla.

Es notorio que desde el quinto mes de subcultivo *in vitro* los explantos de todas las edades alcanzaron unos porcentajes de sanidad elevados, éstos se encontraron prácticamente libres de patógenos.

El medio de cultivo resultó óptimo en los diferentes ensayos, lo mismo que la concentración de sacarosa, las diferencias se debieron principalmente a la edad.

El agar Sigma al 3% fue el soporte más adecuado para el desarrollo de *C. odorata*. Ensayos previos no incluidos en este informe, con agar *vitro*, a la misma concentración dio como resultado la muerte de aproximadamente el 80% de la población. Las plántulas mostraron muy mal aspecto y poco crecimiento, además no resistieron el tercer subcultivo. La supervivencia de los explantos se vio notoriamente disminuida. El aspecto de las hojas también desmejoró.

El tiempo de permanencia más recomendable del explanto de *C. odorata* en el medio de cultivo es de cuatro semanas; en este tiempo el explanto (inicialmente desprovisto de todas las hojas), recupera la producción de las mismas y el segmento alcanza un crecimiento razonable hasta formar un nuevo brote. Cuando ensayamos dejarlo tres semanas, el segmento no había recuperado el crecimiento totalmente, además los costes del medio de cultivo aumentaban; y cuando lo dejamos

cinco semanas, las plántulas habían agotado los nutrientes, la fuente de carbono y los reguladores de crecimiento del medio, entonces las hojas y tallitos se tornaban amarillentos.

En cuanto a los reguladores de crecimiento, las citoquininas BA ($1,0 \text{ mgL}^{-1}$) + kinetina $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ resultaron óptimos en los primeros subcultivos, especialmente para las yemas del invernadero, las plántulas se mostraban vigorosas; no obstante en el quinto mes notamos que las concentraciones mencionadas resultaban un poco altas, en la base de los tallitos se empezaba a formar callo semicompacto de color amarillento o engrosamiento compacto de la base del mismo tallito.

Los tubos de ensayo que utilizamos para el establecimiento resultaron satisfactorios, fue una manera eficaz de evitar que la contaminación de un explanto afectara a los otros. Los explantos respondieron muy bien a este tipo de recipiente durante los primeros subcultivos cuando los brotes alcanzaban tamaños moderados. El cedro rosado no mostró problemas de exudación de fenoles por consiguiente el medio de cultivo MS no requirió mayores aditivos. Cuando se realiza la multiplicación de brotes en *C. odorata*, las yemas apicales suelen presentar mayor velocidad de crecimiento que las yemas axilares. Cuanto más basal está la yema axilar en el explanto y alejada de la apical, tiene menor crecimiento. Después de la multiplicación, la yema apical creció mas cuando estuvo acompañada de la yema lateral más próxima a ella.

En el proceso de multiplicación de esta especie es conveniente dejar los brotes de tamaño mayor a 0.5 cm, los brotes muy chicos no alcanzaban a recuperarse y crecer de nuevo, produciendo baja viabilidad; mientras que los brotes mayores de 0,7 o 0,8 cm tenían mayor crecimiento y capacidad de regenerar nuevos brotes con hojas. Después de cada paso de multiplicación, los pecíolos de las hojas eliminadas sufrían abscisión. Comúnmente los explantos poseían un promedio de cuatro a siete hojas. Con la adición al medio de cultivo de BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ + $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de kinetina, se observó que cuanto mayor era la concentración de citoquinina mayor era la producción de brotes pero la longitud del brote era menor. Aunque cuando se adicionó $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ la respuesta de los brotes fue negativa, éstos se invadieron de callo.

La Figura 8A muestra que el tipo de curva para el número de brotes en *Cedrela odorata* es distinto según la edad de origen del explanto. Por ejemplo en el caso del material procedente de semilla, durante los cinco primeros meses la curva tiene una tendencia normal o gaussiana. En el caso de las yemas de cuatro meses, la curva es menos acampanada, la producción de brotes se mantiene más estable a través de los cinco meses. En cambio las distribuciones de los meses doce y catorce son asimétricas, mientras en las yemas de doce meses la tendencia es a aumentar el número de brotes a partir del tercer mes de subcultivo, en las yemas de catorce meses sucede lo contrario, disminuye la producción de brotes. Esta descripción es muy similar para el número de segmentos, ya que la producción de segmentos no aventaja considerablemente al número de brotes (Figura 8B). La gráfica del número de brotes, el número de segmentos y la altura del brote ya muestra que hay diferencias significativas en el tercer mes de subcultivo entre el origen semilla y los orígenes cuatro, doce y catorce meses, aunque en el primer mes de subcultivo todos los orígenes tienen valores similares. Por otro lado, la altura del brote es muy superior en el material originario de semilla el tercer mes de subcultivo, comparado con la altura del brote de las yemas del invernadero.

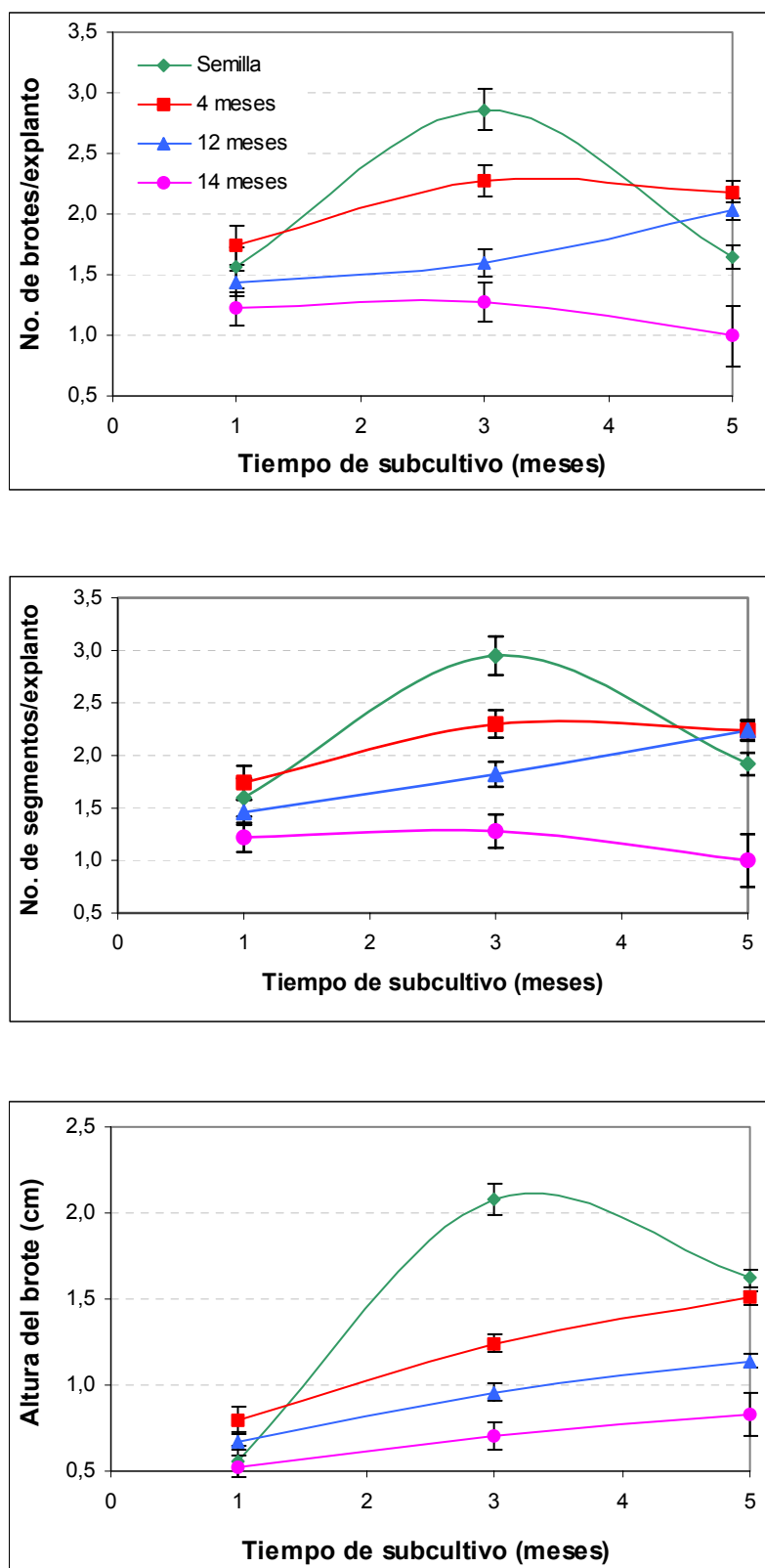


Figura 8. Efecto de la edad de origen del explanto de *Cedrela odorata* sobre la productividad en la etapa de establecimiento

1.2 *Cedrela montana*

▪ Cultivos partir de semilla

Aunque aumentamos los tiempos de imbibición y esterilización, así como las concentraciones de alcohol y lejía, los lotes de semilla de cedro de monte fueron imposibles de esterilizar. Varios lotes ensayados venían con contaminación interna considerable, por ello los intentos de trabajar directamente con ella en cultivo *in vitro* fueron inútiles. Sin embargo, cuando sembrábamos semillas de estos mismos lotes, en invernadero y fitotrón presentaba porcentajes de germinación superiores al 70%.

TABLA 14. Efecto de la edad de la planta madre sobre la contaminación y la sobrevivencia de *Cedrela montana*.

Edad explanto original (meses)	Mes de subcultivo	Explantos iniciales	Contaminación (%)	Sobrevivencia (%)
Semilla			100	0
9	3	24	20	62.5
	5	18	0	83.33
12	3	48	30,00	25,00
	5	12	0	83,33
	7	11	0	81,81

▪ Cultivos a partir de yemas de plantas de invernadero de nueve meses de edad

La reactividad *in vitro* del material de campo de yemas provenientes de plantas de invernadero de nueve meses se empezó a observar a los diez días de cultivo. El porcentaje de contaminación (Tabla 14) es relativamente bajo (20%). Según el Anova del MLG opción Multivariante (ver Anexo 24), tanto el número de brotes como el número de segmentos ($P=0.057$ en ambos) se encuentran en un límite entre la diferencia significativa o no entre los subcultivos. Pero para la altura del brote si hay diferencia significativa entre los subcultivos ($P=0.001$). Las “Comparaciones por Pares” muestran los mismos valores mencionados antes (ver Anexo 25).

Los coeficientes de multiplicación son relativamente bajos (0.75 y 1.38) (Tabla 15). La población es poco uniforme, algunas plántulas presentan buena forma y crecimiento mientras que otras se muestran endebles. Más aún en esta especie se suele producir callo en la base de los tallos (Figura 9). Los explantos son susceptibles a la carencia de nutrientes especialmente después de la tercera semana de cambio a medio fresco, produciéndose amarillamiento de tallos y hojas. La estructura del explanto se ve alterada con relativa facilidad en las plántulas que muestran poca capacidad de sobrevivencia.

TABLA 15. Efecto de la edad de la planta madre sobre el establecimiento *in vitro* de *Cedrela montana*. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Edad explanto original (meses)	Mes de subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura del brote más largo por explanto (Cm)	Coefficiente de multiplicación
Semilla		0	0	0	0
9	3	1,20 $\pm$ 0,41 ^a	1,20 $\pm$ 0,41 ^b	0,72 $\pm$ 0,38 ^c	0,75
	5	1,66 $\pm$ 0,61 ^a	1,66 $\pm$ 0,61 ^b	1,16 $\pm$ 0,40 ^d	1,38
12	3	1,00 $\pm$ 0,00 ^e	1,00 $\pm$ 0,00 ^f	0,54 $\pm$ 0,09 ^g	0,25
	5	1,10 $\pm$ 0,31 ^e	1,10 $\pm$ 0,31 ^f	0,60 $\pm$ 0,14 ^g	0,91
	7	1,00 $\pm$ 0,00 ^e	1,00 $\pm$ 0,00 ^f	0,73 $\pm$ 0,30 ^g	0,81

Las letras distintas de los superíndices señalan diferencias significativas entre los meses de subcultivo para las tres variables, evaluadas de forma individual. Alfa= 0,05

▪ Cultivo a partir de yemas de plantas de invernadero de doce meses de edad

La contaminación es un poco mayor que en el caso anterior (30%) y la sobrevivencia es baja (Tabla 14). El Anova del MLG opción Multivariante (ver Anexo 26) muestra que no hay diferencias significativas entre los subcultivos para el número de brotes y de segmentos ($P=0.362$ en ambos), ni para la altura del brote ($P=0.094$). Sin embargo las “Comparaciones por Pares” muestran una diferencia significativa en la altura del brote para los meses uno y cinco ($P=0.033$) (ver Anexo 27). El “Test de Tukey B” de las “Pruebas Post Hoc” (ver Anexo 28, 29 y 30) muestra un solo subconjunto que incluye los tres meses de subcultivo, lo que significa que no hay diferencias significativas entre ellos.

El aspecto de los brotes del cedro de montaña es regular, los tallos y las hojas se tornan de color verde transparente y quebradizos, la base siempre se encuentra rodeada de callo haciendo que la altura de los brotes no pueda aumentar a través de cada subcultivo. Las líneas establecidas a partir de estas yemas las descartamos por la fragilidad y endeblez de los cultivos.

▪ Resumen del establecimiento *in vitro*

En general, en presencia de la BA 1,0 mgL⁻¹ + kinetina 1,0 mgL⁻¹, los explantos de *C. montana* formaron un tejido calloso en casi toda la superficie del tallo ocasionando una lesión en la epidermis de la base de los tallos, sobre todo a partir del tercer subcultivo, y de prácticamente todo el tallo en el quinto subcultivo. Esto trajo como consecuencia que el porcentaje de viabilidad de la especie descendiera drásticamente. En *C. montana* era constante que la forma de las hojas sufriera cierta deformación bajo la influencia de las concentraciones de estas citoquininas. Otra característica fue que el crecimiento de ellas regularmente sobrepasaba al del tallo.

La respuesta de *C. montana* al cultivo *in vitro*, comparada con *C. odorata*, es menos eficiente cuando las sometimos a las mismas condiciones. De igual forma, la viabilidad de los explantos se vio afectada mayormente con la edad de las plantas donadoras; a mayor edad mayor fue la tasa de mortalidad de las yemas de los nudos. Las plántulas de cedro de monte a los doce meses ya se vuelven leñosos. También se reduce la capacidad de producción de brotes en las plantas de más

edad. Los explantos más juveniles presentan con mayor frecuencia coeficientes de multiplicación más altos. Cuando se evaluó una concentración mayor de BA, $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ (no mostrado aquí) resultó aún más perjudicial para la sobrevivencia de los explantos, pues a los quince días los nudos estaban completamente deformados por la formación de callo que afectaban también a las yemas. Este material se descartó totalmente.

El tamaño del explanto original al momento del establecimiento fue importante pues la yema debía estar acompañada de parte del tejido del tallo para que le sirviera a la yema de soporte y de reserva de nutrientes, pero al mismo tiempo no debía excederse en tamaño, pues una mayor superficie se convertía en foco de infecciones.

Al momento de cortar el tejido de tallo de las yemas provenientes de plantas de doce meses se presentaron dificultades ya que los tallos eran leñosos. Los brotes de *C. montana* son bastante sensibles a la adición de citoquininas, aunque algunos sobreviven el aspecto general de la población es regular, sólo sobresale un pequeño porcentaje de brotes realmente vigorosos, la tasa de brotes viables es menor que la de *C. odorata*, los explantos se tornan frágiles y amarillentos.

1.3 *Chlorophora tinctoria*

▪ Cultivos a partir de semilla

El porcentaje de contaminación de la semilla de dinde (Tabla 16) es bajo y el porcentaje de sobrevivencia es relativamente alto inicialmente (79,16%), posteriormente la sobrevivencia de las plántulas va disminuyendo considerablemente. Los coeficientes de multiplicación (Tabla 17) son bajos (1,20; 0,86 y 0,53).

TABLA 16. Efecto de la edad de la planta madre sobre los porcentajes de contaminación y sobrevivencia *in vitro* de *Chlorophora tinctoria*.

Edad explanto original	Mes de subcultivo	Explantos iniciales	Contaminación (%)	Sobrevivencia (%)
Semilla	3	48	4,16	79,16
	5	58	5,17	68,96
	7	50	4,00	44,00
4	1	48	15,78	60,41
	3	48	16,00	47,91
6	1	48	17,85	41,66
	3	38	18,18	71,05
7	1	48	20,00	68,75

El Anova del MLG opción Multivariante (ver Anexo 31) muestra que hay diferencias significativas en el número de brotes ($P=0.012$), el número de segmentos ($P=0.012$) y la altura del brote ($P=0.001$) a través de los subcultivos. Pero las “Comparaciones por Pares” muestran que no hay diferencias significativas entre los meses cinco y siete para el número de brotes y el número de segmentos ($P= 0.903$ en ambos), ni entre estos mismos meses para la altura del brote ($P= 0.20$) (ver

anexo 32). El “Test de Tukey B” de las pruebas “Post Hoc” muestra dos subconjuntos, uno para el mes tres y otro para los meses cinco y siete (ver Anexos 33, 34 y 35).

El aspecto de los brotes es endeble, los tallos son muy delgados. La sobrevivencia y la producción eran muy bajos de modo que decidimos no continuar con este ensayo. Es de anotar que la semilla de dinde sólo tiene unos pocos milímetros de tamaño y que igualmente las plántulas que produce *in vitro* son de tamaño pequeño con tallitos muy delgados que resistieron muy poco los subcultivos.

TABLA 17. Efecto de la edad de la planta madre sobre el establecimiento *in vitro* de *Chlorophora tinctoria*. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Edad explanto original	Mes de subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura del brote más largo por explanto (Cm)	Coefficiente de multiplicación
Semilla	3	$1,52 \pm 0,55^a$	$1,52 \pm 0,55^c$	$0,73 \pm 0,18^d$	1,20
	5	$1,25 \pm 0,43^b$	$1,25 \pm 0,43^{ch}$	$0,85 \pm 0,18^e$	0,86
	7	$1,22 \pm 0,42^b$	$1,22 \pm 0,42^{ch}$	$0,91 \pm 0,25^e$	0,53
4	1	$3,31 \pm 1,60^f$	$3,31 \pm 1,60^h$	$0,29 \pm 0,98^j$	1,99
	3	$2,52 \pm 1,34^g$	$2,52 \pm 1,34^i$	$1,00 \pm 0,31^j$	1,20
6	1	$1,60 \pm 0,59^k$	$1,90 \pm 0,64^l$	$1,01 \pm 0,41^m$	0,79
	3	$1,51 \pm 0,64^k$	$1,55 \pm 0,69^l$	$1,20 \pm 0,57^m$	1,10
7	1	$1,63 \pm 0,65$	$1,75 \pm 0,61$	$0,96 \pm 0,24$	1,20

Los superíndices muestran las diferencias de forma individualizada tanto para cada una de las variables como para cada una de las edades de origen, letras distintas señalan diferencias significativas. Test de Tukey B, alfa= 0,05

▪ Cultivos a partir de yemas de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad

La contaminación de los explantos iniciales derivados de plántulas de invernadero de cuatro meses (Tabla 16) es relativamente baja (15,78%), la sobrevivencia supera el 50% (60,41%) y el coeficiente de multiplicación es moderado (1,99%) (Tabla 17). El aspecto de los brotes era vigoroso de color verde oscuro, con buena producción de brotes y hojas por explanto, aparte resistían bien los subcultivos aunque los explantos fueran pequeños.

Según el MLG opción Multivariante, para esta edad no hay diferencias significativas entre los meses de subcultivo para el número de brotes y el número de segmentos ($P=0.026$ en ambos casos), pero si hay diferencias en la altura del brote ($P=0.718$), (Anexo 36). Las “Comparaciones por Pares” de los meses de subcultivos también muestran los mismos valores de significancia (ver Anexo 37).



Figura 9. Brote procedente de yemas de plantas de invernadero de *Cedrela montana* de nueve meses de edad.

Figura 10. Brote procedente de yemas de plantas de invernadero de *Chlorophora tinctoria* de siete meses de edad.

▪ Cultivos a partir de yemas de plántulas de invernadero de seis y siete meses de edad

Los porcentajes de contaminación de las yemas provenientes de plantas de invernadero de seis y siete meses son moderados (17,85 y 20%) respectivamente (Tabla 16). Aunque la apariencia de los explantos era buena (Figura 10), la producción de brotes disminuyó con relación a los procedentes de plantas de cuatro meses de edad.

El MLG opción Multivariante, muestra que para los cultivos de seis meses no hay diferencias significativas en el número de brotes a través de los distintos meses de subcultivos ($P=0.629$) ni para la altura del brote ($P=0.187$), en cambio si la hay para el número de segmentos ($P=0.081$) (ver Anexo 38). Las “Comparaciones por pares” muestran los mismos valores (ver Anexo 39).

En el caso de *Chlorophora tinctoria* también se hizo el análisis estadístico posterior al individual para cada edad, que compara las diferencias entre las edades de origen, igualmente con el “Modelo Lineal General” pero con la opción “Medidas repetidas”. Se compararon los meses cuatro y seis en los subcultivos uno y tres, y se encontró que existe un efecto significativo del factor edad sobre el número de brotes ($P=0.017$), también hay un efecto significativo del factor subcultivo sobre el número de brotes ($P=0.046$), pero la interacción edad por subcultivo no resultó significativa ($P=0.237$) (ver Anexo 40). En el caso del número de segmentos el comportamiento es similar: el factor edad tiene un efecto significativo sobre el número de segmentos ($P=0.035$), el factor subcultivo también ($P=0.009$), sin embargo la interacción edad por subcultivo no es significativa ($P=0.472$) (ver Anexo 41). Respecto a la altura de los brotes, el Anova indica que el factor edad no tiene efecto significativo sobre la altura de los mismos ($P=0.404$), como tampoco el factor subcultivo ($P=0.316$). La interacción edad por subcultivo no es significativa ($P=0.533$) (ver Anexo 42).

▪ Resumen del establecimiento *in vitro*

Como comentario general para esta especie se puede decir que las semillas de dinde escarificadas previamente y que se sembraron en invernadero, tuvieron buena respuesta de germinación y de crecimiento de las plántulas, estas se mostraron siempre vigorosas y de color verde oscuro.

Por otro lado, la respuesta al establecimiento *in vitro* de las yemas de esta especie fue buena, aunque los brotes siempre fueron de tamaño pequeño poseían buena forma y vigor. Una característica particular es la producción de hojitas abundante (cinco a nueve por explanto). El dinde presenta buena uniformidad en el crecimiento de los brotes dentro de una población, son pocos los ejemplares que sobresalen de los demás, no obstante son muy sensibles a la carencia de nutrientes pues se tornan amarillentos y quebradizos con caída de hojas, llegando a malograrse varios individuos sin conseguir recuperarlos.

La concentración de BA más aceptada por los brotes fue $1,0 \text{ mgL}^{-1}$, con ésta se mostraban más vigorosos que cuando se adicionó al medio solamente $0,5 \text{ mgL}^{-1}$. Aunque el crecimiento en longitud fuera poco, el cultivo se mantuvo vigoroso con $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. Cuando se aumentó la concentración a $2,0 \text{ mgL}^{-1}$, la producción de brotes aumentó pero también lo hizo la formación de

callo en los tallitos, por lo que el crecimiento disminuyó más. Constatamos que esta especie requiere mayor concentración de citoquinina durante los subcultivos que *C. odorata* y *C. montana*.

1.4 *Quercus humboldtii*

▪ Cultivos a partir de semilla

Los lotes de semilla del roble colombiano presentaron tres problemas, primero la viabilidad no sobrepasa un mes; segundo, la esterilización de las semillas es difícil, y tercero, los cotiledones sueltan al medio bastante tanino color violeta. Estas tres causas impidieron el desarrollo normal *in vitro*.

Debido a que el tercer lote de semilla ya venía germinado, se tuvo que sembrar directamente en el fitotrón y después trabajarlas *in vitro* a partir de yemas. El porcentaje de germinación de las semillas de roble colombiano en fitotrón es alto cuando tienen menos de un mes de almacenamiento; las plantas se muestran sanas y vigorosas. Con estas yemas se redujo el problema de contaminación considerablemente.

TABLA 18. Efecto de la edad de la planta madre sobre los porcentajes de contaminación y sobrevivencia de *Quercus humboldtii*.

Edad explanto original (meses)	Mes de subcultivo	Explantos iniciales	Contaminación (%)	Sobrevivencia (%)
Semilla	1	24	50	0
2	1	24	16,66	62,50
	3	36	12,5	79,16
	5			
6	1	48	22,91	43,75
	3	21	14,28	66,66
	5	17	0	70,58

▪ Cultivos a partir de yemas de plántulas de invernadero de dos meses de edad

El porcentaje de contaminación (Tabla 18) es moderado (16,66%) y la sobrevivencia sobrepasa el 50% (62,50%). Los coeficientes de multiplicación son aceptables (1,50 y 2,08) (Tabla 19). Según el MLG opción Multivariante en los meses de subcultivo hay diferencias significativas para el número de brotes y la altura del brote ($P=0.001$ en ambos) pero no la hay para el número de segmentos ($P=0.270$) (ver Anexo 43). La “Comparación por pares” muestra que hay diferencias significativas entre los meses dos y tres en el número de brotes y en la altura ($P=0.001$), pero no hay diferencias entre los meses en el número de segmentos ($P=0,270$) (ver Anexo 44).

La apariencia del cultivo es bueno, los brotes se aprecian vigorosos, con moderada producción de brotes y de hojas. En la base de casi todos los tallos se produce un engrosamiento de color crema inicialmente y luego verde; en algunos aparecen taninos, lo mismo que en otros tallos que no poseen callo en la base.

La estructura de la mayoría de los brotes normalmente es proporcionada. La textura de las hojas es bastante coriácea y la hoja apical mas la subapical sobresale un poco en tamaño con las más bajas. La disposición de los nudos en el tallo está muy próximos entre sí (Figura 11).

TABLA 19. Efecto de la edad de la planta madre sobre el establecimiento *in vitro* de *Quercus humboldtii*. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Edad explanto original (meses)	Mes de subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura brote más largo por explanto (Cm)	Coefficiente de multiplicación
Semilla	1	-	-	-	-
2	1	1,20 $\pm$ 0,56 ^a	2,40 $\pm$ 0,50 ^c	2,62 $\pm$ 0,70 ^d	1,50
	3	2,52 $\pm$ 0,61 ^b	2,63 $\pm$ 0,59 ^c	1,47 $\pm$ 0,35 ^e	2,08
6	1	1,00 $\pm$ 0,00 ^f	1,00 $\pm$ 0,00 ^h	1,26 $\pm$ 0,22 ^j	0,43
	3	1,21 $\pm$ 0,42 ^f	1,21 $\pm$ 0,42 ^h	1,52 $\pm$ 0,54 ^{jk}	0,80
	5	1,91 $\pm$ 0,99 ^g	2,08 $\pm$ 0,99 ⁱ	1,89 $\pm$ 0,69 ^k	1,46

Los superíndices muestran las diferencias de forma individualizada tanto para cada una de las variables como para cada una de las edades de origen, letras distintas señalan diferencias significativas. Alfa= 0,05



Figura 11. Brote *in vitro* procedente de yemas de plántulas de invernadero de *Quercus humboldtii* de dos meses de edad.

▪ **Cultivos a partir de yemas de plántulas de invernadero de seis meses de edad**

El porcentaje de contaminación de estas yemas aumenta un poco (22,91%) y la sobrevivencia disminuye (43,75%) (Tabla 18). Los coeficientes de multiplicación son bajos. El MLG opción Multivariante indica que hay diferencias significativas entre los meses de subcultivos tanto para el número de brotes y segmentos ($P=0.001$ en ambos) como para la altura del brote ($P=0.012$) (ver Anexo 45). Las “Comparaciones por Pares” muestran que no hay diferencias significativas entre los meses de subcultivo uno y tres tanto para el número de brotes como para el número de segmentos ($P=0.225$ en ambos). En el caso del número de brotes hay diferencias significativas entre los meses uno y cinco ($P=0.001$) y los meses tres y cinco ($P=0.004$) (ver Anexo 46). En el caso del número de segmentos hay diferencias significativas entre los meses uno y cinco y tres y cinco ($P=0.001$ en ambos). En cuanto a la altura del brote, no hay diferencias significativas entre los meses uno y tres ($P=0.104$) y tres y cinco ($P=0.145$). Entre los meses uno y cinco no hay diferencias significativas ($P=0.004$). El “Test de Tukey B” para el número de brotes y de segmentos agrupa los meses uno y tres en un subconjunto y al mes cinco en el segundo subconjunto. En el caso de la altura del brote, agrupa en el subconjunto uno al mes uno, en el subconjunto dos al mes cinco, y al mes de subcultivo tres lo agrupa en ambos subconjuntos (ver Anexos 47, 48 y 49).

A pesar de que se hizo esfuerzo por conservar este cultivo finalmente no se consiguió porque los brotes empezaron a ennegrecerse en mayor abundancia después del quinto mes. En consecuencia, su capacidad de adaptación al cultivo *in vitro* se redujo a unos cuantos individuos que resultaron más vigorosos que el resto de la población. Buena parte de estos brotes empezaban a tener síntomas de ennegrecimiento.

▪ **Resumen del establecimiento *in vitro* de las especies estudiadas**

Analizando la etapa de establecimiento de las cuatro especies, se deduce en general que la respuesta *in vitro* disminuye de forma significativa cuando la edad de origen del explanto aumenta, partiendo desde semilla hasta las yemas de catorce meses de edad. Por ejemplo, *C. odorata* empieza a tener características adultas desde el primer año de edad.

El mayor porcentaje de contaminación lo presentaron las semillas debido a la contaminación endógena. El segundo material más contaminado fueron las yemas de catorce meses de edad. A medida que aumentaba la edad de las yemas del mismo modo lo hacía la contaminación. En general se encontraron diferencias en la reactividad de los explantos, los coeficientes de multiplicación fueron mayores cuando la edad era menor. A partir del cuarto subcultivo se empezó a notar que la base de los tallos de los explantos se engrosaban de forma anormal o se formaba callo.

Debido a que las cuatro especies evaluadas en esta investigación poseen poco o nulos antecedentes bibliográficos *in vitro*, decidimos trabajar con muestras poblacionales heterogéneas, cuyos resultados consideramos pueden extrapolarse a una población real. En este caso no se tenía interés específico en un clon determinado, pues la necesidad era la de estandarizar las técnicas *in vitro* generales a cada una de las especies.

A grosso modo para las cuatro especies, aunque no se tomaron medidas cuantitativas por separado para los explantos que provenían de los ápices y de los nudos, se observó que los que procedían de los ápices presentaban un crecimiento ligeramente más acelerado, seguido por los del primer nudo adyacente al ápice. Los que provenían del tercer nudo resultaron poco reactivos sobre todo cuando la edad de la planta aumentó y el grosor del tallo era mayor. Cabe anotar, que de las cuatro especies trabajadas, *C. odorata* resultó ser la más fácil de establecer en cultivo *in vitro*, aparte de que requiere poca concentración de citoquinina para desarrollarse completamente, su respuesta es relativamente rápida, con buen vigor y crecimiento. La producción de brotes es buena en los primeros meses, aunque requiere de medio fresco completo cada cuatro semanas.

En función de los resultados obtenidos durante la fase de establecimiento de los explantos de las diferentes edades, se decidió con cuales se continuarían en la siguiente fase, la de multiplicación.

2. MULTIPLICACIÓN

2.1 *Cedrela odorata*

▪ Cultivo procedente de semilla

Cuando el cultivo alcanzó la estabilidad, las plántulas producidas presentaron buena apariencia, los tallos eran rectos, las hojas (compuestas alternas) se desarrollaron bien, el tamaño de todas sus estructuras solió ser proporcionado, semejando un árbol adulto, el color verde y la producción de brotes fue aceptable para la especie. El aspecto general del cultivo fue muy bueno entre los meses siete al trece, cuando la población estaba bastante estable. La producción de hojas también era buena; visualmente se apreciaba un promedio de cuatro a siete hojas por explanto. El tamaño de la población que se empleó fue $n=100$ explantos por ensayo, y el medio MS adicionado con BA 0,2 mgL⁻¹. Los datos se obtuvieron durante varios subcultivos.

Los meses nueve y once presentaron la mejor producción de brotes por explanto en el cedro rosado (Tabla20), con 2,61 y 2,44 respectivamente. La mejor producción de segmentos, que coincidió con el coeficiente de multiplicación, se presentó durante el noveno mes de subcultivo con 2,62.

En el caso del cedro rosado de origen semilla, la longitud de los brotes aumentaba gradualmente con el número de subcultivos y alcanzaban mayor estabilidad con el tiempo. Sin embargo, desde los meses de subcultivo dieciséis al veinte, en realidad se observó que aunque la longitud de los explantos continuó aumentando, no se produjo de igual manera un incremento en el número de segmentos, el crecimiento de estos explantos se dio más por elongación de los entrenudos que por un aumento en el número de nudos. A partir del mes dieciséis la calidad de los explantos disminuyó en comparación con los brotes de los cultivos iniciales, los tallos se tornaron delgados, endebles y amarillentos; las hojas también perdieron color y su cantidad disminuyó. Aún así no se presentaba mortalidad, estos seguían sobreviviendo. Por la anterior razón cuando los brotes alcanzan un mayor tamaño necesitan ser transferidos a medio fresco cada tres semanas en vez de cuatro, pues consumen los nutrientes del medio más rápidamente provocándose la elongación de los entrenudos.

El Anova del Modelo Lineal General, opción Multivariante (ver Anexo 50) (con un nivel de confianza de 95%), para los meses de subcultivo, muestra que hay diferencias significativas en el número de brotes ($P=0.001$), en el número de segmentos ($P=0.018$) y en la altura del brote ($P=0.001$).

TABLA 20. Efecto de la edad de la planta madre sobre la multiplicación de *Cedrela odorata*. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Edad del explanto original (meses)	Mes de subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura del brote más largo por explanto (cm)	Coefficiente de multiplicación
Semilla	7	1,79 $\pm$ 0,64 ^a	2,51 $\pm$ 0,90 ^{ef}	1,52 $\pm$ 0,28 ^g	2,51
	9	2,61 $\pm$ 1,25 ^d	2,62 $\pm$ 1,24 ^f	1,41 $\pm$ 0,19 ^g	2,62
	11	2,44 $\pm$ 1,04 ^{cd}	2,54 $\pm$ 1,14 ^{ef}	1,57 $\pm$ 0,64 ^g	2,54
	13	2,14 $\pm$ 0,74 ^{bc}	2,33 $\pm$ 0,76 ^{ef}	2,35 $\pm$ 0,59 ^h	2,33
	15	2,22 $\pm$ 0,91 ^{bc}	2,60 $\pm$ 1,07 ^{ef}	2,56 $\pm$ 0,66 ⁱ	2,60
	17	2,23 $\pm$ 0,91 ^{bc}	2,36 $\pm$ 1,04 ^{ef}	3,30 $\pm$ 0,58 ^j	2,36
	19	1,95 $\pm$ 0,68 ^{ab}	2,21 $\pm$ 0,99 ^e	3,36 $\pm$ 0,72 ^k	2,21
4	7	1,49 $\pm$ 0,61 ^m	1,49 $\pm$ 0,61 ^o	1,33 $\pm$ 0,21 st	1,49
	9	1,20 $\pm$ 0,42 ^l	1,20 $\pm$ 0,42 ^p	1,26 $\pm$ 0,22 ^s	1,20
	11	1,46 $\pm$ 0,65 ^m	1,49 $\pm$ 0,68 ^o	1,45 $\pm$ 0,36 ^{tu}	1,49
	13	1,83 $\pm$ 0,88 ⁿ	1,88 $\pm$ 0,90 ^r	1,51 $\pm$ 0,42 ^u	1,88
	15	1,87 $\pm$ 0,77 ⁿ	1,89 $\pm$ 0,79 ^r	1,51 $\pm$ 0,45 ^u	1,89
	17	2,19 $\pm$ 1,08 ⁿ	2,25 $\pm$ 1,09 ^q	1,68 $\pm$ 0,44 ^v	2,25
	19	1,65 $\pm$ 0,60 ^{mn}	1,65 $\pm$ 0,60 ^{or}	1,66 $\pm$ 0,36 ^v	1,65
12	7	1,80 $\pm$ 0,84 ^w	1,80 $\pm$ 0,84 ^{y#}	1,20 $\pm$ 0,31 [*]	1,80
	9	1,60 $\pm$ 0,76 ^{wx}	1,60 $\pm$ 0,76 ^{yz}	1,33 $\pm$ 0,36 [*]	1,60
	11	1,34 $\pm$ 0,63 ^x	1,35 $\pm$ 0,64 ^z	1,28 $\pm$ 0,39 [*]	1,35
	13	1,70 $\pm$ 0,81 ^w	1,80 $\pm$ 0,89 ^{y#}	1,77 $\pm$ 0,71 ^{<}	1,80
	15	1,54 $\pm$ 0,75 ^{wx}	1,73 $\pm$ 0,96 ^{y#}	1,61 $\pm$ 0,51 ^l	1,73
	17	1,78 $\pm$ 0,83 ^w	1,97 $\pm$ 1,17 [#]	1,68 $\pm$ 0,71 ^{l<}	1,97
	19	1,62 $\pm$ 0,82 ^{wx}	1,64 $\pm$ 0,84 ^{yz#}	1,34 $\pm$ 0,41 [*]	1,64

Los superíndices muestran las diferencias de forma individualizada tanto para cada una de las variables como para cada una de las edades de origen, letras distintas señalan diferencias significativas. Test de Tukey B, alfa= 0,05.

El análisis posterior “Comparación por pares” para el número de brotes (ver Anexo 51) muestra diferencias significativas entre el mes de subcultivo siete con respecto a los meses nueve, once, trece, quince y diecisiete ($P < 0.05$ en todas), pero no muestra diferencia significativa entre el mes siete y el mes de subcultivo diecinueve ($P = 0.183$). El mismo tipo de análisis para el mes de subcultivo nueve, muestra que tiene diferencias significativas con los meses siete, trece, quince, diecisiete y diecinueve ($P < 0.05$ en todas), pero entre los meses nueve y once no hay diferencias significativas ($P = 0.157$). El mes de subcultivo trece presenta diferencias significativas con los meses siete, nueve y once ($P < 0.05$ en todas), en cambio no tiene diferencias significativas con los meses quince ($P = 0.505$), diecisiete ($P = 0.453$) y diecinueve ($P = 0.114$). El mes de subcultivo quince presenta diferencias significativas con los meses de subcultivo siete, nueve y diecinueve ($P < 0.05$ en todas), pero no presenta diferencias con los meses once ($P = 0.067$), trece ($P = 0.505$) y diecisiete ($P = 0.934$).

La “Comparación por pares” para el número de segmentos (ver Anexo 51) muestra diferencias significativas entre el mes de subcultivo siete con respecto al mes diecinueve ($P = 0.028$); con los demás meses no tiene diferencias ($P > 0.05$ en todas). El mes de subcultivo nueve muestra diferencias significativas con respecto a los meses trece ($P = 0.034$) y diecinueve ($P = 0.03$), con los

demás meses no tiene diferencias ($P>0.05$ en todas). El mes de subcultivo once muestra diferencia significativa con el mes diecinueve ($P=0.016$), pero no muestra diferencias significativas con los demás meses ($P>0.05$). El mes de subcultivo quince muestra diferencias significativas con los meses trece ($P=0.048$) y el mes diecinueve ($P=0.004$), pero no muestra diferencias significativas con los demás meses ($P>0.05$).

El mismo análisis de la “Comparación por pares” para la altura del brote, muestra diferencias significativas entre el mes de subcultivo siete y los meses trece, quince, diecisiete y diecinueve ($P=0.001$ en todas) y no presentan diferencias con los meses nueve ($P=0.150$) y once ($P=0.571$). El mes de subcultivo nueve muestra diferencias significativas con todos los demás meses ($P=0.05$) excepto con el mes siete ($P=0.150$). Los meses de subcultivo trece y quince presentan diferencias significativas con todos los demás meses ($P<0.05$ en todos). Los meses de subcultivo diecisiete y diecinueve no muestran diferencias significativas entre si ($P=0.471$) pero si tiene diferencias con todos los demás meses ($P=0.001$ en todos), (ver Anexo 51).

En las “Pruebas Post Hoc”, el Test de Tukey B (ver Anexos 52, 53 y 54) para el número de brotes agrupa los meses de subcultivo en cuatro subconjuntos: el primero agrupa los meses siete y diecinueve; el segundo los meses diecinueve, trece, quince y diecisiete; el tercero los meses trece, quince, diecisiete y once, y el cuarto subconjunto agrupa los meses de subcultivo once y nueve. El “Test de Tukey B” para el número de segmentos agrupa los meses de subcultivo en dos subconjuntos: el primero agrupa los meses diecinueve, trece, diecisiete, siete, once y quince, y el segundo los meses trece, diecisiete, siete, once, quince y nueve. El mismo test realiza cuatro subconjuntos para la altura del brote: en el primero agrupa los meses siete, nueve y once; en el segundo el mes trece; en el tercero el mes quince, y en el cuarto los meses diecisiete y diecinueve.

▪ Cultivo procedente de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad

El aspecto del cultivo de estas yemas también fue bueno, los brotes eran vigorosos y el color de tallos y hojas eran de color verde oscuro. La sobrevivencia fue del 100%, aunque la longitud de los explantos y la producción de brotes y segmentos era menor que la del ensayo de semilla (Tabla 20).

Este ensayo, a diferencia del anterior, no presentó crecimiento excesivo de los brotes ni entrenudos demasiado largos, solo ocasionalmente se presentó un pequeño desbalance en el tamaño de las hojas con respecto al tallo, las hojitas más grandes hacían levantar el explanto del agar. El número medio de brotes fue muy similar al número medio de segmentos (Tabla 20).

El Anova del MLG opción Multivariante para los meses de subcultivo (ver Anexo 55) (con un nivel de confianza de 95%), muestra que hay diferencias significativas ($P=0.001$ en todas) tanto para el número de brotes, como para el número de segmentos y la altura del brote a través de todos los subcultivos.

El análisis de “Comparación por pares” muestra las diferencias de forma más específica. Para el número de brotes (ver Anexo 56) muestra que existen diferencias significativas entre el mes de subcultivo siete y los meses nueve, trece, quince y diecisiete ($P<0.05$ en todas), pero entre el mes siete y los meses once ($P=0.768$) y diecinueve ($P=0.116$) no existen diferencias. El mes de subcultivo nueve presenta diferencias significativas con respecto a todos los demás meses ($P<0.05$ en todos). El

mes once presenta diferencias significativas con los meses nueve, trece, quince y diecisiete ($P<0.05$) y no presenta diferencias con los meses siete ($P=0.768$) y diecinueve ($P=0.062$). El mes trece muestra diferencias significativas con todos los meses ($P<0.05$) menos con los meses quince ($P=0.694$) y diecinueve ($P=0.077$). El mes diecinueve muestra diferencias significativas con los meses nueve, quince y diecisiete ($P<0.05$), con los otros meses no hay diferencias.

La “Comparación por pares” para el número de segmentos (ver Anexo 56) señala diferencias significativas entre el mes de subcultivo siete y los meses nueve, trece, quince y diecisiete ($P<0.05$ en todos), en cambio el mes siete no presenta diferencias significativas con los meses once y diecinueve. Los meses de subcultivo nueve y diecisiete no muestran diferencias significativas con todos los demás meses ($P<0.05$ en todos). El mes de subcultivo trece tiene diferencias significativas con todos los demás meses ($P<0.05$) excepto con el quince ($P=0.922$); del mismo modo el mes quince tiene diferencias significativas con todos los demás meses ($P<0.05$) excepto con el trece.

La “Comparación por pares” del MLG Multivariante analiza las diferencias entre los meses de subcultivo de forma más detallada. Para la altura del brote (ver Anexo 56) muestra diferencias significativas entre el mes siete y todos los demás meses ($P<0.05$) excepto con el mes nueve ($P=0.149$). De igual forma sucede entre el mes de subcultivo nueve con los demás meses, tiene diferencias significativas con todos menos con el siete. El mes de subcultivo once muestra diferencias significativas con los meses siete, nueve, diecisiete y diecinueve ($P<0.05$ en todos), pero no muestra diferencias con los meses trece ($P=0.161$) y quince ($P=0.167$). El mes quince tiene diferencias significativas con los meses siete, nueve, diecisiete y diecinueve ($P<0.05$ en todos) y no presenta diferencias con los meses once ($P=0.167$) y trece ($P=0.983$). El mes diecinueve posee diferencias significativas con todos los demás meses ($P<0.05$ en todos) excepto con el mes diecisiete ($P=0.671$).

El “Test de Tukey B” hecho para el número de brotes y para el número de segmentos (ver Anexo 57 y 58) da como resultado cuatro subconjuntos en ambos: en el primero agrupa el mes nueve; en el segundo agrupa los meses siete, once y diecinueve; en el tercer subconjunto agrupa los meses trece, quince y diecinueve; y en cuarto subconjunto al mes diecisiete. El mismo test hecho para la altura del brote (ver Anexo 59) también da como resultado cuatro subconjuntos, pero agrupa los meses de forma distinta: en el primero subconjunto agrupa los meses siete y nueve; en el segundo los meses siete y once; en el tercero los meses once, trece y quince; y en el cuarto los meses diecisiete y diecinueve.

▪ Cultivo procedente de plantas de invernadero de doce meses de edad

Este ensayo también presentó brotes de buen aspecto aunque ligeramente menos vigorosos que los de los dos ensayos anteriores. Fue el ensayo que costó mas tiempo en estabilizar su población pues aproximadamente el 30% de los brotes mostraban mayor tamaño que las demás de su misma población, aunque a simple vista la producción de brotes es buena (Tabla 20).

El MLG opción Multivariante indica que hay diferencias significativas en los distintos meses de subcultivo tanto para el número de brotes y de segmentos como para la altura del brote ($P=0.001$ en las tres variables) (ver Anexo 60).

Los resultados más específicos de la “Comparación por pares” del MLG Multivariante, indican que para el número de brotes (ver Anexo 61) hay diferencias significativas entre el mes de subcultivo siete y los meses once y quince ($P < 0.05$). Entre el mes siete y el nueve existe un límite entre significativo y no ($P = 0.057$). Entre el mes siete y los meses diecisiete ($P = 0.849$) y diecinueve ($P = 0.086$) no hay diferencias significativas. Por otra parte el mes nueve solo tiene diferencias significativas con el mes once ($P = 0.013$) y no tiene diferencias con los meses trece ($P = 0.340$), quince ($P = 0.567$), diecisiete ($P = 0.086$) y diecinueve ($P = 0.849$). El mes de subcultivo trece solo tiene diferencias significativas con el mes once ($P = 0.001$), con los demás meses no hay diferencias ($P > 0.05$ en todos los meses). El mes de subcultivo quince tiene diferencias significativas con los meses siete ($P = 0.013$) y diecisiete ($P = 0.022$). Con el mes once hay un límite entre los significativo y no ($P = 0.057$), y con los meses nueve, trece y diecinueve no hay diferencias ($P > 0.05$). El mes de subcultivo diecisiete presenta diferencias significativas con los meses once ($P = 0.001$) y quince ($P = 0.022$), con los demás meses no ($P > 0.05$).

Por otro lado la “Comparación por pares” para el número de segmentos (ver Anexo 61) indica que entre el mes de subcultivo siete y el mes once hay diferencias significativas ($P = 0.001$), en cambio entre el mes siete y los demás meses no hay diferencias ($P > 0.05$ en todos). El mes de subcultivo once tiene diferencias significativas con todos los demás meses ($P < 0.05$). El mes trece solo tiene diferencias con el mes once ($P = 0.001$), con los demás meses no hay diferencias ($P > 0.05$). El mes quince tiene diferencias significativas con los meses once ($P = 0.001$) y diecisiete ($P = 0.042$) y no muestra diferencias con los demás meses ($P > 0.05$ en todos). El mes de subcultivo diecinueve tiene diferencias significativas con los meses once ($P = 0.014$) y diecisiete ($P = 0.005$).

Con respecto a la altura del brote (ver Anexo 61), la “Comparación por pares” indica que hay diferencias significativas entre el mes siete y todos los demás meses ($P < 0.05$ en todos) excepto con el mes once ($P = 0.187$). Por otra parte hay diferencias significativas entre el mes nueve y los meses siete, trece, quince y diecisiete ($P < 0.05$), y no existen diferencias entre el mes nueve y los meses once ($P = 0.367$) y diecinueve ($P = 0.987$). El mes de subcultivo trece tiene diferencias significativas con todos los demás meses ($P < 0.05$) excepto con el mes diecisiete ($P = 0.133$). El mes de subcultivo diecisiete tiene diferencias significativas con todos los demás meses ($P = 0.001$) excepto con los meses trece ($P = 0.133$) y quince ($P = 0.242$). El mes de subcultivo diecinueve no muestra diferencias significativas con los meses nueve ($P = 0.987$) y once ($P = 0.358$).

El “Test de Tukey B” de las “Pruebas Post Hoc” divide el número de brotes (ver Anexo 62) en dos subconjuntos: en el primero agrupa los meses nueve, once, quince y diecinueve; en el segundo agrupa los meses siete, nueve, trece, quince y diecisiete. Por otra parte el mismo test divide el número de segmentos (ver Anexo 63) en tres subconjuntos: en el primero agrupa los meses nueve, once y diecinueve; en el segundo agrupa los meses siete, nueve, trece, quince y diecinueve; en el tercer subconjunto agrupa los meses siete, trece, quince, diecisiete y diecinueve. La altura del brote (ver Anexo 64) también la divide en tres subconjuntos: en el primero agrupa los meses siete, nueve, once y diecinueve; en el segundo agrupa los meses quince y diecisiete; y en el tercero agrupa los meses trece y diecisiete.

En esta etapa de multiplicación también se hizo el análisis estadístico MLG opción “Medidas repetidas” para comparar el efecto de las distintas edades de origen sobre las variables evaluadas, y se comprobó que existe un efecto significativo de la edad sobre el número de brotes del cedro rosado ($P=0.001$), de los meses de subcultivo ($P=0.002$) y también es significativa la interacción edad por mes de subcultivo ($P=0.001$) (ver Anexo 65). En cuanto al número de segmentos hay efecto significativo de la edad sobre el número de segmentos ($P=0.001$) de los meses de subcultivo ($P=0.001$) como también resultó significativa la interacción edad por mes de subcultivo ($P=0.001$) (ver Anexo 66). Con respecto a la altura del brote hay efecto significativo de la edad sobre la altura ($P=0.001$), hay efecto de los meses de subcultivo ($P=0.001$) y también resultó significativa la interacción edad por mes de subcultivo ($P=0.001$) (ver Anexo 67).

La visualización de los resultados contenidos en la Tabla 20 se aprecia mejor en la Figura 12. La producción de brotes en la etapa de multiplicación es superior en los explantos que proceden de semilla; en este material se aprecia que el pico mínimo de productividad se dio el mes de subcultivo siete, y la máxima productividad el mes nueve; a partir de este mes en adelante hay un descenso leve en el número de brotes que tiende a mantenerse constante, con otro leve descenso el mes diecinueve. Durante los meses de subcultivo siete a once, el número de brotes desciende para el material originario de doce meses, después aumenta durante el mes trece para mantenerse más o menos constante durante el resto del experimento. Su productividad es menor que la de los explantos originarios de yemas de cuatro meses.

En el caso de las yemas de cuatro meses de edad, el número de brotes disminuye el mes de subcultivo nueve, pero a partir de allí tienen un aumento sostenido durante todo el experimento, disminuyendo la producción sólo el mes diecinueve de subcultivo (Figura 12). El número de segmentos en los explantos procedentes de semilla no varió con el tiempo, se mantuvo prácticamente constante, solo hubo una pequeña disminución al final de la experimentación, o sea en los meses de subcultivo diecisiete a diecinueve (Figura 12).

Para los explantos procedentes de yemas de cuatro y doce meses el número de segmentos (Figura 12) tuvo un comportamiento bastante similar al del número de brotes. Los meses de subcultivo diecisiete y diecinueve fueron críticos en el cultivo de *Cedrela odorata*, ya que la productividad disminuyó en los tres tipos de material.

La altura del brote (Figura 12) tiene un comportamiento diferente en los brotes procedentes de semillas comparado con los brotes procedentes de yemas de cuatro y doce meses. Los que proceden de semilla siempre muestran un aumento constante de altura durante todo el tiempo de evaluación. Este material tuvo valores cercanos a los de las yemas entre los meses de subcultivos siete a nueve, pero de allí en adelante las diferencias son bastante significativas. En cambio los brotes que procedieron de yemas de invernadero de cuatro y doce meses mantuvieron una altura constante durante todo el tiempo, y similar entre ambos orígenes (Figura 12).

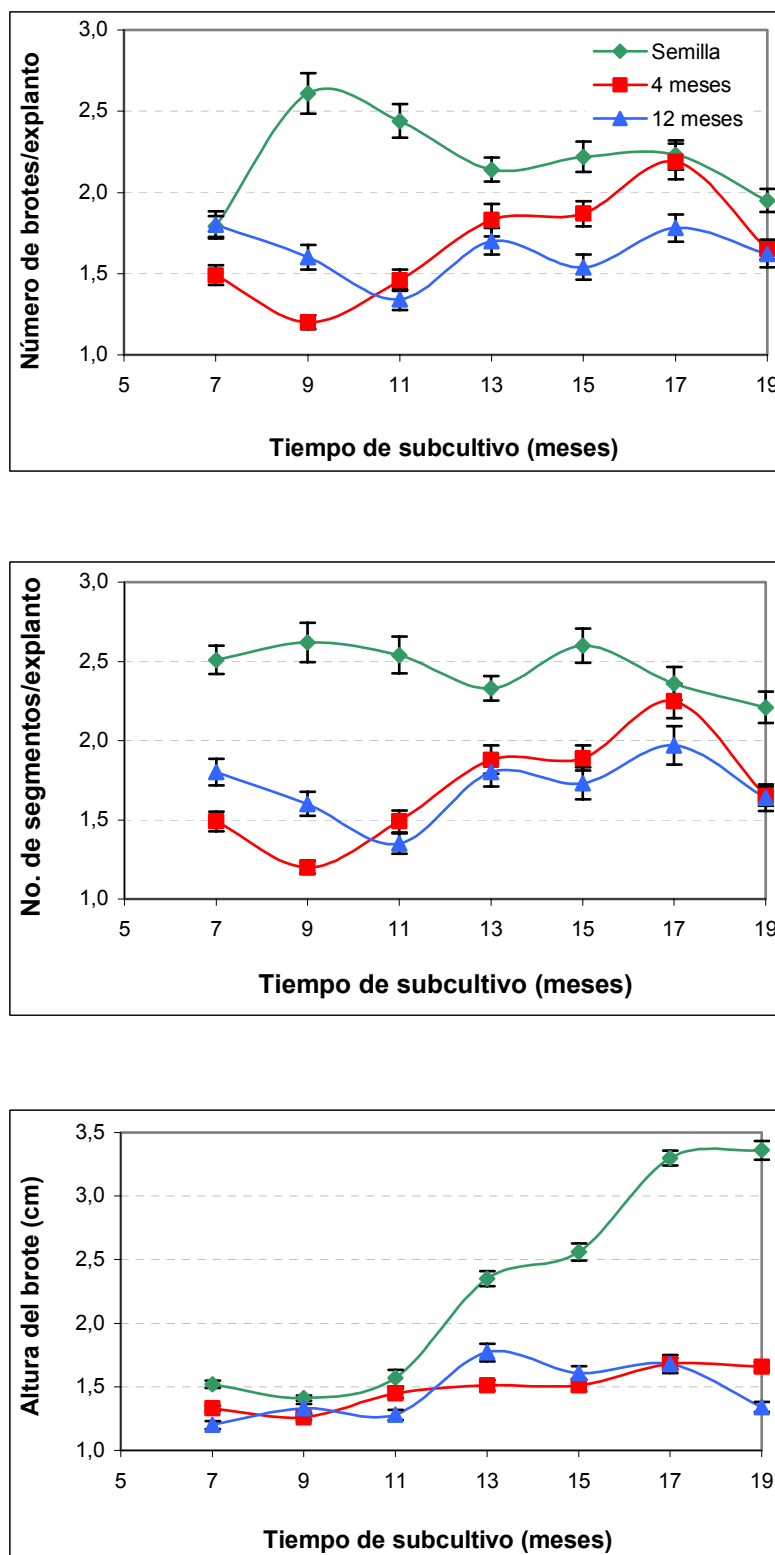


Figura 12. Efecto de la edad de los explantos sobre las tasas de multiplicación de *Cedrela odorata*

▪ Resumen de los resultados de la etapa de multiplicación

A nivel general, en *C. odorata*, se aprecia que los coeficientes de multiplicación son ligeramente mayores en los explantos procedentes de semilla que en los procedentes de yemas de plantas de invernadero de cuatro y doce meses de edad (Tabla 20). Los coeficientes de multiplicación de los tres ensayos coinciden con el número de segmentos porque el porcentaje de reactividad es del 100%.

Visualmente se apreciaron diferencias entre el número de brotes y el número de segmentos por explanto entre el material procedente de semilla con respecto a los dos procedentes de yemas de plantas de invernadero. El comportamiento entre el material proveniente de plantas de invernadero de cuatro y doce meses es el de menor uniformidad dentro de ambas poblaciones, a diferencia del que procedió de semilla que era más uniforme. La especie tiene buen comportamiento *in vitro* en material juvenil, el vigor es bueno hasta cuando las yemas de origen tienen doce meses.

El medio MS completo favoreció el cultivo del cedro rosado, lo mantuvo moderadamente vigoroso, se presentaron pocos síntomas de deficiencia de nutrientes aunque a la cuarta semana de la transferencia a medio fresco, las hojas y tallos empezaban a amarillearse por la escasez de los nutrientes y de los reguladores de crecimiento.

El número de hojas por explanto (de tres a cinco) no correspondía siempre a una relación directamente proporcional con la longitud del explanto, algunos brotes de gran longitud tenían pocas hojas, mientras que otros de poca longitud presentaban buen número de hojas.

La mejor concentración de BA para *C. odorata* fue BA 0,2 mgL⁻¹. Cuando se usaron concentraciones mayores para intentar aumentar la producción de brotes, se produjo callo en la parte basal de los tallos, disminuyendo su tamaño y su viabilidad. La disminución de la concentración de BA 1,0 mgL⁻¹ a 0,2 mgL⁻¹, ayudó a mantener el cultivo estable durante un año, favoreció el crecimiento moderado de los brotes con muy baja producción de callo, aunque la producción en el número de brotes no es alta. Cuando el brote alcanzaba un crecimiento de 3,0 a 4,0 cm, muchos de los tallos se tornaban semileñosos con características de envejecimiento.

En general los brotes axilares proliferaron mejor cuando la adición de citoquinina era mayor, aunque con presencia de callo. El tallo de cedro *in vitro* comúnmente es de fuste recto, con pocas ramas laterales. Esta característica es deseable en plantaciones comerciales, pero no siempre en cultivo *in vitro*, pues cuanto más nudos con yemas axilares posea el tallo, mayor número de segmentos nodales se podrán obtener. Al igual que los explantos procedente de semilla, los explantos procedente de yemas de invernadero, pasaron por varios altibajos en la longitud y producción de brotes y segmentos antes de llegar a la estabilización del cultivo.

Cedrela odorata es una especie que presenta varias ventajas para trabajarla en cultivo *in vitro*: primero, no necesita el uso de antibióticos si la semilla está sana; segundo, no es necesario adicionarle al medio antioxidantes, no desprende taninos ni sustancias tóxicas; tercero, requiere poca cantidad de citoquinina, y cuarto, el medio de cultivo MS no necesita aditivos especiales, solamente m-inositol 100 mgL⁻¹. A pesar de ser una especie tropical, se adaptó bien a las condiciones de fotoperíodo de las especies europeas.

Revisando la bibliografía sobre *Cedrela*, comprobamos que hasta la fecha este género no se había conseguido la sobrevivencia de los brotes a través de tantos subcultivos *in vitro*, tampoco que

se midieran las tasas de multiplicación durante tanto tiempo. Esta investigación puede servir de base para cultivos comerciales.

2.2 *Cedrela montana*

▪ Cultivo procedente de plantas de invernadero de nueve meses de edad

El cultivo *in vitro* de esta especie fue difícil de controlar debido a que la base de los explantos se invadían fácilmente de callo, el tallo es frágil y el aspecto general de las plántulas es débil en un 70% de la población.

Las tasas de multiplicación son variables durante el transcurso de los subcultivos (Tabla 21), con algunos cambios en la producción de brotes. Visualmente no se aprecia que la población sea muy uniforme, unos explantos presentan mayor tamaño y vigor que otros. La producción de segmentos no supera en mayor medida la de los brotes. El cultivo adquiere una verdadera estabilidad a partir de los dos años de subcultivos. Los coeficientes de multiplicación son moderados.

El medio de cultivo fue el mismo que utilizamos en *Cedrela odorata*, MS adicionado con BA 0,2 mgL⁻¹. La población constó de n=24 explantos. Los datos se obtuvieron durante varios subcultivos.

Algunos explantos producen raíces durante la etapa de multiplicación, sobre todo al final de cada subcultivo.

La concentración óptima de citoquinina fue BA 0,2 mgL⁻¹. Cuando se aumentó dicha concentración se produjo callo basal y cuando se disminuyó se produjo amarillamiento en los explantos.

TABLA 21. Efecto de la edad de la planta madre sobre la multiplicación de *Cedrela montana*. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Edad del explanto original (meses)	Mes de Subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura del brote más largo por explanto (cm)	Coefficiente de multiplicación
9	7	2,12 $\pm$ 0,99 ^{de}	2,33 $\pm$ 0,86 ^{jk}	1,77 $\pm$ 0,76 ^{ño}	2,33
	9	1,04 $\pm$ 0,20 ^{ab}	1,04 $\pm$ 0,20 ^g	1,45 $\pm$ 0,28 ^{lmññ}	1,04
	11	1,00 $\pm$ 0,00 ^a	1,00 $\pm$ 0,00 ^g	1,10 $\pm$ 0,16 ^l	1,00
	13	1,04 $\pm$ 0,20 ^{ab}	1,04 $\pm$ 0,26 ^g	1,18 $\pm$ 0,26 ^{lm}	1,04
	14	1,33 $\pm$ 0,76 ^{abc}	1,33 $\pm$ 0,53 ^{gh}	1,52 $\pm$ 0,53 ^{mnñ}	1,33
	15	1,20 $\pm$ 0,41 ^{abc}	1,21 $\pm$ 0,41 ^{gh}	1,36 $\pm$ 0,36 ^{lmñ}	1,21
	16	1,58 $\pm$ 0,66 ^{bc}	1,67 $\pm$ 0,86 ^{hi}	1,58 $\pm$ 0,66 ^{nñ}	1,67
	18	1,50 $\pm$ 0,67 ^{abc}	1,54 $\pm$ 0,77 ^{gh}	1,37 $\pm$ 0,67 ^{lmñ}	1,54
	20	1,62 $\pm$ 0,18 ^{cd}	1,62 $\pm$ 0,64 ^{hi}	1,16 $\pm$ 0,18 ^{lm}	1,62
	22	1,62 $\pm$ 0,28 ^{cd}	1,62 $\pm$ 0,71 ^{hi}	1,30 $\pm$ 0,28 ^{lmñ}	1,62
	24	2,12 $\pm$ 0,57 ^{de}	2,12 $\pm$ 0,61 ^{ij}	1,73 $\pm$ 0,57 ^{ño}	2,12
	26	2,42 $\pm$ 0,53 ^{ef}	2,42 $\pm$ 0,97 ^{jk}	2,05 $\pm$ 0,53 ^o	2,42
	28	2,71 $\pm$ 0,61 ^f	2,71 $\pm$ 0,99 ^k	2,41 $\pm$ 0,61 ^p	2,71

Los superíndices muestran las diferencias de forma individualizada para cada una de las variables. Letras distintas señalan diferencias significativas. Test de Tukey B, alfa= 0,05.

El Anova del Modelo Lineal General opción Multivariante (ver Anexo 68), con un nivel de significación de 95%, indica que hay diferencias significativas entre los meses de subcultivo tanto en el número de brotes y segmentos como en la altura del brote ($P=0.001$ en todos).

El análisis más detallado “Comparación por pares” (ver Anexo 69) posterior al Anova especifica las diferencias significativas en el número de brotes del cedro de altura entre cada uno de los meses de subcultivo. Por ejemplo el mes de subcultivo siete tiene diferencias significativas con todos los demás meses ($P < 0.05$ en todos) excepto con los meses veinticuatro y veintiséis. El mes de subcultivo once muestra que existe diferencias significativas con todos los meses ($P < 0.05$), excepto con los meses de subcultivo nueve, trece, catorce y quince. El mes catorce solo tiene diferencias con los meses siete, veinticuatro, veintiséis y veintiocho ($P = 0.001$ en todos), con los demás meses no existen diferencias. Por otro lado el mes dieciséis tiene diferencias significativas con los meses siete, nueve, once, trece, quince, veinticuatro, veintiséis y veintiocho ($P < 0.05$ en todos) y no tiene diferencias con los meses catorce, dieciocho, veinte y veintidós ($P > 0.05$). El mes veinte no posee diferencias con los meses catorce, dieciséis, dieciocho y veintidós ($P > 0.05$) pero tiene diferencias con los demás meses ($P < 0.05$). El mes veinticuatro tiene diferencias significativas con todos los meses de subcultivo ($P < 0.05$) excepto con los meses siete y veintiséis. El mes veintiséis tiene diferencias significativas con todos los demás meses ($P < 0.05$) excepto con los meses siete, veinticuatro y veintiocho. El mes veintiocho tiene diferencias significativas con todos los meses excepto con el mes veintiséis ($P = 0.099$).

En cuanto al número de segmentos (ver Anexo 69), el mes de subcultivo siete tiene diferencias significativas con todos los meses de subcultivos excepto con los meses veinticuatro y veintiséis. El mes nueve tiene diferencias significativas con el mes siete y con los meses dieciséis al veintiocho, y no tiene diferencias con los meses once al quince. El mes de subcultivo once tiene diferencias significativas con el mes siete y con los meses dieciséis al veintiocho y no tiene diferencias significativas con los meses nueve al quince. El mes de subcultivo trece tiene diferencias significativas con el mes siete y con los meses dieciséis al veintiocho, y no tiene diferencias con los meses nueve al quince. El mes de subcultivo catorce tiene diferencias significativas con los meses siete y con los meses veinticuatro al veintiocho, y no tiene diferencias significativas con los meses nueve al veintidós. El mes de subcultivo quince tiene diferencias significativas con el mes siete, con el mes dieciséis, y con los meses veinte al veintiocho. El mes de subcultivo dieciséis tiene diferencias significativas con los meses siete al trece, con el mes quince, y con los meses veinticuatro al veintiocho. El mes dieciocho tiene diferencias con los meses siete al trece, y con los meses veinticuatro al veintiocho; y no tiene diferencias con los meses catorce al veintidós. El mes veinte tiene diferencias significativas con los meses siete al trece, con el mes quince, y con los meses veinticuatro al veintiocho; y no tiene diferencias con los meses catorce y con los meses dieciséis al veintidós. El mes veintidós tiene diferencias significativas con los meses siete al trece, con el mes quince, y con los meses veinticuatro al veintiocho; y no tiene diferencias con los meses catorce y con los meses dieciséis al veinte. El mes veinticuatro tiene diferencias significativas con los meses nueve al veintidós y con el mes veintiocho; y no tiene diferencias con los meses siete y veintiséis. El mes veintiséis tiene diferencias con los meses nueve al veintidós, y no tiene diferencias con los meses siete, veinticuatro y veintiocho.

El “Test de Tukey B” de las pruebas Post Hoc (ver Anexos 70, 71 y 72) realiza una división de seis subconjuntos para el número de brotes: en el primero agrupa los meses de subcultivo nueve,

once, trece, catorce, quince y dieciocho. En el segundo subconjunto agrupa los meses nueve, trece, catorce, quince, dieciséis y dieciocho. En el tercer subconjunto agrupa los meses catorce, quince, dieciséis, dieciocho, veinte y veintidós. En el cuarto subconjunto agrupa los meses siete, veinte, veintidós y veinticuatro. En el quinto agrupa los meses siete, veinticuatro y veintiséis. En el sexto subconjunto agrupa los meses veintiséis y veintiocho. Referente al número de segmentos, el mismo test hace una división de cinco subconjuntos: en el primero agrupa los meses nueve, once, trece, catorce, quince y dieciocho. En el segundo agrupa los meses catorce, quince, dieciséis, dieciocho, veinte y veintidós. En el tercer subconjunto agrupa los meses dieciséis, veinte, veintidós y veinticuatro. En el cuarto subconjunto agrupa los meses siete, veinticuatro y veintiséis. En el quinto agrupa los meses siete, veintiséis y veintiocho. Con respecto a la altura del brote de *Cedrela montana*, el test de Tukey hace seis divisiones: en la primera agrupa los meses nueve, once, trece, quince, dieciocho, veinte y veintidós. En el segundo agrupa los meses nueve, trece, catorce, quince, dieciocho, veinte y veintidós. En el tercer subconjunto agrupa los meses nueve, catorce, quince, dieciséis, dieciocho y veintidós. En el cuarto subconjunto agrupa los meses siete, nueve, catorce, dieciséis y veinticuatro. En el quinto subconjunto agrupa los meses siete, veinticuatro y veintiséis. En el sexto, el mes veintiocho. Cuando los meses están dentro de un mismo subconjunto quiere decir que no existen diferencias significativas entre ellos, la diferencia está entre los subconjuntos.

En la Figura 13 se pueden visualizar los datos de la Tabla 21. El número de brotes y el número de segmentos en *Cedrela montana* tienen un comportamiento similar; ambos presentan un descenso entre el mes séptimo y noveno de subcultivo, luego se mantienen más o menos constante aunque con leves altibajos entre los meses de subcultivo nueve a veintidós. A partir de este mes la productividad presenta un ascenso hasta el mes veintiocho (Figura 13).

La altura de los brotes muestra altibajos durante casi todo el período de evaluación. Los mejores valores se presentan los meses de subcultivo siete y al final los meses veintidós y veintiocho (Figura 13).

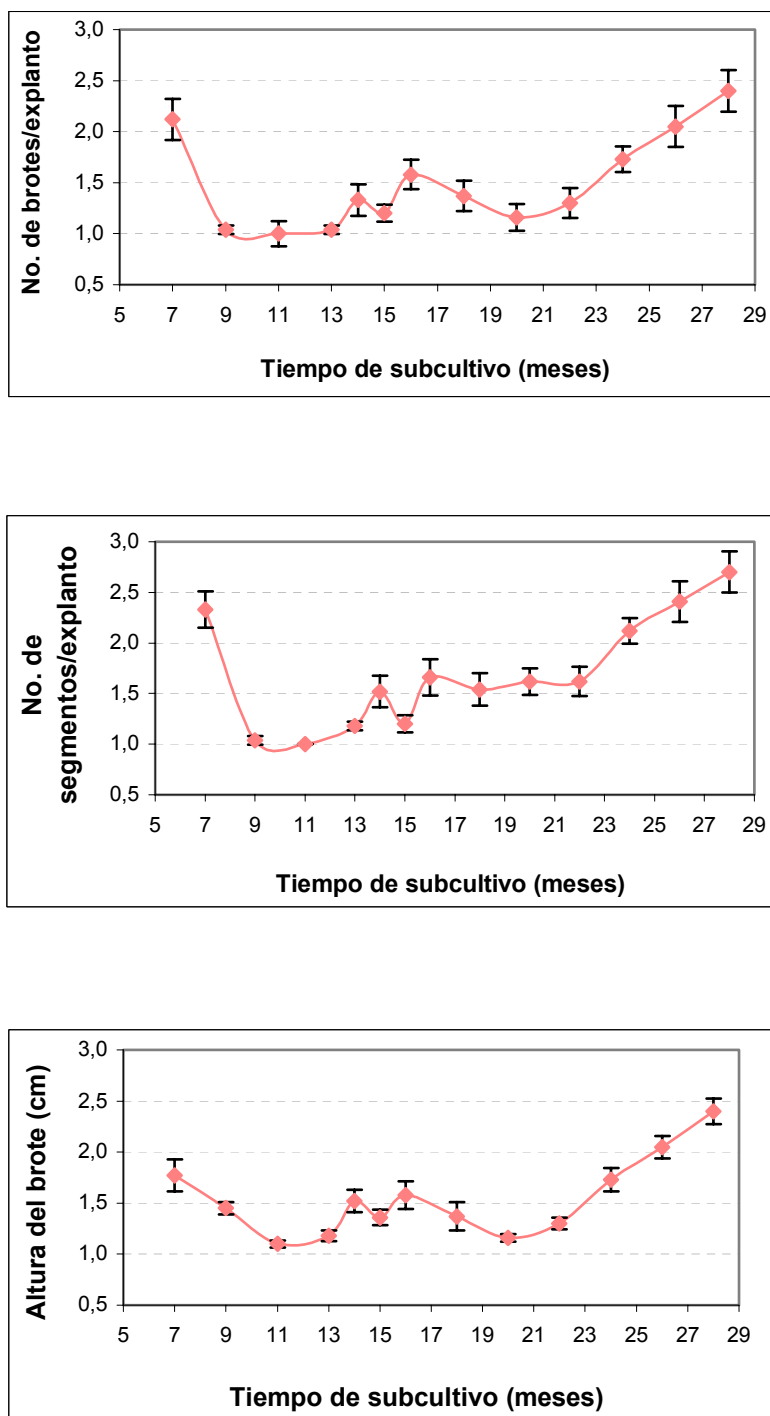


Figura 13. Efecto de la edad de los explantos (nueve meses) sobre las tasas de multiplicación de *Cedrela montana*.

2.3 *Chlorophora tinctoria*

Esta especie presenta variación en el cultivo *in vitro* de las poblaciones procedentes de yemas de plantas de invernadero de cuatro (n=48 explantos), seis (n=60 explantos) y siete (n=100 explantos) meses de edad a lo largo de todos los subcultivos. Visualmente las tres poblaciones presentan pequeñas variaciones al mes de subcultivo, sobre todo en los explantos de menor tamaño. La longitud de los explantos es corta, el valor medio máximo (1,60 cm) se obtuvo en los ensayos de yemas procedentes de plántulas de invernadero de cuatro (Figura 14) y seis meses de edad. El número de brotes es muy similar al número de segmentos (Tabla 22).

El dinde presenta buena producción de hojas, hasta siete por explanto (observación visual), aunque de tamaño muy pequeño.

La concentración de $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BA fue la óptima para el cultivo *in vitro* de dinde, pues cuando realizamos otros preensayos (datos no mostrados) con menor concentración de BA, el vigor de las plantas descendió notablemente produciéndose amarillamiento en hojas y tallos; y cuando aumentamos la concentración a $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ la producción de brotes ascendió ligeramente, pero los brotes crecieron menos y la base de los tallitos se tornaba callosa.

▪ Cultivo procedente de plantas de invernadero de cuatro meses de edad

El Anova del MLG opción Multivariante (ver Anexo 73) señala que hay diferencias significativas entre los meses de subcultivo para el número de brotes ($P=0.044$), de segmentos ($P=0.049$) y la altura de los brotes de dinde ($P=0.001$).

La “Comparación por pares” (ver Anexo 74) para el **número de brotes** señala que entre el mes de subcultivo siete y el nueve hay diferencias significativas ($P=0,028$), pero no hay diferencias entre el mes siete y los meses once, trece y quince ($P>0.05$). Entre el mes nueve y los meses siete, once y trece hay diferencias ($P<0.05$) y no hay diferencias con el mes nueve ($P=0.267$). El mes once solo presenta diferencias con el mes nueve ($P=0.028$), y no presenta diferencias con los otros meses ($P>0.05$). El mes trece tiene diferencias significativas con el mes nueve ($P=0.006$) y no tiene diferencias con los otros meses ($P>0.05$). El mes quince no tiene diferencias con los otros meses de subcultivo. Con relación al **número de segmentos** de dinde, la “Comparación por pares” indica que entre el mes siete y el mes nueve hay diferencias significativas ($P=0.028$) y no hay diferencias significativas entre el mes siete y los meses once, trece y quince ($P>0.05$). Entre el mes nueve y los meses siete, once y trece hay diferencias significativas ($P<0.05$ en todos) y no hay diferencias entre el mes nueve y quince ($P<0.267$). Entre el mes once y el mes nueve hay diferencias ($P=0.040$) y no hay diferencias entre el mes once y los meses siete, trece y quince ($P>0,05$). El mes de subcultivo trece presenta diferencias significativas con el mes nueve ($P=0.006$) pero no presenta diferencias significativas con los meses siete, once y quince ($P>0.05$). El mes de subcultivo quince muestra diferencias significativas con todos los demás meses ($P>0.05$).

Referente a la **altura del brote** el mes de subcultivo siete tiene diferencias significativas con el mes once y quince ($P=0.001$ en ambos) pero no tiene diferencias con los meses nueve y trece. El mes de subcultivo nueve tiene diferencias significativas con los meses once, trece y quince ($P<0.05$) pero no tiene diferencias con el mes siete. El mes once se diferencia significativamente de todos los

demás meses. El mes trece se diferencia significativamente de los meses nueve, once y quince pero no se diferencia del mes siete. El mes de subcultivo quince tiene diferencias significativas con todos los demás meses.

TABLA 22. Efecto de la edad de la planta madre sobre la multiplicación de *Chlorophora tinctoria*. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Edad del explanto original (meses)	Mes de subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura del brote más largo por explanto (cm)	Coefficiente de multiplicación
4	7	2,70 $\pm$ 1,39 ^a	2,70 $\pm$ 1,39 ^{cd}	1,25 $\pm$ 0,23 ^e	2,70
	9	3,25 $\pm$ 1,39 ^b	3,25 $\pm$ 1,39 ^d	1,33 $\pm$ 0,26 ^e	3,25
	11	2,70 $\pm$ 1,62 ^{ab}	2,75 $\pm$ 1,64 ^{cd}	1,43 $\pm$ 0,57 ^f	2,75
	13	2,41 $\pm$ 0,92 ^{ab}	2,41 $\pm$ 0,92 ^c	1,25 $\pm$ 0,15 ^e	2,41
	15	2,95 $\pm$ 1,30 ^{ab}	2,95 $\pm$ 1,30 ^{cd}	1,60 $\pm$ 0,23 ^g	2,95
6	6	2,98 $\pm$ 2,11 ^j	2,98 $\pm$ 2,11 ^m	1,42 $\pm$ 0,34 ^{no}	2,98
	7	1,20 $\pm$ 0,44 ^h	1,20 $\pm$ 0,44 ^k	1,39 $\pm$ 0,27 ⁿ	1,20
	9	2,76 $\pm$ 1,11 ^j	2,76 $\pm$ 1,11 ^m	1,54 $\pm$ 0,22 ^{op}	2,76
	11	2,75 $\pm$ 1,66 ^j	2,75 $\pm$ 1,66 ^m	1,60 $\pm$ 0,28 ^p	2,75
	13	1,90 $\pm$ 1,02 ^j	1,93 $\pm$ 1,02 ^l	1,55 $\pm$ 0,25 ^{op}	1,93
	15	1,95 $\pm$ 0,96 ^j	2,00 $\pm$ 0,95 ^l	1,54 $\pm$ 0,54 ^{op}	2,00
	17	2,18 $\pm$ 0,77 ^j	2,18 $\pm$ 0,77 ^l	1,38 $\pm$ 0,23 ⁿ	2,18
	19	2,21 $\pm$ 0,97 ^j	2,21 $\pm$ 0,97 ^l	1,37 $\pm$ 0,29 ⁿ	2,21
7	3	1,80 $\pm$ 1,25 ^{qr}	1,80 $\pm$ 1,25 ^{uv}	1,35 $\pm$ 0,28 ^{yz}	1,80
	5	2,04 $\pm$ 1,29 ^{qr}	2,04 $\pm$ 1,29 ^{uv}	1,43 $\pm$ 0,28 ^z	2,04
	6	2,17 $\pm$ 1,26 ^{rs}	2,17 $\pm$ 1,25 ^{vw}	1,32 $\pm$ 0,22 ^y	2,17
	7	2,56 $\pm$ 1,51 st	2,56 $\pm$ 1,51 ^{wx}	2,56 $\pm$ 0,20 ^y	2,56
	8	1,59 $\pm$ 0,80 ^q	1,59 $\pm$ 0,80 ^u	1,59 $\pm$ 0,20 ^y	1,59
	9	2,04 $\pm$ 0,72 ^{qr}	2,04 $\pm$ 0,72 ^{uv}	1,27 $\pm$ 0,26 ^y	2,04
	11	2,22 $\pm$ 1,16 ^{rs}	2,22 $\pm$ 1,16 ^{vw}	1,35 $\pm$ 0,24 ^{yz}	2,22
	13	2,82 $\pm$ 1,50 ^t	2,82 $\pm$ 1,50 ^x	1,30 $\pm$ 0,32 ^y	2,82

Los superíndices muestran las diferencias de forma individualizada tanto para cada una de las variables como para cada una de las edades de origen, letras distintas señalan diferencias significativas. Test de Tukey B, $\alpha=0,05$.

El test de Tukey de las pruebas Post Hoc (ver Anexos 75, 76 y 77) divide en dos subconjuntos a los meses de subcultivo en el número de brotes y de segmentos: en el primer subconjunto agrupa los meses ocho, once, trece y quince, y en el segundo subconjunto a los meses ocho, nueve, once y quince. En cuanto a la altura hay tres subconjuntos: el primero agrupa los meses ocho, nueve y trece, el segundo subconjunto agrupa el mes once, y el tercero agrupa el mes quince.

▪ Cultivo procedente de plantas de invernadero de seis meses de edad

El Anova del MLG opción Multivariante señala que hay diferencias significativas en los meses de subcultivo para el número de brotes, el número de segmentos y la altura del brote ($P=0.001$ en todos) (ver Anexo 78).

La "Comparación por pares" da las diferencias significativas entre los meses de subcultivo de forma más detallada (ver Anexo 79).

El Test de Tukey de las pruebas del Post Hoc divide en tres subconjuntos al número de brotes y de segmentos: en el primero agrupa el mes siete; en el segundo a los meses trece, quince,

diecisiete y diecinueve; en el tercer subconjunto agrupa los meses seis, nueve y once. El mismo test divide en tres subconjuntos a la variable altura del brote: el primero agrupa los meses seis, ocho, diecisiete y diecinueve. En el segundo agrupa los meses seis, nueve, once, trece y quince. En el tercero agrupa los meses nueve, once, trece y quince (ver Anexos 80, 81 y 82).

▪ **Cultivo procedente de plantas de invernadero de siete meses de edad**

El Anova del MLG opción Multivariante indica que hay diferencias significativas en los meses de subcultivo tanto en el número de brotes y de segmentos como en la altura del brote ($P=0.001$) (ver Anexo 83).

Las “Comparaciones por Pares” (ver Anexo 84) da información más detallada de las diferencias significativas entre los meses de subcultivo para las tres variables número de brotes, número de segmentos y altura del brote.

El Test de Tukey B divide en cuatro subconjuntos al número de brotes y de segmentos: en el primero agrupa los meses tres, cinco, siete y nueve, en el segundo agrupa los meses tres, cinco, seis, nueve y once, en el tercer subconjunto agrupa los meses seis, siete y once, y en el cuarto subcultivo los meses siete y trece. La altura del brote la divide en dos subconjuntos: en el primero agrupa los meses tres, seis, siete, ocho, nueve, once y trece; en el segundo subconjunto agrupa los meses tres, cinco y once (ver Anexos 85, 86 y 87).



Figura 14. Brotes *in vitro* procedentes de yemas de plántulas de invernadero de *Chlorophora tinctoria* de cuatro meses.



Figura 15. Brotes *in vitro* procedentes de yemas de plántulas de invernadero de *Chlorophora tinctoria* de seis meses.

El análisis “Medidas repetidas” también se hizo para comparar las yemas de cuatro, seis y siete meses de edad en los subcultivos siete, nueve, once y trece; se encontró que el factor edad tiene un efecto significativo sobre el número de brotes ($P=0.001$), lo mismo que el factor subcultivo ($P=0.001$). La interacción edad por subcultivo también resultó significativa ($P=0.001$) (ver Anexo 88). El mismo tipo de análisis para el número de segmentos indica que los factores edad y subcultivo tienen un efecto significativo sobre el número de segmentos ($P=0.001$ en ambos) y que la interacción edad por subcultivo también es significativa ($P=0.001$) (ver Anexo 89). El factor edad tiene efecto significativo sobre la altura del brote en los subcultivos mencionados antes ($P=0.001$) lo mismo que el factor subcultivo ($P=0.033$). La interacción edad por subcultivo no es significativa ($P=0.137$) (ver Anexo 90).

Los datos de la Tabla 22 están representados en la Figura 16. La productividad de las yemas procedentes del invernadero tiene comportamientos distintos entre sí, a pesar de tener edades cercanas (cuatro, seis y siete meses).

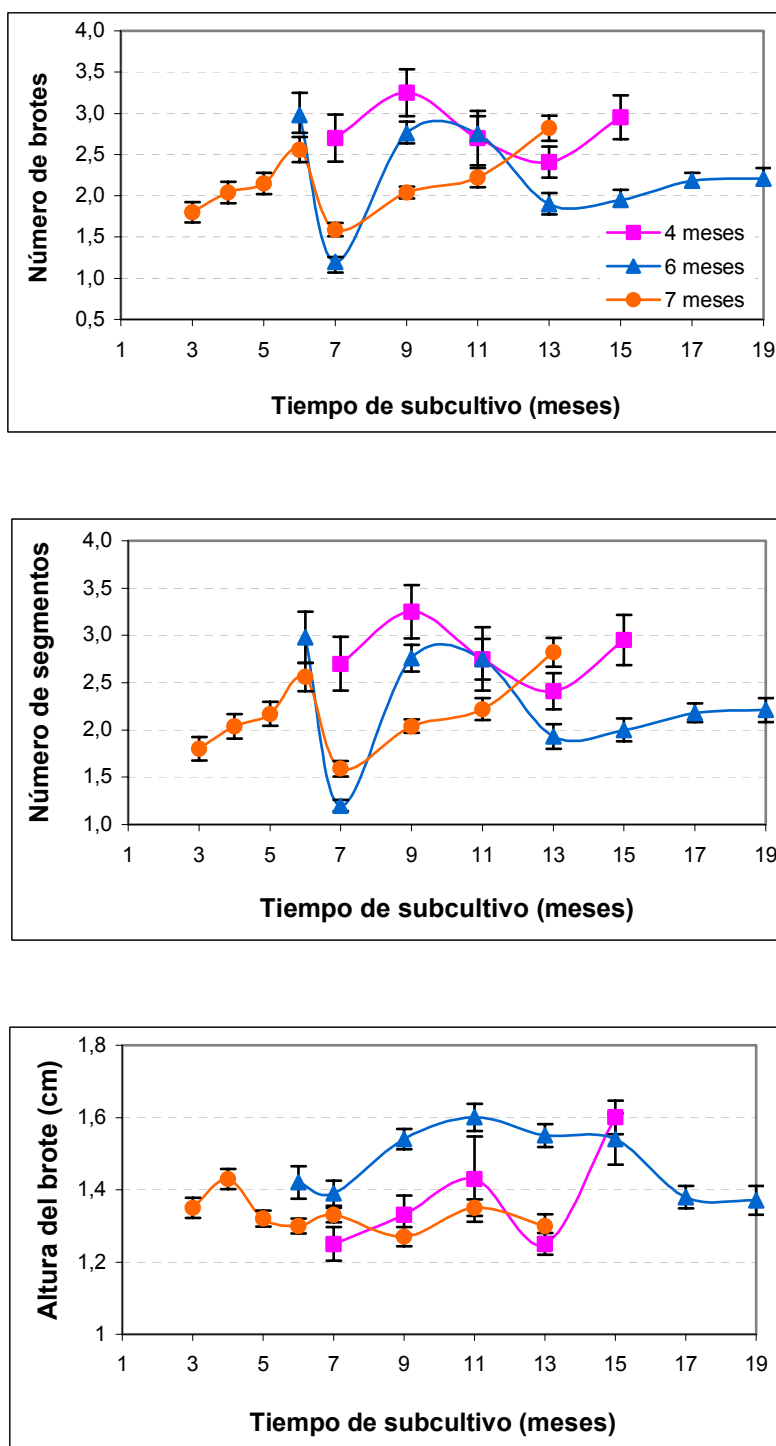


Figura 16. Efecto de la edad de los explantos sobre las tasas de multiplicación de *Chlorophora tinctoria*.

Las yemas de cuatro meses aunque presenta altibajos tanto en el número de brotes como en el número de segmentos tiende a permanecer constante durante los meses de evaluación y con valores superiores a las yemas de las otras procedencias (Figura 16). Las yemas de seis meses presentan altibajos en el número de brotes y de segmentos, el mes séptimo de subcultivo tuvo una caída brusca recuperándose durante los meses nueve y once; el mes trece volvió a tener un leve descenso pero se mantuvo constante hasta el mes diecinueve (Figura 16). En las yemas de siete meses aumenta el número de brotes y de segmentos desde el tercer mes al sexto mes de subcultivo, pero igualmente decae el séptimo mes, aunque se recupera y aumenta su producción hasta el mes de subcultivo trece.

En cuanto a la altura del brote, curiosamente las yemas de seis meses de edad presentaron valores mayores que las de cuatro y siete meses (Figura 16).

2.4 *Quercus humboldtii*

▪ Cultivo procedente de plántulas de invernadero de dos meses de edad

En el cultivo de roble se presentó contaminación de bacteria solamente en la etapa de multiplicación, ésta se presentaba con mayor intensidad durante los meses de Agosto y Septiembre. No obstante, la bacteria no constituyó un obstáculo apreciable para continuar con los cultivos.

Una vez alcanzada la estabilización de los cultivos a los cuatro meses, las plántulas poseían buen vigor y buena producción de brotes. De las cuatro especies trabajadas es la que presentó mayor producción de brotes por explanto y coeficientes de multiplicación más altos (Tabla 23). El medio de cultivo utilizado fue GD adicionado con BA $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ alternado con BA $0,1 \text{ mgL}^{-1}$. La población constaba de cuarenta y ocho explantos.

Durante los subcultivos se apreciaba que los brotes que permanecían desprovistos totalmente de hojitas empezaban a necrosarse como también los que se intentaron cultivar horizontalmente sobre el medio de cultivo. Cuando las hojas eran demasiado grandes y viejas, se tornaban amarillentas.

El Anova del MLG opción Multivariante (ver Anexo 91) indica que hay diferencias significativas entre los meses de subcultivo para el número de brotes, el número de segmentos y la altura del brote ($P=0.001$ en todos). El análisis “comparación por pares” (ver Anexo 92) da información más detallada sobre las diferencias significativas de cada uno de los meses de subcultivo comparado con todos los demás.

El Test de Tuckey de las pruebas Post Hoc divide al **número de brotes** en cuatro subconjuntos (ver Anexo 93): en el primero agrupa los meses cuatro, cinco, siete, nueve y once. En el segundo subconjunto agrupa los meses cuatro, cinco, nueve y trece; en el tercero los meses cuatro, nueve, trece y quince; en el cuarto los meses trece, quince, diecisiete y diecinueve. El test de Tukey divide en tres subconjuntos el **número de segmentos** (ver Anexo 94): en el primero agrupa los meses cuatro, cinco, siete y once; en el segundo subconjunto agrupa los meses cuatro, cinco, nueve, once, trece y quince; en el tercer subconjunto agrupa los meses nueve, trece, quince, diecisiete y diecinueve. El mismo test divide la **altura del brote** (ver Anexo 95) en cinco subconjuntos: en el primero agrupa los meses cuatro y siete, en el segundo agrupa los meses siete y once, en el tercero

los meses cinco, nueve, once, trece y quince; en el cuarto subconjunto los meses cinco, trece, quince y diecisiete; y en el quinto subconjunto los meses trece al diecinueve.

TABLA 23. Efecto de la edad de la planta madre sobre la multiplicación de *Quercus humboldtii*. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Edad del explanto original (meses)	Mes de subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura del brote más largo por explanto (cm)	Coefficiente de multiplicación
2	4	2,41 $\pm$ 0,71 ^{abc}	2,50 $\pm$ 0,72 ^{ef}	1,40 $\pm$ 0,34 ^h	2,50
	5	2,16 $\pm$ 0,86 ^{ab}	2,25 $\pm$ 0,94 ^{ef}	1,97 $\pm$ 0,47 ^{jk}	2,25
	7	1,79 $\pm$ 1,50 ^a	1,87 $\pm$ 1,48 ^e	1,51 $\pm$ 0,36 ^{hi}	1,87
	9	2,25 $\pm$ 1,29 ^{abc}	3,25 $\pm$ 1,45 ^{fg}	1,85 $\pm$ 0,60 ^j	3,25
	11	1,87 $\pm$ 0,61 ^a	2,41 $\pm$ 1,31 ^{ef}	1,77 $\pm$ 0,53 ^{ij}	2,41
	13	3,14 $\pm$ 1,51 ^{bcd}	3,14 $\pm$ 1,51 ^{fg}	2,01 $\pm$ 0,46 ^{kl}	3,14
	15	3,29 $\pm$ 1,42 ^{cd}	3,29 $\pm$ 1,42 ^{fg}	2,09 $\pm$ 0,53 ^{kl}	3,29
	17	3,83 $\pm$ 1,76 ^d	3,83 $\pm$ 1,76 ^g	2,26 $\pm$ 0,32 ^{kl}	3,83
	19	3,79 $\pm$ 1,47 ^d	3,79 $\pm$ 1,47 ^g	2,31 $\pm$ 0,27 ^l	3,79

Los superíndices muestran las diferencias de forma individualizada para cada una de las variables. Letras distintas señalan diferencias significativas. Test de Tukey B, alfa= 0,05.

La alternancia de BA 0,1 con BA 0,2 mgL⁻¹, favoreció la producción y la elongación de los brotes.

La Figura 17 representa los datos de la Tabla 23. En la Figura se aprecia que el número de brotes permaneció más o menos constante durante los meses de subcultivo cuatro a once; entre el mes once y el mes trece mostró un ascenso un poco brusco, y a partir del mes trece la curva sigue en ascenso moderado hasta el mes diecisiete. El mes diecinueve disminuye ligeramente (Figura 17). La curva del número de segmentos no se caracteriza por ser constante; se da un descenso el mes siete, un ascenso brusco el mes nueve, un nuevo descenso el mes once a partir del cual vuelve a ascender constantemente hasta el mes diecinueve (Figura 17).

La altura del brote tuvo un ascenso brusco el mes cinco, pero durante el mes siete descendió también bruscamente; sin embargo a partir del mes nueve la altura de los brotes continuó aumentando levemente hasta el mes de subcultivo diecinueve (Figura 17).

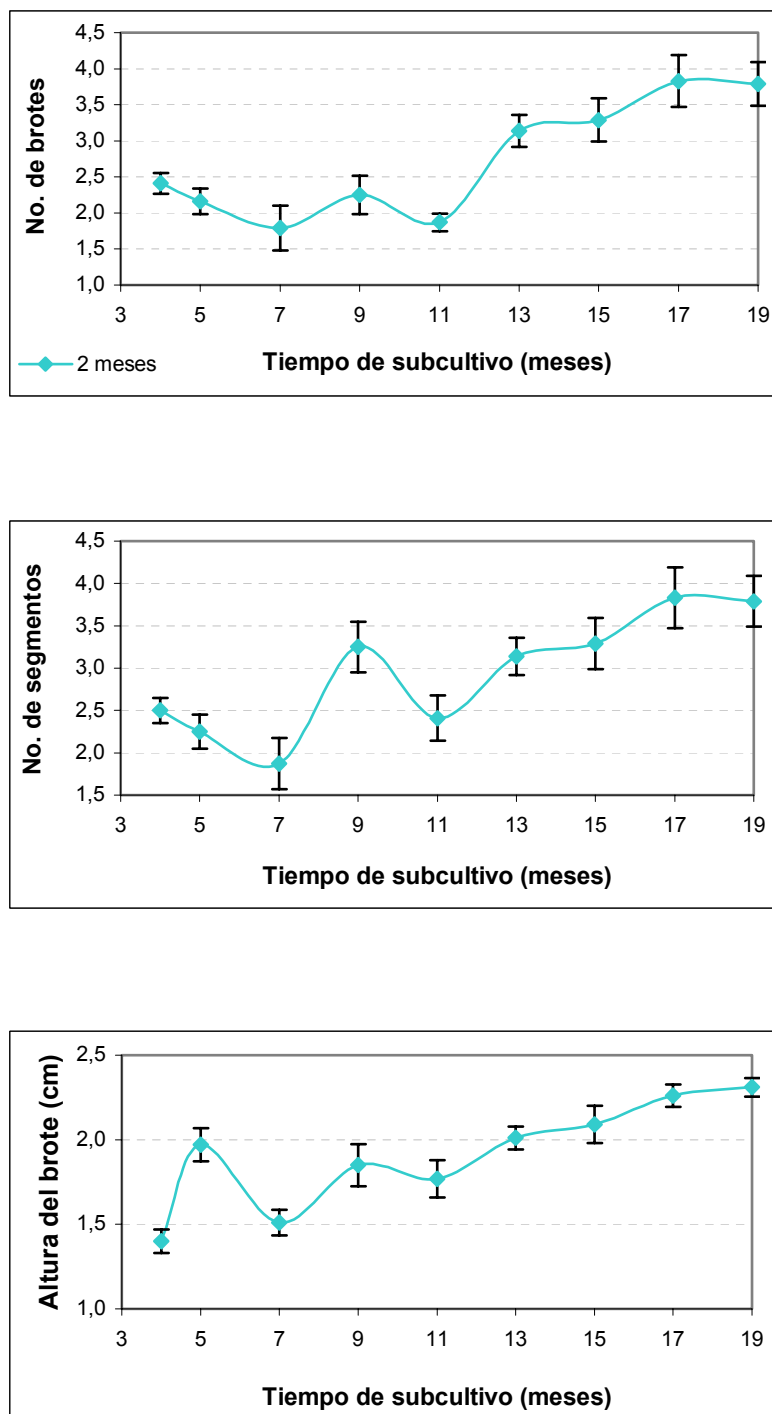


Figura 17. Efecto de la edad de los explantos sobre las tasas de multiplicación de *Quercus humboldtii*.

3. INFLUENCIA DE ALUMINIO, NITRÓGENO, FÓSFORO, POTASIO Y SACAROSA SOBRE EL DESARROLLO DEL CULTIVO DE *Cedrela odorata*

3.1 Influencia de la adición de aluminio al medio de cultivo sobre la micropropagación de *C. odorata*

Debido a que en Colombia algunos de los suelos se encuentran contaminados por aluminio, se decidió extrapolar la experiencia *in situ* a *in vitro*, evaluando el grado de toxicidad que ejercen diferentes concentraciones de aluminio (2, 10, 30 y 100 mgL⁻¹) en brotes de *Cedrela odorata* provenientes de semilla, durante la etapa de multiplicación.

Se encontró que los brotes resistieron bien la adición de 100 mgL⁻¹ al medio de cultivo hasta el primer subcultivo (Tabla 24), posteriormente las plántulas descendieron bruscamente su porcentaje de sobrevivencia, pues a esta concentración el aluminio resultó muy tóxico.

TABLA 24. Influencia de diferentes concentraciones de aluminio, sobre las tasas de multiplicación de *Cedrela odorata*. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Tratamiento (mgL ⁻¹)	Mes de subcultivo	Explantos iniciales	Viabilidad (%)	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura del brote más largo por explanto (Cm)	Coefficiente de multiplicación
0	2	12	100	1,16 $\pm$ 0,38	2,25 $\pm$ 0,86	0,52 $\pm$ 1,42	2,25
	4	12	100	1,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00	6,91 $\pm$ 1,18	2,00
	6	11	91,66	1,63 $\pm$ 0,92	2,54 $\pm$ 1,36	6,50 $\pm$ 2,20	2,32
	7	8	66,66	1,87 $\pm$ 0,99	2,87 $\pm$ 1,45	6,88 $\pm$ 2,28	1,91
2	2	12	100	1,33 $\pm$ 0,65	2,41 $\pm$ 0,99	4,88 $\pm$ 1,39	2,41
	4	11	91,66	1,18 $\pm$ 0,40	2,18 $\pm$ 0,40	5,78 $\pm$ 1,55	1,99
	6	11	100	1,63 $\pm$ 0,92	2,54 $\pm$ 1,36	6,50 $\pm$ 2,20	2,54
	7	7	63,63	1,71 $\pm$ 0,95	2,57 $\pm$ 1,27	6,14 $\pm$ 1,25	1,63
10	2	12	100	1,33 $\pm$ 0,65	2,25 $\pm$ 0,45	4,98 $\pm$ 1,67	2,25
	4	12	100	1,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00	6,32 $\pm$ 1,86	2,00
	6	9	75	1,11 $\pm$ 0,33	2,00 $\pm$ 0,86	6,02 $\pm$ 1,63	1,50
	7	5	55,55	1,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00	5,78 $\pm$ 0,43	1,11
30	2	12	100	1,16 $\pm$ 0,38	2,08 $\pm$ 0,28	4,81 $\pm$ 1,23	2,08
	4	10	83,33	1,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00	6,33 $\pm$ 1,45	1,66
	6	6	60	1,00 $\pm$ 0,00	1,83 $\pm$ 0,40	5,10 $\pm$ 0,46	1,09
	7	0	0	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0
100	2	12	100	1,16 $\pm$ 0,38	1,41 $\pm$ 0,51	2,73 $\pm$ 0,91	1,41
	4	6	50	1,00 $\pm$ 0,00	2,00 $\pm$ 0,00	3,68 $\pm$ 0,76	1
	6	0	0	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0
	7	0	0	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 $\pm$ 0,00	0

La característica más sobresaliente de la acción de la acidez del medio de cultivo (pH 4.3-4.4) y la toxicidad del aluminio a partir del tercer subcultivo en todos los tratamientos es la elongación y flexibilidad excesiva de los entrenudos de los tallos (Figura 18), con respecto al crecimiento normal *in vitro* de otros ensayos con pH 5.6-5.7. Los entrenudos se vuelven completamente quebradizos, sus tejidos callosos y vidriosos. La arquitectura normal de la planta desaparece. Las hojas se deforman totalmente, el limbo empieza a disminuir el ancho a partir de la concentración más baja (2,0 mgL⁻¹) y ya en la concentración más alta evaluada aquí (100 mgL⁻¹) las hojas adquieren forma de aguja.

En el control (ausencia de aluminio) y en los cuatro tratamientos con aluminio, el crecimiento promedio de los brotes era exagerado (Ejemplo 6,88 cm en el control, Tabla 24), comparado con los ensayos normales de micropropagación; lo que parece indicar que la acidez del medio contribuyó a la elongación de los brotes. La producción de brotes se redujo a partir de la concentración 30 mgL^{-1} . Visualmente se apreció que el cedro rosado resiste moderadamente bien la adición de $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ de aluminio hasta el tercer subcultivo sin deformación excesiva de tallos y hojas.



Figura 18. Brotes de *Cedrela odorata* sometidos a la acción del aluminio (pH 4.3). Control (izquierdo), con aluminio (30 mgL^{-1}).

Realizando las Comparaciones Múltiples del Modelo Lineal General (ver Anexo 96) con el fin de comparar las diferencias de cada uno de los tratamientos con respecto a los otros cuatro, se pueden obtener las siguientes deducciones: la diferencia de medias del tratamiento uno con respecto al dos, tres, cuatro y cinco dan positivas, lo que indica que los mayores valores de longitud de las plantas lo tiene el control (ausencia de aluminio), aunque los valores de significación muestran que entre el tratamiento uno y el dos y tres no hay diferencias significativas pues $P= 0.066$ y $0.065 > 0.05$ respectivamente. Pero entre el tratamiento uno y el cuatro y cinco si hay diferencias significativas, pues el valor de significación es $P= 0.001 < 0.05$ en ambos. En resumen para la variable dependiente altura de la planta no hay diferencias significativas entre los tratamientos uno, dos y tres (control, $2,0$ y 10 mgL^{-1} respectivamente), pero si lo hay entre estos tres con los tratamientos cuatro y cinco (30 y 100 mgL^{-1}).

El tratamiento cinco (100 mgL^{-1}) es el que posee las menores alturas de los brotes en todos los tratamientos evaluados, incluso para esta variable tiene diferencias significativas con el tratamiento cuatro (30 mgL^{-1}), el valor de significación es $P=0.001 < 0.05$.

Con la variable dependiente **número de brotes**, el tratamiento uno (control) presenta los mayores valores con respecto a los otros cuatro tratamientos, aunque entre el uno y el dos no hay diferencias significativas ($P=0.542$) entre el uno el tres, cuatro y cinco si son significativas pues $P < 0.05$ (0.032 ; 0.001 y 0.001 respectivamente). Los tratamientos tres, cuatro y cinco presentan diferencias significativas entre sí y con los tratamientos uno y dos, (ver Anexo 96).

Para el caso de la variable **número de segmentos**, el tratamiento dos posee valores mayores que los demás tratamientos, según la tabla DMS (diferencia Mínima Significativa) de las comparaciones múltiples (ver Anexo 96). Entre los tratamientos dos y uno, pero comparando el tratamiento dos con el tres, cuatro y cinco si hay diferencias. El tratamiento cinco presenta los valores más bajos pues todas las diferencias de medias dan negativas.

El Anova que contrasta las medias de las cinco variables dependientes (viabilidad, número de brotes, número de segmentos, altura del brote y coeficiente de multiplicación) con los tratamientos, señala que no hay diferencias significativas ($P=0.157 > 0.05$) en la viabilidad de todos los tratamientos. Tampoco hay diferencias significativas ($P=0.061$) en la altura de los brotes de todos los tratamientos; pero si hay diferencias significativas entre los tratamientos y el número de brotes, el número de segmentos y los coeficientes de multiplicación ($P=0.035$; $P=0.018$ y $P=0.011$) respectivamente, (ver Anexo 97).

Contrastando las medias de las cinco variables dependientes con los meses de medida, el Anova muestra que sí hay diferencias significativas entre los meses de subcultivos con la viabilidad ($P=0.016$) y con los coeficientes de multiplicación ($P=0.136$), pero no hay diferencias con el número de brotes, el número de segmentos ni la longitud de la planta, (ver Anexo 98).

3.2 Influencia de una fuente adicional de nitratos, fósforo y potasio

Con el fin de intentar incrementar la productividad *in vitro* de *Cedrela odorata* tanto en el crecimiento como en la producción de brotes nuevos, se sometió esta especie a la influencia de la adición al medio de cultivo de cantidades extras de nitrógeno (nitrato de amonio 330 mgL^{-1}), fósforo (dihidrógenofosfato de sodio monohidrato $9,0 \text{ mgL}^{-1}$) y potasio (sulfato de potasio $49,5 \text{ mgL}^{-1}$). Las cantidades normales de nitrato de amonio son 1650 mgL^{-1} (en el medio MS). El dihidrógenofosfato de sodio monohidrato no existe en los medios MS ni GD, solo en el medio GD modificado empleado en el actual laboratorio, en una proporción de 90 mgL^{-1} . La cantidad normal de sulfato de potasio empleada en el medio MS es de 170 mgL^{-1} .

La observación visual indicó que los brotes que estaban bajo la influencia de mayor cantidad de nitrógeno respondían mejor a este tratamiento que al de los otros dos, pues los explantos eran más vigorosos, sus tallos eran más gruesos y las hojas adquirieron un color verde oscuro. Los valores de altura del brote contenidos en la Tabla 25, señalan a los del nitrógeno como los de mayor importancia, en cambio los brotes que estuvieron influenciados por el potasio tuvieron menor

crecimiento junto con los del control. Se puede decir, según lo observado que el incremento de potasio al medio de cultivo MS estándar ejerció una acción ligeramente negativa sobre los brotes *in vitro*, ya que algunos de sus tallitos se tornaron raquíticos.

Los cuatro Anovas realizadas independientemente para cada uno de los cuatro tratamientos: control, nitrógeno, fósforo y potasio (ver Anexo 99), muestran que hay diferencias significativas dentro de cada uno de ellos, tanto al interior de cada población de plántulas como entre los subcultivos para las variables dependientes longitud de la planta, número de brotes y número de segmentos.

Realizando el Anova para comparar las medias de los cuatro tratamientos esta indica que no hay diferencias significativas ($P>0.05$) cuando se adiciona al medio cantidades extras de nitrógeno, fósforo o potasio (ver Anexo 1000). Visualmente los brotes con mejor aspecto eran las que estaban bajo la influencia de nitrógeno, pues tanto las hojas como los tallos eran más verdes y los tallos eran más gruesos.

No se consideró oportuno realizar ensayos de enraizamiento para estos tratamientos ya que estos elementos no causaron diferencias importantes en la micropropagación de *C. odorata*; bastó con el medio MS que ya veníamos utilizando, sin necesidad de aditivos.

TABLA 25. Influencia de una fuente adicional de nitrógeno, fósforo y potasio sobre las tasas de multiplicación de *Cedreia odorata* proveniente de semilla. Promedios $\pm$ desviación estándar. N =36 explantos por tratamiento.

Tratamiento (Mg L^{-1})	Mes de subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura del brote más largo por explanto (Cm)	Coefficiente de multiplicación
Control	2	2,08 $\pm$ 0,80	2,41 $\pm$ 0,96	2,57 $\pm$ 0,62	2,41
	4	2,19 $\pm$ 0,92	2,27 $\pm$ 1,03	3,12 $\pm$ 0,49	2,27
	6	1,50 $\pm$ 0,56	1,80 $\pm$ 0,66	2,87 $\pm$ 0,62	1,80
	8	1,53 $\pm$ 0,65	1,72 $\pm$ 1,00	2,44 $\pm$ 0,72	1,72
	10	1,88 $\pm$ 0,82	2,22 $\pm$ 1,26	2,44 $\pm$ 1,00	2,22
Nitrato (330 mg L^{-1})	2	1,72 $\pm$ 0,66	1,75 $\pm$ 0,69	2,16 $\pm$ 0,46	1,75
	4	2,25 $\pm$ 0,87	3,05 $\pm$ 1,21	3,45 $\pm$ 0,59	3,05
	6	1,44 $\pm$ 0,56	1,80 $\pm$ 0,71	3,18 $\pm$ 0,69	1,80
	8	1,64 $\pm$ 0,54	2,14 $\pm$ 0,79	3,16 $\pm$ 0,72	2,14
	10	1,61 $\pm$ 0,64	2,47 $\pm$ 0,94	3,41 $\pm$ 0,64	2,47
Fósforo (9 mg L^{-1})	2	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	2,41 $\pm$ 0,42	1,00
	4	2,11 $\pm$ 0,75	2,51 $\pm$ 0,95	2,86 $\pm$ 0,68	2,51
	6	1,63 $\pm$ 0,72	2,22 $\pm$ 1,12	3,29 $\pm$ 0,74	2,22
	8	1,41 $\pm$ 0,55	1,58 $\pm$ 0,96	2,79 $\pm$ 0,84	1,58
	10	1,94 $\pm$ 0,71	2,44 $\pm$ 0,96	3,00 $\pm$ 0,79	2,44
Potasio (49,5 mg L^{-1})	2	1,47 $\pm$ 0,73	1,52 $\pm$ 0,77	2,10 $\pm$ 0,47	1,52
	4	2,00 $\pm$ 0,89	2,50 $\pm$ 1,18	2,96 $\pm$ 0,81	2,50
	6	1,41 $\pm$ 0,55	1,75 $\pm$ 0,80	3,04 $\pm$ 0,62	1,75
	8	1,50 $\pm$ 0,56	1,55 $\pm$ 0,55	2,52 $\pm$ 0,61	1,55
	10	1,94 $\pm$ 0,95	2,11 $\pm$ 1,03	2,72 $\pm$ 0,71	2,11

3.3 Influencia de la adición de tres concentraciones de sacarosa (3, 4 y 5%) al medio de cultivo.

Otra de las formas de intentar incrementar la productividad de *C. odorata* fue sometiéndola a tres concentraciones distintas de sacarosa y comprobar si el aumento de la cantidad de esta fuente hidrocarbonada funciona de forma benéfica en la micropropagación de esta especie.

Aunque la Tabla 26 indica que la sacarosa a una concentración de 4% aumentó ligeramente la producción de brotes, no consideramos que la diferencia con respecto a la concentración 3% sea notoria, inclusive esta última ejerció mejor influencia sobre la altura de los brotes.

TABLA 26. Influencia de tres concentraciones de sacarosa (3, 4 y 5%) sobre las tasas de multiplicación de *Cedrela odorata* proveniente de semilla. N= 36 explantos por tratamiento.

Sacarosa (%)	Mes de subcultivo	Número de brotes por explanto	Número de segmentos por explanto	Altura del brote más largo por explanto (Cm)	Coefficiente de multiplicación
3	2	1,52±0,61	2,02±0,97	2,78±0,91	2,02
	4	1,77±0,83	2,02±0,97	2,86±0,75	2,02
	6	1,58±0,90	1,80±1,09	2,85±0,84	1,80
4	2	1,83±1,08	2,16±1,13	2,78±0,87	2,16
	4	1,58±0,60	1,69±0,75	2,11±0,71	1,69
	6	1,97±0,91	2,19±1,11	2,67±0,91	2,19
5	2	1,47±0,69	1,66±0,95	2,11±0,83	1,66
	4	2,11±0,88	2,47±1,13	2,77±0,88	2,47
	6	1,64±0,48	1,97±0,73	2,45±0,97	1,97

Para los resultados de este ensayo se realizó un Anova que compara las medias de las cuatro variables dependientes (número de brotes, número de segmentos, altura del brote y coeficiente de multiplicación) con las dos variables independientes (concentración de sacarosa y mes de medida) y no se observaron diferencias significativas en ambos casos, pues el valor de significación es $P>0.05$, con un nivel de confianza de 99%, (ver Anexos 101 y 102).

Visualmente en este ensayo y en todos los de *C. odorata* la concentración 3% de sacarosa es óptima, la producción de brotes y de segmentos es aceptable, los brotes presentaron crecimiento bueno y proporcionado. En cambio en los brotes que estuvieron bajo la influencia de 5% de sacarosa se produjo callo basal en los tallitos, volviéndolos débiles y quebradizos en la base. Al terminar la experiencia no se realizó inducción de enraizamiento ya que la base de los tallos del tratamiento con 5% de sacarosa no era totalmente aptos para enraizar. Además ya se habían obtenido buenos porcentajes de enraizamiento con los explantos provenientes del ensayo con 3% de sacarosa.

4. ENRAIZAMIENTO *IN VITRO*

Durante la fase anterior, la de multiplicación de los brotes y esporádicamente durante la fase de inducción, se notó que *C. odorata*, *C. montana*, *C. tinctoria* y *Q. humboldtii*, poseen la capacidad intrínseca de enraizar bajo condiciones *in vitro*, sin necesidad de adicionar auxinas al medio de cultivo, ni de inducir el enraizamiento mediante la reducción de la cantidad de nutrientes. Ellas solas en mayor (*C. odorata*, *C. montana* y *C. tinctoria*) o menor medida (*Q. humboldtii*) producían algunas raíces a partir de la tercera semana de transferencia a medio fresco, aún bajo la influencia de la citoquinina (BA).

No obstante con el fin de incrementar la capacidad de enraizamiento de estas especies, realizamos diferentes ensayos de inducción con AIB, según la necesidad de cada una, y contrastándolos con el control. Para esto utilizamos exclusivamente el material vegetal de la fase de multiplicación, por considerarse más estable.

Todas las experiencias de enraizamiento las programamos para que durase un intervalo de tiempo de cuatro semanas cada una.

4.1 *Cedrela odorata*

Como indicamos en el capítulo de metodología, en los ensayos de enraizamiento realizados con cedro rosado, empleamos dos tipos de inducción, control (ausencia de auxina) y AIB 1,0 mgL⁻¹. Previo a estos ensayos definitivos realizamos otros con diferentes concentraciones de AIB y de ANA, pero al observarse que el cedro no requería dosis altas de auxina y que la mejor respuesta la presentaba el AIB, optamos por utilizar éste a una concentración 1,0 mgL⁻¹.

▪ Brotes procedentes de semilla cultivada *in vitro*

La ausencia de auxina dio como resultado (Tabla 27) valores más altos en todas las variables dependientes evaluadas (porcentaje de enraizamiento, número de raíces, longitud de la raíz primaria y de la secundaria más larga y número de hojas), excepto en la altura de la planta, la cual dio un promedio de 2,67 cm en el control y 2,70 cm en el tratamiento con AIB 1,0 mgL⁻¹. El porcentaje de enraizamiento en el control fue más alto comparado con el de AIB, confirmando que esta especie posee por si sola buena capacidad de enraizamiento durante el primer año y medio de subcultivo bajo condiciones *in vitro*, cuando los explantos han procedido de semilla igualmente germinadas *in vitro*.

Casi la totalidad de los explantos respondieron bien morfológicamente a los ensayos de inducción, incluso los que enraizaban tardíamente. El aspecto era normalmente vigoroso y el color de las hojas y tallo era verde oscuro al menos durante las tres primeras semanas. La fisonomía de las plántulas no se vio alterada. Vale la pena resaltar la gran longitud que alcanzaba la raíz del cedro rosado en algunos explantos, superando incluso dos veces el tamaño de este, como también la calidad, pues la raíz se conservaba sana y de color blanquecino sin sufrir necrosamientos, demostrándose además que las condiciones del medio de cultivo (tipo y concentración del medio, clase y concentración de agar y de fuente carbonada) más las condiciones ambientales a las que fueron sometidas fueron acertadas.

El Anova del Modelo Lineal General opción Multivariante (ver Anexo 103) señala que no hay diferencias significativas entre el control y el tratamiento con AIB para el número de raíces ($P=0.644$), la longitud de la raíz secundaria ($P=0.631$), la altura de la plántula ($P=0.847$) y el número de hojas ($P=0.058$); pero si hay diferencias en la longitud de la raíz primaria ($P=0.001$). Por otra parte el análisis de “Comparación por Pares” (Anexo 104), el cual compara la ausencia con la presencia de auxina da como valores positivos o máximos al de la ausencia de auxina en los parámetros número de raíces, longitud de la raíz primaria y el número de hojas.

TABLA 27. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de brotes de *Cedrela odorata*. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento. N= 24 explantos por repetición. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Edad del explanto (meses)	Tratamiento (mgL ⁻¹)	Número total de explantos	Porcentaje de enraizamiento	Número de raíces	Longitud raíz primaria	Longitud raíz secundaria más larga (cm)	Altura planta (cm)	Número de hojas
0	Control	96	69 $\pm$ 0,40 ^a	1,68 $\pm$ 1,41 ^a	5,13 $\pm$ 3,36 ^a	0,43 $\pm$ 1,12 ^a	2,67 $\pm$ 0,73 ^a	1,80 $\pm$ 1,10 ^a
	AIB 1	96	48 $\pm$ 0,49 ^b	1,57 $\pm$ 1,98 ^a	3,43 $\pm$ 3,90 ^b	0,36 $\pm$ 0,84 ^a	2,70 $\pm$ 0,61 ^a	1,53 $\pm$ 0,83 ^a
4	Control	96	27 $\pm$ 0,45 ^a	0,51 $\pm$ 1,00 ^a	1,80 $\pm$ 3,61 ^a	0,17 $\pm$ 0,63 ^a	1,47 $\pm$ 1,41 ^a	1,65 $\pm$ 1,30 ^a
	AIB 1	96	71 $\pm$ 0,38 ^b	3,78 $\pm$ 3,04 ^b	7,14 $\pm$ 5,98 ^b	0,61 $\pm$ 1,05 ^b	1,80 $\pm$ 0,48 ^b	2,75 $\pm$ 1,55 ^b
12	Control	96	54 $\pm$ 0,48 ^a	0,87 $\pm$ 0,86 ^a	3,45 $\pm$ 3,80 ^a	0,39 $\pm$ 0,85 ^a	1,52 $\pm$ 0,30 ^a	1,82 $\pm$ 1,25 ^a
	AIB 1	96	62 $\pm$ 0,42 ^b	2,85 $\pm$ 2,54 ^b	4,16 $\pm$ 3,94 ^a	0,48 $\pm$ 0,98 ^a	1,49 $\pm$ 0,35 ^a	1,86 $\pm$ 1,18 ^a

Las letras distintas indican diferencias significativas

En uno de los preensayos realizados (datos no mostrados aquí) también obtuvimos buen porcentaje de enraizamiento cuando adicionamos AIB 0,5 mgL⁻¹ al medio, pero la sobrevivencia de las plántulas fue menor con respecto a las que estuvieron bajo el efecto de 1,0 mgL⁻¹ de la misma auxina. Por otro lado cuando utilizamos diferentes concentraciones de ácido naftalénacético (ANA) (datos no mostrados aquí), los brotes de cedro rosado produjeron mayor número de raíces pero con longitudes más cortas.

▪ Brotes procedentes de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad

Los resultados evidencian que los brotes que procedieron de yemas de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad perdieron un poco su capacidad de enraizamiento natural comparados con los que procedieron directamente de semilla germinada directamente *in vitro*; como también que la adición de AIB al medio de cultivo potenció su capacidad de enraizamiento por encima de la de los brotes de las otras procedencias. El buen vigor de las plántulas y su color se siguieron conservando en la etapa de enraizamiento aunque hubiésemos reducido los macronutrientes a la mitad.

En este ensayo los valores más altos (Tabla 27) en las seis variables dependientes evaluadas fueron para el tratamiento con AIB 1,0 mgL⁻¹. El 71% de los brotes produjeron raíces adventicias bajo el efecto del AIB, en cambio con el control sólo 27% (datos transformados). La auxina incrementó el número medio de raíces (3,78) en comparación al control (0,51), lo mismo que aumentó considerablemente la longitud de la raíz primaria (7,14 cm) comparada con el control (1,80 cm), y el desarrollo foliar (Tabla 27 y Figura 19).

El Anova del MLG opción Multivariante (ver Anexo 105) indica que hay diferencias significativas entre el control y el AIB para todas las variables evaluadas (número de raíces, longitud de la raíz primaria, longitud de la raíz secundaria, altura de las plántulas y número de hojas) ($P=0.001$ en todas). El Anexo 106 “Comparación por pares” indica que los valores máximos fueron para el tratamiento con auxina.

▪ Brotes procedentes de plantas de invernadero de doce meses

Las plántulas derivadas de este ensayo poseían buena apariencia, los tallitos eran un poco gruesos y las hojas de color verde oscuro, semejabán arbolitos en pequeña escala. Curiosamente superó al ensayo de cuatro meses en capacidad de producción de raíces adventicias en ausencia de auxina. La auxina exógena no ejerció un estímulo fuerte de enraizamiento si se compara con el control. El tratamiento con auxina superó al control en todas las variables, excepto en la altura de la planta que fue 1,49 cm en AIB y 1,52 cm para el control. Según la Tabla 27, los valores entre ambos tratamientos se aprecian más parejos.

El Anova del MLG opción Multivariante indica que entre el control y el tratamiento con AIB hay diferencias significativas en el número de raíces ($P=0.001$), pero no hay diferencias en la longitud de la raíz primaria ($P=0.184$), en la longitud de la raíz secundaria ($P=0.457$), en la altura de la plántula ($P=0.493$) y en el número de hojas ($P=0.802$) (ver Anexo 107). El análisis “Comparación por pares” (Anexo 108) solo da el valor más alto al control en el parámetro altura de la plántula, pues la diferencia con el tratamiento con auxina dio un valor positivo.

Haciendo un análisis comparativo de los valores de los tres ensayos de *C. odorata* (Tabla 27), se aprecia que la altura de las plántulas obtenidas *in vitro* es mayor para las procedentes de semilla en ambos tratamientos que para las que proceden de las yemas de plantas de invernadero. La producción de hojas se vio incrementado en los explantos provenientes de yemas de plántulas de invernadero de cuatro meses con el tratamiento de AIB.

La producción de raíces secundarias es escasa en el cultivo *in vitro* del cedro rosado (observación visual) y las longitudes son cortas en todos los ensayos (Figura 20), (Tabla 27). La longitud de la raíz de *C. odorata* es un parámetro que presenta muchas variaciones dentro de cada población de plantas, mientras unos explantos poseen raíces muy largas, otros tienen raíces cortas (observación visual), además lo demuestran las desviaciones estándares, ahora bien, todas forman una red entrelazada dentro de la jarra de cultivo.

Comparando las yemas que proceden de las plantas de doce meses con las de cuatro meses, se observa que en ausencia de auxina, las de doce meses superan en todas las variables a las de cuatro meses.

Esta especie presenta un sistema radical semifibroso, moderadamente abundante en condiciones *in vitro*, además la longitud de la raíz principal puede superar hasta cinco veces el tamaño del explanto, como observamos en algunos ejemplares provenientes de yemas de plántulas de invernadero de cuatro meses. La producción de raíces secundarias es menor pero con alguna frecuencia pueden alcanzar el tamaño del explanto.

Igual que durante las fases inicio y multiplicación, también se realizó para la fase de enraizamiento el análisis “Medidas repetidas” con el fin de comparar todas las edades de origen. En el caso del número de raíces se pudo apreciar que el factor edad no tiene un efecto significativo sobre esta variable ($P=0.183$), en cambio el factor presencia ausencia de auxina si tiene efecto significativo sobre la longitud de la raíz primaria ($P=0.001$). La interacción entre los dos factores resultó significativa ($P=0.001$) (ver Anexo 109). Las medias de los “Estadísticos descriptivos” para el **número de raíces** (ver Anexo 110) indica que el valor más alto fue con la edad cuatro meses en presencia de AIB (3,78) seguido por la edad doce meses en presencia de AIB (2,85), seguido por el origen semilla en ausencia de auxina (1,687). Para el caso de la **longitud de la raíz primaria** (ver Anexo 111) se aprecia que el factor edad no tiene efecto significativo sobre esta variable ($P=0.622$), en cambio el factor presencia ausencia de auxina si ($P=0.001$) y que la interacción de los dos factores es significativa ($P=0.001$). Las medias de los estadísticos descriptivos (ver Anexo 112) indican que **el valor más alto fue para la edad cuatro meses con el tratamiento de auxina (7,14)**, seguido por la edad semilla en ausencia de auxina (5,13) y por la edad doce meses en presencia de auxina (4,15). Las “Medidas repetidas” señala que no hay efecto significativo del factor edad sobre **la longitud de la raíz secundaria** ($P=0.919$), el efecto del factor presencia ausencia de auxina está entre el límite de significativo o no ($P=0.052$). La interacción edad por tratamiento no es significativa ($P=0.145$) (ver Anexo 113). Las medias de los estadísticos descriptivos para la longitud de la raíz secundaria (ver Anexo 114) indica que **el valor más alto fue para la edad cuatro meses en presencia de AIB (0.61)**, seguidos por la edad doce meses en presencia de AIB (0,486) y luego por el origen semilla en ausencia de AIB (0,427). En el caso de la **altura de la plántula** el factor edad tiene efecto significativo sobre esta ($P=0.001$), al igual que el factor presencia ausencia de auxina ($P=0.038$). La interacción entre estos dos factores también es significativa ($P=0.003$) (ver Anexo 115). Los “estadísticos descriptivos” (ver Anexo 116) indican que la media más alta es para la edad semilla en presencia de AIB (2,69), seguidas de semilla en ausencia de AIB (2,67) y de la edad cuatro meses en presencia de AIB (1,799). Con relación al **número de hojas** el factor edad tiene efecto significativo sobre esta variable ($P=0.043$), lo mismo que el factor presencia ausencia de auxina ($P=0.040$). La interacción entre los dos factores es significativa ($P=0.001$), (ver Anexo 117). Los estadísticos descriptivos dan el valor más alto a el origen cuatro meses adicionado con AIB (1,75) (ver Anexo 118).

Referente a la comparación del **porcentaje de enraizamiento** (con los valores transformados previamente) entre las edades, el Anova de las “Medidas repetidas” indica que el factor edad no tiene efecto significativo sobre esta variable ($P=0.146$), en cambio el factor presencia ausencia de auxina si tiene efecto significativo sobre el porcentaje de enraizamiento ($P=0.001$). La interacción entre los dos factores fue significativa ($P=0.001$) (ver Anexo 119). Las medias de los estadísticos descriptivos señalan que el porcentaje de enraizamiento más alto fue para la edad cuatro meses en presencia de AIB (71,06), seguidos por semilla en ausencia de AIB (69,91) y doce meses con auxina (62,65) (ver Anexo 120).

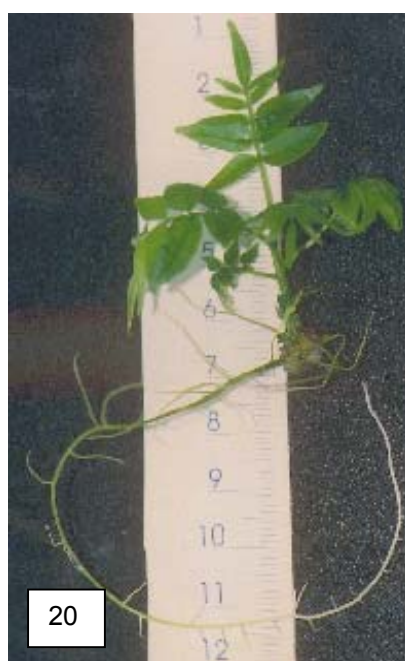


Figura 19. Brotes de *Cedrela odorata* enraizados *in vitro*, procedentes de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad. AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ (izquierdo) y control (derecha).

Figura 20. Brote de *Cedrela odorata* enraizado *in vitro*, procedente de plantas de invernadero de doce meses de edad.

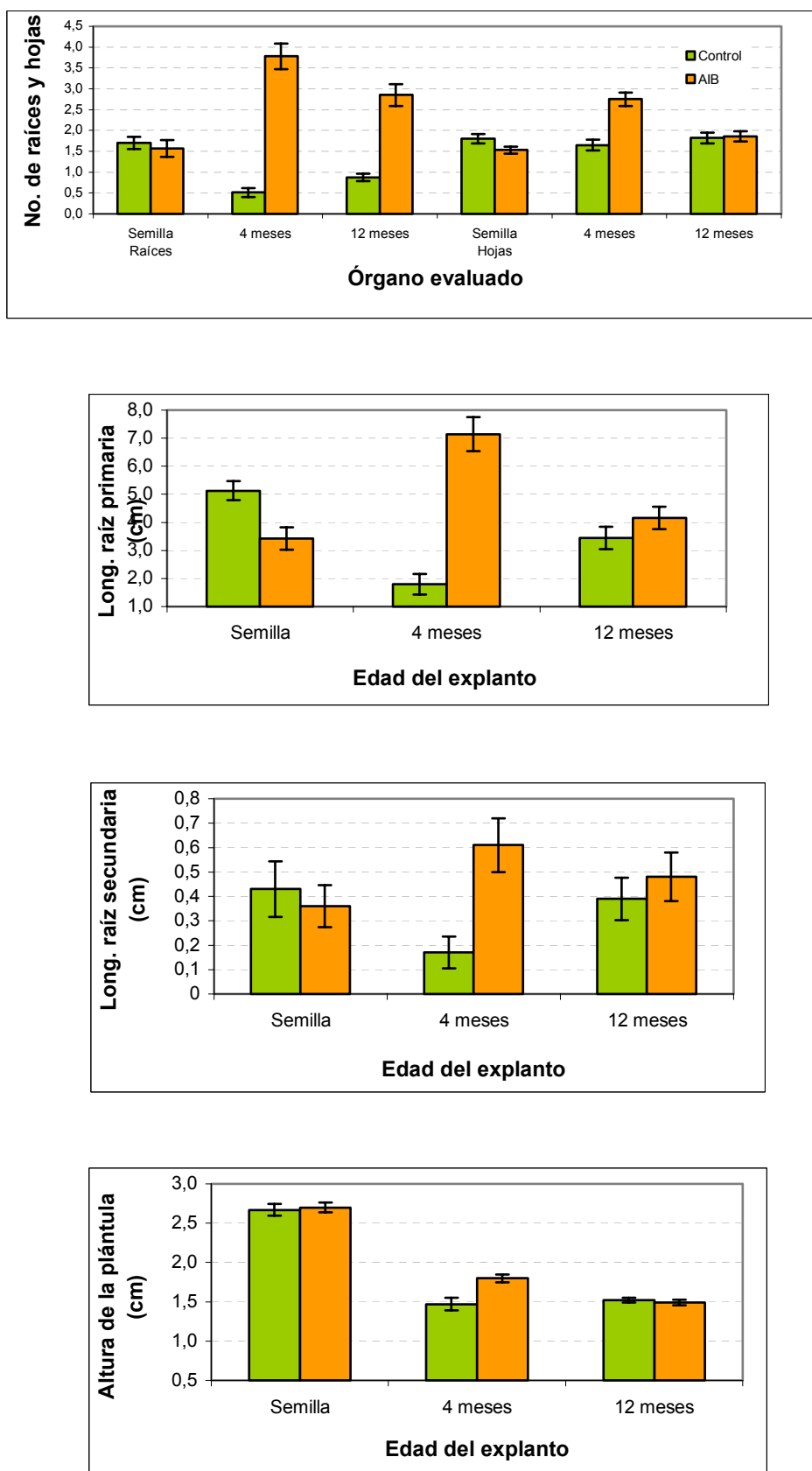


Figura 21. Comportamiento de *Cedrela odorata* durante el enraizamiento.

La Figura 21 representa los datos de la Tabla 27 ya explicados en el texto. En la Figura 21 A, sobresale el origen cuatro meses de edad adicionado con AIB como el mayor productor de raíces y de hojas. En las Figuras 21 B y C, sobresale la misma edad en la longitud de la raíz primaria y secundaria. En la Figura 21 C se aprecia que los brotes que procedieron de semilla crecieron más que los de los otros orígenes.

4.2 *Cedrela montana*

▪ Brotes procedentes de plantas de invernadero de nueve meses de edad

Debido a que solo disponíamos de material relativamente suficiente para enraizar las yemas que procedían de plantas de invernadero de nueve meses, le inducimos el enraizamiento a estas; por el contrario el número de brotes que provenían de plantas de invernadero de doce meses era muy escaso.

Antes de iniciar la inducción del enraizamiento, varios de los explantos ya se encontraban enraizados, incluso con un sistema radicular abundante en presencia de la citoquinina. El cedro de altura tiene por si solo buena capacidad de producción de raíces adventicias como se comprueba en la Tabla 28. Más aún se podría pensar que la presencia de AIB ejerció un efecto ligeramente negativo sobre su porcentaje de enraizamiento y producción de hojas (Figura 22) aunque incrementó el doble el número de raíces.

De nuevo el mismo medio de cultivo utilizado para generar enraizamiento en *C. odorata* también dio resultados positivos en *C. montana*, produciendo un desarrollo radicular abundante.

Con la ausencia de auxina se presentan valores más altos en las variables, longitud de raíz primaria, longitud de raíz secundaria, altura de la planta, porcentaje de enraizamiento y número de hojas; mientras que el tratamiento con auxina solamente supera al control en el número de raíces (3,60) (Tabla 28).

La longitud de la raíz primaria es el parámetro con mayor variación en ambos tratamientos, seguido del número de raíces en el tratamiento con auxina. La base de los tallos de algunas plántulas del tratamiento con AIB estaba engrosada, semileñosa, de color amarillo oscuro y canaleada (tallos abiertos). Las plántulas presentaron buena forma y una proporción relativa entre hojas y tallo, sin embargo algunos ejemplares se notaban un tanto quebradizos. El color que siempre las caracterizó fue el verde claro.

Según el Anova del MLG opción Multivariante (ver Anexo 121) hay diferencias significativas entre el tratamiento con AIB y la ausencia de auxina en el número de raíces ($P=0.001$), también hay diferencias en la longitud de la raíz primaria ($P=0.001$), en la longitud de la raíz secundaria ($P=0.010$) y en el número de hojas ($P=0.001$), pero no hay diferencias en la altura de la plántula ($P=0.516$).

El Anexo 122, presenta las medias para cada tratamiento en cada uno de los parámetros. Y el Anexo 123 “Comparación por pares” el cual hace la diferencia entre las medias de presencia y ausencia de auxina, da valores positivos para ausencia de auxina a los parámetros longitud de la raíz primaria y secundaria, altura de la plántula y número de hojas.

El Anova de un factor realizada para los datos transformados de porcentaje de enraizamiento indica que no hay diferencias significativas ($P= 0.594$) entre el control y el tratamiento con AIB.

TABLA 28. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de brotes de *C. montana*. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento N=24 explantos por repetición. Promedio $\pm$ desviación estándar.

Edad del explanto (meses)	Tratamiento	Número total de explantos	Porcentaje de enraizamiento	Número de raíces	Longitud raíz primaria (cm)	Longitud raíz secundaria más larga (cm)	Altura planta (cm)	Número de hojas
9	Control	96	66,06 $\pm$ 4,76 ^a	1,70 $\pm$ 1,78 ^a	7,19 $\pm$ 5,74 ^a	0,64 $\pm$ 1,05 ^a	2,10 $\pm$ 0,53 ^a	2,30 $\pm$ 1,73 ^a
	AIB 1mgL ⁻¹	96	61,83 $\pm$ 6,24 ^a	3,60 $\pm$ 3,73 ^b	4,84 $\pm$ 5,07 ^b	0,31 $\pm$ 0,79 ^b	2,05 $\pm$ 0,48 ^a	1,56 $\pm$ 1,48 ^b

Letras distintas indican diferencias significativas



Figura 22. Brotes de *Cedrela montana* enraizados *in vitro*, procedentes de plantas de invernadero de nueve meses de edad. Tratamiento AIB 1,0 mgL⁻¹ (izquierda) y control (derecha).

En definitiva, el sistema radical del cedro de montaña es similar al del cedro rosado en las mismas condiciones *in vitro*. La longitud de la raíz en el tratamiento control puede superar cinco veces el tamaño del explanto y el tamaño de las raíces secundarias alcanza casi el del brote. Esta especie sobresale mas por la longitud de las raíces que por la producción abundante, al menos con los dos tratamientos de inducción realizados en este estudio.

En la Figura 23 se representan los datos de la Tabla 28, comentados anteriormente. En esta figura se observa que el número de raíces es mayor con el tratamiento con AIB, en cambio el número de hojas es mayor en el control. También que la raíz más larga se produjo en el control y que la altura de la plántula es casi la misma tanto en ausencia de auxina como en presencia de ella.

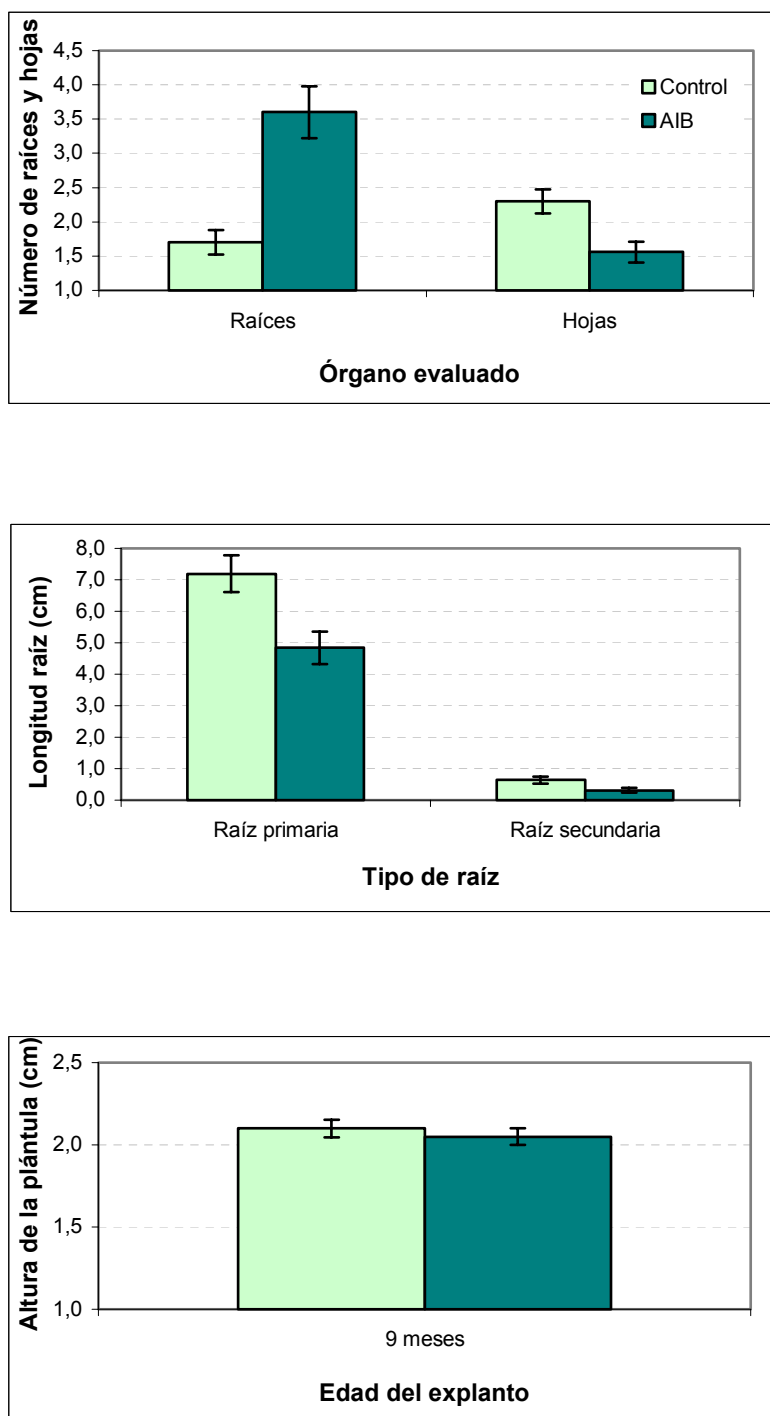


Figura 23. Comportamiento de *Cedrela montana* durante el enraizamiento

4.3 *Chlorophora tinctoria*

Igual que las anteriores dos especies, el dinde también tiene facilidad de producir raíces adventicias en condiciones *in vitro*. Aún así, aunque inicialmente su sistema radicular llegue a ser abundante y de buen aspecto en algunos especímenes, sus raíces empiezan a necrosarse en la segunda semana de aparición de la raíz. La necrosis se distingue primero en la parte apical de la raíz (cofia) con un color marrón, extendiéndose luego por toda su superficie hasta llegar al punto de conexión raíz-tallo, con la consiguiente deshidratación y muerte de los tejidos.

▪ Brotes procedentes de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad

La adición de AIB no ejerció mayor influencia sobre la capacidad de enraizamiento de los brotes. En la Tabla 29 se aprecia que el AIB $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ sólo incrementó ligeramente el porcentaje de enraizamiento frente al control, también incrementó la longitud de la raíz primaria, la secundaria y la altura de la plántula. En cambio el control superó al AIB en el número de raíces y en el número de hojas.

Según el Anova del MLG opción Multivariante (ver Anexo 124) en este ensayo no existen diferencias significativas entre el control y el tratamiento de enraizamiento con AIB $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ para el número de raíces ($P=0.608$) y la longitud de la raíz primaria ($P=0.309$) y secundaria ($P=0.785$), pero si hay diferencias para la altura de la plántula y el número de hojas ($P=0.001$ en ambos). En el análisis “Comparación por pares” la diferencia entre las medias da los valores mas altos al control en los parámetros número de raíces y número de hojas (Anexo 125).

▪ Brotes procedentes de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad y enraizadas *in vitro* sobre sustrato.

El enraizamiento en sustrato se realizó con el fin de evitar la necrosis de las raíces producidas en el medio con agar, pero a pesar de que se redujo un poco el pardeamiento de dichas raíces, las respuestas en el enraizamiento fueron notablemente inferiores a las obtenidas con el agar.

Tanto el control como el AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ (Tabla 29) produjeron efectos leves sobre la capacidad de enraizamiento del dinde. El AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ solo produjo un porcentaje de enraizamiento de 4,40%. No hubo producción de raíces secundarias cuando se usó el sustrato perlita vermiculita, solamente se destaca la producción de hojas (3,27 en el control y 2,35 en el AIB).

El Anova del MLG opción Multivariante (ver Anexo 134) indica que no hay diferencias significativas entre el control y el AIB en las variables número de raíces ($P=0.338$), longitud de la raíz primaria ($P=0.663$), altura de la plántula ($P=0.454$) y el número de hojas ($P=0.534$). El análisis “Comparación por pares” (Anexo 135) da el valor más alto para el control en el número de hojas.

▪ Brotes procedentes de plantas de invernadero de seis meses de edad

Cuando sometimos los explantos a la acción del AIB $0,5 \text{ mgL}^{-1}$, estos produjeron mejores respuestas de enraizamiento que en ausencia auxina (control). No obstante los porcentajes de enraizamiento no fueron altos en ninguno de los dos (Tabla 29). A pesar de que los brotes de dinde cultivados *in vitro* poseen tamaños pequeños, las raíces bajo la acción de la auxina llegan a ser largas (promedio $2,78 \pm$

2,0 cm). Sobresale también la longitud de la raíz secundaria ($0,91 \pm 1,22$ cm) bajo el efecto de la auxina.

TABLA 29. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de brotes de *Chlorophora tinctoria*. Se realizaron dos repeticiones por tratamiento para las yemas de plantas de cuatro meses de edad, y cuatro repeticiones para las demás. Se emplearon 24 explantos por repetición. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Edad del explanto (meses)	Tratamiento (mgL^{-1})	Número de explantos	Porcentaje de enraizamiento (datos transformados)	Número de raíces	Longitud raíz primaria (cm)	Longitud raíz secundaria más larga (cm)	Altura de planta (cm)	Número de hojas
4	Control	48	$52,64 \pm 0,46^a$	$1,62 \pm 1,79$	$1,11 \pm 1,19^a$	$0,32 \pm 0,56^a$	$1,13 \pm 0,16$	$5,56 \pm 1,36$
	AIB 0,5 ¹	48	$57,49 \pm 0,41^a$	$1,45 \pm 1,43$	$1,35 \pm 1,28^a$	$0,35 \pm 0,53^a$	$1,34 \pm 0,15$	$4,62 \pm 1,45$
4 (sustrato)	Control	48	$3,00 \pm 0,14^a$	$0,10 \pm 0,59$	$0,01 \pm 0,05^a$	$0,00 \pm 0,00$	$1,10 \pm 0,40$	$3,27 \pm 1,56$
	AIB 1,0	48	$4,40 \pm 0,20^a$	$0,02 \pm 0,14$	$0,00 \pm 0,04^a$	$0,00 \pm 0,00$	$1,10 \pm 0,49$	$2,35 \pm 1,56$
6	Control	96	$35,25 \pm 0,48^a$	$1,04 \pm 1,68$	$1,23 \pm 1,68^a$	$0,31 \pm 0,77^a$	$1,26 \pm 0,69$	$3,07 \pm 2,61$
	AIB 0,5 ¹	96	$51,71 \pm 0,49^a$	$2,21 \pm 2,45$	$2,78 \pm 2,70^b$	$0,91 \pm 1,22^b$	$1,46 \pm 0,57$	$3,29 \pm 2,26$
7	Control	96	$45,59 \pm 0,49^a$	$0,87 \pm 1,13$	$1,35 \pm 1,84^a$	$0,19 \pm 0,53^a$	$1,56 \pm 0,32$	$4,35 \pm 2,32$
	AIB 0,5	96	$49,70 \pm 0,49^a$	$1,51 \pm 1,77$	$1,88 \pm 2,48^a$	$0,35 \pm 0,84^a$	$1,62 \pm 0,28$	$4,24 \pm 2,25$
7 (sustrato)	Control	96	$10,41 \pm 0,34^a$	$0,23 \pm 0,67$	$0,05 \pm 0,13^a$	$0,00 \pm 0,02^a$	$1,23 \pm 0,26$	$3,33 \pm 1,41$
	AIB 1,0	96	$20,81 \pm 0,36^a$	$0,31 \pm 0,87$	$0,18 \pm 0,53^b$	$0,05 \pm 0,16^b$	$1,32 \pm 0,35$	$3,33 \pm 1,50$

Letras distintas indican diferencias significativas

En este ensayo el AIB ejerció mayor efecto sobre la formación de raíces que en las otras procedencias. El Anova del MLG (Anexo 126) muestra que hay diferencias significativas en el número de raíces, la longitud de la raíz primaria y secundaria ($P=0.001$ en las tres) y la altura de la plántula ($P=0.031$), pero no hay diferencias significativas en el número de hojas ($P=0.539$). El análisis “Comparación por pares” (Anexo 127) indica que el tratamiento con auxina posee los valores más altos en todos los parámetros.

▪ Brotes procedentes de plantas de invernadero de siete meses de edad

Los porcentajes de enraizamiento continúan bajos en los dos tratamientos evaluados 44% en el control y 56% para el AIB $0,5 \text{ mgL}^{-1}$. La producción de hojas es buena en ambos tratamientos, 4,35 para el control y 4,24 para el AIB. El número de raíces es bajo en los dos tratamientos. Todas las variables fueron superiores para el tratamiento con AIB $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ excepto el número de hojas. Visualmente los brotes que estaban bajo la influencia de la auxina presentaron mayor vigor y mejor color. En cambio los brotes del tratamiento control eran endebles y amarillentos.

En un preensayo inducimos el enraizamiento de dinde con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ y agar *vitro*, pero esta concentración de auxina resultó elevada y causó producción de callo en la base de los tallitos que cubría hasta un 40% del brote.

El Anova del MLG opción Multivariante (ver Anexo 128) indica que solamente hay diferencias significativas entre la presencia y la ausencia de auxina en la inducción de enraizamiento para el número de raíces ($P=0.003$), y no hay diferencias significativas en la longitud de la raíz primaria ($P=0.086$), la longitud de la raíz secundaria ($P=0.132$), la altura de la plántula ($P=0.210$) y el número de hojas ($P=0.727$). La diferencia de medias en el análisis “Comparación por Pares” (ver Anexo 129) solo da el valor máximo al control en el parámetro número de hojas.

▪ **Brotes procedentes de plantas de invernadero de siete meses de edad, enraizados *in vitro* en sustrato.**

La presencia de AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ en el medio de cultivo hizo que los resultados superasen en todas las variables al control, excepto en el número de hojas que fue igual. El número de raíces es escaso y los porcentajes de enraizamiento bajos (Tabla 29). Según el MLG (ver Anexo 136) las diferencias significativas entre los dos se encuentran para la longitud de la raíz primaria ($P=0.014$) y secundaria ($P=0.012$) y para la altura de la plántula ($P=0.033$), en cambio para el número raíces ($P=0.460$) y de hojas ($P=0.960$) no hay diferencias significativas. La diferencia entre las medias de ambos tratamientos del análisis “Comparación por Pares” (ver Anexo 137) indica que el tratamiento con auxina tiene los valores más altos en todos los parámetros evaluados.

En general el aspecto de estas plantas enraizadas en sustrato fue vigoroso pero produjeron un número bajo de raíces excepto con algunos explantos que desarrollaron un sistema radicular fibroso abundante con buena producción de raíces secundarias y longitud de raíz principal (Figura 24).

Con los resultados de los tres ensayos de dinde (yemas provenientes de plantas de invernadero de cuatro, seis y siete meses) se realizó el Anova de las “**Medidas Repetidas**”, el cual muestra que el factor edad no tiene efecto significativo sobre el **número de raíces** ($P=0.375$) (ver Anexo 138), el factor presencia ausencia de auxina si tiene efecto significativo ($P=0.049$) y la interacción de ambos factores es significativa ($P=0.219$). Las medias de los “**Estadísticos Descriptivos**” (ver Anexo 139) indican que el valor más alto se obtuvo con la edad seis meses en presencia de AIB (1,89), seguidos de cuatro meses en ausencia de auxina (1,62) y cuatro meses en presencia de AIB (1,45). Con relación a la **longitud de la raíz primaria** (ver Anexo 140) el factor edad no tiene efecto significativo sobre esta variable ($P=0.446$), el factor presencia ausencia de auxina si tiene efecto significativo ($P=0.001$), y la interacción de los dos factores no es significativa ($P=0.273$). Los “**Estadísticos Descriptivos**” (ver Anexo 141) indican que la edad seis meses en presencia de AIB posee el valor más alto (2,33), seguido por los meses cuatro en presencia de AIB (1,35) y siete en presencia de AIB (1,33). Por otro lado el factor edad no tiene efecto significativo sobre la **longitud de la raíz secundaria más larga** ($P=0.242$) (ver Anexo 142), el factor presencia ausencia de auxina tampoco tiene efecto significativo ($P=0.373$), y la interacción de los dos factores no es significativa ($P=0.863$). Los “**Estadísticos Descriptivos**” (ver Anexo 143) indican que el mes siete en presencia de AIB tiene el valor más alto (0,40), seguidos por el mes cuatro en presencia de AIB (0,35) y cuatro

meses en ausencia de auxina (0,32). Por otra parte el factor edad (ver Anexo 144) tiene efecto significativo sobre la **altura de la plántula** ($P=0.007$), el factor presencia ausencia de auxina no tiene efecto significativo ($P=0.079$), y la interacción entre los dos factores no es significativa ($P=0.557$). Los “Estadísticos Descriptivos” (ver Anexo 145) muestran que el valor más alto es para la edad siete meses tratada con AIB (1,6733). En cuanto al **número de hojas** (ver Anexo 146), el factor edad tiene efecto significativo sobre este ($P=0.001$), el factor presencia ausencia de auxina no tiene efecto significativo ($P=0.968$), y la interacción entre estos dos factores no resultó significativa ($P=0.206$). Los estadísticos descriptivos (ver Anexo 147) muestran que el valor más alto se obtuvo con la edad cuatro meses en ausencia de auxina (5,56), seguidos por cuatro meses con AIB (4,62) y siete meses con AIB (3,74).



Figura 24. A, B: Brotes de dinde enraizados *in vitro* en sustrato, procedentes de plantas de invernadero de siete meses de edad.

Para los ensayos de **enraizamiento en sustrato** también realizamos los Anovas de las “Medidas repetidas”. En el caso del **número de raíces** (ver Anexo 148) el factor edad no tuvo efecto significativo sobre esta variable ($P=0.143$), el factor presencia ausencia de auxina tampoco tuvo efecto ($P=0.072$), y la interacción de los dos factores no resultó significativa ($P=0.621$). Los “**Estadísticos Descriptivos**” (ver Anexo 149) muestran que el valor más alto es para la edad siete meses en presencia de AIB (0,31). Con relación a la **longitud de la raíz primaria** el factor edad tiene efecto significativo sobre esta variable ($P=0.020$), lo mismo que el factor presencia ausencia de auxina ($P=0.015$) (ver Anexo 150). La interacción de los dos factores resultó significativa ($P=0.034$). Los “**Estadísticos Descriptivos**” (ver Anexo 151) indican que el valor más alto es 0,1721 que corresponde a los brotes de siete meses tratados con auxina. Referente a la **longitud de la raíz secundaria** tanto el factor edad como el factor presencia ausencia de auxina tuvieron efecto significativo sobre la longitud de la raíz secundaria más larga ($P=0.013$ en ambos). La interacción de los dos factores resultó significativa ($P=0.013$) (ver Anexo 152). La media más alta de los “**Estadísticos Descriptivos**” (ver Anexo 153) es para el mes siete en presencia de AIB (0,0582). Respecto a la **altura de la plántula** el factor edad no tuvo efecto significativo sobre esta ($P=0.068$), el factor presencia ausencia de auxina no tuvo efecto significativo sobre la altura ($P=0.121$). La interacción de los dos factores tampoco fue significativa ($P=0.650$) (ver Anexo 154). Las medias de los “**Estadísticos Descriptivos**” (ver Anexo 155) dan el valor más alto al mes siete en presencia de AIB (1,29) seguido del mes siete en ausencia de auxina (1,17). Con relación al **número de hojas** el factor edad tiene efecto significativo sobre esta variable ($P=0.005$), en cambio el factor presencia ausencia de auxina no ($P=0.634$) y la interacción entre estos dos factores tampoco ($P=0.675$) (ver Anexo 156). Los “**Estadísticos Descriptivos**” (ver Anexo 157) muestran que el valor más alto es 3,74 que corresponde a la edad siete meses tratada con AIB.

El Anova de las “**Medidas repetidas**” (ver Anexo 131) indica que para el **porcentaje de enraizamiento** el factor edad no tiene efecto significativo sobre esta variable ($P=0.079$), como tampoco el factor presencia ausencia de auxina ($P=0.107$). La interacción de los dos factores tampoco es significativa ($P=0.665$). Las medias de los “**Estadísticos Descriptivos**” (ver Anexo 130) indican que el valor máximo lo da el mes cuatro adicionado con auxina (57,49%), seguidos del mismo mes sin auxina (52,64%) y siete meses en presencia de AIB (52,21%). En el caso de los brotes que fueron **enraizados en sustrato** (datos transformados) (ver Anexo 159) se observa que el factor edad no tiene efecto significativo sobre el porcentaje de enraizamiento ($P=0.084$), ni tampoco el factor presencia ausencia de auxina ($P=0.101$). La interacción de los dos factores no es significativa ($P=0.371$). Según los “**Estadísticos Descriptivos**” (ver Anexo 158) el porcentaje de enraizamiento más alto lo obtuvo el mes siete en presencia de AIB (20,81).

La Figura 25 representa los datos de la Tabla 29. La Figura 25 muestra que los brotes de seis meses tratados con AIB obtuvieron mayor longitud de la raíz primaria y secundaria que los demás brotes. También muestra que los valores mínimos para ambos parámetros corresponden a los brotes enraizados en sustrato. En cuanto a la altura de la plántula el valor máximo fue para la edad siete meses, con presencia y ausencia de auxina, seguida por la edad seis meses.

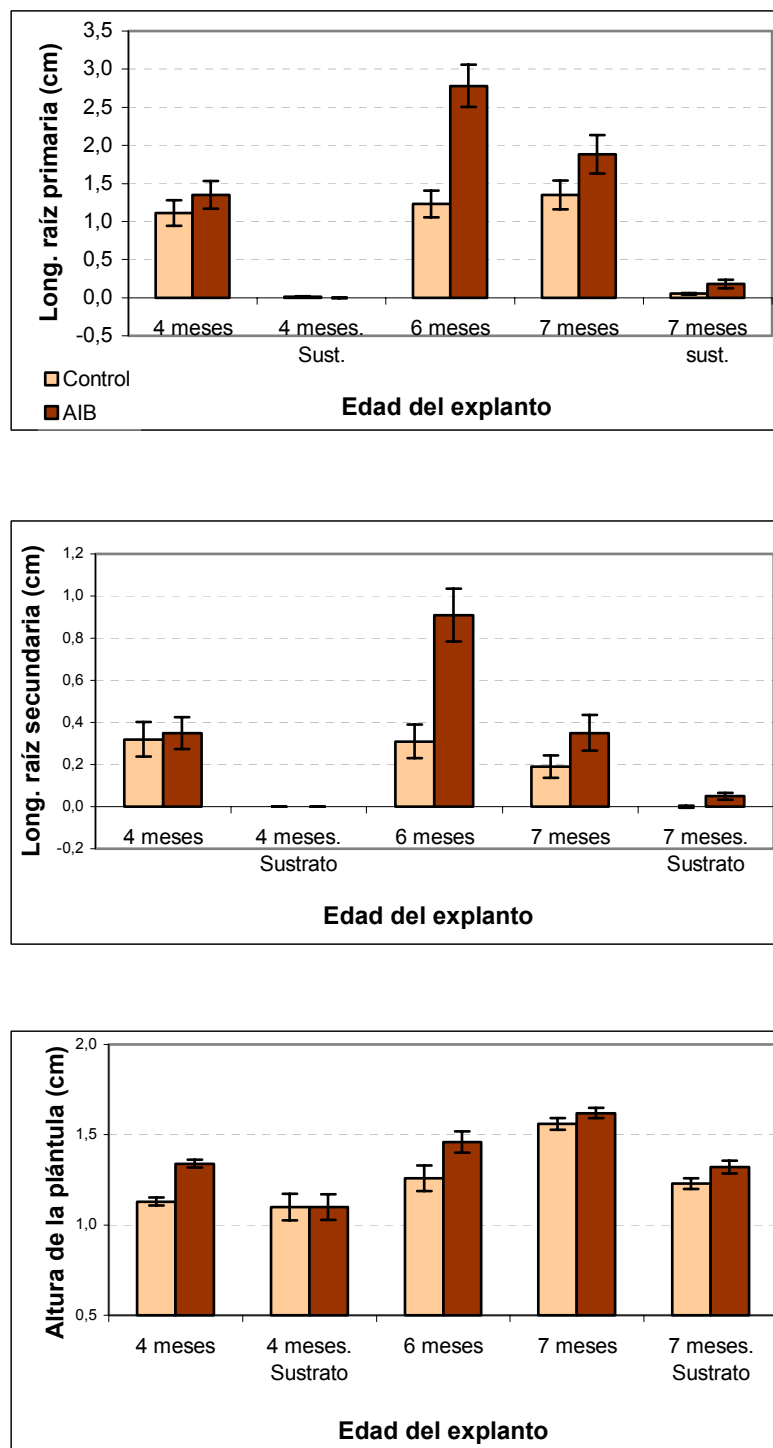
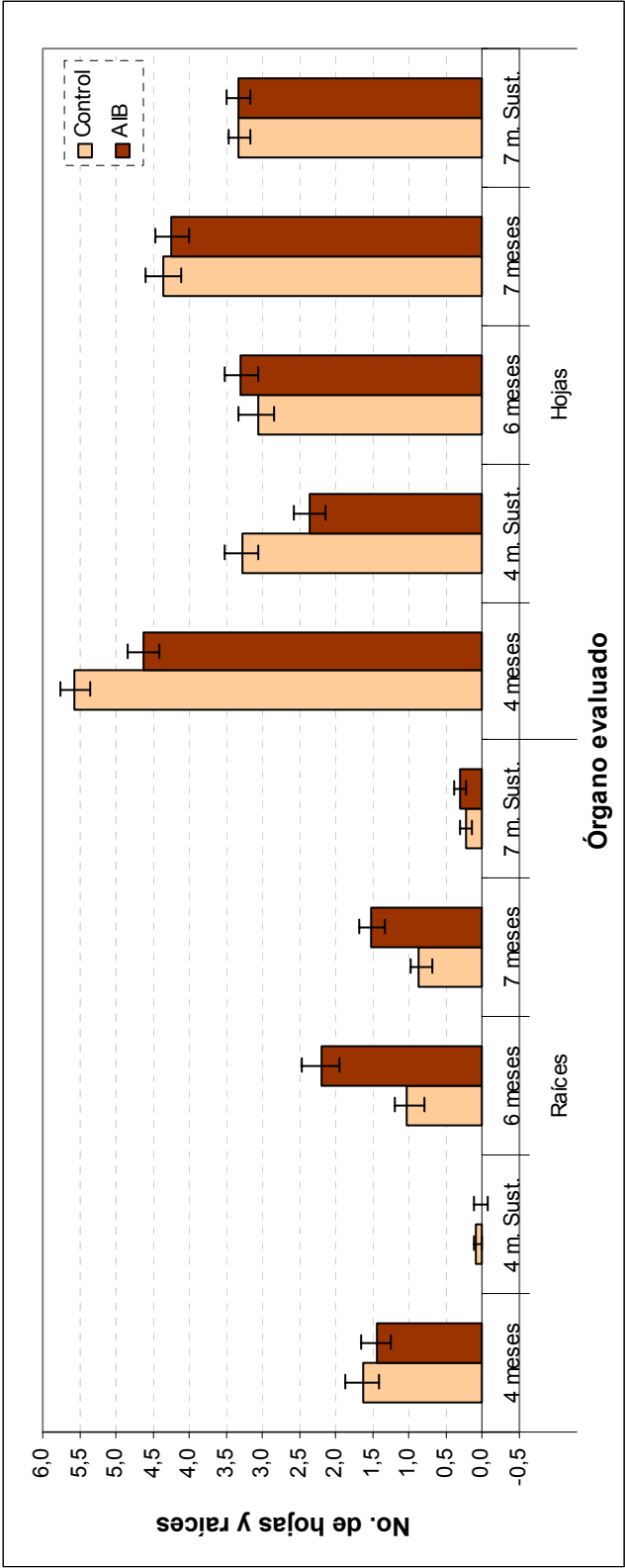


Figura 25. Comportamiento de *Chlorophora tinctoria* durante el enraizamiento.

Continuación figura 25



Curiosamente las plántulas de siete meses enraizadas en sustrato tuvieron promedios de altura similares a las de cuatro meses no crecidas en sustrato (Figura 25). También indica que los brotes de seis meses adicionado con AIB produjeron mayor número de raíces que las demás edades y tratamientos. El mayor número de hojas lo produjeron los brotes de cuatro meses tanto con ausencia de auxina como en presencia de ella, seguido de los brotes de siete meses. Por otra parte, el material enraizado en sustrato tuvo buena producción foliar.

4.4 *Quercus humboldtii*

▪ Brotes procedentes de plantas de invernadero de dos meses de edad

Solamente realizamos el ensayo de enraizamiento en los explantos de roble colombiano que provenían de plántulas de invernadero de dos meses de edad, pues en este caso contábamos con material justo para realizar las cuatro repeticiones con veinticuatro explantos cada una.

Las medias mostradas en la Tabla 30 indican que el roble no es fácil para enraizar, ya que la aparición de raíces en ausencia de auxina es esporádica, en cambio si se adiciona al medio de cultivo 25 mgL^{-1} de AIB el porcentaje se eleva a un 36,45% (datos transformados previamente) y así para todas las variables. No se evaluó otras concentraciones de AIB que pudieran aumentar este porcentaje porque no disponíamos de más cantidad de brotes en ese momento.

El Anova del MLG especifica que hay diferencias significativas entre la presencia y la ausencia de auxina para el número de raíces ($P=0.001$), la longitud de la raíz primaria ($P=0.001$) y la altura de la plántula ($P=0.003$) y que no existen diferencias significativas en la longitud de la raíz secundaria ($P=0.478$) ni en el número de hojas ($P=0.209$) (ver Anexo 160). El análisis “Comparación por pares” (ver Anexo 161), el cual realiza la diferencia en las medias del control y el tratamiento con auxina, muestra que en todos los parámetros evaluados los valores son más altos en los brotes tratados con auxina.

TABLA 30. Efecto del AIB sobre el enraizamiento de brotes de dos meses de *Quercus humboldtii*. Se realizaron cuatro repeticiones por tratamiento. N=24 explantos por repetición. Promedios $\pm$ desviación estándar.

Tratamiento	Número total de explantos	Porcentaje de enraizamiento	Número de raíces	Longitud raíz primaria (cm)	Longitud raíz secundaria más larga (cm)	Altura de la planta (cm)	Número de hojas
Control	96	$3,00 \pm 2,05^a$	$0,02 \pm 0,14^a$	$0,08 \pm 0,72^a$	$0,00 \pm 0,00^a$	$1,93 \pm 0,33^a$	$4,85 \pm 1,80^a$
AIB 25 mgL^{-1}	96	$36,45 \pm 5,58^b$	$0,79 \pm 1,18^b$	$1,10 \pm 1,64^b$	$0,01 \pm 0,08^a$	$2,11 \pm 0,51^b$	$5,17 \pm 1,91^a$

Letras distintas indican diferencias significativas

La forma que adquiere la raíz del roble colombiano en condiciones *in vitro*, es engrosada y terminada en punta (Figura 26), la mayoría de las veces carece de raíces secundarias (Figura 27) y su color es blanco. La media de la longitud es moderada ($1,10 \pm 0,008 \text{ cm}$) y el desarrollo radicular fue incipiente. La mayoría de los brotes mostraron buen aspecto las tres primeras semanas aunque no tuvieran raíces.



Figura 26. Brotes de roble colombiano enraizados *in vitro*, procedente de plántulas de invernadero de dos meses de edad. Con AIB 25 mgL⁻¹ (izquierda) y control (derecha). Escala en centímetros.

Figura 27. Brotes de roble colombiano enraizados *in vitro* con AIB 25 mgL⁻¹, procedente de plántulas de invernadero de dos meses de edad. Escala en centímetros.

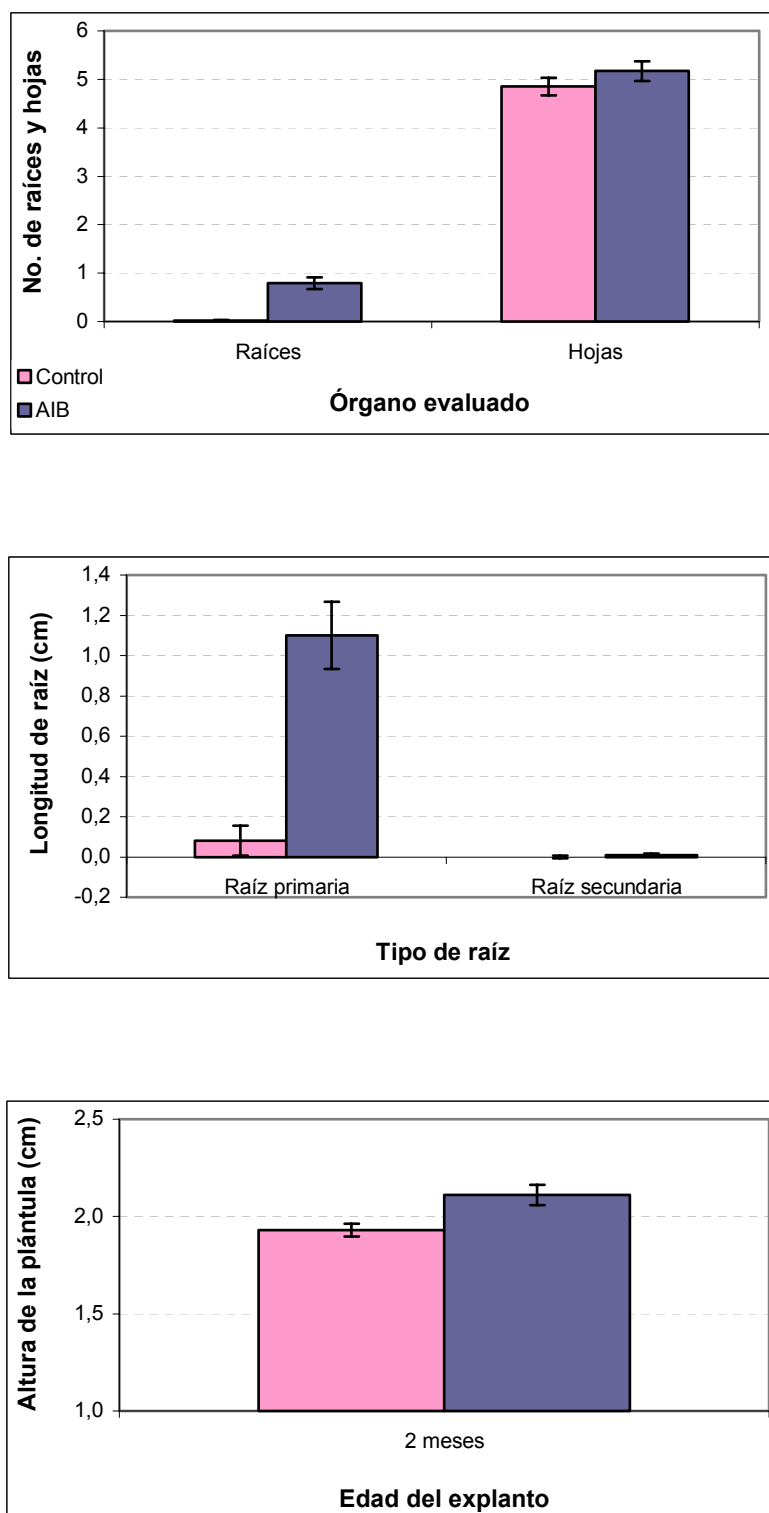


Figura 28. Comportamiento de *Quercus humboldtii* durante el enraizamiento.

En la Figura 28 se aprecia claramente que el tratamiento con AIB ejerce un efecto notable en el número de raíces comparado con el control. En cambio el número de hojas es casi el mismo tanto en el control como en el AIB. La Figura 28 muestra que la longitud de la raíz primaria es mucho mayor bajo el efecto de la auxina que sin ella. En cuanto a la raíz secundaria la auxina no ejerció gran efecto sobre ella. La altura de la plántula es casi igual en ambos casos, tanto en los brotes que no fueron tratados con auxina como en aquellos que si lo estuvieron, aunque la auxina ejerció ligeramente un efecto más positivo.

4.5 Comparación de la capacidad de enraizamiento entre las cuatro especies.

Finalmente, aunque visualmente notamos que los dos cedros poseían mejor desarrollo radicular que el dinde y el roble, con los datos colectados realizamos cálculos numéricos (Tabla 31) para ver cual de todas mostró realmente mejor respuesta de enraizamiento tanto en el control como bajo el efecto del AIB. La tabla ofrece información más detallada acerca de la producción de raíces en las cuatro especies que investigamos. Estos datos no fueron transformados.

TABLA 31. Efecto de la edad y dos sistemas de inducción de enraizamiento sobre la producción de raíces adventicias en cuatro especies maderables.

Especie y edad del explanto (meses)	Tratamiento (mgL ⁻¹)	Porcentaje de brotes con tres o más raíces	Porcentaje de brotes con raíces ≥ 4,0 cm de longitud	Longitud máxima que alcanza la raíz principal (cm)
<i>C. odorata</i>				
Semilla	Control	20,83	65,62	12,80
	AIB 1,0	25	39,58	14,60
4	Control	4,16	18,75	17,10
	AIB 1,0	61,46	68,75	41,30
12	Control	5,21	39,58	14,00
	AIB 1,0	52,1	46,87	14,80
<i>C. montana</i>				
9	Control	19,79	63,54	19,70
	AIB 1,0	38,54	47,91	19,70
<i>C. tinctoria</i>				
4	Control	35,41	0	3,80
	AIB 0,5	10,41	4,16	4,60
6	Control	16,66	9,37	6,30
	AIB 0,5	44,79	39,58	8,50
7	Control	11,46	11,46	7,2
	AIB 0,5	28,1	16,66	13,60
<i>Q. humboldtii</i>				
2	Control	0	1,04	7
	AIB 25	10,41	8,33	6,60

Por ejemplo en *C. odorata* procedente de semilla germinada *in vitro*, se aprecia que la ausencia de auxina incrementó la cantidad de brotes con longitudes de raíz más largas, aunque la longitud máxima se obtuviera con AIB. Los brotes provenientes de plántulas de invernadero de cuatro meses de edad tuvieron una respuesta bastante buena respecto al control, sus valores se vieron notablemente aumentados, en especial la longitud máxima de la raíz.

En *C. montana* se puede sugerir que el AIB inhibió ligeramente el crecimiento de las raíces. El comportamiento de *C. tinctoria* es algo similar al de *C. odorata* ya que el AIB ejerció mayor influencia que el control a una edad intermedia de la planta. La concentración de AIB que utilizamos en el enraizamiento de los brotes de roble solo ejerció un incremento moderado sobre la producción de raíces.

5. CINÉTICA DE ENRAIZAMIENTO EN *Cedrela odorata*, *Cedrela montana* y *Chlorophora tinctoria*

Se pretende en este apartado ampliar un poco más la información sobre el enraizamiento pero especificando detalladamente la velocidad con que van apareciendo las raíces durante el transcurso de las cuatro semanas. Para esto se tomaron brotes de estas tres especies durante casi el final del estudio de la etapa de multiplicación y se enraizaron con el único fin de medir la velocidad de aparición de las raíces durante cuatro semanas.

5.1 Cinética de enraizamiento en *Cedrela odorata*

En este ensayo de enraizamiento de los brotes procedentes de semilla, a diferencia de otros ensayos previos de enraizamiento, la primera raíz aparece aquí el día ocho en el tratamiento con AIB y el día nueve en el control (Figura 29). Se puede observar que el día de la aparición de la primera raíz es variable a través de todo el período de subcultivo de la especie. El porcentaje de enraizamiento incrementa rápidamente los primeros doce días de inducción en el tratamiento con AIB, posteriormente se estabiliza (Figura 29). En el caso del control el porcentaje de enraizamiento incrementa moderadamente durante todo el tiempo de la evaluación, inclusive llega a superar al tratamiento con AIB a partir del día dieciocho.

En los brotes de cuatro meses de edad la primera raíz apareció el día cuatro tanto en el control como en el tratamiento con AIB (Figura 29). Como se puede apreciar la primera raíz apareció más pronto que en el ensayo procedente de semilla. Es probable que en los brotes de cuatro meses se hubiera empezado a inducir la formación de primordio por sí solos horas antes de que nosotros le indujéramos el enraizamiento. En este ensayo el AIB incrementó notoriamente el porcentaje de enraizamiento con respecto al control. En ambos casos el incremento ocurre entre los días cuatro al trece, después se estabiliza.

La primera raíz en las plántulas *in vitro* de *Cedrela odorata* procedentes de plantas de invernadero de doce meses de edad, tanto en el control como en el AIB 1,0 mgL⁻¹ también aparece el día cuatro. El número de raíces en el control sólo supera al del tratamiento AIB los días cinco y seis. La producción de raíces se dispara en ambos desde el día cinco hasta el once en AIB y hasta el día doce en el control. Posteriormente la aparición de raíces nuevas se hace gradualmente hasta completar las cuatro semanas, siempre superada por el tratamiento con AIB (Figura 29).

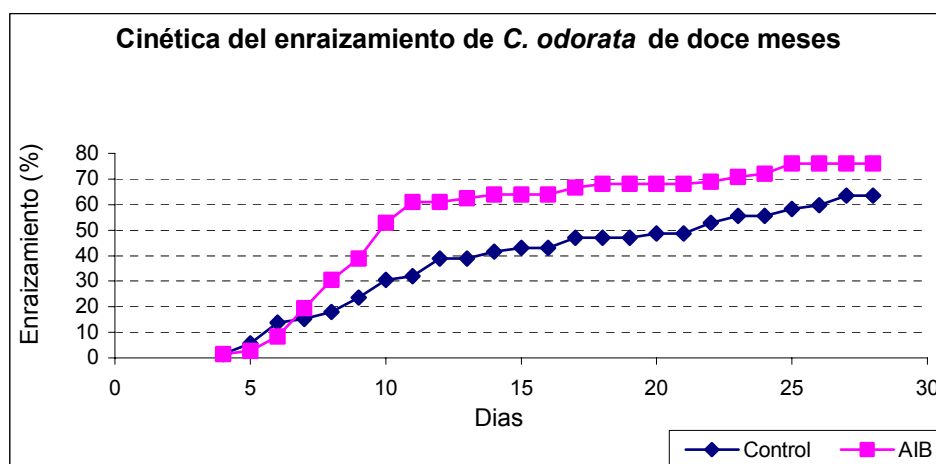
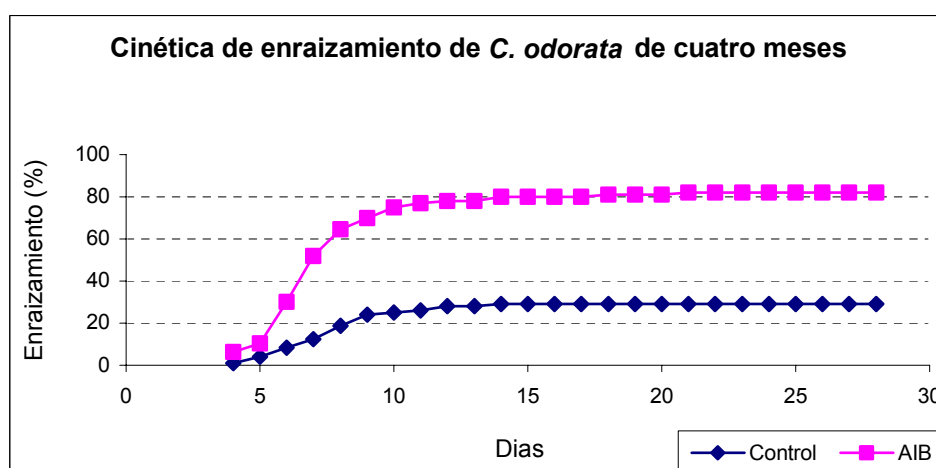
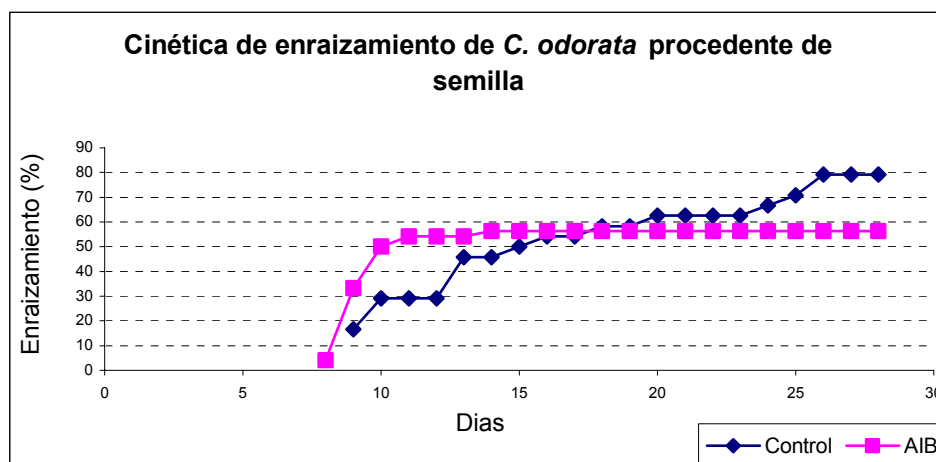
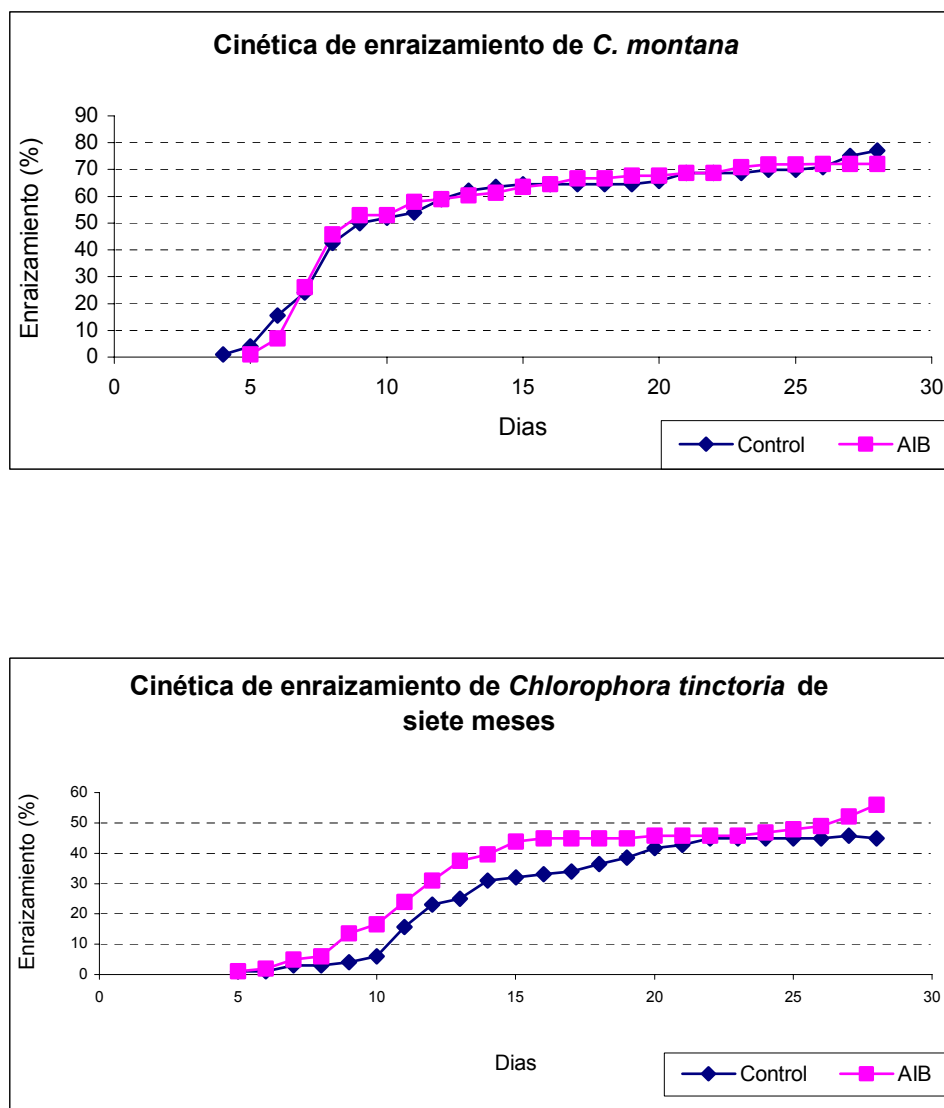


Figura 29. Cinética de enraizamiento en *Cedrela odorata*

Figura 30. Cinéticas de enraizamiento de *Cedrela montana* y *Chlorophora tinctoria*

5.2 Cinética de enraizamiento en *Cedrela montana*

La primera raíz en el cedro de montaña aparece el día cuatro en el control, y el día cinco en el tratamiento con AIB. A partir del sexto día se dispara la aparición de raíces hasta el décimo día en ambos tratamientos. Desde el día once hasta completar las cuatro semanas el incremento en el número de raíces es gradual y muy similar en los dos tratamientos. Los últimos dos días de enraizamiento el tratamiento control supera ligeramente el porcentaje de enraizamiento (Figura 30).

5.3 Cinética de enraizamiento en *Chlorophora tinctoria*

La raíz de dinde empieza a aparecer el quinto día tanto en el control como en el tratamiento de AIB. La adición al medio de $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB incrementó el porcentaje de enraizamiento durante casi todas las cuatro semanas. En la Figura 30, se aprecia que la aparición de las raíces se hace gradualmente durante los primeros cuatro días con el tratamiento de auxina, y durante los primeros seis días en el control. Después de estos días el porcentaje de enraizamiento en ambos casos se dispara hasta el día quince en el tratamiento de auxina y hasta el día dieciocho en el control. Posteriormente se estabiliza la producción de raíces formándose una meseta en ambas curvas, aunque los días veintiséis a veintiocho se vuelve a incrementar un poco en el tratamiento con AIB.

En resumidas cuentas, la velocidad de aparición de las raíces se dispara entre la primera y la segunda semana de la inducción del enraizamiento en las tres especies, posteriormente tiende a estabilizarse. Es menos frecuente que se formen raíces nuevas al final del período de inducción de enraizamiento.

6. HISTOLOGÍA DEL ENRAIZAMIENTO EN *Cedrela odorata*

Como se menciona en materiales y métodos, la inducción del enraizamiento se realizó en el medio MS con los macronutrientes reducidos a la mitad, en ausencia de auxina y con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. La toma de las muestras en ambos casos se realizó en los siguientes tiempos: día cero, 12, 24, 36 y 48 horas; y los días tres, cuatro, cinco, seis y ocho.

Las muestras incluidas para el estudio de la formación de las raíces adventicias, fueron siempre la parte basal de los explantos.

Durante las primeras horas de inducción del enraizamiento (doce a treinta y seis horas) no aparecen diferencias claras entre el material que procede del control y el del tratamiento con AIB, pues es el momento en que se producen las primeras divisiones mitóticas en los núcleos de las células del cámbium vascular y el floema; esto ocurre prácticamente en la misma proporción en ambos casos. A las cuarenta y ocho horas esas células en división empiezan a formar los primeros grupos pequeños o a orientarse en sentido radial en mayor número (siete a ocho células) en las que están influenciadas por el AIB.

Entre los tres y cuatro días, se forman los primeros meristemoides, de aproximadamente cincuenta células de ancho, aunque con el tratamiento AIB se producen en mayor cantidad que con el control. Todavía no existe diferenciación de tejidos, simplemente se aprecian agrupaciones de células

con un poco de orientación hacia el exterior del tallo.

La diferenciación de los tejidos en la raíz se empieza a apreciar a los cinco días, en mayor grado en los tratados con AIB que en los del control, estos tejidos son la caliptra, el cilindro vascular y la epidermis. El AIB también produjo mayor cantidad de raíces. La raíz adquiere forma mas definida y ha atravesado gran parte de la corteza del tallo buscando salida al exterior de él. La raíz emerge del tallo a los seis días, esto ocurre primero en el control que con el AIB, pero los tallos tratados con AIB superan a los del control en un mayor número de formación de raíces adventicias, aunque sus raíces no estén totalmente vascularizadas.

A pesar de que a los ocho días ya habían emergido las raíces tanto en el control como en el AIB, se decidió realizar cortes histológicos con el fin de verificar el estado de diferenciación del sistema vascular de las raíces adventicias formadas bajo condiciones *in vitro*, y se pudo verificar que al menos en este día de desarrollo su sistema vascular es muy deficiente, solo se apreciaron elementos del xilema que establecían la conexión entre el tallo y la nueva raíz.

6.1 Día cero.

En el día cero solo se puede describir la disposición de los tejidos del tallo de *C. odorata*, pues aún no hay indicios de aparición de raíz. El tallo de *C. odorata* cultivado *in vitro*, presenta tejidos y organización comunes a los tallos de las dicotiledóneas. Empezando por la parte más interna en el corte transversal se encuentra la médula constituida por células parenquimáticas, la mayoría de ellas de forma isodiamétrica con borde irregular (Figura 31 A).

A continuación rodeando el tejido medular se encuentra el cilindro vascular y el floema, casi continuo constituido por el xilema, el cámbium vascular y el floema, también presenta células de parénquima interfascicular (Figura 31 A). El xilema está formado por células de forma cuadrangular y hexagonal de paredes gruesas, dispuestas en filas radiales, de trece a dieciocho. Separando el xilema del floema se encuentra el cámbium vascular formado por algunas filas de células iniciales fusiformes y las células iniciales radiales, isodiamétricas y relativamente más pequeñas que las fusiformes. Al ser un meristemo secundario, son células con divisiones activas y núcleos visibles (Figura 31 B).

A continuación se distingue el tejido de floema compuesto por células de forma irregular y por elementos cribosos (Figura 31 A y B). El tejido más externo contiguo al floema es el cortex, formado por ocho a trece filas de células parenquimáticas de tamaños distintos, la mayor parte tienen forma isodiamétrica (Figura 31 A).

Por último se encuentra el tejido de la epidermis, formado por una o dos capas continua de células de forma rectangular y suberizadas. En ocasiones se observan lenticelas constituidas por felógeno (Figura 31 A).

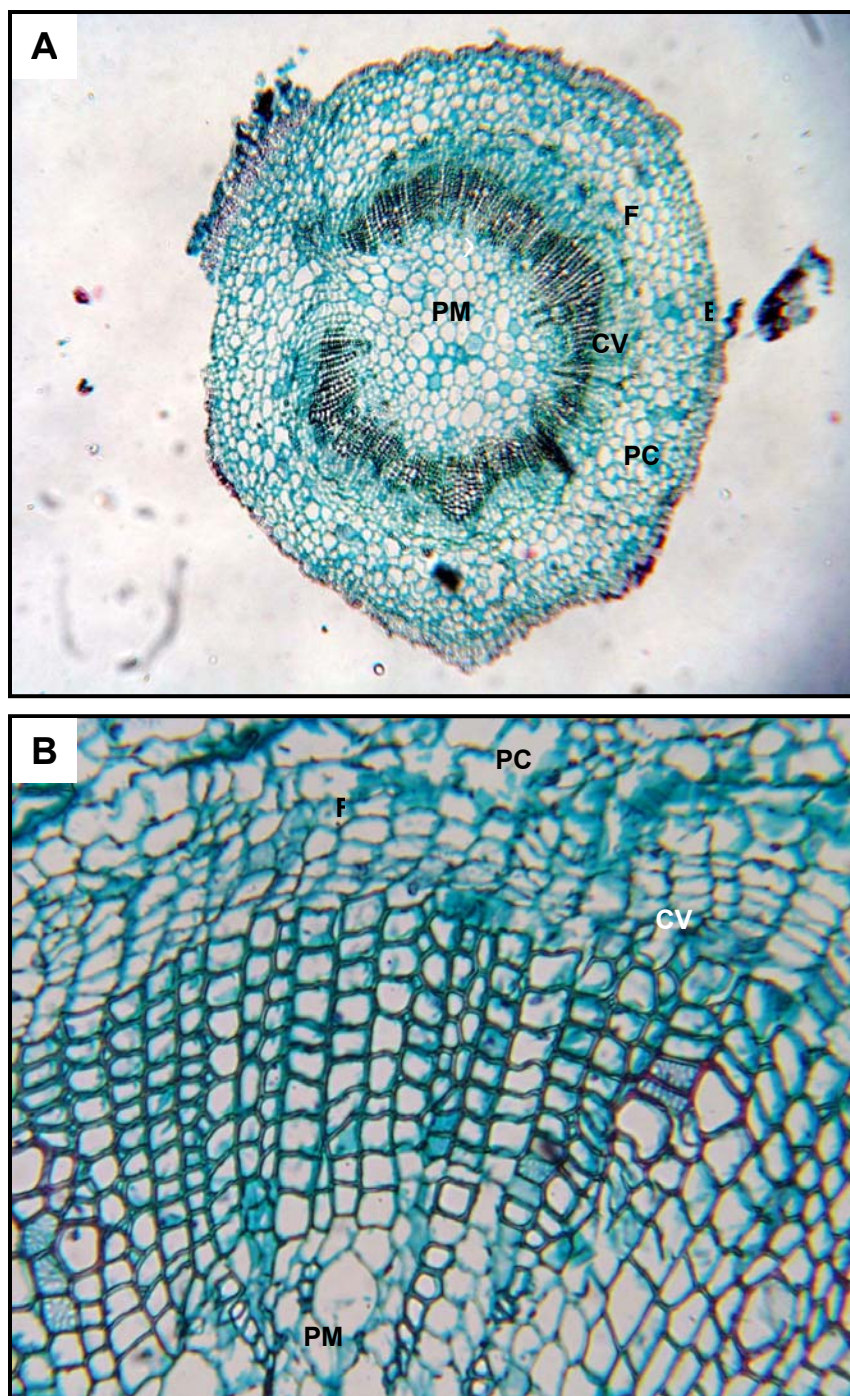


Figura 31. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Día cero. **A:** Sección transversal de tallo de *Cedrela odorata* cultivado *in vitro* sin tratamiento auxínico de enraizamiento (MS + BA 0,2 mgL⁻¹). (X 27). **B:** Detalle de la sección anterior en la que se observa parte del cilindro vascular constituido por xilema (X), cámbium vascular (CV) y floema (F), parénquima cortical (PC) y parénquima medular (PM). (X 345,6).

6.2 Doce horas

Se aprecian ligeros cambios en algunos tejidos del tallo, tanto en el control como en el tratamiento con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. En el control, el parénquima medular está formado por células isodiamétricas, las cuales contienen granos de almidón (Figura 32 A).

Las células de xilema aumentan de tamaño y las paredes se engruesan, se puede diferenciar protoxilema de metaxilema. Las células forman filas radiales de hasta dieciocho células (Figura 32 A). En el parénquima radial xilemático se observan divisiones periclinales en anafase final (Figura 32 C) y metafase (Figura 32 D).

Otra zona donde suceden múltiples divisiones mitóticas periclinales, anticlinales y oblicua es en la laguna foliar (Figura 32 E).

Contiguo al tejido xilemático se aprecian las células del cámbium las cuales tienen forma irregular y aplanada, y forman de dos a cuatro capas. A continuación del cámbium se distingue el floema, el cual está conformado por tres a cuatro capas de células. En este tejido ocurren divisiones anticlinales (Figura 32 B).

En la región del metaxilema externo, el cámbium vascular y el floema se pueden apreciar células con núcleo y nucléolo grande (Figura 32 F). Enseguida al tejido floemático se encuentra el tejido cortical, cuyas células parenquimáticas contienen granos de almidón.

Con el tratamiento $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB no se aprecian cambios en la médula, pero sí en el tejido vascular. El xilema está formado por treinta a cuarenta capas de células con los vasos hacia el exterior ligeramente más grandes que hacia el interior. Este tejido presenta una disposición radial más ordenada que en el tratamiento control (Figuras 33 A-C).

En el cámbium vascular se observa mayor cantidad de células con núcleos y nucléolos grandes que en el tratamiento control (Figuras 33 A, B, C, E y F). Las células del cámbium vascular se observan aplastadas, pero hay grupos de hasta diez células con núcleos grandes. También ocurren divisiones celulares periclinales, algunas en estado de anafase (Figura 33 D).

El cilindro vascular ha formado un anillo casi compacto interrumpido solo por la laguna foliar que comunica el parénquima medular con el parénquima cortical. Hay divisiones anticlinales y periclinales en el floema y se observaron divisiones mitóticas muchas de ellas en anafase (Figura 33 F).

6.3 Veinticuatro horas

Aunque surgen ligeros cambios en todos los tejidos del tallo, se puede deducir que la zona del tallo más interesante para el estudio de la formación de raíces adventicias en *C. odorata* es la del cámbium vascular y la del floema.

En el tratamiento control el tejido de xilema está intercalado con filas radiales de parénquima interfascicular que conecta la médula y la corteza. Se pueden apreciar divisiones mitóticas periclinales en varios estados (profase, metafase y anafase) en la región del cámbium vascular y en el floema, así como también en las células del parénquima xilemático (Figuras 34 A-C). Las divisiones mitóticas también suceden en las células adyacentes a la laguna foliar, donde se encuentran células con núcleos grandes.

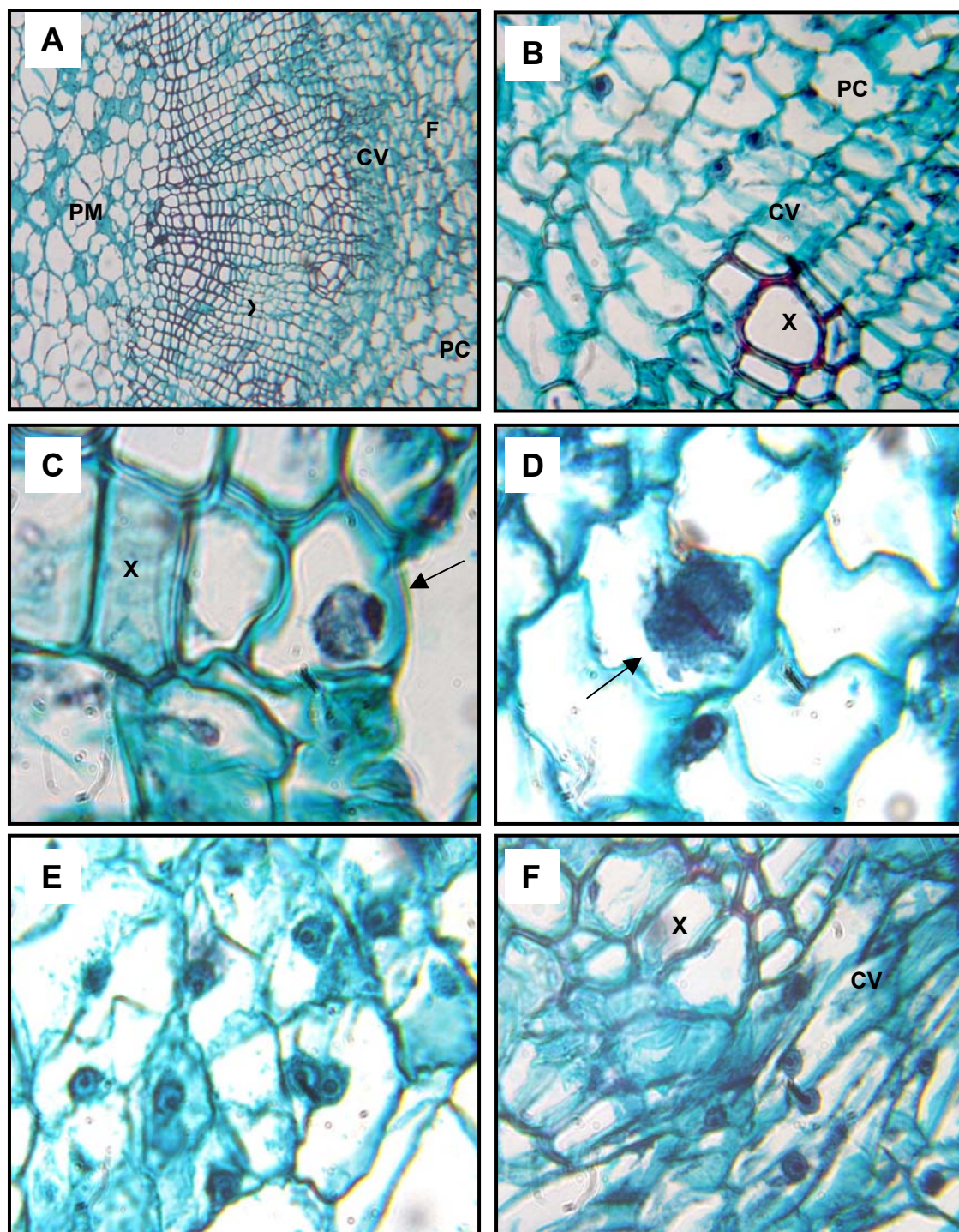


Figura 32. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Doce horas, ausencia de auxina. **A:** Sección transversal mostrando actividad mitótica en la zona de floema (F) y cámbium vascular (CV). (X 98,28). **B:** Núcleos prominentes en células en división del tejido floemático. (X 312). **C:** Célula de parénquima en división en una anafase final. (X 1560). **D:** Núcleo en metafase (X 1560). **E:** Conjunto de células con núcleos prominentes que indican su actividad mitótica. (X 624). **F:** Células de floema en la que se han producido múltiples divisiones. (X 624). PM (Parénquima medular), PC (Parénquima cortical).

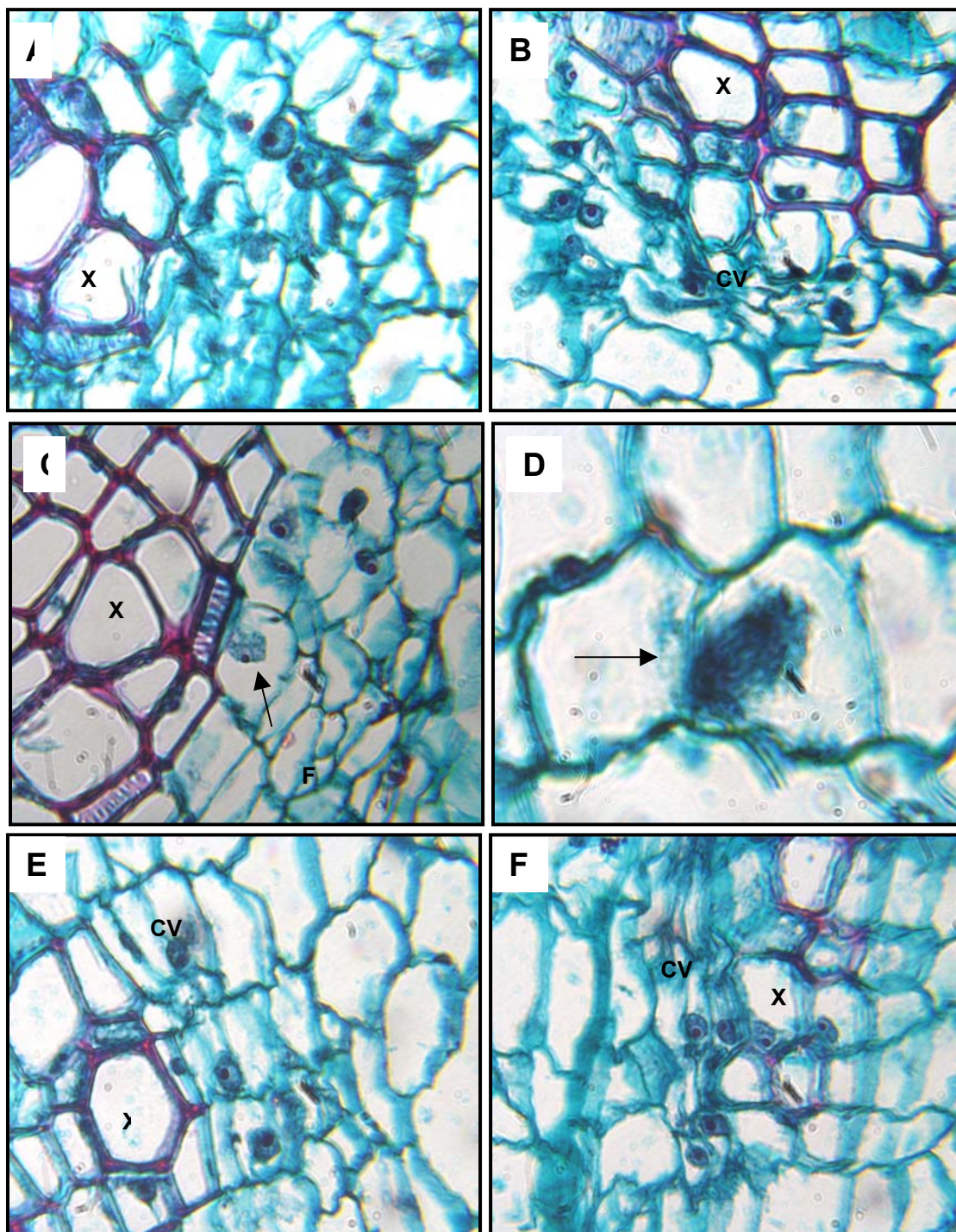


Figura 33. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Doce horas AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. **A:** Células de floema con núcleos prominentes (X 624). **B:** Conjunto de células de cámbium y floema con actividad mitótica (X 624). **C:** Zona vascular (X y F) donde se observan células más núcleos en división activa. (X 624). **D:** Anafase en una célula de floema (X 1560). **E:** Células en división activa en la zona del cámbium. (X 624). **F:** Grupo de células meristemáticas de tipo primario en el cámbium, inicio de un meristemoide. (X 624). Xilema (X) y cámbium vascular (CV).

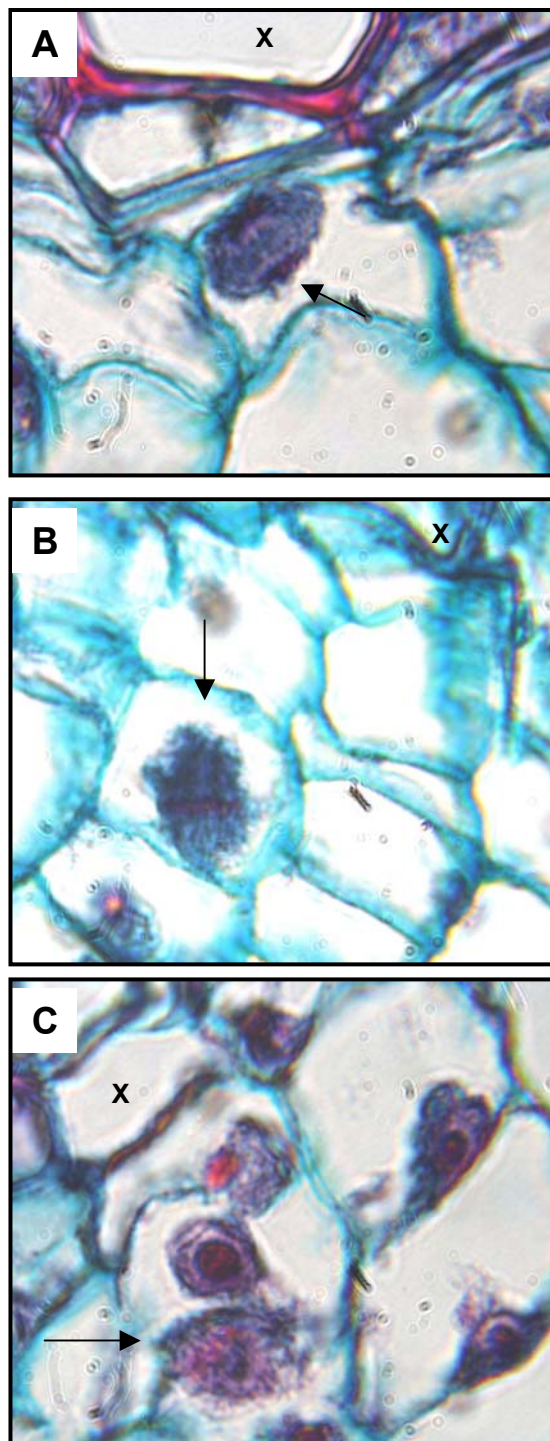


Figura 34. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. 24 horas, ausencia de auxina. **A:** Célula del cámbium vascular en anafase, indicada por la flecha. (X 1560). **B:** Célula de floema en metafase, indicado por la flecha. (X 1560). **C:** Célula de parénquima xilemático en metafase (X 1560). Xilema (X).

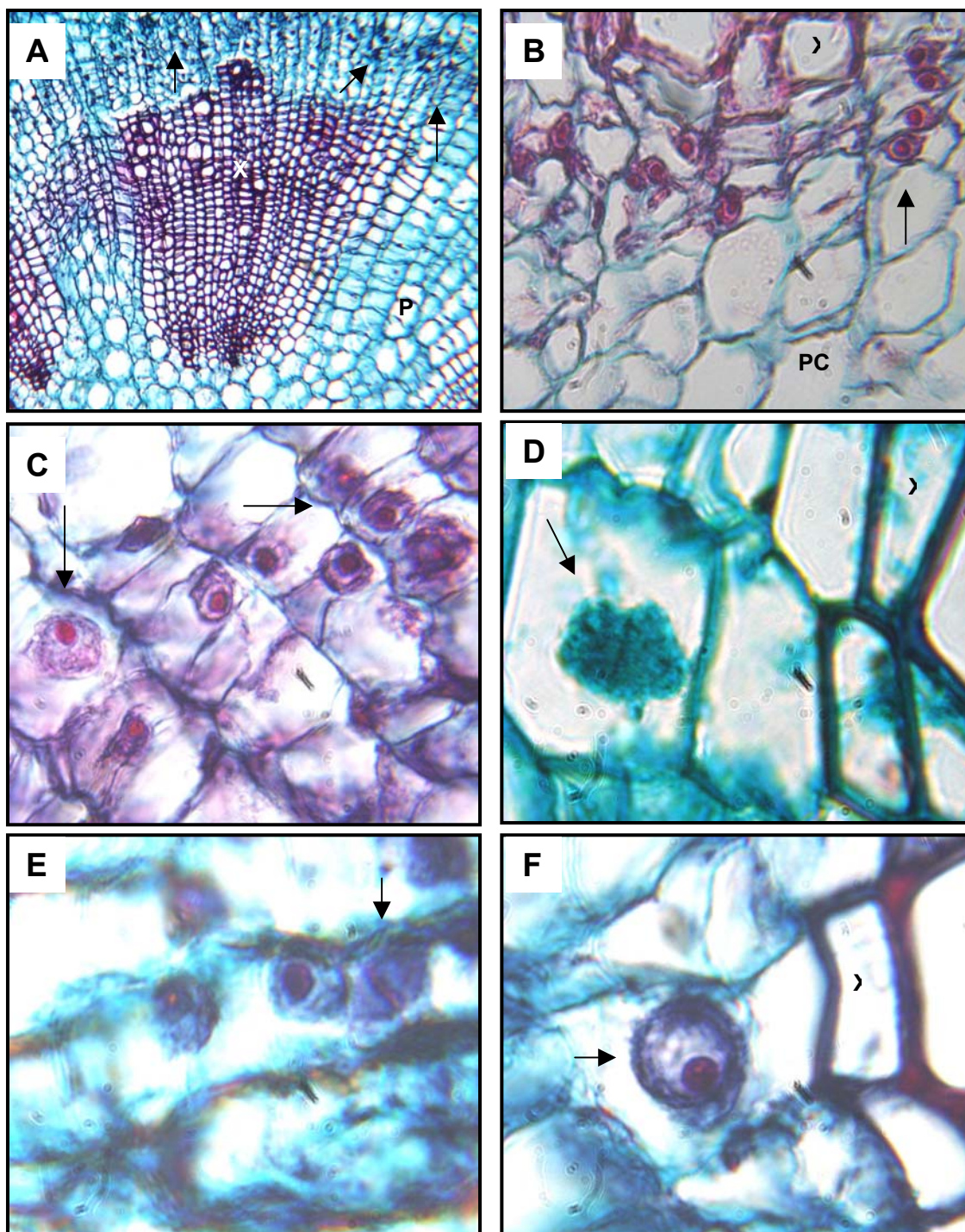


Figura 35. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. 24 horas, AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. **A:** Sección transversal de tallo mostrando el tejido de xilema. Las flechas indican células de floema con núcleos en división. (X 98,28). **B:** Células del cámbium vascular con núcleos grandes, dispuestas en fila, indicadas por la flecha. (X 624). **C:** Células de la laguna foliar con núcleos en división. (X 975). **D:** Célula del cámbium vascular en división mitótica metafásica. (X 1560). **E:** Célula del floema en metafase, indicada por la flecha. (X 1560). **F:** Célula del cámbium vascular con núcleo próximo a profase, indicado por la flecha. (X 1560). Xilema (X); parénquima (P) y parénquima cortical (PC).

Contiguo al tejido del floema y rodeándolo se encuentran regiones esclerenquimáticas de paredes gruesas. El parénquima cortical está formado hasta por doce capas de células con forma irregular, que contienen almidón.

En los tallitos procedentes del tratamiento con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$, se observa que el tejido más interno, el medular, ha aumentado de volumen y ha disminuido el de xilema, el cual forma un anillo más continuo y con paredes gruesas sobre todo las del xilema interno (Figura 35 A). En este tratamiento hay mayor número de zonas

con células que contienen núcleos grandes, como por ejemplo en el cámbium vascular, pero sobre todo en el floema donde se observa claramente las divisiones con tres orientaciones periclinales, anticlinales y oblicuas. La mayoría de las divisiones mitóticas observadas estaban en las fases de profase y metafase (Figuras 35 B, D-F).

El floema estaba rodeado de tejido esclerenquimático pero ahora más continuo, aunque se encuentra intercalado con células parenquimáticas. Más externamente está el tejido de la corteza con células de forma irregular que contienen gránulos de almidón en el citoplasma, los cuales se tiñen de rojo.

Finalmente contigua a la corteza se encuentra la epidermis, formada por dos capas de células rectangulares, con las caras anticlinales mas cortas que la periclinales.

6.4 Treinta y seis horas

En el control se observa mayor número de agrupaciones de células meristemáticas, hasta de nueve con núcleos grandes. Este tipo de células se encuentra en el parénquima xilemático, en el cámbium vascular y especialmente en el floema y presentan diferentes tipos de divisiones periclinales mitóticas como metafase, anafase y telofase temprana formando grupos pequeños pero sin una orientación o forma específica. Las fases de la división que más se observan son las que están en metafase y anafase (Figura 36 B-F). La laguna foliar presenta mayor número de células con núcleos grandes que los tejidos adyacentes (Figura 36 A). En los cortes realizados en brotes (tallos) del tratamiento con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ se observan grupos de células con núcleo grande en el cámbium vascular y en el floema. Posiblemente hay polarización en las filas de tres células con núcleos grandes que se orientan en sentido radial. Éstas células parten del cámbium vascular (Figura 37 A).

6.5 Cuarenta y ocho horas

En el control se observan pequeños grupos de células meristemáticas con núcleos grandes y células en mitosis (profases, metafases y anafases) en el cámbium vascular y floema. Se han formado filas radiales de tres células con núcleos grandes, que podría indicar inicio de polarización del primordio de raíz (Figura 38 A).

En el citoplasma de las células de la corteza se observa un gran número de gránulos de almidón que se tiñen de color fucsia. Las células adyacentes a ambos lados de la laguna foliar continúan dividiéndose.

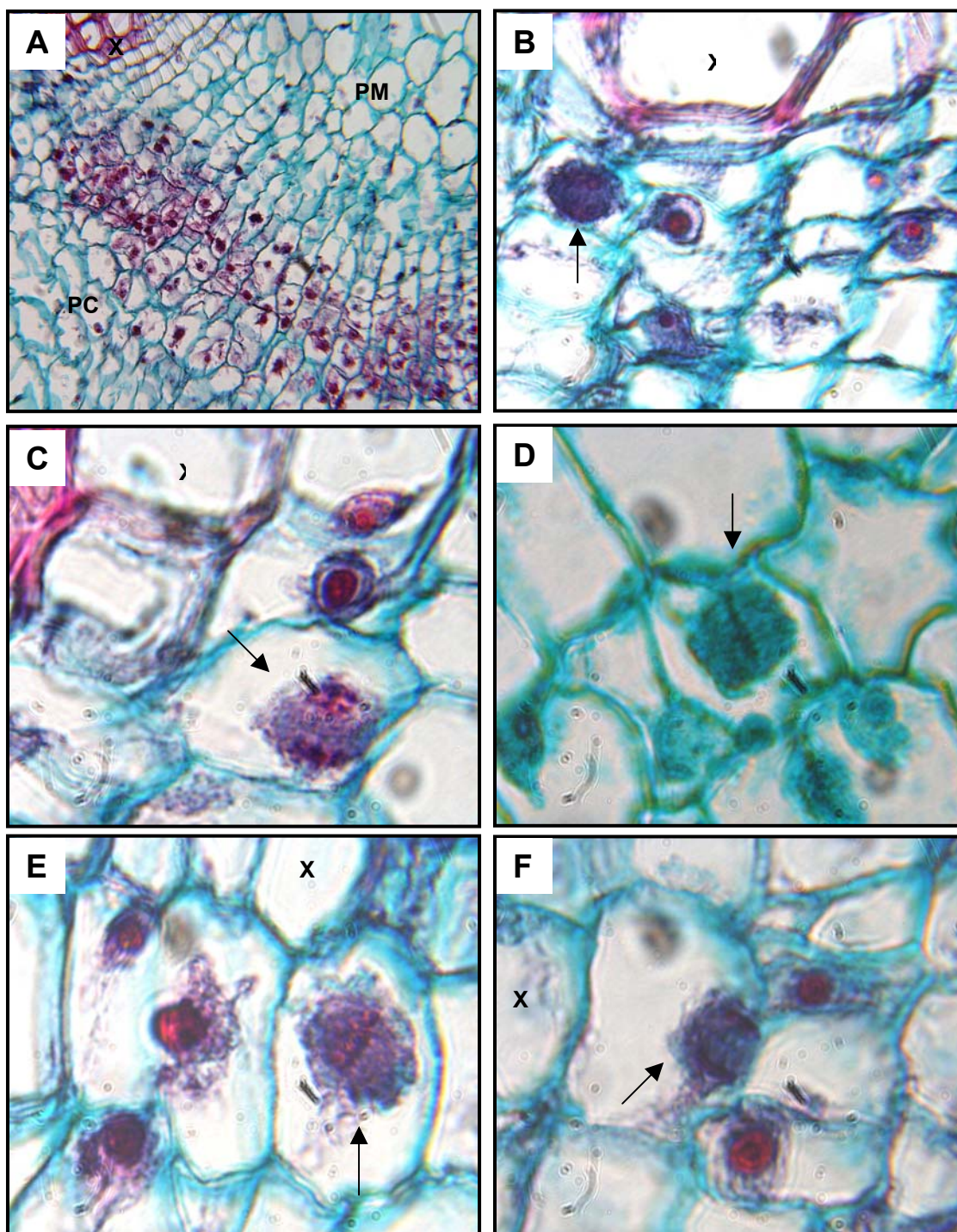


Figura 36. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. 36 horas, ausencia de auxina. **A:** Sección transversal de tallo en la región de la laguna foliar, mostrando numerosas células con núcleos grandes, (X 156). **B** (X 975), **C** (X 1560) y **F** (X 1560): Células del cámbium vascular en anafase, señaladas por la flecha. **D** y **E:** Células del floema en metafase, indicadas por la flecha. **D** (X 1560) y **E** (X 1560). **PM** (parénquima medular); **PC** (Parénquima cortical); **X** (xilema).

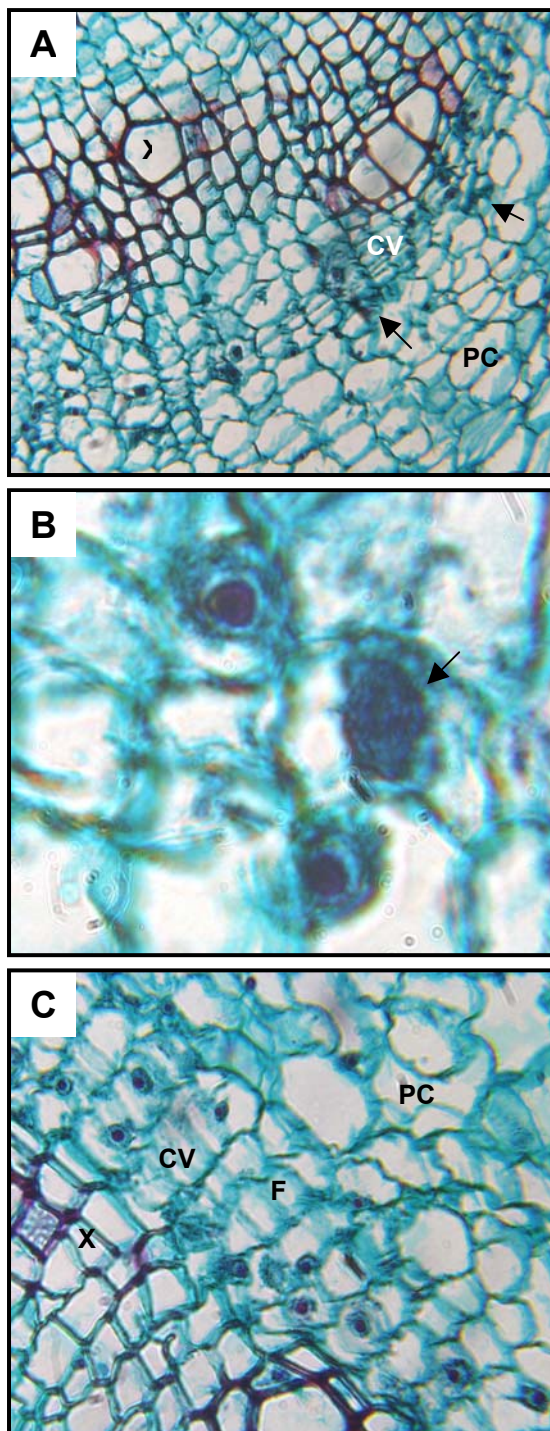


Figura 37. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. 36 horas AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. **A** y **C**: Sección transversal de tallo con núcleos grandes en células del cámbium vascular y floema, indicadas por la flecha. **A**: (X 249,6) y **C**: (X 390). **B**: Célula del floema con núcleo en anafase, indicado por la flecha, (X 1560). **X** (xilema), **CV** (cámbium vascular), **PC** (parénquima cortical) y **F** (floema).

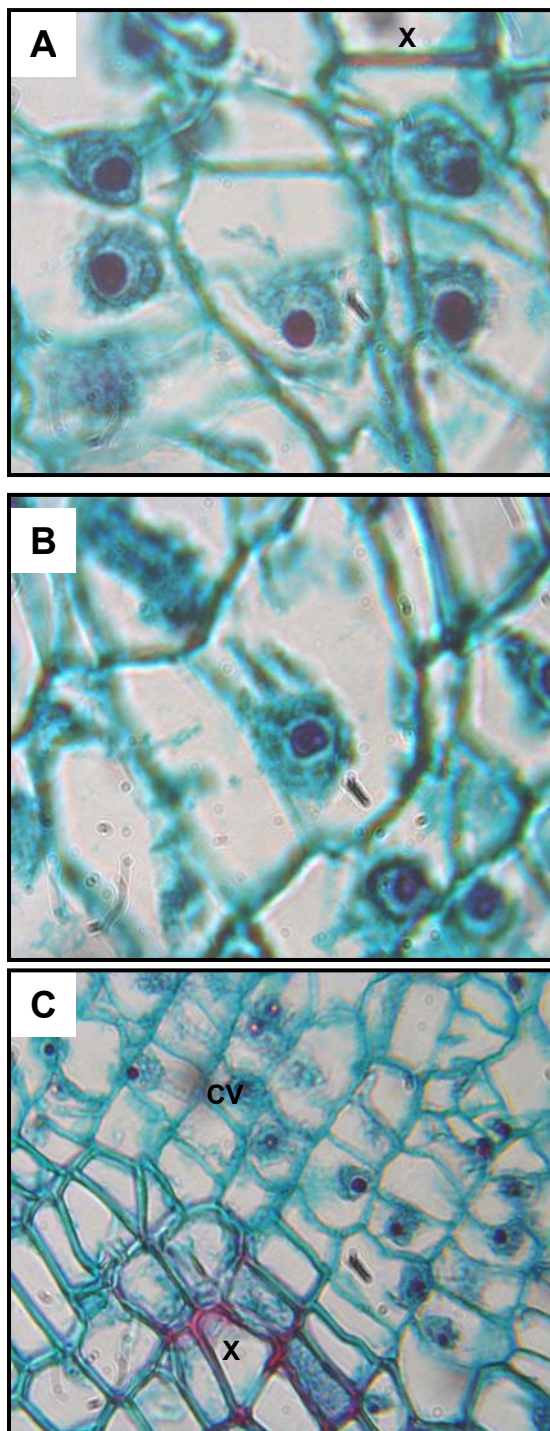


Figura 38. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. 48 horas, ausencia de auxina. **A** y **B**: Células del cámbium vascular y el floema con núcleos grandes próximos a iniciar divisiones mitóticas. **A**: (X 780) y **B** (X 780). **C**: Corte transversal de tallo mostrando la región del floema con núcleos grandes, (X 624). **X** (xilema). **CV** (cámbium vascular).

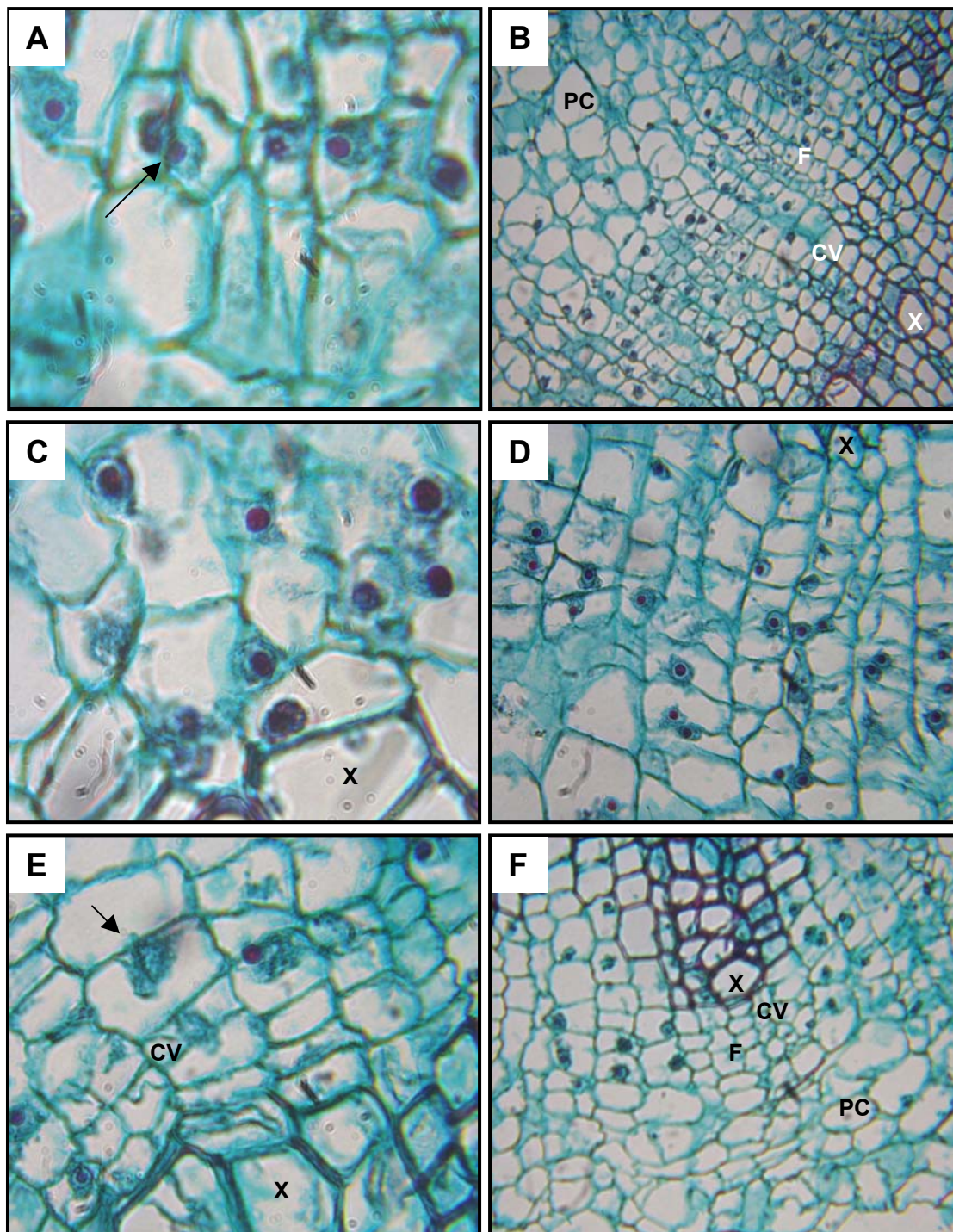


Figura 39. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. 48 horas, AIB 1,0 mgL⁻¹. **A:** Seis células en fila del cámbium vascular y del floema conteniendo núcleos grandes, indicadas por la flecha. **A:** (X 780). **B y D:** Corte transversal de tallo donde sobresale la región del floema por sus células con núcleos grandes. **B:** (X 156). **D:** (X 390). **C:** Células del floema con núcleos prominentes. **C:** (X 975). **E:** Célula del floema con núcleo en división mitótica. (X 624). **F:** Células del cámbium vascular con núcleos grandes. (X 249,6). **X** (xilema), **F** (floema), **CV** (Cámbium vascular), **PC** (Parénquima cortical).

Con el tratamiento $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de AIB se observa un posible indicio de polarización de los grupos meristemáticos de los meristemoides de la raíz, con la formación de filas radiales de cuatro a seis células con núcleo grande. También aparecen grupos de siete a ocho células con núcleo grande, con divisiones mitóticas tanto en el cámbium vascular como en el floema (Figura 39 B, D y F). El xilema forma un anillo concéntrico. La ventana foliar posee algunas células con núcleos grandes.

6.6 Día tres

En este día se evidencian bien los sitios en los tejidos del cámbium vascular y el floema donde se originan las futuras raíces adventicias (Figura 40 A).

En el control continúan las divisiones mitóticas en las células de parénquima del floema que primero se desdiferencian para luego sufrir un proceso de morfogénesis y formar la raíz. También en las células parenquimáticas adyacentes se observan fases de mitosis que empiezan a contribuir en la formación de la futura raíz (Figura 40 B y C). También aumentan las células con núcleos grandes adyacentes a la laguna foliar.

En el tratamiento con $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de AIB aumenta el número de divisiones mitóticas y células con núcleos grandes en el cámbium vascular y en el floema (Figura 41 A-C).

6.7 Día cuatro

A los cuatro días, en el control se formó un meristemoide de raíz con clara orientación hacia la corteza. En una visión plana que permite el corte transversal se puede apreciar que en este corte histológico este primordio está formado por aproximadamente cincuenta células con núcleo grande. Las células internas del primordio a su vez tienen divisiones mitóticas periclinales y anticlinales que contribuyen a aumentar su tamaño y volumen, alcanzando a penetrar el tejido parenquimático de la corteza (Figura 42 A, B, D y F).

Los gránulos de almidón están presentes en casi todos los tejidos del corte transversal del tallo (Figura 42C). En la región de la laguna foliar del tallo ocurren divisiones celulares periclinales, anticlinales y oblicuas en diferentes estados de mitosis (Figura 42 E).

En el tratamiento con $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de AIB, los meristemoides observados en el corte transversal están compuestos por aproximadamente cincuenta células. Éstos alcanzan a entrar en una tercera parte del tejido parenquimático de la corteza (Figuras 43 A, B, D y E). Se han formado mayor cantidad de primordios que en el tratamiento control. Éstos se han originado en el cámbium vascular, en el floema y en el parénquima del floema, además continúan las divisiones mitóticas periclinales y anticlinales en el interior de ellos.

También se aprecia que no todos los primordios son del mismo tamaño, no están sincronizados en su velocidad de desarrollo, algunos apenas están iniciando sus primeras divisiones periclinales (Figura 43 C) y otros muestran todavía desarrollo desorganizado (Figura 43 A, B D-F).

Hasta el día cuatro, el crecimiento en ambos tratamientos es básicamente cuantitativo, o sea en volumen, debido a la proliferación de células que aún no adquieren especialización.

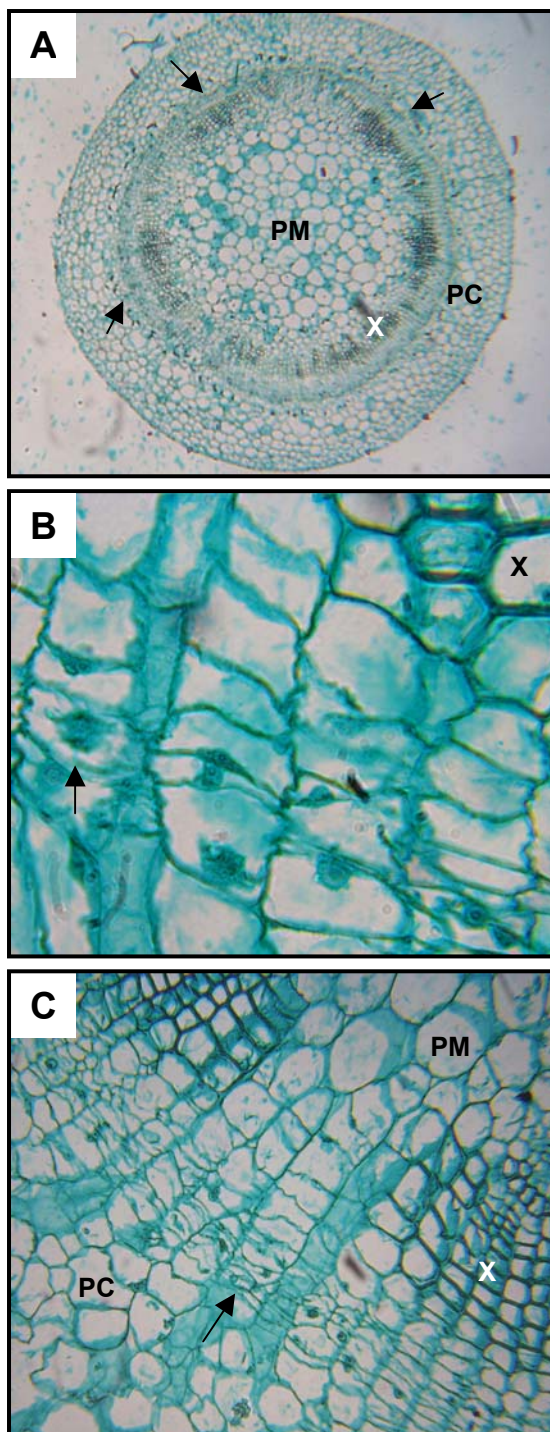


Figura 40. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Día 3, ausencia de auxina. **A:** Corte transversal de tallo mostrando sus diferentes tejidos. Las flechas indican regiones del floema con núcleos grandes. (X 19,5). **B:** Células del floema en anafase. (X 312). **C:** Células de la laguna foliar con núcleos prominentes, indicados por la flecha. (X 156). **PM** (Parénquima medular), **X** (xilema) y **PC** (Parénquima cortical).

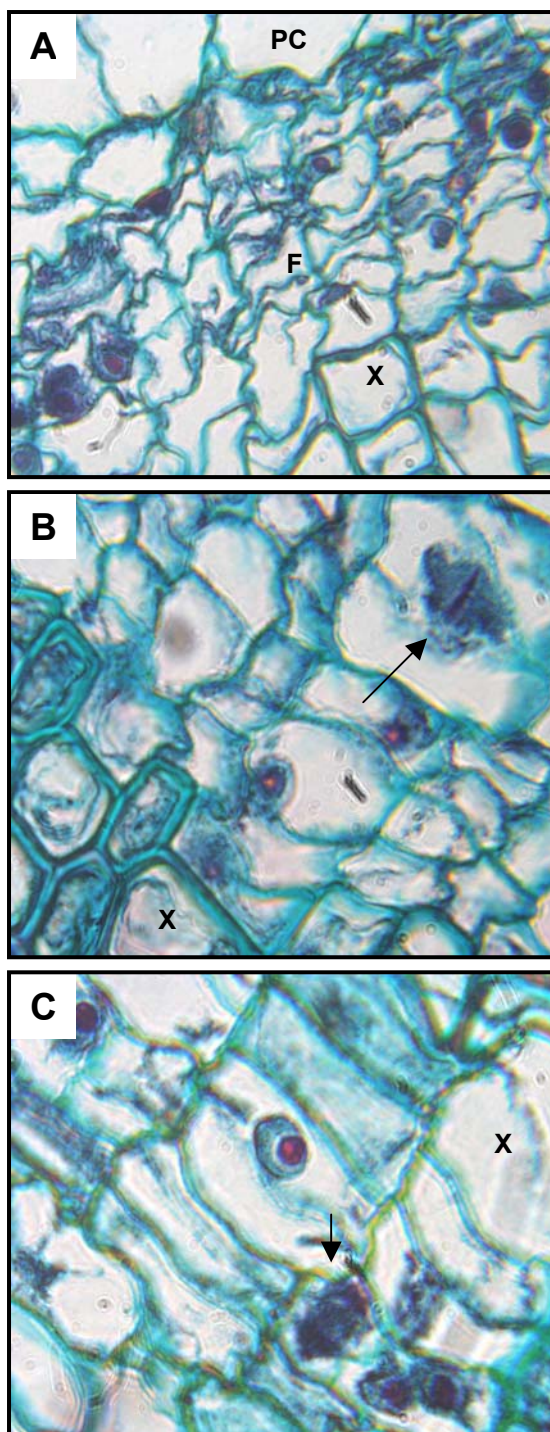


Figura 41. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Día tres, AIB 1,0 mg/L. **A:** Células del floema con varios núcleos prominentes, algunos próximos a divisiones mitóticas. (X 624). **B:** Célula del floema con núcleo en metafase. (X 975). **C:** Núcleo del cámbium vascular con núcleo en anafase. (X 975). **X** (xilema), **F**(floema), **PC** (Parénquima cortical).

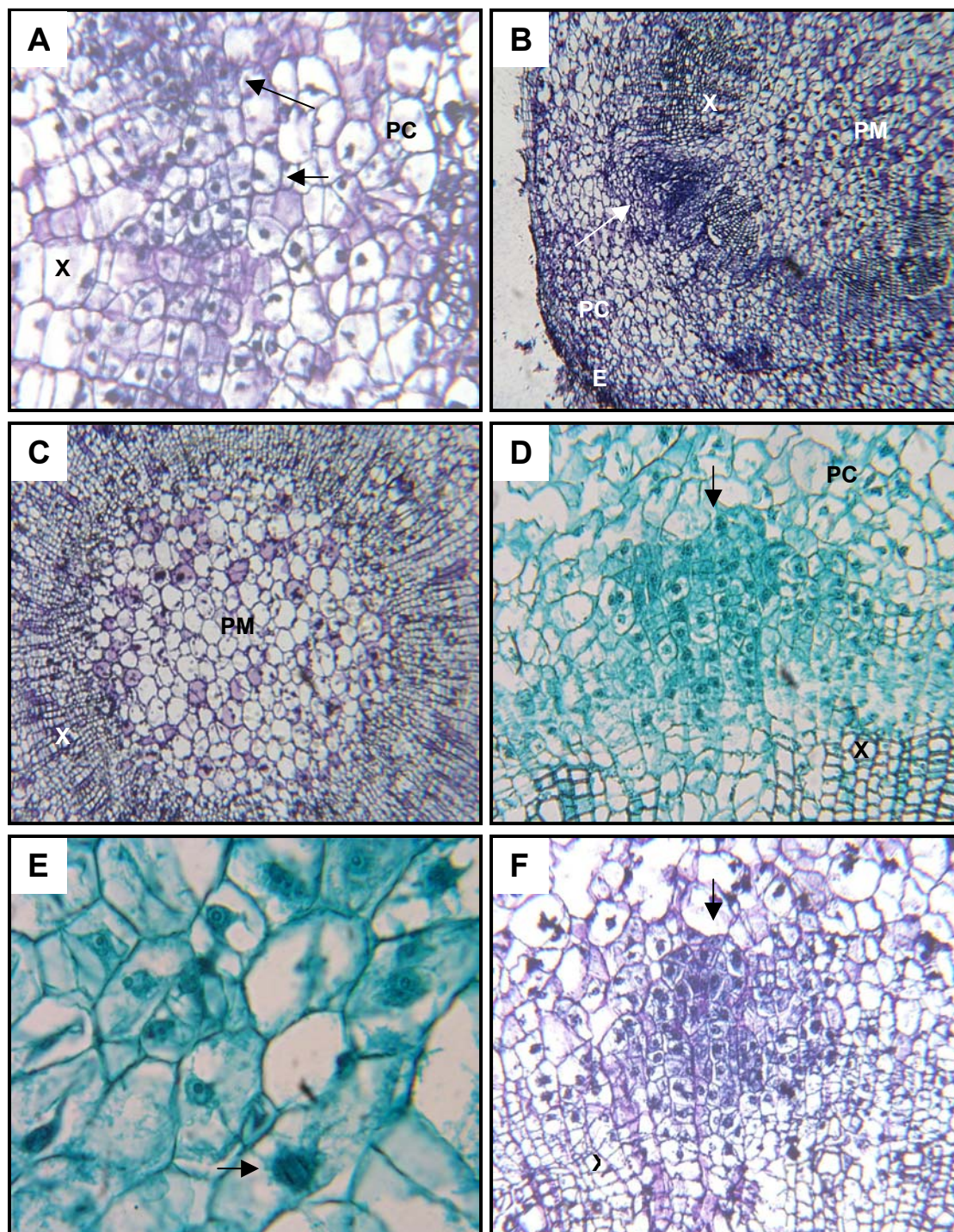


Figura 42. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Cuatro días ausencia de auxina. **A:** Corte transversal de tallo con células del floema con núcleo grande formando pequeños grupos; indicados por la flecha. (X124,8). **B:** Corte transversal de tallo con un meristemoide de raíz, indicado por la flecha blanca. (X39). **C:** Corte transversal de tallo mostrando los gránulos de almidón de color fucsia en la región del parénquima medular. (X 61,425). **D y F:** Células del cámbium y del floema con núcleos grandes formando un meristemoide de raíz con más de 40 células; señalado por la flecha. **D:** (X 98,28) y **F:** (X 156). **E:** Célula del floema con división mitótica en anafase (X 312). Las figuras **A, B, C y F**, fueron teñidas con PAS, y las figuras **D y E** con safranina y verde rápido. **X** (Xilema), **E** (Epidermis), **PC** (Parénquima cortical), **PM** (Parénquima medular).

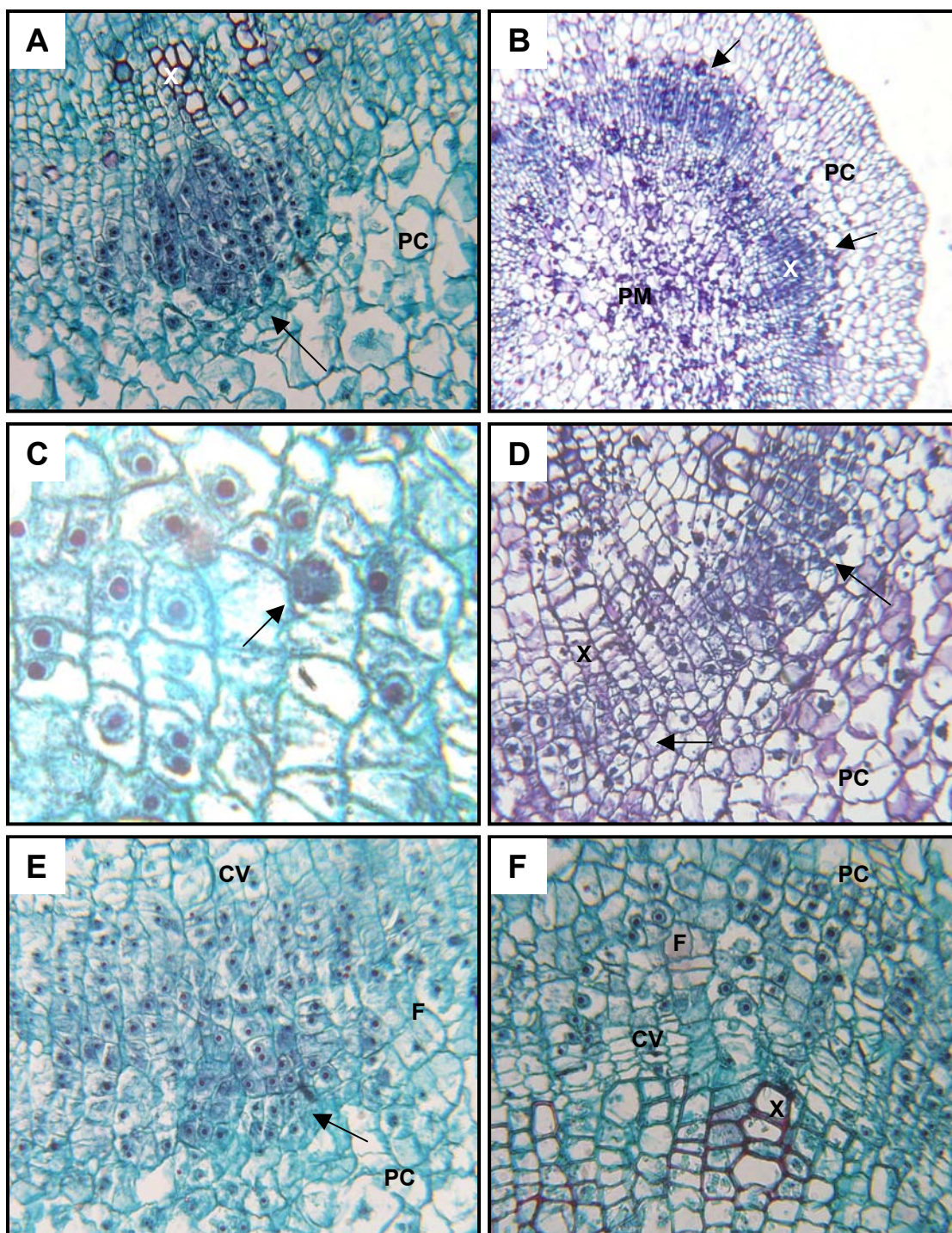


Figura 43. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Cuatro días, AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. **A:** Región del floema mostrando claramente un meristemoide de raíz formado por poco más de 50 células con núcleos grandes teñidos de color más oscuro que las células adyacentes, indicado por la flecha. (X 156). **B y D:** Corte transversal de tallo conteniendo meristemoides de raíz de forma variada teñidos de color oscuro; señalados por la flecha. **B:** (X 49,14). y **D:** (X 156). **C:** División mitótica en anafase. (X 624). **E:** Un gran meristemoide de raíz abarcando más de cien células del cámbium vascular y el floema con núcleos de color oscuro y nucleolos de color rojo, señalados por la flecha. (X 124,8). **F:** Varias células de la región del cámbium vascular y del floema próximas a formar un meristemoide. (X 249,6). Las figuras **B** y **D** están teñidas con PAS. **X** (Xilema), **CV** (Cámbium vascular), **F** (Floema), **PC** (Parénquima cortical), **PM** (P. Medular).

6.8 Día cinco

En los cortes realizados de los brotes del control, se hace evidente la diferencia en el desarrollo del primordio de raíz, entre los días cuatro y cinco. El primordio de raíz en *Cedrela odorata* tiene base ancha pero tiene dos formas en su extremo apical: redondeado y semiaguda. El primordio de raíz adventicia ya abarca la mitad de la corteza del tallo. En la sección del corte, se ve que está formado por más de cien células, las cuales ya empiezan a diferenciarse entre sí para formar los distintos tejidos, según su ubicación dentro de él (Figura 44 A y B).

Las células de la epidermis y la subepidermis tienen forma rectangular, con las paredes periclinales de mayor longitud que las anticlinales. La parte externa del primordio consta de cuatro capas de disposición concéntrica. Las células internas del ápice tienen forma rectangular, con las paredes anticlinales de mayor longitud que las periclinales. Las células de la base presentan formas variadas, cuadrangulares y rectangulares. A diferencia de las capas externas, las capas internas son de orientación radial (Figura 44 B).

Continúan las divisiones periclinales y anticlinales dentro del primordio. Algunos primordios surgen en la región del parénquima interfascicular (Figura 44 C y D).

Con el tratamiento con $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de AIB: El tamaño de los primordios es casi similar al del tratamiento cero. No obstante en los explantos provenientes del tratamiento con AIB lo superan en número (Figuras 45 A, C y D).

El primordio de raíz adventicia alcanza la mitad del parénquima cortical y ha roto el tejido esclerenquimático que rodea el floema. Se aprecia un inicio de formación de tejidos un poco más avanzado que en el tratamiento control, y la forma y disposición de las células varía ligeramente. Hay mayor número de capas en la subepidermis (hasta doce). Los núcleos de las células epidérmicas son de menor tamaño que los de las células de los tejidos más internos y se empiezan a distinguir tejidos como la caliptra, el cilindro central y el córtex radical. La caliptra posee cinco-seis capas de células isodiamétricas, el cilindro vascular está formado por células alargadas rectangulares y de forma irregular, con las paredes anticlinales más largas que las periclinales. Las células del córtex radical y de las capas epidérmica y subepidérmicas tienen citoplasma denso que se puede apreciar porque la coloración es más oscura (Figuras 45 A, D, E y F).

El origen de los primordios es en su mayor parte del floema. En los cortes realizados se observa que continúan las divisiones periclinales y anticlinales dentro del primordio. Además se aprecian hasta cuatro a seis primordios de raíz en un mismo tallo. Algunos primordios ya adquieren la forma alargada propia de las raíces maduras morfológicamente.

El desarrollo de la raíz el día cinco, en ambos tratamientos, además de cuantitativo, empieza a volverse diferenciado o especializado, ya que aparece la diferenciación de los primeros tejidos.

6.9 Día seis

En el control la raíz emerge un 40% de su longitud rompiendo todo el tejido cortical y la epidermis (Figura 46 A). Las células de las capas epidérmicas se tiñen de rojo por la safranina. Hay inicio de formación de elementos del xilema orientados perpendicularmente al sistema vascular del tallo y que posteriormente conectarán ambos sistemas vasculares (Figura 46 B).

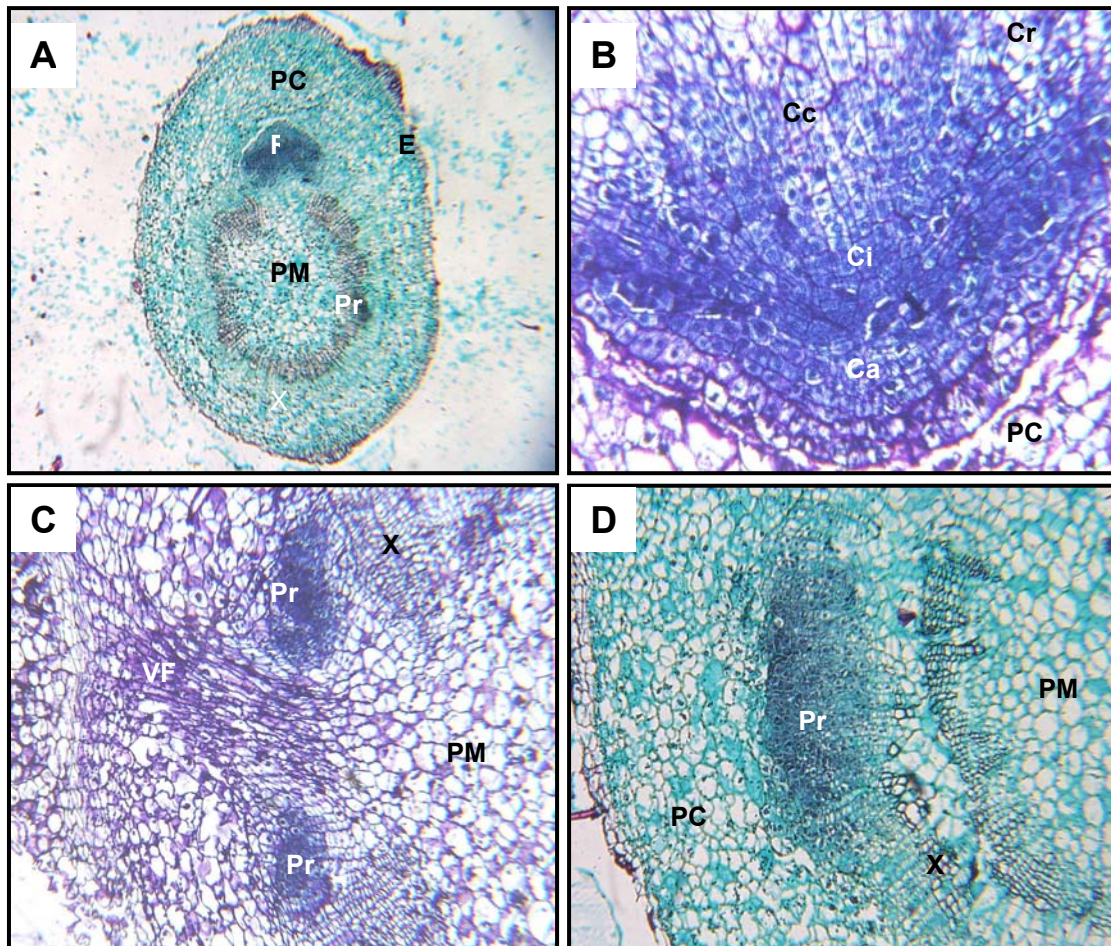


Figura 44. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Cinco días, ausencia de auxina. **A:** Corte transversal de tallo mostrando una raíz abarcando un 30% del parénquima de la corteza. (X 24,375). **B:** Raíz de cedro teñida con PAS empezando a diferenciar sus tejidos y rompiendo el tejido de la corteza del tallo. (X 156). **C y D:** Raíces sin diferenciar los tejidos. **C:** (X 61,425). **D:** (X 61,425). **PM** (Parénquima medular), **X** (xilema), **R** (Raíz), **PC** (Parénquima cortical), **X** (Xilema), **R** (Raíz), **Pr** (Primordio de raíz), **PC** (Parénquima cortical), **E** (Epidermis); **Cc** (Cilindro central), **Cr** (Corteza de la raíz), **Ci** (Células iniciales), **Ca** (Caliptra).

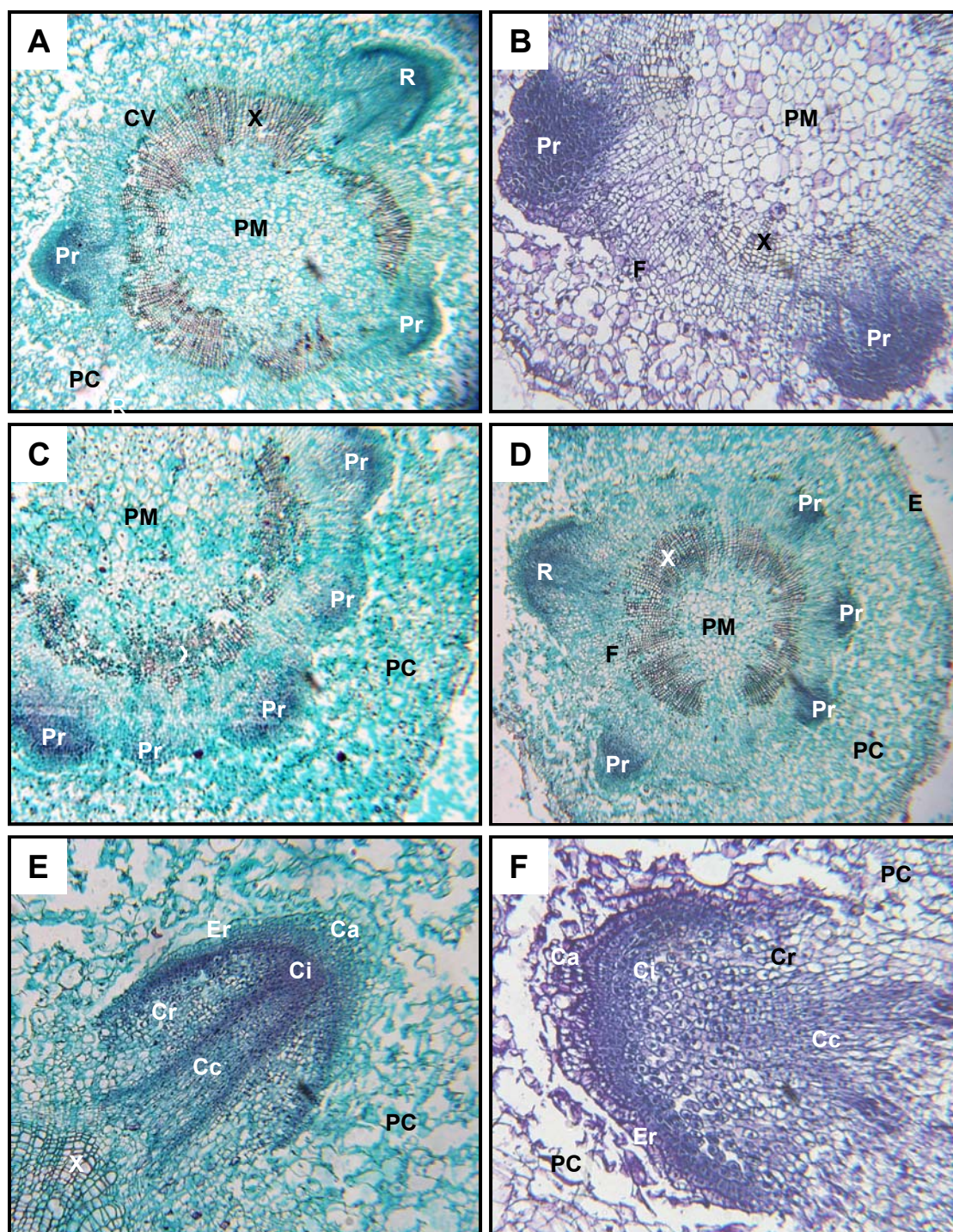


Figura 45. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Cinco días, AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. **A-D:** Cortes transversales de tallo conteniendo meristemoides y raíces en diferentes grados de desarrollo. La raíz más desarrollada ha atravesado el 80% de la corteza del tallo. **A:** (X 24,375); **B:** (X 61,425). **C:** (X 19,5). **D:** (X 24,375). **E y F:** Raíces más desarrolladas con diferenciación de tejidos, ya ha adquirido una forma bien definida. Ambas han roto el parénquima cortical para alcanzar la salida al exterior del tallo. **E:** (X 61,425); **F:** (X 98,28). **PM** (Parénquima medular), **X** (Xilema), **F** (Floema), **CV** (Cámbium vascular), **R** (Raíz); **Pr** (Primordio de raíz), **PC** (Parénquima cortical); **E** (Epidermis); **Ca** (Caliptra), **Er** (Epidermis de raíz), **Cr** (Corteza de raíz), **Cc** (Cilindro central), **Ci** (Célula inicial); **Ca** (Caliptra).

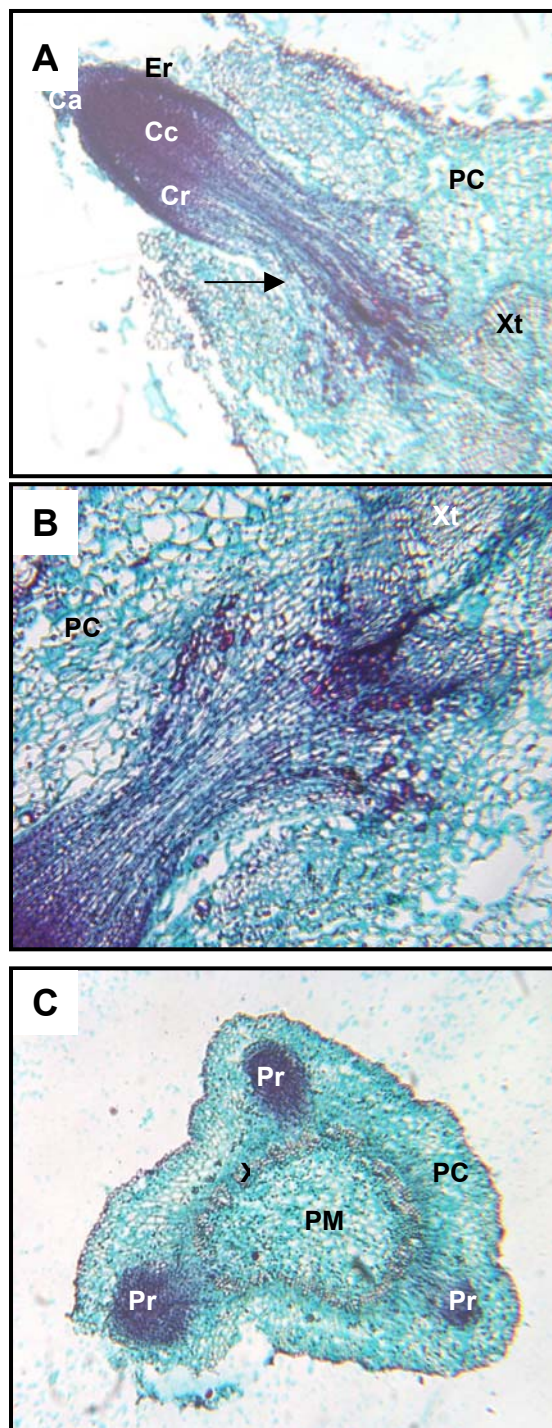


Figura 46. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Seis días, ausencia de auxina. **A:** Raíz emergiendo al exterior del tallo. La flecha indica la conexión existente entre el tejido vascular de la raíz con el del tallo, indicado por la flecha. (X 39). **B:** Ampliación de la zona de conexión de los dos sistemas vasculares, el de la raíz y el del tallo. (X 61,425). **C:** Corte transversal de tallo con raíces tardías en desarrollo. No todas se encuentran sincronizadas. (X 39). **PM** (Parénquima medular), **X** (Xilema), **Xt** (Xilema del tallo), **PC** (Parénquima cortical), **Pr** (Primordio de raíz), **Cr** (Corteza de la raíz), **Cc** (Cilindro central), **Er** (Epidermis de la raíz), **Ca** (Caliptra).

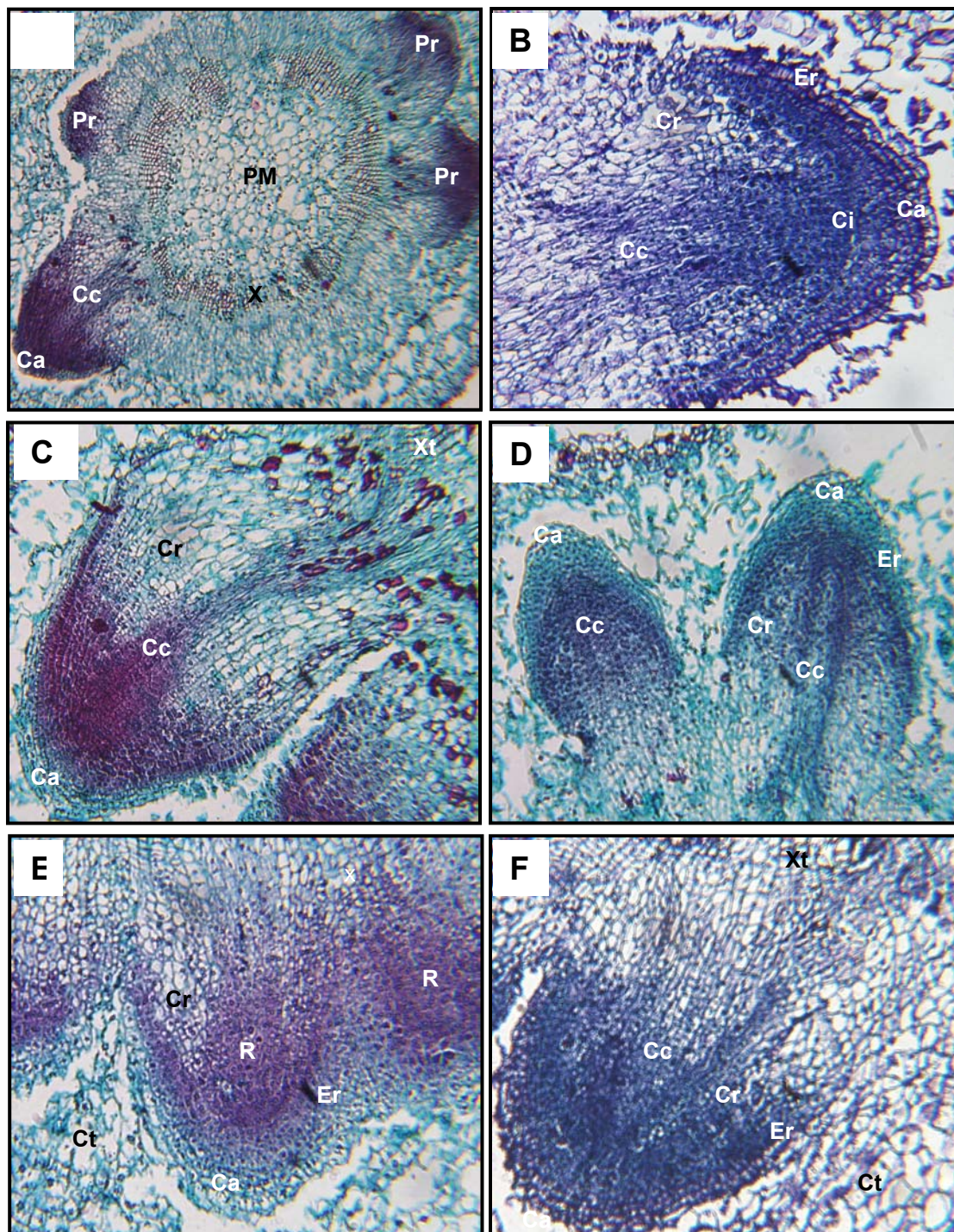


Figura 47. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Seis días AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. **A:** Corte transversal de tallo mostrando cuatro raíces en diferentes estadios de desarrollo. (X 39). **B-F:** Raíces con tejidos diferenciados rompiendo la totalidad de la corteza del tallo para salir al exterior. Los tejidos de la caliptra y el cilindro vascular de la nueva raíz se tiñen de color mas oscuro que los demás tejidos. **B:** (X 98,28), **C:** (X 49,14); **D:** (X 61,425) **E:** (X 98,28) y **F:** (X 98,28). **PM** (Parénquima medular), **X** (Xilema), **R** (Raíz), **Pr** (Primordio de raíz) **Cc** (Cilindro central), **Cr** (Corteza de raíz), **Ci** (Células iniciales), **Er** (Epidermis de raíz), **Ca** (Caliptra), **Ct** (Corteza del tallo).

Todas las células de los primordios poseen núcleo grande. Las células de la caliptra adquieren forma alargada, irregular y su estructura es alargada. Todas las células de la base de la raíz tienen forma bastante alargada, entre ellas se aprecian de ocho a catorce filas de xilema.

La mayor parte de los primordios de raíz crecieron hasta alcanzar la mitad ó la tercera parte del córtex del tallo, pero aún no están claramente vascularizados. De todos los primordios estudiados sólo en uno de ellos ha emergido fuera del tallo.

Con el tratamiento con $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de AIB también empiezan a emerger las primeras raíces del tallo (Figuras 47 B-F). Llegado el sexto día, ambos tratamientos están casi sincronizados en cuanto a la emergencia de la primera raíz, no obstante en los cortes del tratamiento con AIB se observan más explantos con raíces desarrolladas, y mayor número de raíces por explanto (Figura 47 A).

El crecimiento de la raíz para ambos tratamientos, en el día seis, no solamente se debe a las divisiones celulares, sino a un notable alargamiento de sus células, especialmente las de la mitad basal. Aunque paralelo a esto también ocurre diferenciación celular o especialización (Figura 47 C).

6.10 Día ocho

Por la bibliografía consultada, en este día se considera que la raíz ya debe haber emergido al exterior en ambos tratamientos.

En el tratamiento control la única raíz que había emergido de un explanto se ve que aumenta considerablemente el tamaño, el tejido vascular que conecta con el tallo se ha desarrollado hasta la mitad de la nueva raíz. Los demás tejidos empiezan a diferenciarse. Se observan otras raíces que empezaban a emerger rompiendo todo el tejido cortical y la epidermis del tallo (Figura 48 A-F). Varias aún se encuentran en estado de primordios.

En el tratamiento con $1,0 \text{ mg.L}^{-1}$ de AIB, continúa el crecimiento de la raíz emergente, así como su diferenciación, ésta ya tiene la forma externa definitiva de una raíz. Aunque la conexión con el xilema del tallo alcanza la mitad de la raíz, en general la vascularización en este estado se observa poco desarrollada (Figura 49 B).

En otras preparaciones se aprecian más raíces al exterior de la corteza y epidermis del tallo. No se observa vestigios de raíz secundaria.

En ambos tratamientos, se observa que la diferenciación de los tejidos de raíz aún no ha terminado su desarrollo definitivo. El desarrollo continúa activo en toda la extensión de la raíz, no es exclusivo de la parte apical.

6.11 Tinción con PAS

En general, con esta tinción se pudo apreciar que, el tallo de *Cedrela odorata*, presenta un contenido moderado de almidón en las células de la médula y de la corteza del tallo, que va disminuyendo gradualmente a medida que avanza el desarrollo de la raíz adventicia. Esta disminución se hace apreciable a partir del día cuatro del tratamiento de enraizamiento. La corteza posee mayor cantidad de gránulos que la médula, y éstos se encuentran mayormente agrupados en el centro de las células aunque también se pueden apreciar algunos dispuestos hacia las paredes.

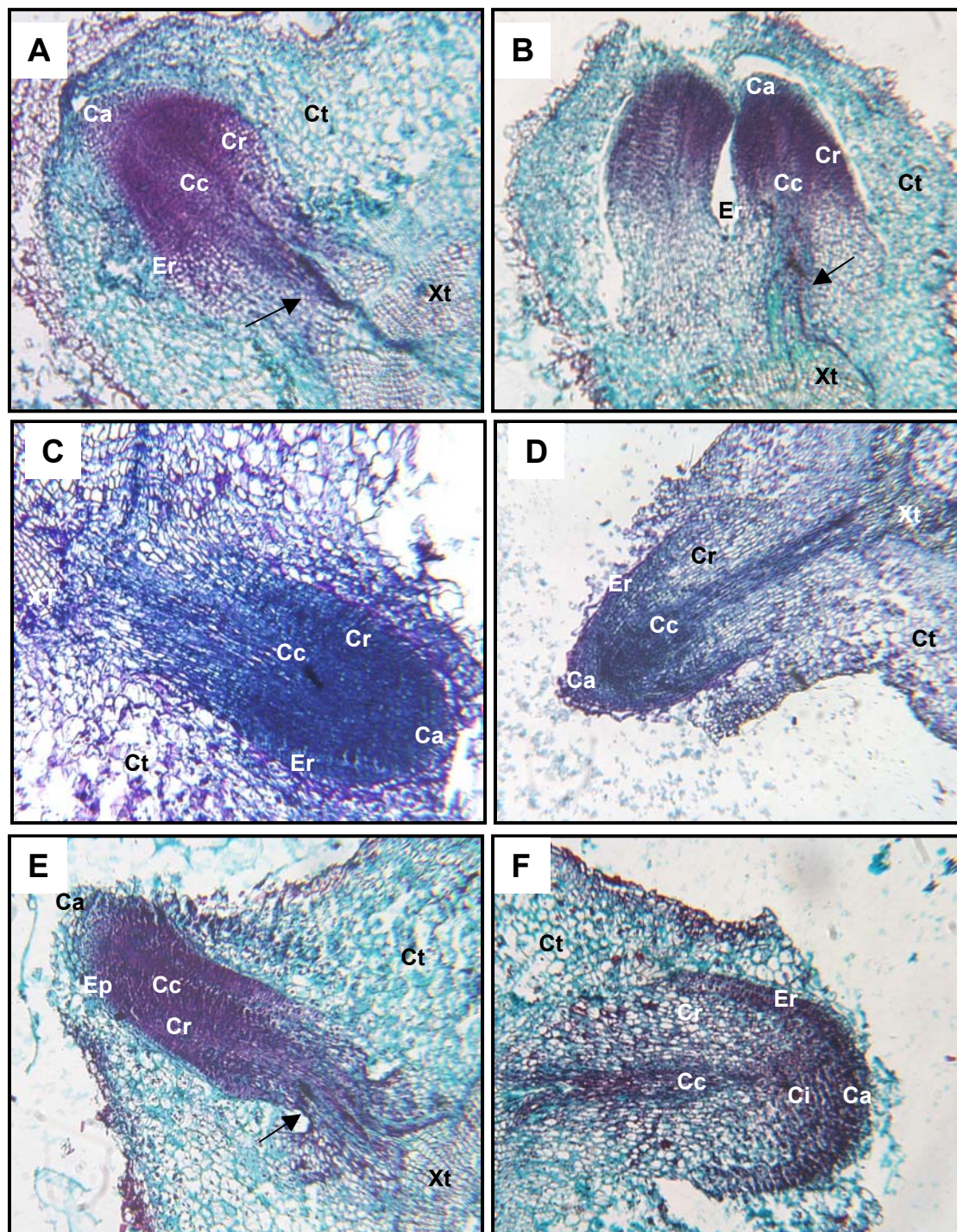


Figura 48. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Ocho días, ausencia de auxina. **A-F:** Diferentes formas de raíces, con los extremos redondeado, ovalado y aguda. En este estado todas poseen cilindro vascular con conexión directa con el sistema vascular del tallo indicado con las flechas en **A**, **B** y **E**. **A:** (X 61,425), **B:** (X 39); **C:** (X 98,28); **D:** (X 39), **E:** (X 61,425) y **F:** (X 61,425). **Xt** (xilema del tallo), **Cr** (Corteza de la raíz), **Cc** (Cilindro central), **Er** (Epidermis de la raíz), **Ca** (Caliptra), **Ct** (Corteza del tallo).

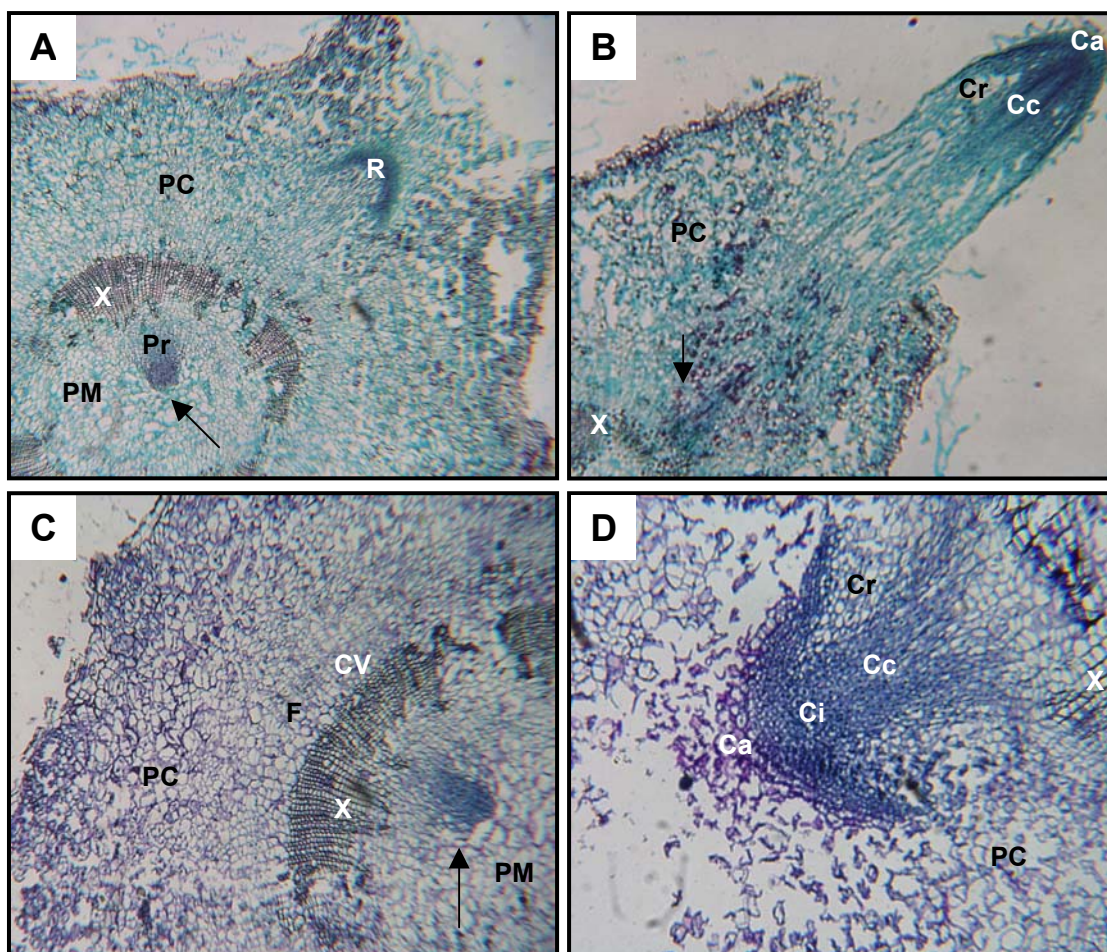


Figura 49. Secciones transversales de brotes de *Cedrela odorata* durante el proceso de enraizamiento *in vitro*. Ocho días AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. **A y C:** Desarrollo de primordio de raíz en el tejido medular hacia el interior de él, indicado por la flecha negra. **A:** (X 24,375); **C:** (X 39) **B:** Raíz emergiendo al exterior un 40% de su longitud total. Nótese que su sistema vascular no es totalmente desarrollado. La flecha indica la conexión de los dos sistemas vasculares de la raíz y del tallo (X 19,5). **D:** Raíz en un estado menos avanzado de desarrollo (X 61,425). **PM** (Parénquima medular), **X** (Xilema), **CV** (Cámbium vascular), **F** (floema), **PC** (Parénquima cortical), **Cc** (Cilindro central), **Ci** (Células iniciales), **Ca** (Caliptra), **Cr** (Corteza de la raíz), **Pr** (Primordio de raíz).

Con este tipo de tinción, el almidón adquiere tonalidades fucsias a malva. La forma de los gránulos de almidón es ovalada y se observan tres hendiduras que indican las zonas por donde comienza su hidrólisis.

7. BIOQUÍMICA DEL ENRAIZAMIENTO EN *Cedrela odorata*

7.1 Identificación de las auxinas AIA, AIA-Asp y AIB

En la identificación del AIA, el AIA-Asp y el AIB se utilizó la fracción metanólica de los extractos separados mediante la mezcla de solventes 84% A: 16% B. Los extractos fueron identificados en el HPLC comparándolos con la calibración de los estándares comerciales (marca Merck). En dichos estándares comerciales el pico de AIA-Asp eluyó a los 1,68 minutos, el del AIA a los 3,197 minutos, el del AIB a los 8,608 minutos y el del ANA a los 10,725 minutos (Figura 50).

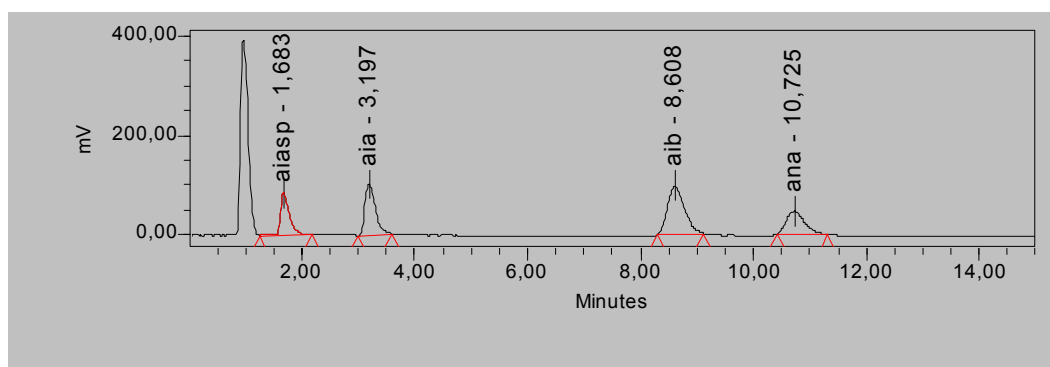


Figura 50. Tiempos de retención para los estándares comerciales AIA-Asp, AIA, AIB y ANA.

Los brotes de *Cedrela odorata* presentaron algunos inconvenientes en la maceración con el mortero y la preparación de sus extractos, especialmente los procedentes de los días de inducción de enraizamiento tres a cinco. Este material era semileñoso y el producto de la maceración era viscoso lo que dificultó la filtración con los filtros manuales.

La calibración de los estándares comerciales empleada por nosotros (Figuras 52 y 53) para el cedro rosado varió ligeramente de la utilizada en el laboratorio por Vidal (2002) en castaño y roble europeos, debido a que en nuestros preensayos de calibración observamos que las muestras eran difícilmente detectables por el HPLC, los picos de los cromatogramas se confundían con el ruido de la línea base, porque las cantidades de AIA endógena eran pequeñas, sobre todo en los brotes en los que se indujeron enraizamiento en ausencia de AIB, además la sensibilidad del detector es inferior a la de los patrones comerciales.

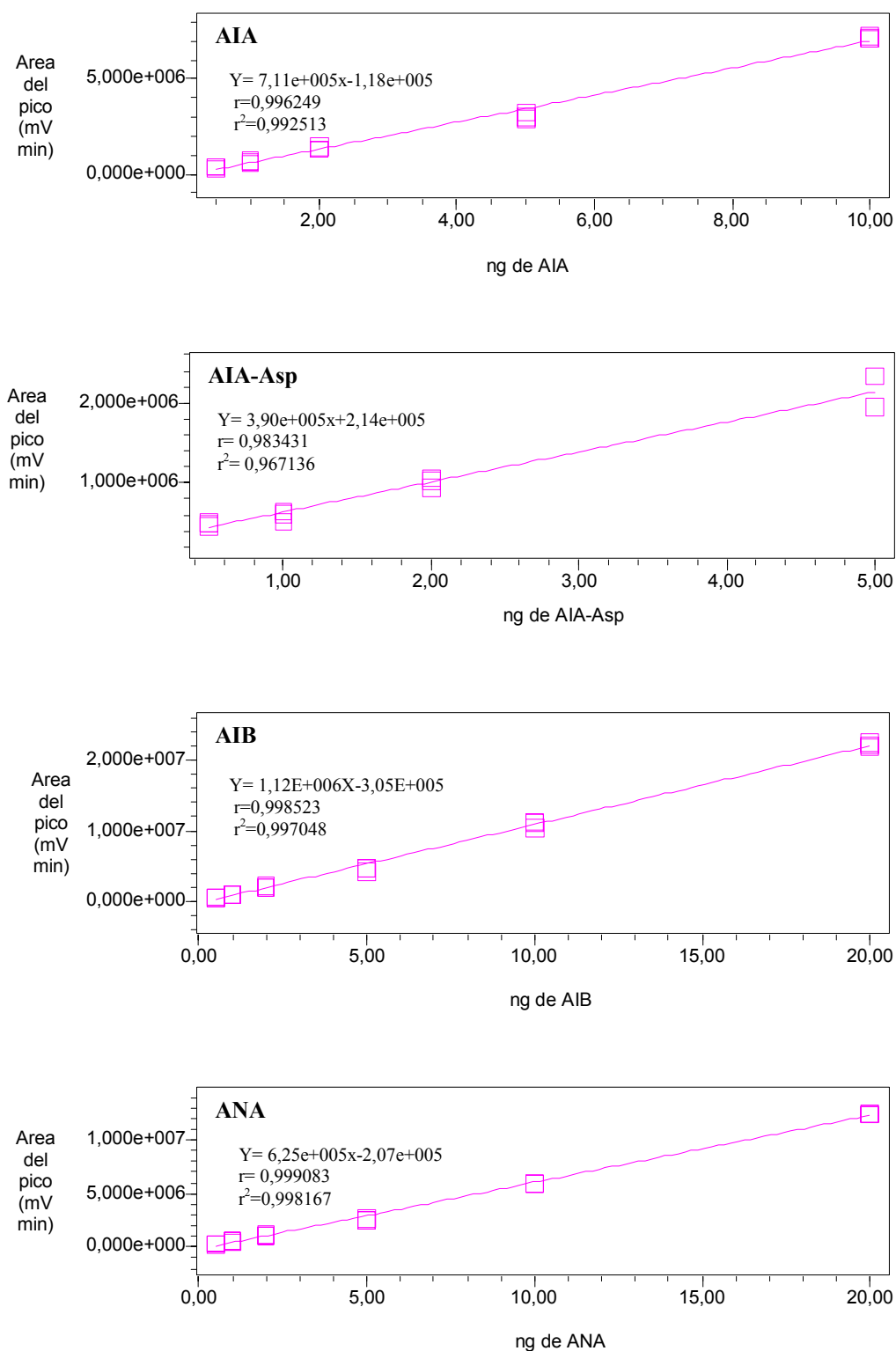


Figura 51. Curvas de calibración para el AIA, el AIA-Asp, el AIB y el ANA (productos comerciales marca Merck) en la primera repetición.

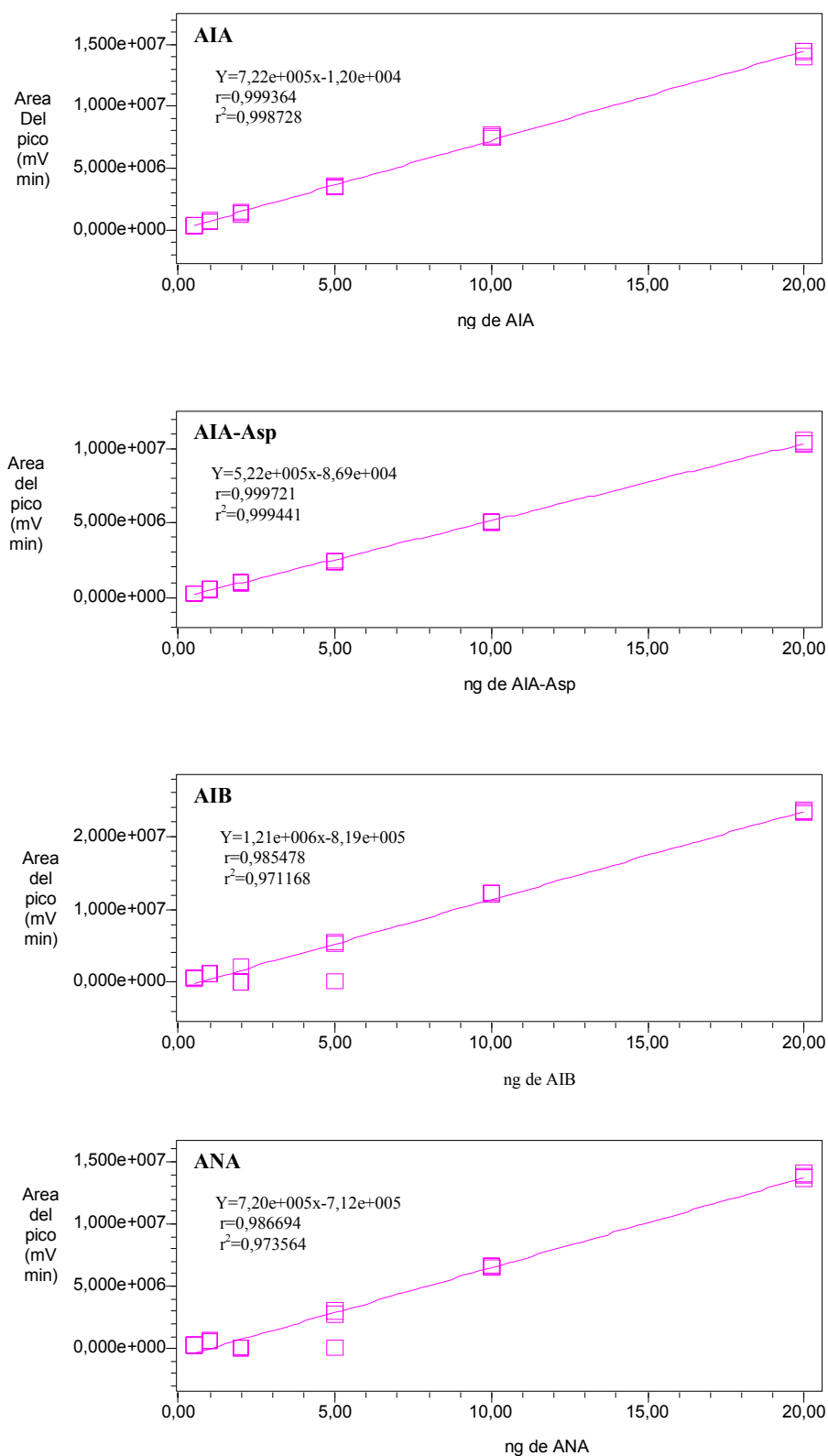


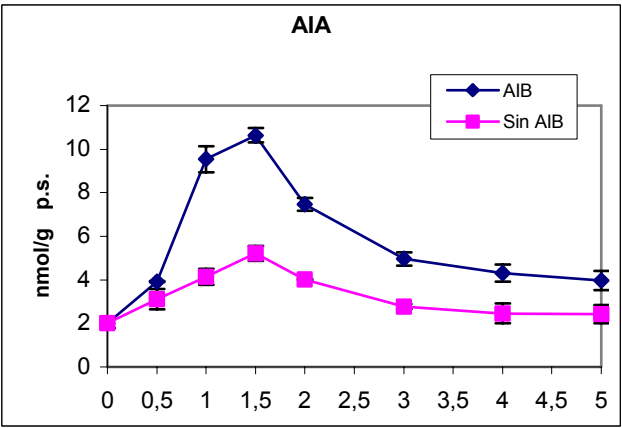
Figura 52. Curvas de calibración para el AIA, el AIA-Asp, el AIB y el ANA (productos comerciales marca Merck) en la segunda repetición.

7.2 Cuantificación de los niveles endógenos de auxinas en brotes de *Cedrela odorata* inducidos a enraizamiento con AIB 1,0 mgL⁻¹ y en ausencia de AIB.

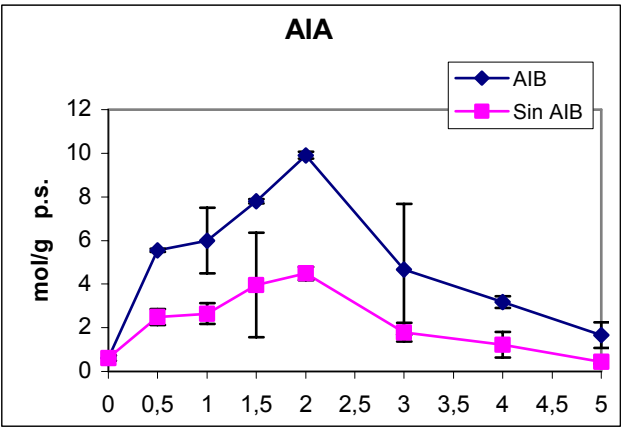
En las dos repeticiones de cuantificación **endógena de AIA** tanto para el tratamiento con AIB 1,0 mgL⁻¹ como para los brotes que enraizaron en ausencia de auxina se observan que el comportamiento de la auxina es similar durante el proceso del enraizamiento de los esquejes. El día cero el contenido de AIA endógeno se encuentra entre los 0,2 y los 2,0 nmol⁻¹ g p.s. A las doce horas el contenido de AIA aumenta ligeramente en ambos tratamientos con poca diferencia entre sí en la primera repetición, pero en la segunda repetición se dispara la concentración endógena con diferencias significativas. El AIA se dispara en la primera repetición sobre todo en los brotes tratados con AIB, las diferencias en el contenido endógeno entre ambos tratamientos son claramente evidentes. En la segunda repetición, el nivel de auxina aumenta moderadamente entre las doce y las veinticuatro horas en ambos tratamientos, con diferencias significativas entre sí. A las treinta y seis horas, en la primera repetición el nivel endógeno de auxina alcanza su pico máximo tanto en el control como con el tratamiento de AIB, la diferencia es marcadamente mayor en el tratamiento con AIB. En la segunda repetición el contenido de AIA endógeno continúa aumentando, pero no alcanza su pico máximo, la diferencia en el tratamiento con AIB 1,0 mgL⁻¹ es marcadamente mayor a la de ausencia de auxina (Figura 54 A y D). Pasadas cuarenta y ocho horas de la inducción del enraizamiento en la primera repetición el nivel endógeno de auxina empieza a descender drásticamente en el tratamiento de AIB y en la ausencia de auxina, con diferencias significativas entre sí; mientras que en la segunda repetición alcanza su pico máximo, también con diferencias significativas. Posteriormente el día tres, el nivel endógeno de AIA baja notablemente en ambos tratamientos y ambas repeticiones, con diferencias significativas entre sí pero menores. El cuarto día de inducción de enraizamiento el nivel de AIA continúa disminuyendo en ambos tratamientos y ambas repeticiones, las diferencias entre ambos tratamientos es menor aunque significativa. El día cinco el AIA continúa disminuyendo levemente en los dos tratamientos y las dos repeticiones; es posible que en el octavo día (no evaluado aquí) la concentración continuara disminuyendo.

El intervalo de tiempo entre las treinta y seis y las cuarenta y ocho horas corresponden a los valores más altos de contenido endógeno de AIA en ambas repeticiones (Figura 53); esto coincide en nuestro estudio histológico con un aumento notable en las divisiones celulares en diferentes estados de mitosis.

En cuanto a los niveles endógenos de **AIA-Asp**, en la primera repetición hubo problemas con las muestras y en la segunda repetición solo hubo valores apreciables desde las treinta y seis horas en la cual el contenido endógeno era de 3,0 nmol⁻¹, luego bajó 1,5 nmol⁻¹ a los dos días de inducción de enraizamiento; a los tres días el nivel volvió a ascender y a partir de este mismo día empezó a disminuir notablemente. Casi todos los valores de AIA-Asp fueron notablemente inferiores a los del AIA.



Primera repetición



Segunda repetición

Figura 53. Niveles endógenos de AIA en brotes *Cedrela odorata* durante las dos repeticiones de inducción de enraizamiento. Cada punto de los gráficos es la media de cuatro repeticiones y las barras representan el error estándar de la media.

El comportamiento del **AIB** durante el proceso de enraizamiento de los brotes de *Cedrela odorata* fue diferente tanto en el control como en los brotes tratados con AIB exógeno en ambas repeticiones. En la primera repetición la concentración de AIB en los brotes del control fue de 3,62; 5,33 y 6,89 a las doce, veinticuatro y treinta y seis horas respectivamente; su comportamiento es ascendente y el pico más alto coincidió con las treinta y seis horas. En cambio en los brotes que estuvieron tratados con auxina exógena la concentración ascendió a las doce horas (4,75 nmolg⁻¹ p.s.) y a las veinticuatro horas (5,21 nmolg⁻¹ p.s.) pero descendió ligeramente a las treinta y seis horas (4,78 nmolg⁻¹ p.s.). En la segunda repetición el comportamiento es similar; en los brotes del control el contenido de AIB endógeno también aumentó a través de las doce horas (3,86 nmolg⁻¹ p.s.), las veinticuatro horas (8,73 nmolg⁻¹ p.s.) y las treinta y seis horas (11,66 nmolg⁻¹ p.s.). En definitiva no hay resultados concluyentes con respecto al AIB endógeno.

8. MICORRIZACIÓN CON ENDOMICORRIZAS ARBUSCULARES

8.1 Control del enraizamiento de *Cedrela odorata*

El cedro rosado presentó porcentajes de enraizamiento un poco bajos tanto para el control (45,83%) como para el AIB 1,0 mgL⁻¹ (54,17%) (datos sin transformar). En este ensayo el tratamiento con auxina superó ligeramente en todas las variables al control, excepto en el número de hojas que fue igual en ambos (Tabla 32).

TABLA 32. Ensayo para evaluar la capacidad de enraizamiento de *Cedrela odorata* al momento de inoculación. Valores promedios $\pm$ desviación típica de 24 plantas por tratamiento. Dentro de cada parámetro letras distintas indican diferencias significativas para una $P \leq 0,05$.

Tratamiento	Enraizamiento (%)	Número de raíces	Longitud raíz primaria (cm)	Longitud raíz secundaria (cm)	Altura de la planta (cm)	Número de hojas
Control	45,83 $\pm$ 0,51	0,71 $\pm$ 0,95b	2,00 $\pm$ 2,47b	5,83E-02 $\pm$ 0,24b	2,10 $\pm$ 0,33	1,16 $\pm$ 0,56b
AIB 1 mgL ⁻¹	54,17 $\pm$ 0,51	2,00 $\pm$ 2,62a	4,58 $\pm$ 4,94a	0,66 $\pm$ 1,28a	2,05 $\pm$ 0,53	1,91 $\pm$ 1,05a

El Test de Tuckey muestra que no hay diferencias significativas entre el porcentaje de enraizamiento ni la altura de la planta, pero si las hay ($P \leq 0.05$) para el número de raíces, la longitud de las raíces primaria y secundaria y el número de hojas (ver Anexo 162).

En el ensayo propiamente de inoculación sólo empleamos plántulas que fueron enraizadas *in vitro* con AIB 1,0 mgL⁻¹ y que además tuvieran raíces; las demás las descartamos.

8.2 Efecto de la inoculación de *Cedrela odorata* con distintos hongos formadores de Micorriza Arbuscular (MA) sobre el crecimiento.

La Tabla 33 muestra los resultados de las medidas de las plantas antes (un mes) y después (cuarto mes) de la inoculación con hongos MA. Las medidas del mes uno corresponden a las tomadas cuatro

semanas después de la inducción de enraizamiento *in vitro* con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. Como era de esperar se aprecia un incremento en todos los parámetros en el mes cuatro en comparación al mes uno. Por ejemplo en la variable número de raíces el tratamiento que presentó más diferencias fue el de suelo el cual incrementó en un 151,86%.

TABLA 33. Efecto de la inoculación de los explantos de *C. odorata* con distintos hongos sobre el crecimiento. El primer mes corresponde a las medidas de enraizamiento *in vitro* con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ y el mes cuatro corresponde a los tres meses bajo los efectos de la inoculación. Valores promedios $\pm$ desviación típica.

Mes de medida	Tratamiento	Número total de explantos	Número de raíces	Longitud raíz primaria (cm)	Longitud raíz secundaria (cm)	Altura de planta (cm)	Número de hojas
1	<i>G. aggregatum</i>	10	3,40 $\pm$ 1,50	8,0 $\pm$ 1,93	0,56 $\pm$ 0,90	2,61 $\pm$ 0,73	1,50 $\pm$ 0,52
	<i>G. deserticola</i>	10	5,50 $\pm$ 3,10	6,55 $\pm$ 2,33	0,46 $\pm$ 1,45	2,21 $\pm$ 0,55	1,50 $\pm$ 0,70
	<i>G. macrocarpum</i>	10	2,90 $\pm$ 1,52	6,94 $\pm$ 3,51	0,99 $\pm$ 1,12	2,30 $\pm$ 0,47	1,50 $\pm$ 0,52
	Control	10	4,20 $\pm$ 2,44	7,63 $\pm$ 2,93	0,95 $\pm$ 1,81	2,53 $\pm$ 0,61	1,50 $\pm$ 0,70
	Suelo	10	4,30 $\pm$ 2,79	7,79 $\pm$ 1,50	0,56 $\pm$ 0,81	2,53 $\pm$ 0,54	2,50 $\pm$ 0,97
4	<i>G. aggregatum</i>	10	5,70 $\pm$ 2,35	26,56 $\pm$ 13,57	8,89 $\pm$ 7,04	3,78 $\pm$ 0,89	2,50 $\pm$ 1,43
	<i>G. deserticola</i>	9	8,11 $\pm$ 4,13	31,86 $\pm$ 9,92	10,36 $\pm$ 6,72	4,14 $\pm$ 0,97	3,55 $\pm$ 1,81
	<i>G. macrocarpum</i>	10	6,40 $\pm$ 3,02	28,29 $\pm$ 13,31	13,82 $\pm$ 8,99	4,44 $\pm$ 1,91	3,30 $\pm$ 2,11
	Control	8	8,00 $\pm$ 2,72	22,25 $\pm$ 11,72	8,13 $\pm$ 6,54	3,95 $\pm$ 1,07	2,75 $\pm$ 1,38
	Suelo	6	10,83 $\pm$ 3,76	24,46 $\pm$ 3,08	6,70 $\pm$ 3,47	7,08 $\pm$ 0,76	6,16 $\pm$ 0,75

En el cuarto mes de medida, el mayor incremento en la longitud de la raíz primaria fue para el tratamiento con *Glomus deserticola* el cual incrementó un 386,41%. La longitud de la raíz secundaria tuvo su mayor incremento en el tratamiento con *Glomus* con 1295,95%. Las plántulas crecieron mas en el tratamiento control, el aumento fue de 179,84%. La mayor producción de hojas se vio favorecida por el tratamiento con suelo.

También se evaluaron otras variables mostradas en la Tabla 34 al final del ensayo de inoculación (cuarto mes). El número total de explantos y el porcentaje de sobrevivencia fue mayor para los tratamientos *Glomus aggregatum* y *Glomus macrocarpum* Tul. Et Tul. El peso de las raíces fue mayor para el tratamiento con suelo, 0,20 mg. La longitud total de raíz fue 2,51 cm. El tratamiento con el mayor peso de las ramas fue el de suelo.

El Anova de un factor (ver Anexo 163) muestra que no hay diferencias significativas entre los tratamientos en el peso de la raíz ($P=0.053$) en cambio si hay diferencias para el peso de la rama ($P=0.008$) y la longitud total ($P=0.010$).

Con el fin de hacer una evaluación más exhaustiva de las diferencias entre cada uno de los tratamientos entre sí, se realizaron las pruebas post hoc (ver Anexo 164). La variable peso de raíz dio los mayores resultados en el tratamiento con suelo, pues las diferencias de medias (I-J) dan positivas cuando se compara este grupo con los demás, aún así solo hay diferencias significativas con los tratamientos *Glomus aggregatum* y control.

TABLA 34. Efecto de la inoculación de los explantos de *C. odorata* sobre el peso seco de raíces y de ramas de las plantas sometidas a cinco tratamientos de inoculación. Valores promedios $\pm$ desviación típica.

Tratamiento	Número total de explantos	Sobrevivencia (%)	Peso de la raíz (mg)	Longitud total de las raíces (cm)	Peso de la rama (mg)
<i>Glomus aggregatum</i>	10	100	0,05 $\pm$ 0,04	110,2 $\pm$ 30,28	0,04 $\pm$ 0,03
<i>Glomus deserticola</i>	9	90	0,11 $\pm$ 0,08	199,22 $\pm$ 91,83	0,07 $\pm$ 0,06
<i>Glomus macrocarpum</i>	10	100	0,15 $\pm$ 0,18	198,30 $\pm$ 135,18	0,11 $\pm$ 0,15
Control	8	80	0,06 $\pm$ 0,06	127,50 $\pm$ 30,48	0,04 $\pm$ 0,05
Suelo	6	60	0,20 $\pm$ 0,05	251,16 $\pm$ 44,28	0,20 $\pm$ 0,05

En el peso de las ramas el tratamiento con suelo también presenta aquí los valores más altos que los otros cuatro y con diferencias significativas en todos. En la longitud de las plantas también tiene el valor mas alto el tratamiento con suelo pues todas las diferencias de medidas (I-J) da positivas, y con diferencias significativas con el tratamiento con *Glomus aggregatum* ($P=0.002$) y con el tratamiento control ($P=0.008$) (ver Anexo 164).

Con el fin de hacer una comparación más real de las diferencias entre los cinco tratamientos, la opción que da las pruebas post hoc es sumar las medias del mes uno mas el mes cuatro y crear una nueva media más real porque los valores del mes cuatro dependieron en gran parte de los obtenidos en el mes uno; posteriormente realiza los Anovas y finalmente realiza una comparación más específica en las comparaciones múltiples donde desglosa cada tratamiento con los cuatro restantes, así para todas las variables dependientes.

En la Tabla 35 se aprecia que el tratamiento suelo originó el mayor número de raíces, de hojas y altura de la planta, seguido del tratamiento de inoculación con *G. deserticola* o *G. macrocarpum*. La inoculación con *G. deserticola* ocasionó mayor número de raíces, número de hojas y longitud de raíz que *G. macrocarpum*, mientras que este último ocasionó mayor longitud de raíz secundaria y altura de planta que el primero.

El Anova que contrasta las medias de las cinco variables dependientes evaluadas (número de raíces, longitud de la raíz primaria y secundaria, altura de la planta y número de hojas) con los cinco tratamientos de inoculación (ver Anexo 165) indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos.

TABLA 35. Suma de las medias de los meses uno y cuatro de los cinco tratamientos de inoculación. Valores promedios $\pm$ desviación típica.

Tratamiento	Número de raíces	Longitud raíz primaria (cm)	Longitud raíz secundaria (cm)	Altura planta (cm)	Número de hojas
<i>G. aggregatum</i>	4,55 $\pm$ 0,623	17,28 $\pm$ 1,79	4,72 $\pm$ 1,08	3,19 $\pm$ 0,21	2,00 $\pm$ 0,27
<i>G. deserticola</i>	6,80 $\pm$ 0,640	19,21 $\pm$ 1,84	5,41 $\pm$ 1,11	3,17 $\pm$ 0,22	2,53 $\pm$ 0,28
<i>G. macrocarpum</i>	4,65 $\pm$ 0,62	17,61 $\pm$ 1,79	7,40 $\pm$ 1,08	3,37 $\pm$ 0,21	2,40 $\pm$ 0,27
Control	6,10 $\pm$ 0,66	14,94 $\pm$ 1,90	4,54 $\pm$ 1,15	3,24 $\pm$ 0,22	2,12 $\pm$ 0,29
Suelo	7,56 $\pm$ 0,72	16,12 $\pm$ 2,07	3,63 $\pm$ 1,25	4,80 $\pm$ 0,24	4,33 $\pm$ 0,31

Y el Anova que compara las mismas variables con los dos meses de medida dice que si hay diferencias significativas en todas las variables entre el mes uno y el cuatro (ver Anexo 166).

Las comparaciones múltiples (ver Anexo 167) son más detalladas. Muestra, que para el número de raíces el tratamiento suelo posee la media más alta, pues la diferencia entre medias (I-J) da positiva en todas, pero las diferencias significativas son solo con los tratamientos *G. aggregatum* y *G. macrocarpum*. La longitud de la raíz primaria es mayor en el tratamiento *G. deserticola*, las diferencias (I-J) dan positivas con los otros cuatro tratamientos, pero no hay diferencias significativas con ninguno. El tratamiento que muestra la raíz secundaria más larga es el *G. macrocarpum* y con diferencias significativas con el control ($P=0.043$) y suelo ($P=0.007$). Las plantas más grandes y con mayor número de hojas estaban en el tratamiento suelo, con diferencias significativas con los otros cuatro tratamientos ($P < 0.05$ en todos).

A pesar de que toda la población de *Cedrela odorata* empleada en este ensayo procedía del tratamiento con AIB 1,0 mgL⁻¹, se nota que el crecimiento después de tres meses de permanencia en invernadero bajo condiciones controladas, no es uniforme para todas pues la población es heterogénea tanto entre los tratamientos de inoculación como al interior de ellos (Figuras 55 a 58), no obstante si se observa con detenimiento se ve que *Glomus deserticola* y *Glomus macrocarpum* ayudaron a mantener la población de cedro rosado con una sobrevivencia y un crecimiento más uniforme.



- Figura 54. Plántulas de *Cedrela odorata*. Control.
 Figura 55. Plántulas de *Cedrela odorata* sometidas a inóculo de *Glomus aggregatum*.
 Figura 56. Plántulas de *Cedrela odorata* sometidas a inóculo de *Glomus deserticola*.



Figura 57. Plántulas de *Cedrela odorata* sometidas al inóculo de *Glomus macrocarpum*.

Figura 58. Plántulas de *Cedrela odorata* en el tratamiento suelo.

En cuanto al tratamiento suelo, es arriesgado hacer una comparación con el resto del ensayo, pues su sustrato era distinto, además se presentó el problema de inundación porque la capacidad de drenaje del agua era menor, y por esta causa fallecieron algunas de sus plántulas (Figura 58)



Figura 59. Comparación de las plántulas de *Cedrela odorata* más sobresalientes de cada tratamiento en sustrato turba- perlita. De izquierda a derecha *G. aggregatum*, *G. deserticola*, *G. macrocarpum* y sin inóculo.

En la Figura 59, se aprecia que la plántula más alta se produjo con *Glomus macrocarpum* y en la Figura 60, que las plántulas de tamaño intermedio fueron las de suelo.



Figura 60. Comparación de las plántulas de *Cedrela odorata* con crecimiento intermedio en los tratamientos anteriores más el suelo.

En las Figuras 60 a 64 se muestran las plántulas aclimatadas en el invernadero cuatro meses después de haber sido inoculadas. En ellas sobresale un gran sistema radicular en casi todos los tratamientos que sobrepasan varias veces el tamaño de las plántulas. Las plantas del control (Figura 61) las cuales crecieron en perlita y sin inóculo se desarrollaron poco. El tratamiento con *Glomus aggregatum* no contribuyó mucho con el crecimiento de *Cedrela odorata* (Figura 62). En cambio los tratamientos con *G. deserticola* (Figura 63) y *G. macrocarpum* (Figura 64) fueron los que tuvieron mayor afinidad con el crecimiento de las plantas. El tratamiento suelo también fue benéfico en el desarrollo del cedro (Figura 65), el único problema es la poca capacidad de drenaje de agua del mismo.



Figura 61. Plantas de *Cedrela odorata*. Control.

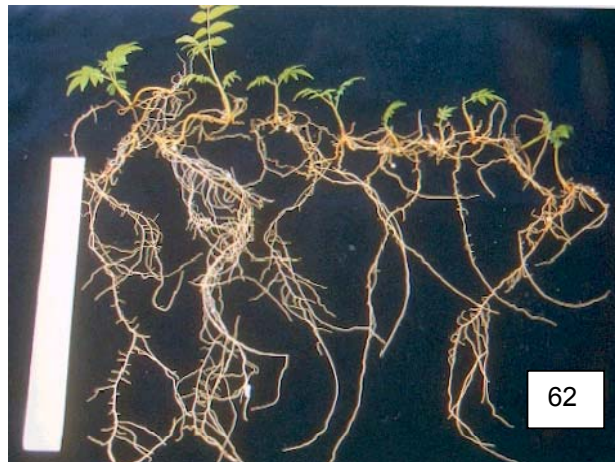


Figura 62. Plantas de *Cedrela odorata* inoculadas con *Glomus aggregatum*.
Figura 63. Plantas de *Cedrela odorata* inoculadas con *Glomus deserticola*.
Figura 64. Plantas de *Cedrela odorata*. Inoculadas con *Glomus macrocarpum*.



Figura 65. Plantas de *Cedrela odorata*. Suelo.

8.3 Resultados de la colonización

En las preparaciones realizadas con las raíces de los cinco tratamientos se observó poca colonización de micorrizas, los propágulos alcanzaron pocas veces a penetrar los tejidos internos de la raíz, se observaban generalmente puntos de entrada, por otra parte la poca coloración de las raíces dificultaba la observación en el microscopio. De los tres inoculantes MA utilizados el que mostró mayor número de entradas fue *G. deserticola*. El tratamiento con suelo mostró el valor más alto aunque los hongos fueron de diferente tipo y nativos del suelo (Tabla 36).

TABLA 36. Porcentaje de colonización radicular en *C. odorata*, inoculada o no inoculada.

Planta	Control	<i>Glomus aggregatum</i>	<i>Glomus deserticola</i>	<i>Glomus macrocarpum</i>	Suelo
1	0	1	0	0	3
2	0	0	0	3	0
3	0	3	3	0	1
4	0	1	0	0,5	0
5	0	0	2	0	1
6	0	0	0	0	0,5
7	0	0,5	0	1	0
8	0	2	0,5	1	0
9	0	0	2	0,5	3
10	0	1	2	3	2
Media	0,00	0,85	0,95	0,90	1,05
Desv. Est.	0,00	1,00	1,17	1,17	1,21

En un ensayo realizado previamente en trébol (datos cedidos por Beatriz González) con dos, cuatro y ocho inoculantes (Tabla 37), mostró que hubo colonización radicular cuando se utilizaron solo dos inoculantes. El promedio mas alto se obtuvo en *G. mosseae* (no utilizado en este estudio) seguido de *G. macrocarpum*. También se aprecia que el porcentaje de infectividad de los MA aumentó a medida que se incrementó el número de inoculantes.

TABLA 37. Test (30 días) de funcionamiento infectivo de los inoculantes en trébol violeta (*Trifolium pratense*).

	Carga de ITPs por maceta de 150 ml			
% Colonizac. Radic.		2	4	8
<i>G. aggregatum</i>	a	20	12	30
	b	15	10	21
	c	7	21	19
	Media	14,0	14,3	23,3
	Desv. Est.	6,6	5,9	5,9
<i>G. macrocarpum</i>	a	20	25	32
	b	13	32	31
	c	11	29	40
	Media	12,0	30,5	35,5
	Desv. Est.	1,4	2,1	6,4
<i>G. mosseae</i>	a	12	16	33
	b	25	30	16
	c	21	25	38
	Media	19,3	23,7	29,0
	Desv. Est.	6,7	7,1	11,5
Control	a	0	0	0
	b	0	0	0
	c	0	0	0
	Media	0,0	0,0	0,0
	Desv. Est.	0,0	0,0	0,0

V. Discusión

1.0 ESTABLECIMIENTO

1.1 Esterilización de semillas

Uno de los mayores problemas que suele presentarse, durante el establecimiento *in vitro* de los cultivos, es la contaminación de los explantos, bien sea semillas, material de campo o material crecido en invernadero. Cuando utilizamos semilla como en el caso de ***Cedrela odorata***, el grado de contaminación dependió del lote de procedencia.

Ortega (1989), menciona que tuvo el mismo problema con *Cedrela odorata*. Este autor redujo la contaminación de las semillas a un 22,3% empleando también etanol al 70% durante tres minutos e hipoclorito de sodio al 25% durante cuarenta minutos. Nosotros empleamos un sistema de esterilización muy similar al de Ortega (1989) pero con menos tiempo de exposición; por otro lado es muy probable que las semillas que nosotros utilizamos estuvieran más contaminadas que las semillas empleadas por Ortega.

En el establecimiento de la semilla de ***Cedrela odorata***, utilizamos el medio Murashige y Skoog (1968) al 100% de su concentración mineral suplementado con 3% de sacarosa, esta concentración de sacarosa pudo ser un factor favorecedor para la proliferación de hongos y bacterias. Ortega (1989) cultivó las semillas en el mismo medio MS con los macronutrientes reducidos a la mitad quizás por esto consiguió disminuir la contaminación a un 22,3%.

La bibliografía referente a la esterilización de semillas muestra protocolos muy variados. Por ejemplo Maruyama y col. (1989) mencionan que la esterilización de las semillas de *Swietenia macrophylla* y *Cedrela odorata* con alcohol etílico y peróxido de hidrógeno o cloruro mercúrico fue efectiva; sin embargo, en *Swietenia humilis* no fue efectivo este tratamiento. De otro modo, Da Costa y col (2002), esterilizaron superficialmente semillas de *Cedrela fissilis* con lejía comercial al 2,5% durante 75 minutos y posteriormente las cultivaron sobre medio MS completo suplementado con 20% de sacarosa, ellos no mencionan problemas de contaminación en sus resultados.

En nuestro trabajo, el lote de semillas de ***Cedrela montana*** y un lote de ***Quercus humboldtii*** fue imposible de esterilizar, debido a que la contaminación endógena fue elevada. No obstante, las semillas de estos mismos lotes germinaron bien en el fitotrón e invernadero, produciendo plántulas de las cuales se colectó material para establecer *in vitro*.

Sin embargo para Serrano y col (1996) la desinfección de las semillas de ***Cedrela montana*** no presentó mayores dificultades; los rangos de contaminación de la mayoría de sus procedencias fueron del 5 al 20%. En su protocolo de desinfección utilizaron al mismo tiempo hipoclorito de sodio, ácido cítrico y ácido ascórbico. Estos mismos autores, disminuyeron la concentración del medio de germinación *in vitro* MS a la mitad y no emplearon reguladores de crecimiento, aunque sí utilizaron sacarosa.

Tanto en ***Cedrela odorata*** como en ***Cedrela montana*** observamos que las semillas que germinaron rápidamente fueron menos atacadas por los hongos, que las que sufrieron letargo. De las semillas de las cuatro especies tropicales, la de ***Chlorophora tinctoria*** presentó el porcentaje de contaminación más bajo, debido seguramente a que posee testa dura y compacta que impide que entre humedad y contaminantes a los cotiledones y al embrión durante su almacenamiento.

Los cedros y el roble colombiano no son las únicas especies tropicales con problemas de contaminación. Jaramillo y col, (1990) también tuvieron contaminación fuerte en las semillas de *Tabebuia rosea* antes de cultivarlas *in vitro*. Observaron que la respuesta al tratamiento de desinfección estuvo relacionada altamente con la fuente del material. Jaramillo y col (1990) y Serrano y col (1996), recomiendan realizar modificaciones en el tratamiento de desinfección según sea la procedencia de la semilla, porque las características de la semilla cambian dependiendo de la zona de origen, de la estación del año, del sistema de recolección y de su almacenamiento.

1.2 Esterilización de las yemas procedentes del invernadero

El porcentaje de contaminación de las yemas, de cuatro y doce meses de edad de *Cedrela odorata*, fue 20,83% y 22,22% respectivamente, y la supervivencia fue alta. En cambio, el porcentaje de contaminación de las yemas de catorce meses de edad fue de más del 50% disminuyendo la supervivencia de los brotes *in vitro*. Nuestros resultados son similares a los obtenidos por Ortega (1989) en *Cedrela odorata*, quien obtuvo una contaminación del 8% en las yemas apicales de tres meses de edad utilizando una exposición de tres minutos a NaOCl al 2,5%. Por otro lado mencionan que las yemas axilares procedentes de las plantas de nueve y doce meses, mostraron más oxidación y contaminación que las de tres meses. Por su parte Guevara y col (1992) encontraron porcentajes de oxidación bajos en explantos de plantas de *Cedrela tonduzii* de seis meses; aclaran que en general existen diferencias según el tipo de desinfectante y antioxidante.

Los hongos son el principal agente causante de contaminación en *Cedrela tonduzii* (Guevara y col (1992). Según ellos, los ápices presentaron los porcentajes de contaminación más bajos tanto al usar hipoclorito de sodio como al usar hipoclorito de calcio, sin embargo observaron que el CaHClO_3 provocó quemadura y muerte de las yemas de seis meses de edad. Señalan que para combatir los hongos en los ápices el mejor tratamiento es el hipoclorito de sodio, mientras que para las bacterias el mejor tratamiento es el hipoclorito de calcio. Ishii y Maruyama (1992) y Maruyama y col (1989) emplearon alcohol etílico y luego una solución de cloruro de mercurio en la esterilización de ápices de plantas de *Cedrela odorata* de cinco meses de edad; estos autores no mencionaron los resultados de la esterilización. Guevara y col (1992) observaron que el hipoclorito de sodio no causó formación de callo; en cambio el porcentaje más alto de callo se presentó en ápices desinfectados con calcio. En nuestro caso no empleamos el hipoclorito de calcio.

Aparte de la esterilización con hipoclorito de sodio, existen otros métodos de esterilización con compuestos que contienen mercurio (Joshi y Thengane, 1996; Ishii y Maruyama, 1992; Pattnaik y col, 1996; Sunnichan y col, 1998; Tiwari y col, 2002; Naik y col, 2003; Jain y Babbar, 2000; Goyal y col, 1985; Manzanera y Pardos, 1990; Roy y col, 1988; Amin y Jaiswal, 1987; Scarpa y col, 2000; D'Silva y D'Souza, 1992; Mathur y Mukunthakumar, 1992; Quraishi y Mishra, 1998; Kaur y col, 1998; Purohit y col, 2002; Ajithkumar y Seení, 1998), pero no lo hemos utilizado por el alto grado de contaminación que causa al medio ambiente y porque, al igual que el ácido clorhídrico (Jain y Babbar, 2000; Castro y col, 1997) y el ácido sulfúrico, (Mittal y col, 1989) pueden causar lesiones en la piel.

La contaminación que observamos en las yemas de doce meses de *Cedrela montana* fue mayor que las que presentaron las yemas procedentes de plantas de nueve meses, 30 y 20%

respectivamente, y la sobrevivencia fue sólo del 25%. Este aumento de contaminación pudo deberse a que la porción de tallo que acompaña a la yema en el momento del establecimiento aumenta de tamaño con la edad; además, la manipulación es más difícil porque el material se vuelve leñoso. Basto (1995), consiguió el menor porcentaje de contaminación (13,3%) en brotes rejuvenecidos de ***Cedrela montana***, usando un tratamiento de esterilización con base a hipoclorito de sodio al 2%, Benlate® y Ortocide®.

En cuanto a ***Chlorophora tinctoria*** (Familia Moraceae), la contaminación de los explantos iniciales, derivados de plántulas de invernadero de cuatro meses, fue baja y la sobrevivencia superó el 50%; no es un mal resultado si lo comparamos con el de semilla. Normalmente durante las primeras semanas del establecimiento hay contaminación y mortalidad de algunos brotes. En cuanto a la contaminación de las yemas de seis y siete meses de edad de la misma especie los porcentajes fueron 17 y 20% respectivamente. Por otro lado Islam y col (1993) consiguieron desinfección superficial en brotes de árboles de *Morus laevigata* (Familia Moraceae) de doce años de edad con 0,1 % (w/v) de una solución de HgCl₂ y 70% (v/v) de etanol.

1.3 Germinación de semillas

La germinación *in vitro* de la semilla de ***Cedrela montana*** depende de la procedencia y del tiempo que lleve recolectada. La semilla almacenada durante más de un año en nevera a 4 °C pierde su viabilidad, presentando una tasa de germinación del 4%. La germinación es de un 60 a 85% utilizando semilla con menos de un año de almacenamiento (Carrizosa y Serrano, 1997)

Con respecto a los reguladores de crecimiento, las concentraciones de 1,0 mgL⁻¹ de BA + 1,0 mgL⁻¹ de Kinetina que nosotros utilizamos, resultaron muy favorables en el establecimiento inicial de las semillas de ***C. odorata***. Comparando nuestros resultados con los de Ortega (1989), vemos que nosotros tuvimos más éxito; a pesar de que ellos esperaban una respuesta morfogénica alta, básicamente solo consiguieron desarrollo de hojas y elongación del brote (un 98%). A diferencia de nuestro medio MS completo, Ortega redujo los macronutrientes a la tercera parte, consiguiendo un porcentaje máximo de germinación del 66%. Este autor no tuvo en cuenta la medición de más parámetros de crecimiento y producción que el número de hojas, por esto no es posible comparar los resultados cuantitativos de nuestra investigación con los suyos pues solo menciona que la supervivencia de las yemas apicales fue alta a los sesenta días presentando una coloración verde, buen vigor y aspecto saludable. Nosotros no contabilizamos la producción de hojas de los explantos durante esta etapa.

Por otro lado, da Costa y col. (2002), menciona que la germinación *in vitro* de semilla de *Cedrela fissilis* en el medio MS empezó tres a cuatro días después y alcanzó un máximo de 95% de los diez a doce días. Después de cuatro semanas de crecimiento *in vitro* dichos brotes alcanzaron una altura aproximada de 8,2 ± 1,0 cm, la longitud de la raíz 8,6 ± 1,2 cm y 3,1 ± 0,5 hojas.

1.4 Desarrollo de los brotes de las especies del género ***Cedrela***

Como mencionamos antes, en el establecimiento de las semillas de *C. odorata* empleamos las concentraciones 1,0 mgL⁻¹ de BA + 1,0 mgL⁻¹ de kinetina. Cuando empleamos una concentración un

poco más alta de BA $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ se produjo callo en los explantos, y cuando usamos BA $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ el vigor de los brotes disminuyó. Según Beck y col. (2000) después de un período de tres meses el 44% de los explantos procedentes de semilla de *Acacia* se produjeron brotes en el medio MS suplementado con BA $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ pero el 55% de las yemas murieron debido al tamaño pequeño del explanto.

Por nuestra parte, la producción de brotes en *C. odorata* fue moderada (2,86 brotes por explanto) en los brotes procedentes de semilla y 2,28 en los brotes procedentes de yemas de invernadero de cuatro meses. Otros autores han conseguido mayor producción de brotes en la misma especie, aunque sus ensayos no han tenido continuidad ni aportan información sobre los coeficientes de multiplicación. Maruyama y col (1989) indujeron brotes múltiples en ápices de *Swietenia macrophylla* y *Cedrela odorata* (Meliáceas) sobre el medio BTM con $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BA y sobre el WPM con $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ de BA, respectivamente. En el caso de *Cedrela odorata* observaron un promedio de 3,5 brotes nuevos después de treinta días. De modo similar Ishii y Maruyama (1992) y Maruyama y col (1989), indujeron brotes múltiples en cultivos de ápices de plántulas de cinco meses de edad de *Cedrela odorata* sobre el medio WPM suplementado con $2,0 \text{ mgL}^{-1}$ 6-benzylaminopurina. Seis semanas después obtuvieron un promedio de cuatro brotes múltiples por brote.

La bibliografía confirma que los requerimientos de citoquinina pueden variar entre las especies, entre los cultivares y entre los tipos de explanto. Por ejemplo mientras que en explantos de plantas de seis meses de edad de *Cedrela tonduzii*, la concentración de $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ de BA favoreció el desarrollo de un alto porcentaje de brotes a partir de ápices, para otros tipos de explantos fueron necesarias concentraciones más altas (Guevara y col. 1992).

En otras especies de la Familia Meliaceae como *Azadirachta excelsa*, el medio conteniendo BA $8,8 \text{ } \mu\text{M}$ indujo brotes múltiples (Kooi y Teo, 1998). Y en la especie *Melia azedarach* según Thakur y col. (1998) la kinetina no fue efectiva en la inducción de proliferación de brotes. Estos autores mencionan que la iniciación y la proliferación de explantos nodales en el medio MS suplementado con BA ($4,44$; $8,88$ y $17,75 \text{ } \mu\text{M}$) produjo brotes múltiples; observaron elongación de los brotes en presencia de BA ($17,75 \text{ } \mu\text{M}$). A concentraciones más bajas de BA disminuyó la altura del brote pero ocurrió un desarrollo foliar intenso. Por otra parte, la propagación clonal de *Azadirachta indica* fue conseguida de forma similar por Joshi y Thengane (1996) sobre el medio MS pero adicionado con BA $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ más kinetina $1,0 \text{ mgL}^{-1}$.

En nuestra investigación, las yemas de **catorce meses** de edad de *Cedrela odorata* fueron difíciles de micropropagar, la población de brotes fue poco uniforme, algunas plántulas presentaron buena forma y crecimiento, mientras que otras se mostraron endebles. La producción de callo aumentó y la viabilidad de los brotes se vio notablemente afectada al aumentar el número de subcultivos. Nos sucedió algo similar con *Cedrela montana*, a medida que aumentaba la edad de las yemas, disminuía la capacidad de sobrevivencia y producción de los brotes y plántulas. Además en *C. montana* la mortalidad fue mayor. De modo similar, Ortega (1989) consiguió una supervivencia de 70 a 90% en las yemas apicales de plantas de *Cedrela odorata* de tres, nueve y doce meses. Las yemas axilares de plantas de veinticuatro meses sobrevivieron un 50% y su desarrollo solo fue de 10% en la cuarta semana. Al cabo de la octava semana de cultivo, los explantos que procedieron de

plantas de doce y veinticuatro meses, mostraron ennegrecimiento y pérdida de vigor. Asimismo, Basto (1995), tampoco consiguió muy buenos resultados con *Cedrela montana*. Seleccionó el medio MS con los macronutrientes diluidos a un tercio, como el mejor para la propagación de brotes juveniles.

Por otro lado, Jordan y Oyanedel (1992), encuentran que los ápices de plantas juveniles de *Pouteria lucuma* son el material más eficiente para la propagación *in vitro* y que la regeneración a partir de explantos de plantas adultas no les da resultado.

Una posible explicación a la pérdida de capacidad de organogénesis en nuestras yemas de invernadero de mayor edad puede deberse a los tipos y concentraciones endógenas de citoquininas. Aunque nosotros no las evaluamos, otros autores como Perrin y col. (1997) compararon los niveles endógenos de isopenteniladenina, isopenetriladenosina, zeatina y ribósido de zeatina con la habilidad para la formación de brotes y raíces entre clones maduros y rejuvenecidos de *Hevea brasiliensis*. Encontraron que los explantos nodales de plantas rejuvenecidos contienen cantidades mayores de ribósido de zeatina (aproximadamente dos veces) que los explantos nodales de plantas maduras. Del mismo modo el análisis de citoquininas endógenas en *Pinus radiata* hecho por Zhang y col. (2003) reveló que las yemas juveniles tenían un nivel relativamente más alto de isopenteniladenina e isopenteniladenosina, en cambio las yemas adultas contenían niveles muy altos de citoquininas fosforiladas y glicósidos de citoquininas nuevos (isopenteniladenina-9-(ribósido glucopiranosil), dihidrozeatina-9-(ribósido glucopiranosil) y confirmaron la presencia de zeatina 9-glucopiranosilribósido. Así mismo Aver y col. (1999) encontraron que las citoquininas isopentenil adenina (iP) e isopentenil adenosina (iPA), lo mismo que la citoquinina oxidasa incrementaron en la línea genética altamente organogénica de *Petunia hybrida*.

En *Cedrela odorata*, *Cedrela montana* y *Quercus humboldtii* tuvimos la necesidad de disminuir la concentración inicial de BA para poder continuar con los subcultivos sin que los brotes se cubriesen de callo. Igualmente, Ishii y Maruyama, (1992) y Maruyama y col (1989) disminuyeron la concentración de BA a $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ en los subcultivos de *Cedrela odorata*. Según Liew y Teo (1998), se requiere un cambio de medio entre el establecimiento inicial de explantos (del campo), la proliferación posterior y el mantenimiento del cultivo de brotes para obtener brotes micropropagados normales y sanos.

Nosotros constatamos que aunque dos especies pertenezcan a la misma familia y al mismo género como es el caso de *Cedrela odorata* y *Cedrela montana* no significa necesariamente que ambas respondan bien al cultivo *in vitro*. *C. montana* estuvo por debajo de *C. odorata* en producción de brotes, en vigor y en altura de los brotes. Inclusive da Costa y col (2002) obtuvieron mayor producción (5,5 brotes por explanto) en brotes de *Cedrela fissilis* procedentes de semilla, adicionándole al medio $2,5 \mu\text{M}$ de BA.

Aunque nosotros no empleamos auxinas durante el establecimiento de los explantos, otros autores si las emplean. Kooi y Teo (1998) indujeron el crecimiento de yemas axilares de *Azadirachta excelsa* (Familia Meliaceae) mediante la combinación de $4,4 \mu\text{M}$ BA + $0,5 \mu\text{M}$ de ANA. Sin embargo, la proliferación posterior sobre este medio les produjo brotes anormales.

1.5 Desarrollo de los brotes de *Chlorophora tinctoria*

A diferencia de las dos especies del género *Cedrela*, en *Chlorophora tinctoria* (Moraceae) empleamos la concentración $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BA no solamente durante los primeros cultivos sino también durante toda la micropropagación; de esta forma mantuvimos el vigor de los brotes. De forma similar, Pattnaik y Chand (1997) indujeron brotes múltiples, en yemas de brotes apicales y explantos nodales de árboles de cinco años de edad de *Morus cathayana*, *Morus ihou* y *Morus serrata* (Moraceae) en el medio MS adicionado con 0,5 a $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BA. Ellos dicen que la iniciación del cultivo de brotes estuvo influenciada en gran medida por el tipo de explanto, la edad y la estación de recogida del explanto. Señalan también que la BA fue más efectiva que la kinetina en la inducción y desarrollo de brotes múltiples para ambos tipos de explantos, yemas de brotes apicales y explantos nodales de las tres especies. Manifiestan que el nivel óptimo de BA para el desarrollo de los brotes desde las yemas apicales fue $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ para *Morus ihou* y $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ para *Morus serrata*. Sin embargo, en *Morus cathayana* las yemas de los brotes apicales requirieron una concentración más alta de BA ($2,0 \text{ mgL}^{-1}$) en el estado inicial, pero su posterior proliferación tuvo lugar solo con BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. *Morus cathayana* produjo tres a cuatro brotes por explanto en veinte a veinticinco días y *Morus ihou* y *Morus serrata* dos a tres brotes por explanto (Pattnaik y Chand, 1997).

Aunque nuestra producción de brotes en las yemas de cuatro meses de edad fue mas o menos buena (3,31 y 2,52) no logramos mayor crecimiento en estos, ni siquiera disminuyendo o aumentando la concentración de la BA. En cambio el tamaño de los explantos es más grande en otras especies de la misma familia Moraceae, por ejemplo Hossain y col. (1992) obtuvieron la altura mayor (7,5 cm) en explantos nodales de árboles de diez años de edad de *Morus laevigata* con $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BA. La tasa de multiplicación de estos brotes aumentó con los subcultivos, pero disminuyó después de siete u ocho subcultivos.

El control de la elongación del tallo *in vitro* es una tarea importante en la micropropagación para obtener brotes o plántulas deseables. La longitud de los internudos necesita ser controlada en los estados diferentes del crecimiento y desarrollo. Los brotes cortos, los tallos gruesos y las hojas grandes son ideales para el trasplante y la aclimatación. De otro modo se prefieren brotes con internudos largos en el estado de multiplicación por la facilidad para obtener esquejes de nudos por excisiones manuales o robóticas (Jeong y col, 1995).

La BA es más efectiva que la KN en el desarrollo de brotes múltiples de *Morus australis* (Familia Moraceae). El desarrollo de los brotes y el número de brotes por explanto incrementa con la BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ (tres a cuatro brotes por yema después de catorce a dieciséis días) y la altura media, 5,6 cm (Pattnaik y col. 1996).

En otras especies como *Zygium cuminii* (Jain y Babbar 2000), y *Aniba perutilis* (Castro y col 1997) también han empleado BA $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ tanto en el establecimiento de la semilla como en la multiplicación de los brotes. Nair y Seení (2003) obtuvieron 5,3 brotes por explanto en *Calophyllum apetalum* con $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BA. Sin embargo después del quinto subcultivo el potencial de regeneración de los explantos nodales declinó.

En la fase de establecimiento de *Grevillea rosmarinifolia* y *Grevillea semperflorens*, Leonardi y col. (2001) emplearon el medio $\frac{1}{2}$ MS suplementado con $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ de BA. La BA fue más efectiva a

concentraciones de 1,0 a 2,0 mgL⁻¹. Cuando incrementaron la concentración de citoquinina en el medio, ambas especies produjeron brotes más cortos, debido principalmente a la reducción en el número de nudos por brote (Leonardi y col, 2001).

1.6 Desarrollo de los brotes de *Quercus humboldtii*

Con el roble colombiano, *Quercus humboldtii*, seguimos buena parte la metodología que emplean en el actual laboratorio con las especies de roble europeo. Usando el medio de cultivo GD adicionado inicialmente con una concentración relativamente alta de BA, intercalando los posteriores subcultivos con una concentración de 0,1 y 0,2 mgL⁻¹ de BA. Este procedimiento nos dio buenos resultados, pero a diferencia de Vieitez y col (1994) nosotros no acostábamos los explantos de roble, los inoculábamos en posición vertical.

Por nuestra parte, el roble colombiano al igual que los robles que utilizan en el actual laboratorio también exudan fenoles. En el caso del castaño, Sánchez y col. (1997) mueven los explantos a un lugar diferente dentro del mismo tubo, un día después de la implantación *in vitro* para reducir el efecto negativo de oscurecimiento del medio, probablemente debido a la oxidación de compuestos fenólicos. Posteriormente, transfieren todos los explantos a medio fresco cada dos semanas para superar el efecto negativo de la exudación. Después de seis semanas subcultivan los brotes verticalmente en medio fresco con 0,89 µM de BA (0,2 mgL⁻¹). De modo similar Nair y Seeni (2003) transfieren los explantos de *Calophyllum apetalum* a medio fresco dos veces en una semana debido al excesivo enmarronamiento y necrosis.

Molina (1991) encontró que la adición del antioxidante rosmanol a *Hypericum canadiense* previno el enmarronamiento y continuó la formación de brotes *in vitro*.

Al igual que el roble colombiano, también hay otras especies que comparten el requerimiento de poca cantidad de BA, por ejemplo en el establecimiento de explantos nodales de *Crataeva nurvala*, el número de brotes máximo por explanto (4,0) fue regenerado sobre el medio MS suplementado con 0,5 mgL⁻¹ de BA. El mismo medio fue óptimo para elongación de brotes (1,32 cm) (Walia y col, 2003). Por otro lado Normah y col. (1997) consiguieron siete brotes por explanto en explantos de *Citrus halimii* procedente de semilla con una concentración de BA de 2,2 µM (0,5 mgL⁻¹).

Nosotros encontramos heterogeneidad en la producción y altura de los brotes de las cuatro especies durante la etapa de establecimiento, debido a que aún se encuentran en etapa de adaptación. Creemos que es conveniente dar conclusiones definitivas solo cuando los cultivos alcanzan la estabilización, así se requiera más tiempo, buena cantidad de material y mayor número de subcultivos, de este modo los resultados pueden ser representativos de una población real. Kristiansen (1992) dice que las tasas de proliferación estables se han observado poco debido a un número de subcultivos insuficiente. A Prehn y col. (2003) se les presentó una tasa de pérdida de explantos muy alta durante la segunda fase de establecimiento de *Pinus radiata*. Murió aproximadamente el 60% de todos los meristemos en crecimiento, entre las semanas ocho y doce debido al pardeamiento.

2. MULTIPLICACIÓN

2.1 *Cedrela odorata*

El aspecto general del cultivo de *Cedrela odorata* procedente de semilla fue muy bueno durante la etapa de multiplicación entre los siete y los trece meses, cuando la población estaba bastante estable. Entre los nueve y los once meses se presentó la mejor producción de brotes por explanto. Pero a partir de los dieciséis meses se apreció que la calidad de los explantos disminuyó. Lo anterior indica que los brotes procedentes directamente de semilla pueden tener inicialmente un comportamiento *in vitro* muy bueno durante el primer año, pero después empiezan a decaer. En esta etapa continuamos trabajando con la BA 0,2 mgL⁻¹ en ambos cedros.

Ishii y Maruyama (1992) también usaron la BA 0,2 mgL⁻¹ en *Cedrela odorata*, pero con el medio WPM; este medio estimuló la proliferación rápida y la elongación de los brotes. Por su parte Da Costa y col. (2002) usaron BA 2,5 µM durante la etapa de multiplicación de *Cedrela fissilis*. De modo similar Joshi y Thengane (1996) utilizaron MS adicionado con BA 0,1 mgL⁻¹ en la multiplicación de brotes de *Azadirachta indica* que procedían de árboles de dos a cinco años de edad; obtuvieron dos brotes por explanto y una altura del brote de 3,9 cm después de quince a veinte días.

En el caso de *Cedrela odorata* la variación que se dio en el número de brotes y de segmentos, en la altura del brote y en el coeficiente de multiplicación a través de los meses de subcultivo no se debieron tanto a la falta de estabilización de los cultivos como a la extracción constante de brotes que hacíamos con el fin de realizar otros ensayos. Por ejemplo, del ensayo que provenía directamente de semilla, aislamos brotes para los cuatro ensayos de enraizamiento; para los ensayos de toxicidad de aluminio; para el de los nutrientes NPK; para el de histología; para el de bioquímica y para un preensayo y el ensayo definitivo de micorrizas.

2.2 *Cedrela montana*

En nuestro caso, la multiplicación de *Cedrela montana* fue difícil de controlar debido a que la base de los explantos se invadía fácilmente de callo, el tallo era frágil y el aspecto general de las plántulas fue débil en un 70% de la población. Aunque utilizamos el mismo medio MS y la misma concentración de BA 0,2 mgL⁻¹ que para el cedro rosado, el cedro de montaña no respondió favorablemente. En cuanto a la concentración de BA, no la podíamos aumentar ni disminuir pues el aumento en la concentración provocaba callo, y la disminución producía amarillamiento total de los brotes. Esta especie es difícil de mantener durante varios subcultivos. De modo similar Serrano y col. (1996) también utilizaron el medio MS durante la fase de proliferación de *Cedrela montana* pero con la concentración de los macronutrientes reducidos a la mitad. Según ellos los nudos procedentes de plántulas *in vitro* en el medio adicionado con 17,8 µM de BA produjeron 1,8 brotes por explanto y una altura del brote de 0,2 cm. También dicen que el nudo fue el explanto de *Cedrela montana* que presentó resultados más prometedores y que enraizaron espontáneamente en la ausencia de hormonas.

2.3 *Chlorophora tinctoria*

Nosotros encontramos que la concentración óptima de BA para el cultivo de *Chlorophora tinctoria* durante la etapa de multiplicación es $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. Cuando realizamos otros preensayos con menor concentración de BA el vigor de los brotes disminuyó produciéndose amarillamiento en hojas y tallos; y cuando incrementamos la concentración a $2,0 \text{ mgL}^{-1}$, aumentó ligeramente la producción de brotes, pero estos crecieron menos y la base de los tallitos se tornó callosa.

Del mismo modo que *Chlorophora tinctoria* otras especies y familias de plantas responden bien a la misma concentración de citoquinina, tanto en el establecimiento como en la multiplicación; por ejemplo *Grevillea x semperflorens* produjo 2,3 brotes por explanto con $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BA (Leonardi y col, 2001).

Sin embargo algunas especies de la misma familia Moraceae requieren concentraciones de BA mucho más altas que las empleadas por nosotros, por ejemplo el número máximo de brotes por explanto (8,6) en cultivos de *Morus laevigata* (Moraceae) de doce años de edad, fue obtenido con $10 \text{ }\mu\text{M}$ ($= 2,25 \text{ mgL}^{-1}$) de BA, seguido por $10 \text{ }\mu\text{M}$ de kinetina (5,7 brotes por explanto) (Islam y col, 1993). De modo similar Hossain y col. (1992) consiguió una multiplicación rápida de brotes de *Morus laevigata* con $2,5 \text{ mgL}^{-1}$ de BA. Según King y Morehart (1988) la adición de $6,0 \text{ }\mu\text{M}$ de BA en cultivos de *Maclura pomifera* (Moraceae) de uno a dos años de edad produjo 2,8 brotes y una altura media de 0,1 cm.

Por otra parte Pattnaik y Chand (1997) establecieron segmentos nodales de tres especies del género *Morus* (Moraceae), sobre un medio adicionado con $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de BA y $0,4 \text{ mgL}^{-1}$ de GA_3 . Ellos consiguieron una tasa media de multiplicación de brotes de 2,5 a 3 veces por cultivo en cuatro a cinco meses. La multiplicación de brotes incrementó durante los primeros cinco subcultivos en *M. cathayana* y *Morus ihou*, y los primeros tres subcultivos en *Morus serrata* después del cual hubo un descenso gradual en la tasa de multiplicación (Pattnaik y Chand, 1997).

2.4 *Quercus humboldtii*

Una vez alcanzada la estabilización de nuestros cultivos a los cuatro meses (pues ya se contaba con la experiencia previa de Sánchez (1996) en roble europeo en el mismo laboratorio), los brotes de roble colombiano procedentes de yemas de invernadero de dos meses de edad presentaron buen vigor y buena producción de brotes. De las cuatro especies que trabajamos es la que presentó mayor producción de brotes por explanto y los coeficientes de multiplicación más altos. Sin embargo no lo conseguimos con las yemas de invernadero de seis meses de edad que sólo sobrevivieron un porcentaje de brotes muy reducido. Haber alternado las concentraciones $0,1$ y $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ de BA en las yemas de dos meses trajo buena producción de brotes y altura de los mismos.

Vieitez y col (1994) mencionan que desde que el crecimiento de los brotes y las tasas de multiplicación de roble descendieron después de varios subcultivos en un medio adicionado con BA $0,89 \text{ }\mu\text{M}$ intentaron la posición horizontal de los explantos para revigorizarlos. En uno de los clones el coeficiente de multiplicación alcanzó un pico de 4,1 en el tercer subcultivo, cayendo después a 1,3 en el octavo. Por otro lado Sánchez y col. (1996) suplementaron el medio de multiplicación (WPM) con $0,2 \text{ mgL}^{-1}$ de BA en *Quercus robur* y *Quercus rubra*.

Por otra parte, Sánchez y col (1997) emplearon el medio GD adicionado con BA 0,2 mgL⁻¹ en la multiplicación de brotes de *Castanea sativa* y *Castanea sativa* x *Castanea crenata*. Dicen que el tipo de explanto usado en el subcultivo tiene efecto significativo sobre el factor de multiplicación en castaño. Los segmentos nodales basales fueron los explantos más productivos en número de brotes y de segmentos.

De modo similar al roble colombiano en *Cleistanthus collinus* la proliferación de los brotes y la altura aumentó (2,5 brotes por explanto y 4,1 cm respectivamente) cuando la concentración de BA fue disminuida de 2,2 µM a 1,1 µM (Quraishi y col, 1996). Cuando Tran Van y Tuong Thu (2001) adicionaron 0,1 mgL⁻¹ de BA al medio WPM, los brotes de *Aquilaria crassna* estos alcanzaron 5,0 a 7,0 cm de altura.

3.0 INFLUENCIA DE ALUMINIO, NITRÓGENO, FÓSFORO, POTASIO Y SACAROSA SOBRE EL DESARROLLO DEL CULTIVO DE *Cedrela odorata*

3.1 Influencia de la adición de aluminio al medio de cultivo sobre la micropropagación de *C. odorata*.

La toxicidad por aluminio limita la productividad de los cultivos en los suelos ácidos. Un entendimiento de la fisiología de las plantas endémicas de los suelos ácidos puede ayudar a la creación de plantas tolerantes al Al. Tales plantas o excluyen el Al desde su follaje o lo destoxifican dentro de sus tejidos. Actualmente se conoce que la entrada de este elemento a las plantas tolerantes es prevenido por secreciones ácidas orgánicas, también conduciendo el Al a componentes de la pared celular de la raíz cargados negativamente y al mucílago, o por alcalinización de la rizósfera. Por contraste se conoce como algunas plantas consiguen acumular Al a concentraciones que son tóxicas a la mayoría de los organismos (White, 2002).

Es difícil establecer un medio de cultivo *in vitro* que copie exactamente las características de toxicidad de un suelo ácido. Ramgareeb y col. (1999) seleccionaron *in vitro* genotipos de *Cynodon dactylon* tolerantes a aluminio, empleando un medio MS modificado con 1mM SO₄²⁻ y ausencia de EDTA a pH 4.0, el cual dio la máxima actividad de Al³⁺ (7,5 µM) a 2,0 mM de aluminio.

En nuestro caso empleamos el medio MS completo adicionado con BA 0,2 mgL⁻¹ porque fue el que funcionó bien en la etapa de multiplicación para el género *Cedrela*. Sin embargo la bibliografía específica que el aluminio solo se disuelve bien y esta disponible para entrar en las plantas a un pH ácido alrededor de 4.0-4.5, por esta razón nosotros bajamos el pH original (5.6-5.7) a pH 4.3-4.4.

Encontramos que los brotes de *C. odorata* resistieron bien la adición al medio de cultivo con 100 mgL⁻¹ de aluminio solo hasta el primer subcultivo, posteriormente los brotes disminuyeron bruscamente su porcentaje de sobrevivencia. Se podría pensar que esta fue la concentración que se movilizó con mayor rapidez a lo largo del brote y la que causó los efectos más letales, pues los deformó totalmente.

De forma similar, Anderson (1993) expuso plantas de *Allium ursinum* durante cuatro semanas a una solución de suelo sintética a pH 4.3, conteniendo 0, 20, 40 y 70 µM de Al, usando un sistema

de cultivo de solución fluida. Una concentración de 20 μM fue tóxica para las plantas, cesó el crecimiento de la raíz y disminuyó su peso seco. Según el, comparado con plantas maduras, las plántulas desarrollaron síntomas de toxicidad a concentraciones de Al más bajas mostrando efectos negativos sobre los brotes.

La característica más sobresaliente de la acción de la acidez del medio de cultivo (pH 4.3-4.4) y la toxicidad del aluminio a partir del tercer subcultivo de *C. odorata* en todos los tratamientos fue la excesiva elongación y flexibilidad de los entrenudos de los tallos, con respecto al crecimiento normal *in vitro* de otros ensayos con pH 5.6-5.7 (controles). Los entrenudos se volvieron completamente quebradizos y sus tejidos callosos y vidriosos.

Otros autores también encontraron formación de callo en otras especies, por ejemplo cuando Collet y col (2002) expusieron cultivares de *Zea mays* sensibles a 25 μM de Al en una solución nutritiva a pH 4.3, se produjo formación de callo e inhibición de la elongación de la raíz.

Wissemeier y col. (1998) dicen que la producción de callo en raíces de *Picea abies* es un parámetro más sensible al suministro de Al que el crecimiento de la raíz. Y Horst y col., (1997) que la formación de callo en cultivares de *Zea mays* inducida por aluminio en ápices de raíces resultó ser un indicador excelente del daño por aluminio.

En *Cedrela* la arquitectura normal de la planta desapareció. Las hojas se deformaron totalmente, el limbo disminuyó el ancho a partir de la concentración más baja (2,0 mgL^{-1}), y con la concentración más alta evaluada aquí (100 mgL^{-1}) las hojas adquirieron forma de aguja. Esto denota que el transporte del aluminio en *Cedrela odorata* ocurrió por todo el brote, llegando hasta las hojas deformándolas. Según She y Ma (2001) una exposición de plántulas de *Fagopyrum esculentum* durante un día a 100 μM de Al en 0,5 mM CaCl_2 (pH 4.5) produce una distribución uniforme de Al en las diferentes hojas.

Anandi y col. (2002) encontraron una situación similar en *Portulaca oleracea*; las hojas, los tallos y las raíces adventicias y laterales presentaron reducción en el crecimiento con el incremento en la concentración de aluminio. No obstante Shen y Ma (2001) realizaron un tratamiento intermitente de Al cada veintiocho días a las plantas de *Fagopyrum esculentum*, éstas crecieron normalmente, no observaron síntomas de toxicidad. Ellos encontraron que la concentración de Al en las hojas varió con la posición de la hoja; la concentración más alta la encontraron en la hoja más vieja, y la más baja en la hoja más joven. También dicen que la distribución del Al está controlada por la tasa de transpiración en la hoja y por la edad de la misma, y que la disminución acropétala del Al es el resultado de la inmovilidad de este.

En nuestro caso, tanto en ausencia de aluminio como en los cuatro tratamientos con el mismo, el crecimiento promedio de *Cedrela odorata* fue exagerado (por ejemplo 6,88 cm en el control, comparado con los ensayos normales de micropropagación; lo que indica que la acidez del medio causó la elongación anormal de los brotes. De modo algo similar Hodson y Sangster (1993) encontraron que el tratamiento con 100 μmolL^{-1} de aluminio en *Sorghum bicolor*, redujo el crecimiento de la raíz y causó un incremento significativo en el cociente brote/raíz.

En nuestro caso, el tratamiento con 100 mgL^{-1} fue el que más inhibió el crecimiento de los brotes incluso presentó diferencias significativas con el tratamiento adicionado con 30 mgL^{-1} . De

Graaf (1996) encontró resultados similares en *Arnica montana*, *Cirsium dissectum* y *Calluna vulgaris*, las cuales mostraron acumulación de aluminio en los brotes proporcionales con el incremento de la concentración de aluminio en las soluciones de nutrientes. Mencionan que la acumulación estuvo correlacionada con una disminución del crecimiento cuando las plantas fueron cultivadas en concentraciones de 200-500 μMol . En *Arnica montana* y *Cirsium*, De Graaf (1996) observó un desarrollo radical pobre, hojas amarillentas y contenido reducido de Mg y P en las plantas.

La producción de brotes en *Cedrela* empezó a disminuir a partir de los 30 mgL^{-1} . Visualmente el cedro resistió más o menos bien la adición de 2,0 mgL^{-1} de aluminio hasta el tercer subcultivo sin deformación excesiva de tallos y hojas. Finalmente los mayores valores de altura de los brotes se obtuvieron con la ausencia del aluminio. Algo similar ocurrió en el trigo; las semillas de trigo germinadas en un medio conteniendo 10, 50 y 100 μML^{-1} de Al inhibieron la elongación del brote y de la raíz. En las líneas tolerantes el grado de inhibición fue significativamente menos pronunciado hasta 50 μmolL^{-1} de Al (Barnabás y col, 2000).

Experimentos realizados en *Avena sativa* y *Lycopersicon esculentum* revelaron que las concentraciones de Al_r (Al^{3+} , AlOH^{2+} y $\text{Al}(\text{OH})_2^+$) son más tóxicos que el AlF_2^+ y el AlF_2^+ y que a su vez estos son más tóxicos que el AlF_3 , AlF_4^- y F^- (Stevens y col., 1997).

Plántulas de *Thinopyrum bessarabicum* expuestas a 1mM de Al durante cuarenta y ocho horas sufrieron una saturación de la actividad metabólica fotosintética en el fotosistema II, el metabolismo fotosintético se volvió más lento, disminuyó la eficiencia de excitación de captura de energía y se cerraron los estomas. Puesto que la concentración de aluminio en las hojas fue indetectable, todos los cambios en el funcionamiento fotosintético son considerados efectos indirectos (Moustakas y col, 1996).

Durante la etapa de multiplicación de *Cedrela odorata* en las condiciones normales (medio MS+ BA 0,2 mgL^{-1} a pH 5.6-5.7) solían producirse raíces de forma espontánea durante los subcultivos, pero en el ensayo que hicimos con aluminio no se produjo ninguna raíz durante los siete meses que duró la prueba, ni siquiera en el control (ausencia de Al y pH 4.3-4.4), indicándonos que la inhibición total del enraizamiento no solo fue causada por la adición de aluminio al medio de cultivo sino por la acidez del mismo. Otros investigadores manifiestan alteraciones en las raíces ya formadas. El aluminio reduce el crecimiento de la raíz y su contenido de Ca y Mg en *Zea mays* (Calba y col., 1999). Pan y col. (2001) investigaron la muerte celular inducida por el Al en raíces. El crecimiento de los ápices de las raíces de *Hordeum vulgare* fue inhibida con 0,1-50 mM de Al después de ocho horas. De forma similar Boscolo y col. (2003) manifiestan que el tratamiento con aluminio en líneas sensibles de maíz indujo la muerte celular en células apicales de raíz.

A concentraciones de 60 μM de aluminio el crecimiento de la raíz de *Brassica napus* fue inhibida fuertemente con un daño celular en las células periféricas de la caliptra (Clune y Copeland, 1999). En la misma línea Pintro y col. (1998) investigaron la toma y compartamentación de Al en los ápices de raíces de dos cultivares de *Zea mays*, sensible y tolerante. Las plantas fueron crecidas durante veinticuatro horas en solución de nutrientes a pH 4.4. La elongación de la raíz disminuyó fuertemente en el cultivar sensible. Además este mostró contenidos de aluminio total más altos (Pintro y col, 1998).

Respecto a *Cedrela odorata* podemos concluir que la sensibilidad al aluminio no resultó extrema comparada con otras especies a las que les adicionaban aluminio en cantidades mucho menores, *C. odorata* puede soportar concentraciones de aluminio relativamente bajas por algún tiempo.

3.2 Influencia de una fuente adicional de nitratos, fósforo y potasio

Visualmente apreciamos que los brotes de *Cedrela odorata* que estuvieron bajo la influencia de mayor cantidad de nitrógeno respondieron mejor a este tratamiento que los que estuvieron expuestos al fósforo y al potasio; con el nitrógeno los explantos eran más vigorosos, los tallos más gruesos y las hojas adquirieron un color verde oscuro; además los valores de altura del brote también fueron ligeramente mayores. En cambio los brotes que estuvieron bajo el efecto del potasio tuvieron menor crecimiento junto con los del control.

De forma similar las plántulas de *Pinus palustris* estuvieron influenciadas significativamente por el nitrógeno, éstas crecieron un 93% más en un tratamiento alto de nitrógeno y agua comparado con otro bajo en N y con estrés de agua (José y col, 2003). De la misma manera explantos de tallo de un árbol maduro de *Zizipus mauritiana* crecidos en un medio MS conteniendo 3800 mgL^{-1} de nitrato de potasio y 2475 mgL^{-1} de nitrato de amonio produjeron un número más alto de brotes (8,8 por explanto) y altura mayor (4,8 cm) que con concentraciones más bajas (Mathur y col, 1995). Nuestros resultados concuerdan con los de Chang y col (2003) en el caso del nitrógeno pero no en el del fósforo, ellos mencionan que la aplicación de N incrementó la altura de la planta y el área foliar total de *Liquidambar styraciflua* y la aplicación de fósforo incrementó el diámetro basal y el área foliar total. Dicen que ambas adiciones, la de nitrógeno y la de fósforo incrementaron el contenido foliar de P, K, Ca y Mg y la toma total de estos nutrientes por las plántulas.

Todos los tipos de fertilización con N en *Quercus petraea* incrementaron el número de hojas y el área foliar. Las plántulas tratadas con N, P, K, Mg y Ca mantuvieron el área foliar más alta pero con cantidades de raíces más bajas y finas (Berger y Glatzel, 2001).

En nuestro caso, el Anova que compara las medias de los tratamientos indica que no hay diferencias significativas ($P > 0.05$) cuando se adiciona al medio cantidades extras de nitrógeno, fósforo o potasio. Estos tratamientos no causaron diferencias importantes en la micropropagación de *C. odorata*, bastó con el medio MS que ya veníamos utilizando. Sin embargo otros autores piensan que las sales del medio MS son deficientes en algunos elementos mayores para especies como la pera y el manzano silvestre (Singha y col, 1997; citados por Mezzetti y col, 1991) y para la papa (Sha y col, 1985; citados por Mezzetti y col, 1991). Mezzetti y col. (1991) mencionan que el contenido inicial de P del medio MS fue insuficiente para el cultivo a largo plazo de *Actinidia deliciosa*, después de treinta días de cultivo casi todo (94-95%) el P presente en el medio fue absorbido por los explantos y distribuido igualmente en sus diferentes partes. Durante los primeros meses el 85% del N inicial fue absorbido por los explantos y distribuido igualmente en sus diferentes partes. Dicen que la concentración de K del medio MS inicial fue suficiente para el crecimiento de los explantos durante sesenta días (Mezzetti y col, 1991).

En un experimento de campo Hiremath (2000) evaluó el potencial acumulativo y la eficiencia fotosintética en el uso de nutrientes (con respecto al nitrógeno y al fósforo) en tres árboles tropicales (*Cedrela odorata*, *Cordia alliodora* y *Hieronima alchorneoides*. Según el autor, *Cedrela odorata* tiene la vida más corta y la eficiencia del potencial de uso del N más alto, mientras *Hieronima alchorneoides* tiene la vida más larga y la eficiencia acumulativa de uso de N y P más alta. La eficiencia del potencial del uso del fósforo sin embargo fue invariable entre las especies.

El amonio y el nitrato son las fuentes prevalentes de nitrógeno para el crecimiento y el desarrollo de las plantas superiores. Según Holme (1998) en el cultivo de *Miscanthus x ogiformis* sobre los medios MS y N6 ocurrió una reducción casi total de amonio pero una reducción lenta y limitada de nitrato en ambos medios. En el mismo sentido las plántulas de *Betula alleghaniensis* y *Pinus strobus* exhiben un crecimiento significativo mayor con NH_4^+ que con NO_3 , con radios de biomasa raíz:brote bajos (Bauer y Bernton, 2001). Cuando Agrrell y col. (1997) incrementaron la adición de nitrato en *Hordeum vulgare* incrementó la toma en términos absolutos, pero la proporción de N absorbido que fue reducida en la raíz descendió marcadamente. La acumulación de N en el brote después de sesenta minutos fue poca, lo cual indicó un movimiento retrasado del N fuera de la raíz.

La toma de nitrato por plántulas de maíz fue restringida por la presencia de amonio disminuyendo la reducción de ^{15}N nitrato y la actividad de nitrato reductasa *in vitro* (Mackown y col, 1982). A un NH_4^+ externo alto dos especies sucesionales tempranas (*Pseudotsuga menziesii* y *Populus tremuloides*) acumularon NH_4^+ excesivo en el citosol de la raíz, exhibieron alta velocidad y baja eficiencia en flujos de membrana de NH_4^+ . En contraste en la especie sucesional tardía *Picea glauca* había baja acumulación de NH_4^+ citosólica y velocidad más baja pero eficiencia mucho más alta en flujos de NH_4^+ (Kronzucker y col, 2003).

3.3 Influencia de la adición de tres concentraciones de sacarosa (3, 4 y 5%) al medio de cultivo

Aunque la sacarosa a una concentración de 4% aumentó ligeramente la producción de brotes de *C. odorata*, la diferencia con respecto a la concentración 3% no es notoria, inclusive esta última ejerció mejor influencia sobre la altura de los brotes.

El Anova que compara las medias de las cuatro variables dependientes (número de brotes, número de segmentos, altura del brote y coeficiente de multiplicación) con las dos variables independientes (concentración de sacarosa y mes de medida) no evidenció diferencias significativas en ambos casos.

En los brotes de *C. odorata* que estuvieron bajo la influencia de 5% de sacarosa se produjo callo basal en los tallitos, volviéndolos débiles y quebradizos en la base.

En el mismo sentido, en *Eucalyptus sideroxylon* la sacarosa al 2% en el medio favoreció el desarrollo de la raíz; sin embargo 4 y 6% causó más formación de callo y las concentraciones 8 y 10 % de sacarosa fueron perjudiciales a los explantos de los cultivos (Cheng y col, 1992).

La capacidad del tejido de la planta para utilizar los carbohidratos varía entre especies y explantos (brote, raíz, callo y células) y depende de la capacidad para absorber y metabolizar las moléculas de la fuente específica de carbón (Mezzetti y col, 1991). Por ejemplo, durante la proliferación de brotes de *Rosa multiflora* el contenido de sacarosa por jarra disminuyó proporcionalmente al incremento de la biomasa. Durante el enraizamiento los cambios en el contenido de azúcar siguieron un patrón diferente comparado al de la proliferación. La sacarosa fue hidrolizada rápidamente la primera semana produciéndose un aumento en glucosa y fructosa (De Riek y col, 1997). *Olea europea* requiere concentraciones de sacarosa más altas que las utilizadas por nosotros en *C. odorata*. El porcentaje de explantos viables, la altura del brote y la longitud de la raíz de las plántulas de *Olea europea* fueron mayores en el medio adicionado con 15 y 20 gL⁻¹ de sacarosa que en ausencia o con 10 gL⁻¹ de sacarosa (García y col, 2002).

4. ENRAIZAMIENTO

Las especies con las que hemos trabajado se pueden clasificar como fáciles de enraizar (*Cedrela odorata*, *Cedrela montana* y *Chlorophora tinctoria*) y moderadamente fácil de enraizar (*Quercus humboldtii*) teniendo en cuenta que durante la fase de multiplicación las cuatro produjeron algunas raíces incluso bajo el efecto de la BA. Según Margara (1988), las citoquininas se evitan o se emplean en dosis muy débiles en los medios de enraizamiento debido a que ejercen un efecto inhibitor sobre la rizogénesis. Por otro lado Bon y col (1998) también señalan la influencia negativa de las citoquininas en el enraizamiento adventicio en la especie *Paraserianthes falcataria* con una inhibición total de la habilidad de enraizamiento aún cuando la BA estuvo asociada con las auxinas AIB o ANA. No obstante hay otras especies que como los cedros que nosotros trabajamos, no precisan la adición de auxinas al medio para enraizar, por ejemplo, *Acacia mangium* (Bon y col, 1998), *Acer rubrum* (McClelland y col, 1990), *Betula nigra* (McClelland y col, 1990) y *Ficus benjamina* (Kristiansen, 1992). Sin embargo en nuestro caso la adición de AIB mejoró la capacidad de enraizamiento de las especies estudiadas.

Se ha postulado que los cultivares fáciles de enraizar, contrarios a los difíciles de enraizar, tienen la habilidad para hidrolizar conjugados de auxina en el tiempo apropiado para liberar auxina libre que pueda promover la iniciación de la raíz. Esta teoría está soportada por publicaciones sobre niveles incrementados de auxina libre en la base de los esquejes antes del enraizamiento. El conjugado de auxina probablemente actúa como una hormona de “liberación-lenta “ en los tejidos. Los cultivares fáciles de enraizar son hábiles para convertir AIB a AIA, la cual se acumula en la base de los esquejes antes del enraizamiento. Los conjugados de AIA pero no los conjugados de AIB están sujetos a la oxidación y así a su desactivación. La eficiencia de las dos auxinas en inducción de raíz parece depender de la estabilidad de sus conjugados. **La mayor promoción de enraizamiento del AIB se atribuye al hecho de que su nivel permanece elevado más tiempo que el de AIA**, aún a pesar de que el AIB es metabolizado en el tejido (Epstein y Ludwig-Müller, 1993).

4.1 *Cedrela odorata*

En nuestra investigación, en los brotes procedentes de **semilla** de *Cedrela odorata*, el porcentaje de enraizamiento en el control fue más alto comparado con el obtenido en el tratamiento con AIB. Esta especie posee por sí sola buena capacidad de enraizamiento durante el primer año y medio de subcultivo. Curiosamente, la presencia de auxina en cultivos de brotes procedentes de semilla, ejerció una actividad más bien inhibidora que promotora del enraizamiento. En esta especie hay que resaltar la gran longitud que alcanza la raíz en algunos explantos, superando incluso dos veces el tamaño de éste. En la investigación realizada por Da Costa y col (2002) en brotes procedentes de semilla de *Cedrela fissilis* germinada *in vitro*, la iniciación de la raíz en el medio MS completo o a la mitad de los nutrientes suplementado con diferentes concentraciones de AIB fue evidente después de cuatro a seis días de cultivo en todos los tratamientos, excepto en la ausencia de reguladores y en el MS a la mitad con $5,0 \mu\text{M}$ ($= 1,0 \text{ mgL}^{-1}$) de AIB. El número máximo de raíces (cinco a seis) por explanto lo obtuvieron con ANA $1,25$ a $2,5 \mu\text{M}$ ($= 0,2$ a $0,45 \text{ mgL}^{-1}$). Sin embargo, no encontraron diferencias entre los tratamientos después de treinta y cinco días de cultivo cuando se obtuvieron los porcentajes máximos de enraizamiento (87 a 100 %). El número de raíces por explanto no se vio afectado por los tratamientos, pero la longitud media de raíz (8,5 a 10,0 cm) fue significativamente más alta en el MS completo suplementado con $1,25$ - $2,5 \mu\text{M}$ de AIB. En los controles sin reguladores de crecimiento, la longitud media de raíz varió desde 5,3 a 6,5 cm, independiente de la concentración del MS (da Costa y col, 2002).

En el mismo sentido, Ishii y Maruyama (1992) también emplearon bajas concentraciones de auxina para la inducción de enraizamiento en **ápices** de plántulas de cinco meses de edad de *Cedrela odorata*; la combinación de AIB $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ + $0,05 \text{ mgL}^{-1}$ de ANA produjo un número medio de 4,2 raíces por brote. Maruyama y col (1989) habían publicado para la misma especie, la misma edad y el mismo tratamiento, un porcentaje de enraizamiento de 90% en el medio 1/2 WPM. En nuestro ensayo de enraizamiento con la misma especie, pero con esquejes que procedían de plántulas de cuatro meses, obtuvimos un número medio de raíces de 3,78 con el tratamiento AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. Este fue el número máximo que conseguimos en *Cedrela odorata* tanto para los controles como para el tratamiento con AIB en las tres edades estudiadas. Aunque en preensayos de enraizamiento habíamos conseguido mayor producción de raíces con ANA en esta especie nos decantamos finalmente por el uso de AIB porque el ANA producía raíces cortas.

Varias referencias bibliográficas resaltan el hecho de que la disminución de los macronutrientes a la mitad favorecen la inducción del enraizamiento. Por ejemplo, el medio MS completo inhibió completamente el enraizamiento de *Alnus crispa* comparado con el MS a la mitad (Tremblay y col., 1986). Y la reducción en la concentración de sales a la mitad durante el enraizamiento de *Prunus domestica* mejoró la adaptación a la aclimatación en sustrato en condiciones ambientales Druart y Gruselle (1986). Otros autores, como Nair y Seení (2003), redujeron las sales a la cuarta parte de su concentración en la inducción de enraizamiento de brotes de *Calophyllum apetalum* provenientes de un árbol de veinticinco años de edad, el medio $\frac{1}{4}$ de MS lo suplementaron con $9,8 \mu\text{M}$ de AIB.

Por nuestra parte, los brotes de *Cedrela odorata*, procedentes de **yemas de invernadero de cuatro meses de edad**, perdieron un poco su capacidad de enraizamiento natural comparado con los que procedían directamente de semilla germinada *in vitro*. Sin embargo la adición de AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ al medio de cultivo potenció su capacidad de enraizamiento por encima de la de los brotes de las otras procedencias. En la investigación de Leonardi y col (2001) ocurrió algo similar con las especies *Grevillea rosmarinifolia* y *Grevillea x semperflorens*. Estas dos especies mostraron respuestas diferentes de enraizamiento endógeno en un medio libre de hormonas; el enraizamiento de los brotes jóvenes fue menor en *Grevillea rosmarinifolia* que en *Grevillea semperflorens*. La adición de $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB produjo un 95% de enraizamiento en *Grevillea rosmarinifolia* y un 96,1% en *Grevillea x semperflorens*. Comparado con el control, el AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ aumentó la capacidad de enraizamiento a la concentración más alta estudiada.

Igual que nosotros, Sharma y col. (2004) también se decantan por el uso del AIB en sus ensayos; dicen que entre las diferentes auxinas y concentraciones que evaluaron, los brotes de cinco semanas de edad de *Cornus florida* tratados con $4,4 \text{ } \mu\text{M}$ ($= 0,9 \text{ mgL}^{-1}$) tenían el porcentaje de enraizamiento más alto (83%). Los microbrotes tratados con AIA y ANA solo, no producen un número de raíces significativo, y el AIB en combinación con ANA produjo mucho menos raíces por brote que el AIB solo. Por otro lado Marks y Simpson (2000) dicen que la interacción entre el tipo de explanto y el AIB sugiere un papel para los factores endógenos en la iniciación y desarrollo del enraizamiento.

Hay también otras especies en las que se ha inducido el enraizamiento con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ como *Tabebuia rosea* (Hodson y col, 1990), *Juglans regia x Juglans nigra* (Meynier, 1984, citado por Rodríguez y col, 1989), el híbrido *Pterocarya x Juglans regia* (Leslie y McGranahan, 1992) y *Bauhinia variegata* (Mathur y Mukunthakumar, 1992). En la especie *Annona muricata* (Bejoy y Hariharan, 1992) consiguieron el 85% de enraizamiento con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ pero solo se produjo una a tres raíces por brote. Por otra parte Maruyama y col. (1993) mencionan que la frecuencia máxima de enraizamiento en *Jacaranda mimosaeifolia* fue de 100% en el medio Gamborg conteniendo AIB $4,9 \text{ } \mu\text{M}$ ($1,0 \text{ mgL}^{-1}$). El número máximo de raíces (3,8) por explanto lo obtuvieron en el medio con AIB $4,90 \text{ } \mu\text{M}$ + ANA $0,27 \text{ } \mu\text{M}$ ($= \text{AIB } 1,0 \text{ mgL}^{-1} + 0,05 \text{ mgL}^{-1}$), y la longitud media máxima de raíces con AIB $4,9 \text{ } \mu\text{M}$. Sánchez y col. (1997) enraizaron brotes de castaño en una solución $4,9 \text{ mM}$ de AIB y con macronutrientes reducidos a una tercera parte, consiguiendo un porcentaje de enraizamiento de 30,4%.

Curiosamente, nuestros brotes procedentes de plantas de invernadero de **doce meses de edad de Cedrela odorata**, superaron al ensayo de cuatro meses en capacidad de producción de raíces adventicias en ausencia de auxina. Sin embargo, la auxina exógena no ejerció un estímulo fuerte de enraizamiento si se compara con el control de las yemas de doce meses. De modo similar Ortega (1989) obtuvo los mejores resultados de enraizamiento en *Cedrela odorata*, con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$, aunque sólo el 20% de las yemas de entre tres y doce meses de edad desarrollaron raíz de $1,0 \text{ cm}$ aproximadamente. Durante la etapa de enraizamiento Ortega redujo la concentración de sacarosa al 1%.

No todas las especies de la familia Meliaceae presentan buena capacidad de enraizamiento. Por ejemplo según Liew y col. (1988 y 1999) la especie *Azadirachta excelsa* es incapaz de enraizar *in*

vitro en el medio MS con los macronutrientes reducidos a la mitad y en ausencia de auxinas. Una combinación de 0,5 mg de ANA y 1,0 mgL⁻¹ de AIB indujo formación de raíces adventicias en la mayoría de sus brotes. Por otro lado, Thakur y col (1998) encontraron que en explantos nodales, que procedían de cultivo *in vitro* de plántulas de *Melia azedarach* de tres a seis semanas de edad, el AIB 4.92 µM (= 1,0 mgL⁻¹) fue el tratamiento más efectivo en la iniciación de raíces en los brotes. Mencionan que las raíces desarrolladas sobre este medio eran largas y ramificadas y carecían de pelos radicales, también que concentraciones altas de AIB condujeron a la formación de raíces gruesas. Según ellos, tanto el AIA como el ANA fueron menos efectivas en la inducción de desarrollo de raíz. Por otro lado, en brotes de *Azadirachta excelsa* en un medio conteniendo 4,0 mgL⁻¹ de ANA se produjo un porcentaje de enraizamiento de 35% pero todas las raíces fueron gruesas, cortas y anormales. En cambio en el medio ½ MS adicionado con 0,5 mgL⁻¹ de ANA y 1,0 mgL⁻¹ de AIB se produjo un porcentaje de enraizamiento de 55,5%, además las raíces formadas fueron normales (Liew y col, 1999).

Por otro lado, Normah y col. (1995) manifiestan que el medio WPM es el más apropiado para inducir enraizamiento en *Garcinia mangostana*. Mencionan que los mayores niveles de nitrógeno del MS comparados con los del WPM posiblemente inhiben el enraizamiento en algún grado (Normah y col, 1995).

Haciendo un análisis comparativo entre los tres orígenes de *C. odorata* apreciamos que la altura de las plántulas es mayor en los procedentes de semilla tanto en el control como con el AIB que en las que proceden de las yemas de invernadero. Aunque la producción de hojas fue mayor en los explantos de yemas de cuatro meses de edad con el tratamiento con AIB.

4.2 *Cedrela montana*

En el caso de *Cedrela montana*, varios de los brotes ya se encontraban enraizados antes de iniciar la inducción de enraizamiento, incluso con un sistema radicular abundante en presencia de la citoquinina. Este cedro tiene por sí solo buena capacidad de producción de raíces adventicias. Incluso se podría pensar que la presencia de AIB ejerció un efecto ligeramente negativo sobre el porcentaje de enraizamiento y la producción de hojas, aunque la presencia de AIB incrementó al doble el número de raíces. De igual manera Carrisoza y Serrano (1996) manifiestan que los explantos de *Cedrela montana* enraízan espontáneamente en ausencia de reguladores, y también en la fase de proliferación pero que los brotes en un medio ½ MS adicionado con ANA 1,3 µM (= 0,25 mgL⁻¹) mostraron inducción de raíz y elongación de yemas ya existentes. Sin embargo Basto (1995) solo obtuvo un 18,8% de enraizamiento en brotes juveniles de *Cedrela montana* en el medio MS con los macronutrientes reducidos a la tercera parte, en ausencia de reguladores de crecimiento y con 1,0% de sacarosa.

El sistema radical de *Cedrela montana* es similar al de *Cedrela odorata* en las mismas condiciones *in vitro*. La longitud de la raíz en el control puede superar hasta cinco veces el tamaño del explanto, y normalmente es mucho más larga que la del tratamiento con AIB, con diferencia significativa; o sea que el AIB inhibió ligeramente el crecimiento de la raíz. Al menos en nuestros ensayos, esta especie destacó más por la longitud de la raíz que por su producción abundante. En el

mismo sentido, Chiatante y col (2000) explican que el crecimiento de plantas maderables de gran porte sobre lugares montañosos presenta problemas de estabilidad, que pueden ser resueltos mediante un sistema de anclaje por raíces, con el fin de evitar su caída debido a estrés mecánico y que por lo tanto, parece razonable especular que una planta leñosa, viviendo sobre montañas, requerirá diferentes funciones de sus raíces laterales para tener mejor respuesta a sus necesidades de estabilidad (Chiatante y col., 2000).

4.3 *Chlorophora tinctoria*

La adición de AIB $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ al medio de cultivo procedentes de plantas de **cuatro meses** de *Chlorophora tinctoria*, no ejerció mayor influencia sobre la capacidad de enraizamiento de los brotes, solo incrementó el porcentaje de enraizamiento frente al control, también incrementó la longitud de la raíz primaria, la secundaria y la altura de la plántula. Es más, el control superó al AIB en el número de raíces y en el número de hojas.

En otras especies como *Trattinickia aspera* (Castro y col, 1997) y *Avicennia marina* (Al-Bahrany y Al-Khayri, 2003) también se ha empleado AIB $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ como inductor de enraizamiento. Brotes de *Liquidambar styraciflua* enraizaron con AIB $0,5 \text{ mgL}^{-1}$ si procedían de plántulas de un año de edad y con $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ si procedían de árboles adultos (Sutter y Barker, 1985).

Los brotes de *Chlorophora tinctoria* procedentes de plantas de invernadero de **seis meses** produjeron mejores respuestas de enraizamiento con AIB $0,5 \text{ mgL}^{-1}$. No obstante, los porcentajes de enraizamiento no son altos en ninguno de los dos casos. A pesar del tamaño pequeño de los brotes, las raíces eran largas bajo la acción de la auxina. De las cuatro especies estudiadas, *C. tinctoria* fue la que produjo raíces secundarias más largas, proporcional al tamaño de los brotes. El número de raíces es bajo en ambos tratamientos.

Con *Chlorophora tinctoria* también intentamos inducir el enraizamiento con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ (datos no mostrados aquí), pero esta concentración de auxina resultó elevada y causó gran producción de callo en la base de los tallos. Lo mismo que en las dos especies de *Cedrela* trabajadas por nosotros, en *C. tinctoria* también se puede concluir que la adición de mayor cantidad de auxina al medio de cultivo no necesariamente se manifiesta en aumento de la capacidad de enraizamiento. En el mismo sentido, Németh (1986) resalta que la formación de callo depende de la concentración de la auxina y que esto puede reducir la tasa de supervivencia de los propágulos durante la aclimatación.

La bibliografía sobre el enraizamiento en otras especies de la Familia Moraceae manifiesta que en general esta familia no precisa concentraciones altas de auxina para enraizar. Por ejemplo King y Morehart (1988) obtuvieron trece raíces por brote en *Maclura pomifera* con el medio $\frac{1}{2}$ MS + AIB $2,5 \text{ } \mu\text{M}$ ($= 0,5 \text{ mgL}^{-1}$), una longitud media de la raíz de 10,2 cm y una altura de la plántula de 2,1 cm. De modo similar para la inducción de raíces adventicias en *Morus laevigata* (Moraceae), Islam y col (1993) usaron el medio MS con las sales a la mitad. Encontraron que las raíces producidas en el medio libre de auxina eran delgadas y el número de raíces por esqueje era bajo, en cambio en el medio suplementado con $0,5 \text{ } \mu\text{M}$ de AIB ($= 0,1 \text{ mgL}^{-1}$) aumentó la frecuencia de enraizamiento y la calidad de la raíz pero el número de raíces por esqueje fue bajo. Según King y Morehart (1988) los cultivos de *Maclura pomifera* (Moraceae) sobre $\frac{1}{2}$ de MS tenían mayor número y raíces más largas

que los del MS completo. Según ellos el incremento de la concentración de AIB no tuvo efecto sobre el número de raíces, redujo la longitud radical total y promovió la producción de callo.

Otros investigadores emplean la combinación de auxinas para inducir el enraizamiento en especies de la familia Moraceae. Por ejemplo cuando el AIB y el ANA ($0,1 \text{ mgL}^{-1}$ cada uno) fueron adicionados combinados a brotes de *Morus laevigata* que procedían de árboles de diez años, el número de raíces por esqueje fue 11,1 y el porcentaje de enraizamiento fue 85,8%. Las raíces producidas en un medio libre de auxina eran delgadas y débiles, y el número de raíces por esqueje y porcentaje de esquejes enraizados fue bajo (Hossain y col., 1992). Cuando Pattnaik y Chand (1997) adicionaron una combinación de AIA + AIB + AIP cada una a una concentración de $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ a un medio $\frac{1}{2}$ MS obtuvieron un número promedio de raíces por brote de 14,6 en *Morus cathayana*; 12,8 en *Morus ihou* y 9,8 en *Morus serrata*. En cambio los brotes de un árbol de cinco años de edad de *Morus australis* no enraizaron en el medio $\frac{1}{2}$ MS solo. Cerca del 91% de los brotes produjeron ocho a diez raíces por brote entre los doce a catorce días en el medio $\frac{1}{2}$ MS con una combinación de AIA, AIB y AIP cada una a una concentración de $1,0 \text{ mgL}^{-1}$. Estas raíces elongaron rápidamente después de una transferencia a un medio MS a la mitad libre de hormonas (Pattnaik y col., 1996).

No sabemos cual es la causa exacta de la necrosis de las raíces de dinde, pero suponemos varias: primero la reducción de los macronutrientes a la mitad; segundo, la ausencia de la citoquinina BA; tercero, que esta concentración de AIB resultara tóxica después de la segunda semana; cuarto, que quizás la concentración de sacarosa empleada durante la fase de multiplicación resultó alta durante el enraizamiento; quinto, que posiblemente la raíz de dinde necesita mayor oxígeno en el medio pues las raíces que crecieron en sustrato no se necrosaron.

4.4 *Quercus humboldtii*

El roble colombiano es un poco difícil de enraizar, aunque algunos explantos aparecieron con raíces durante la fase de multiplicación y en presencia de la BA. La adición de 25 mgL^{-1} de AIB aumentó el porcentaje de enraizamiento con respecto al control, sin embargo, no conseguimos un porcentaje más alto. Probablemente la concentración de AIB resultó un poco elevada e inhibió el enraizamiento si lo comparamos con Manzanera y Pardos (1990) que enraizaron brotes de *Quercus suber* con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$, y con Marks y Simpson (2000) y Juncker y Favre (1989) que enraizaron *Quercus robur* con la misma concentración de auxina.

Con el roble colombiano pasa algo similar a lo que sucede con los brotes de manzana, según Skirvin y col, (1986) dichos brotes son relativamente fáciles de proliferar en cultivo de tejidos pero no son fáciles de enraizar. Por otro lado, Pierik y col. (1997) dicen que el enraizamiento de explantos juvenil y adulto de *Quercus robur* lo consiguieron con el medio WPM completo adicionado con $0,4 \text{ mgL}^{-1}$ de ANA + $0,4 \text{ mgL}^{-1}$ de BA. Según ellos los explantos posicionados horizontalmente enraizaron mucho mejor. Obtuvieron 1,3 raíces por explanto con 6,5% de glucosa. En los segmentos de tallo adulto la concentración $5,0 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB pareció ser la óptima (1,5 raíces por explanto) (Pierik y col., 1997).

Otra característica de *Quercus humboldtii* es que produce poca cantidad de raíces y que es prácticamente inexistente la formación de raíces secundarias. Según Németh (1986), en principio una

planta con una única raíz es capaz de sobrevivir, pero un número mayor de raíces por planta puede compensar las raíces no funcionales o dañadas. Sin embargo, Sánchez y col (1996) emplearon carbón activado para la formación de raíces laterales en *Quercus rubra*. Según ellos, el área total del sistema radical y la longitud de los brotes de *Q. robur* y *Q. rubra* fue significativamente mayor en el medio que contenía carbón que en el medio carente de él. En nuestra investigación no utilizamos carbón activado en ninguno de los ensayos ni especies.

Otros autores emplean métodos distintos con el fin de tratar de mejorar la capacidad de enraizamiento del roble. Por ejemplo Vieitez y col (1994) dicen que en clones adultos fue necesario un período inicial de cinco días de oscuridad y que las raíces empezaron a emerger durante la segunda o tercera semana después del inicio del tratamiento. Nosotros usamos la metodología de Sánchez y col (1996). Ellos consiguieron, la mejor eficiencia de enraizamiento en *Quercus robur* y *Quercus rubra* en el medio adicionado con 25 mgL^{-1} de AIB por veinticuatro horas y transferencia a un medio libre de auxina conteniendo 1% de carbón activado.

Parte de la posible explicación de que *Quercus humboldtii* no tenga por sí solo buena capacidad de enraizamiento en ausencia de auxina puede deberse a los contenidos de citoquinina endógena de sus brotes. Por ejemplo Bollmark y Eliasson (1990) encuentran cantidades mayores de citoquinina tipo ZR y tipo iPA en los brotes que tienen poca capacidad de enraizamiento. Y Perrin y col. (1977) encuentran una relación directa entre el contenido de zeatina y la capacidad de enraizamiento. También existen versiones encontradas sobre este tema; aunque Feito y col (1996) mencionan que la capacidad de enraizamiento del nogal se debe a concentraciones altas de DHZ y DHZR, Vidal (2002) encuentra la relación inversa en los cultivos de copa de un clon de castaño entre las altas concentraciones de estas mismas citoquininas y su capacidad de enraizamiento.

4.5 Cinética de enraizamiento

La velocidad de aparición de las raíces las evaluamos en tres especies (*Cedrela odorata*, *Cedrela montana* y *Chlorophora tinctoria*). Todas mostraron una aparición rápida de la primera raíz el cuarto o quinto día excepto en los brotes de *Cedrela odorata* procedentes de semilla que ocurrió a los ocho días, quizás porque estos brotes estuvieron bajo el efecto del ácido giberélico algunos días. Podemos concluir que la auxina no ejerció un efecto predominante en la velocidad de aparición de la primera raíz, sino que las pocas diferencias están más bien en los porcentajes de enraizamiento.

Ishii y Maruyama (1992) observaron la aparición de raíz en *Cedrela odorata* las dos primeras semanas, pero no especifican cual fue el primer día de su aparición. En cambio Da Costa y col. (2002) mencionan que obtuvieron 100% de enraizamiento a los diez días en el medio $\frac{1}{2}$ MS suplementado con $2,5 \text{ } \mu\text{M}$ de AIB ($= 0,5 \text{ mgL}^{-1}$), y en ausencia de auxina obtuvieron 87% de enraizamiento a los doce días.

En las especies de la familia Moraceae también hay variación en la cinética de enraizamiento. Hossain y col. (1992) mencionan que la iniciación de las raíces en los brotes de *Morus laevigata* que procedían de un árbol de diez años empezó de una a dos semanas después del cultivo. Y Pattnaik y Chand (1997) manifiestan que el enraizamiento inducido en tres especies de *Morus* lo consiguieron de los dieciséis a los dieciocho días en todas las especies sobre $\frac{1}{2}$ MS adicionado con una

combinación de AIA, AIB y AIP cada una a una concentración óptima $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ (72% en *Morus cathayana*; 69% en *Morus ihou* y 63% en *Morus serrata*). Y de doce a catorce días en *Morus australis*.

La velocidad de aparición de las raíces varía entre especies. Por ejemplo, después de un tratamiento óptimo con AIB los esquejes de *Pinus sylvestris* las adquirieron después de dieciocho a diecinueve días, comparados con catorce días en *Pinus contorta* (Grönroos, 1987). Por otro lado Sunnichan y col (1998) consiguieron un 75% de enraizamiento a los siete días con brotes de *Sterculia urens* sobre un medio de enraizamiento MS diluido a la cuarta parte y adicionado con AIB $9,82 \mu\text{M}$. Y (Leslie y McGranahan, 1987) consiguieron un enraizamiento entre 50 a 75% en brotes de *Pterocarya x Juglans regia*, bajo el efecto de AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$, en un período de cinco a quince días.

5. HISTOLOGÍA DEL ENRAIZAMIENTO DE *Cedrela odorata*

La formación de raíces adventicias se puede desarrollar también en otras estructuras de la planta diferentes al tallo, como por ejemplo en pecíolos juveniles de *Hedera helix* tratados con auxina se detectaron meristemos de primordio de raíz entre los trece a los quince días (Geneve y col, 1991); en cotiledones de *Juglans regia* se generaron raíces completas en ausencia de reguladores de crecimiento exógeno (Ernel y col, 2000) y en esquejes fasciculares en pino lobulado (Hamann, 1998).

Como veremos a continuación las etapas de formación de raíz adventicia siguen patrones morfológicos similares en muchas especies, las diferencias más notables están prácticamente en los tiempos requeridos por cada especie en cada una de las fases.

5.1 Desdiferenciación

La desdiferenciación celular marca la conclusión de una fase y el comienzo de otra fase divergente de desarrollo. La fase concluida es la ontogenia normal que producen los progenitores de las células iniciales del primordio y las otras células que no se habían generado por división de las iniciales pero que se volvieron parte de las raíces adventicias (Haissig, 1974).

La respuesta de los tejidos del tallo de *Cedrela odorata* al medio de inducción de enraizamiento es casi inmediata pues tanto en el control como en el tratamiento con AIB empezamos a observar divisiones periclinales y anticlinales a las doce horas del tratamiento. En el control empezaron a presentarse las primeras divisiones anticlinales en el floema. En el tratamiento con AIB había mayor cantidad de células con núcleos grandes en el floema y divisiones periclinales y anticlinales en el cámbium vascular. Estos cambios corresponden a la fase de desdiferenciación descritos por De Klerk y col (1995) y De Klerk (2002). Ellos distinguen tres fases principales en los procesos de enraizamiento en microbrotes de manzano, la desdiferenciación, la inducción y la diferenciación morfológica. Según ellos durante la desdiferenciación los tejidos se vuelven competentes para responder al estímulo rizogénico de la auxina. En el caso del manzano tiene una duración de cero a veinticuatro horas.

Según Jásik y De Klerk (1997) durante la fase de desdiferenciación en manzano los brotes estaban empezando el crecimiento secundario; tenían la organización normal de la epidermis, el

cortex y el cilindro central. Las “células iniciales cambiales” elongaron marcadamente y sus derivados inmediatos se organizaron en hileras horizontales. Las células del cámbium estaban altamente vacuolizadas, tenían un citoplasma reducido con pocas estructuras celulares y un núcleo aplanado localizado periféricamente.

Por otro lado Ballester y col. (1999) observaron ciertas células en la zona cambial entre las doce y las veinticuatro horas después del pulso con AIB en castaño. Las células de los rayos del parénquima y las células acompañantes se tiñeron más densamente y su núcleo y nucleolo se volvieron más prominentes que antes del tratamiento, sin embargo explican que la reactivación temprana de la división celular no puede ser considerada como la iniciación de meristemoides de raíz. Por otro lado en *Helianthus annuus* el primer signo de desdiferenciación en la formación de raíces adventicias fue un núcleo central agrandado y el incremento de tamaño de la célula entre células de parénquima o cercanas a los haces vasculares (Ingvarsdén y col., 2001).

A las veinticuatro horas de haber inducido el enraizamiento en *C. odorata* aumentó el número de células desdiferenciadas en el floema y el cámbium vascular tanto en el control como en el tratamiento con AIB, con divisiones mitóticas en varios estados (profase, metafase y anafase) en planos periclinales, anticlinales y oblicuos. Aún en este lapso de tiempo podemos decir que en *C. odorata* continúa el proceso de desdiferenciación descrito por De Klerk (2002). Así mismo Ballester y col. (1999) observaron figuras mitóticas en planos de división periclinal en células cambiales y derivados en brotes juveniles de castaño después de veinticuatro horas.

Haissig (1986) encontró que después de veinticuatro horas de tratamiento con AIB aparecieron numerosos granos de almidón en los haces vasculares cercanos a la parte basal de los explantos (en las células parenquimatosas del xilema y del floema y en los elementos de floema y traqueales inmaduros), en células adyacentes del córtex y médula, y en los rayos primarios y lagunas foliares de las hojas (Haissig, 1986).

Los derivados cambiales han sido el tejido común de origen del primordio en algunas especies como en brotes juveniles de castaño (Ballester y col, 1999; Vieitez y Vieitez, 1983) y en manzano (Zhou y col, 1992, De Klerk y col, 1995 y De Klerk y col, 1997). En esquejes tomados de plantas maduras de *Griselinia littoralis* (White y Lovell, 1984, citados por Lovell y White, 1986), los eventos iniciales incluyen activación de una gran parte del cámbium donde cada una de las zonas cambiales, floema primario, floema secundario desdiferenciado y células del córtex interno están entre los tejidos activados que de algún modo contribuyen directa o indirectamente al enraizamiento en el estado temprano en manzano.

Las primeras divisiones celulares fueron detectadas veinticuatro horas después de la exposición a la auxina en ambos tratamientos, pero el cambio más visible fue la presencia de ciertos derivativos cambiales con citoplasma densamente teñido, con núcleo y nucleolo prominente (Goncalves y col, 1998).

En nuestro sistema experimental a las treinta y seis horas aumentó el número de agrupaciones de células meristemáticas con núcleos grandes sin forma específica en el control, pero con posible inicio de polarización en el tratamiento con AIB. Creemos que en este tiempo aún continúa el proceso de desdiferenciación.

Ciertas células en la zona cambial o adyacentes en manzano se tiñeron más densamente y el núcleo fue más visible en manzana treinta y seis horas después del pretratamiento. Los derivados cambiales se desarrollaron en células isodiamétricas (Zhou y col, 1992).

En la misma forma a los 1,5 días el nucleolo se volvió más prominente en el cámbium, en el parénquima del xilema, en el parénquima interfascicular, en el floema primario, en el floema secundario inmaduro y en las células del córtex interno (Hicks, 1986).

Después de veinticuatro horas aparecieron células con núcleo hinchado y citoplasma denso en las regiones de los tallos donde se formaron las raíces (De Klerk y col., 1995).

Según Jásik y De Klerk (1997) las células del cámbium se elongaron fuertemente en la parte basal de los explantos a las setenta y dos horas. Las divisiones de las células en fila fueron sincrónicas. Estas células isodiamétricas tenían un núcleo prominente localizado centralmente con un gran nucleolo, y citoplasma con abundantes organelas teñido fuertemente (Jásik y De Klerk, 1997).

Jásik y De Klerk (1997) observaron divisiones esporádicas en las células del cámbium a las cuarenta y ocho horas. Antes de la división, el núcleo se volvió redondo y se movió al centro de las células. Los núcleos fueron rodeados por el citoplasma. Las células en división permanecieron altamente vacuolizadas y ocurrió cariocinesis y formación de pared celular en la masa central del citoplasma. En las células del cámbium ocurrieron generalmente divisiones transversales y solo ocasionalmente divisiones longitudinales normales (Jásik y De Klerk, 1997). De forma similar Ballester y col, (1999) mencionan una “reactivación” sustancial de la división celular en brotes juveniles y maduros de castaño cuarenta y ocho horas después del tratamiento inductivo de raíz con AIB.

Hicks (1986) observó que ciertas células adyacentes a los haces vasculares empezaron a teñirse más densamente a los tres días. Esto ocurrió en las células del cámbium, en el parénquima de xilema, en el parénquima interfascicular, en el floema y en el córtex interno. Las células de la zona cambial e inmediatamente adyacentes a las células del floema experimentaron agrandamiento radial moderado. En muchas células densas se agrandó el nucleolo y el núcleo (Hicks, 1986).

El número de células en desdiferenciación y las figuras mitóticas se incrementó entre los tres a cuatro días en los brotes de castaño. Ocurrieron numerosas divisiones periclinales junto con algunas divisiones oblicuas y anticlinales localizadas no solo en la zona cambial, sino además en las capas más externas de la región floemática (Ballester y col, 1999).

5.2 Inducción

Una definición de la inducción es el tiempo mínimo requerido para la presencia de señales de enraizamiento externas a las células competentes (Hand, 1994, citado por Gaspar y col, 1997).

En el control de *C. odorata* se formaron filas radiales de tres células con núcleos grandes que pueden indicar inicio de polarización del meristemoide de raíz a las cuarenta y ocho horas. Y con el tratamiento $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ de AIB observamos un posible indicio de polarización de los grupos meristemáticos de los meristemoides de la raíz. En ambos, control y AIB los signos de polarización en los grupitos de células son más evidentes tanto en el cámbium vascular como en el floema. Estos procesos morfológicos los podemos clasificar dentro de la fase de inducción.

Según Ballester y col, (1999) los meristemoides y primordios de raíz se desarrollaron solo en los brotes juveniles de castaño tres días después del tratamiento inductivo.

La fase de inducción en manzano dura de veinticuatro a noventa y seis horas (cuatro días), aquí la auxina es fuertemente promotora y la citoquinina fuertemente inhibidora. Esta fase coincide con las primeras divisiones celulares y la formación de un meristemoide de manzana ya que ciertas células están determinadas a formar el primordio por acción de la auxina (De Klerk y col, 1995 y Jásik y De Klerk, 1997 y De Klerk, 2002).

Las células en la región cambial muestran una proporción incrementada de mitocondrias, dictiosomas y núcleos a expensa de las vacuolas, dos días después del tratamiento con AIB. El almidón disminuye fuertemente, los granos de almidón que se habían acumulado durante los primeros días de cultivo funcionan como almacenamiento transitorio de carbohidratos antes de que las células entren en división (Haissig, 1986).

Cuarenta y ocho horas después del pretratamiento el citoplasma de algún derivado cambial en manzano se tiñó densamente. Su núcleo y nucléolo eran más grandes y prominentes que antes. Las células se volvieron isodiamétricas y algunas de ellas empezaron a dividirse para producir **meristemoides** muy cercanos al cambium. Los meristemoides aumentaron el volumen y el número de células incrementó como resultado de su división y la implicación de células en desdiferenciación del parénquima circundante. Inicialmente los meristemoides formaron hileras largas de células meristemáticas fuera y a lo largo del cámbium; luego estructuras circulares formadas por planos cambiantes de divisiones celulares. La aparición de estos centros de células en división señala la iniciación de las raíces adventicias (Zhou y col, 1992).

Al tercer día de inducción de enraizamiento en *C. odorata* tanto en el control como en el tratamiento con AIB empezamos a evidenciar los sitios de formación de meristemoides de raíz en el floema y en el cámbium vascular. En estas células se tiñeron más el núcleo y los nucleolos que en las células que no participaron en la formación del primordio de la raíz. El aumento de volumen del meristemoide se produjo por la desdiferenciación de tejido parenquimático adyacente a los primordios.

En *Cedrela odorata* la raíz se inició a partir de tres tipos de tejidos: cámbium vascular, floema y parénquima medular. De forma similar en la base de tallos de un cultivar de manzana, las raíces adventicias se iniciaron en los derivados del cámbium (Zhou y col, 1992).

Las raíces iniciales o meristemoides apicales de raíz fueron identificadas en especies de *Pinus* pero seis días después del corte (Grönroos, 1987).

En el manzano las raíces adventicias se inician directamente desde los derivados del cámbium, algunos de los cuales se transforman inmediatamente en **meristemoides** in situ treinta y seis horas después del pretratamiento (Zhou y col, 1992). Los meristemoides de raíz de manzano están constituidos por células teñidas densamente con núcleo agrandado formado fuera del xilema a los cinco días. Los meristemoides se transforman en primordios de raíz y algunos establecen una conexión vascular con el tallo a los diez días (Hicks, 1986).

A los tres o cuatro días los meristemoides eran evidentes entre la región del floema primario y el cámbium vascular, éstos incrementaron el volumen y el número de células como resultado de su

división y de la participación de células en diferenciación del floema circundante y del parénquima (Goncalves y col, 1998). Los meristemoides en castaño se forman inicialmente por divisiones celulares periclinales antes que por divisiones celulares anticlinales, el día cinco. Debido a una polarización en la división celular los meristemoides de raíz se diferencian en primordio de raíz en forma de cúpula, el día seis. Este primordio avanza a través del anillo de fibra esclerénquimático hasta alcanzar el cortex del tallo (Ballester y col 1999). De los seis a ocho días los meristemoides se vuelven progresivamente individualizados y la polarización de las divisiones da origen a la forma típica puntuda del primordio de la raíz (Goncalves y col, 1998).

Los tejidos exteriores al cámbium del tallo aparentemente no constituyen sitios ideales para la formación inicial del primordio. Por otra parte la probabilidad de iniciación del primordio disminuye con el incremento de la distancia de las células desde el xilema inmaduro (Haissig, 1974).

Los tejidos en y alrededor de los haces vasculares en manzana son “activados” y desde ciertas poblaciones celulares el xilema forma meristemoides. La organogénesis continúa como un primordio organizado que se desarrolla desde los meristemoides (Hicks, 1986).

En el estudio hecho por De Klerk y col.(1995), después de noventa y seis horas se formaron meristemoides de casi treinta células.

Según Collet y col. (1994) trabajando con cultivares de manzana fáciles y difíciles de enraizar, la diferencia entre estos está en la capacidad para organizar rápidamente las células en un primordio y no en la capacidad para reactivar la división celular después de la herida y del tratamiento con auxina.

Durante los días cuatro a cinco, las células con desdiferenciación marcada se dividen rápidamente y forman grupos pequeños de células isodiamétricas teñidas densamente mostrando un núcleo central prominente con un gran nucleolo. Estas células isodiamétricas parecen células en meristemas, localizadas primero en la región del floema junto a las trazas foliares y vasculares, y luego en otras regiones del floema. Se asumen que éstos grupos meristemáticos localizados conforman la organización de los meristemoides (Torrey, 1966; citado por Ballester y col, 1999). Los meristemoides no muestran total polaridad en este estado, y son formados inicialmente por divisiones celulares periclinales y la participación de células en desdiferenciación del parénquima circundante antes que por divisiones celulares anticlinales (Ballester y col, 1999).

Es difícil acertar cuando se inicia un primordio inducido y cuanto tiempo toma para desarrollarse, aún en grupos aparentemente uniformes, pues estos primordios usualmente no se inician al mismo tiempo o en sitios predecibles. La iniciación de un primordio de raíz puede tomar meses (o no ocurrir nunca) en algunos esquejes maderables que son difíciles de enraizar, mientras que este puede empezar en pocos días en un esqueje de más fácil enraizamiento. El primordio de raíz inducido se inicia en un amplio rango de tejidos, el cámbium, el floema y el periciclo han sido los sitios más frecuentes de iniciación de primordio, mientras el córtex, la médula y el xilema los menos importantes. El suplemento de auxina ocurre probablemente en parte por la localización de las células iniciales cerca del xilema inmaduro. Los sitios más apropiados (áreas en rayos medulares inmediatamente adyacentes a los haces vasculares) y células del parénquima interfascicular o del

cámbium desaparecen en los tallos leñosos durante el desarrollo del tejido secundario (Haissig, 1974).

Nosotros observamos con certeza los primordios de raíz en *C. odorata* el cuarto día, éstos mostraron una clara polarización hacia el exterior del tallo atravesando la corteza de éste. En el interior del primordio ocurrían divisiones periclinales y anticlinales que contribuyeron a aumentar su volumen, los primordios tenían formas variadas pero algunos adquirieron forma de domo como lo menciona Ballester y col (1999) el día seis.

El primordio de raíz es iniciado directamente desde los derivados cambiales en brotes de castaño juvenil (Vieitez y Vieitez, 1983, citado por Ballester y col, 1999). Las células en desdiferenciación de parénquima circundante son incorporadas en la organización de meristemoides de raíz en formación de brotes de la base de castaño (Ballester y col, 1999).

Una vez los procesos se vuelven “determinados” el período de tiempo de las fases iniciales del primordio de raíz es mucho menos variable de especie a especie que los estados tempranos. En el desarrollo del primordio de raíz la división celular no está confinada a un plano, se produce un grupo de células desigualmente esféricas (Lovell y White, 1986).

Cinco días después de la inducción de enraizamiento en manzano aparecieron los meristemoides externos al xilema teñidos muy densamente; el citoplasma de sus células se teñía más densamente que el de las células adyacentes. Las células individuales mostraron núcleo y nucleolo agrandado. Los meristemoides no mostraron total polaridad aún y parecían originarse de células derivadas de la zona cambial y de las regiones del floema primario (y secundario). Algunas preparaciones del día cinco mostraron estados tempranos de primordio de raíz (Hicks, 1986).

De forma similar Vieitez y col. (1980) observaron un incremento en la actividad meristemática en el cámbium y en células adyacentes tres a cinco días después. La región meristemática creció adquiriendo la forma de un primordio de raíz con un ápice en forma de cúpula.

5.3 Diferenciación

En un último estado, las células de los “iniciales” frecuentemente junto con células circundantes se convierten en una masa de tejido meristemático organizado en la que hay diferenciación. En este punto está “determinado” y se denomina primordio. Subsecuentemente se forman las conexiones entre el primordio y el tejido vascular existente de la planta, y emerge una raíz funcional (Lovell y White, 1986).

En el momento en que el primordio de raíz tiene cerca de 1500 células se puede ver en el ápice el inicio de ordenamiento celular organizado. Las divisiones periclinales dan origen a tres filas de células y éstas se convierten en el vascular y la columela iniciales. Además están presentes las iniciales del cortex y la caliptra de la raíz. La zona de células no diferenciadas aún está presente. El ápice está formado por una caliptra de raíz con tres capas de células y la columela. Al momento de la emergencia de la raíz el ápice de la raíz semeja el ápice de la raíz de una planta. La diferenciación de las células no comprometidas ocurre cuando se aproxima la emergencia de la raíz. Estas células forman la conexión vascular entre el primordio y el tejido vascular hipocótilo (Lovell y White, 1986).

A partir del cuarto día en *Cedrela odorata* coincidimos con Jasik y De Klerk (1997) en que esta etapa se puede definir como “**diferenciación morfológica**”. Estos autores definen esta fase a partir de las noventa y seis horas en adelante en manzana. Y De Klerk (2002) menciona que en esta fase no se requiere auxina y es donde las células determinadas llevan a cabo el nuevo programa de diferenciación, produciéndose un primordio radical y posteriormente la elongación de la raíz.

En nuestro caso el día cinco se caracterizó por la notable aceleración en las divisiones periclinales y anticlinales en el interior de los primordios. También se diferencian bien varios tejidos externos que forman la raíz, como la caliptra, las células iniciales, la epidermis radical y la corteza. La raíz tiene forma definida y extremo puntiagudo, sin embargo el tejido más interno, el cilindro central, tiene poco desarrollo de haces vasculares, solamente se han desarrollado levemente algunos que alcanzan hasta la mitad de la raíz en posición perpendicular a la del tallo. En *C. odorata* el tratamiento con AIB produjo mayor número de primordios y raíces que el control. Este estado de desarrollo corresponde al día ocho en *Castanea sativa* estudiado por Ballester y col. (1999).

Después de cinco a seis días se produjo organización en la parte interna del primordio, se formó el cilindro procambial, la epidermis, el córtex y el cilindro central. Se conectaron los tejidos vasculares de las raíces en desarrollo con el tejido vascular de los trozos de tallo (Jásik y De Klerk, 1997).

El primordio de raíz adventicia totalmente desarrollado consta de aproximadamente dos mil células antes de la emergencia de la raíz, antes de cinco días de cultivo *in vitro*. En el último estado el primordio de raíces adventicias muestra una cubierta de dos a tres capas celulares rodeando un núcleo de células isodiamétricas, sugiriendo que se ha iniciado un proceso de diferenciación (Ermei y col, 2000).

El primordio radical en *Helianthus annuus* empezó a elongarse después de setenta y dos horas y la diferenciación en caliptra, córtex y estela empezó después de la formación del meristemo de la raíz (Ingvarsen y col., 2001). Tres días después del pretratamiento el primordio de raíz empezó a diferenciarse internamente y a desarrollarse hacia fuera. El primordio de raíz se curvó geotrópicamente, las células de esta curva se tiñeron ligeramente y fueron presumiblemente la cofia de la raíz. Otras células en el primordio de la raíz que se tiñeron menos se presume que fueron los precursores de los tejidos corticales y vasculares (Zhou y col, 1992).

Para que una raíz sea funcional es esencial que se establezcan las conexiones vasculares entre el desarrollo radical y el sistema vascular del tallo. El sitio de origen del primordio de raíz puede estar en el tejido del tallo o alternativamente en el callo producido en la base (Lovell y White, 1986).

Siete días después de la inducción del enraizamiento en manzana el primordio de raíz experimenta diferenciación interna en la mayoría de las células permaneciendo como parénquima o diferenciándose en elementos traqueidales. En la vecindad del cámbium algunas células meristemoidales forman traqueidas orientadas horizontalmente y se conectan los elementos del xilema de las raíces adventicias con los del tallo. Diez días después emergen una o dos raíces adventicias en la superficie de los brotes (Zhou y col, 1992).

Aunque la raíz adventicia de *Cedrela odorata* emerge al exterior del tallo el día ocho el desarrollo del sistema vascular interno de la nueva raíz producida *in vitro* continua siendo rudimentario.

En el caso de *Vitis vinifera* es posible identificar el sistema vascular radical a los nueve días. En esta especie las raíces adventicias se originan primariamente en los rayos medulares (Neves y col., 1998).

A los ocho días el primordio de raíz de *Castanea sativa* se extiende por la corteza del tallo y en él se empieza a diferenciar internamente el procámbium y el meristemo, que a su vez empiezan a distinguirse del meristemo apical. Posteriores divisiones en el extremo distal del meristemo apical dan origen a la cofia radical formada por dos a tres capas de células más vacuoladas que las células localizadas centralmente. Las divisiones continúan en el primordio en desarrollo con diferenciación de elementos traqueidales orientados perpendicularmente al sistema vascular del tallo y conectados a los sistemas vasculares del primordio de la raíz emergente. El primordio de raíz se forma asincrónicamente y las raíces adventicias emergen en la superficie diez días después del tratamiento con AIB. Ellas habían desarrollado un sistema vascular que es continuo con el del tallo (Ballester y col, 1999).

A los catorce días emergen algunas raíces y la mayoría de los primordios alcanzan la corteza más externa con diferenciación progresiva de su sistema vascular. De los diecinueve a veinte días el sistema vascular de las raíces adventicias se conecta al sistema vascular principal mediante el xilema formado nuevamente, este xilema está bien desarrollado en la base del primordio de raíz (Vieitez y col, 1980).

Según Grönroos (1987) en *Pinus contorta* sólo habían unas pocas traqueidas en la zona de transición entre la raíz y el tejido herido. En *Pinus sylvestris*, la conexión vascular entre la raíz y el tejido herido fue más fuerte que en *Pinus contorta*

La conexión vascular final desde el primordio a los tejidos vasculares no se forma hasta que el primordio tiene al menos desarrollado el estado inicial de raíz. Generalmente la conexión no ocurre hasta que el ápice de la raíz en desarrollo se forma completamente y la raíz emerge. En el tiempo en que emerge la raíz esta puede ser funcional usualmente (Lovell y White, 1986).

6. BIOQUÍMICA DEL ENRAIZAMIENTO DE *Cedrela odorata*

Es evidente que la reducción en la concentración de nutrientes y la ausencia de la BA tienen un efecto positivo en la capacidad de enraizamiento de *Cedrela odorata*. Por otro lado también es probable que la herida realizada a los brotes al inicio de la inducción del enraizamiento pueda tener efectos positivos, especialmente en los que estuvieron en ausencia del AIB. El corte destruye compartimentos celulares (vacuolas, vesículas, peroxisomas y plastidios) que liberan enzimas catabólicas (glucanasas, peroxisomas, peroxidasas, fosfolipasas y lipoxigenasas) presentes en estas organelas celulares. Estas enzimas conducen al posterior rompimiento de ciertas estructuras celulares (pared celular, células de membrana (Lyon y col; citado por Van der Krieken y col., 1997).

Se ha postulado que los cultivares fáciles de enraizar tienen la capacidad de hidrolizar conjugados de auxina en el tiempo justo para liberar auxina libre que pueda promover la iniciación de la raíz. Los cultivares fáciles de enraizar son capaces de convertir AIB a AIA el cual se acumula en la base de los esquejes antes del enraizamiento (Epstein y Ludwig-Müller, 1993).

6.1 Análisis endógeno de auxinas

En nuestra investigación el día cero corresponde a los brotes enteros pero sin hojas que provenían de los cultivos al final de la fase de multiplicación. En ese momento los brotes ya presentan AIA endógeno. En el primer experimento la concentración es de $2,02 \text{ nmolg}^{-1}$ p.s. y en el segundo experimento la concentración es de $0,62 \text{ nmolg}^{-1}$ p.s. (Figura 54). Recordemos que en el análisis histológico este día corresponde al corte de tallo el día cero donde no aparecen aún indicios de formación de raíz, solamente los tejidos normales del tallo. Por otro lado Arellano (2005) encontró que al final del período de multiplicación los niveles de AIA fueron más altos en la zona basal de los brotes de la copa de *Quercus robur* ($4,0 \text{ nmolg}^{-1}$ p.s.) que no producían raíces, frente a $1,0 \text{ nmolg}^{-1}$ p.s. encontrado en los brotes renuevos basales que sí enraizan. Y Vidal (2002) encontró que el contenido de AIA en los renuevos basales del clon NL100 de roble el cual puede enraizar en ausencia de auxina era $0,7 \text{ nmol g}^{-1}$ p.s. en las bases y $\pm 0,5 \text{ nmolg}^{-1}$ p.s. en los ápices.

Algunos autores han encontrado una correlación positiva entre la mayor capacidad de enraizamiento y los niveles endógenos de AIA en el momento del corte, por ejemplo en *Vitis* (Karacke y col., 1981), en *Malus* (Alvarez y col., 1989), *Sequoia* (Jay-Allemand y col., 1995; Blazkova y col., 1987) y *Prunus* (Caboni y col., 1997). Aunque Vidal (2002) ha encontrado buenos niveles de AIA endógeno en brotes de castaño y roble procedentes de la copa que no enraizan.

En el día cero la concentración endógena de AIB en *Cedrela odorata* es de $1,95 \text{ nmolg}^{-1}$ en el primer experimento y de $3,28 \text{ nmolg}^{-1}$ p.s. en el segundo experimento. Esto significa que los brotes de *C. odorata* ya presentan niveles considerables de AIB endógeno sin haberlo adicionado de forma exógena.

En el período de tiempo comprendido entre las **doce, veinticuatro y treinta y seis horas** el contenido endógeno de **AIA** fue siempre ascendente con mayor intensidad en los brotes que fueron sometidos inicialmente a la acción del AIB. El pico más alto se obtuvo a las treinta y seis horas. En el segundo experimento el contenido endógeno de auxina también fue ascendente pero a diferencia del primer experimento el pico máximo no coincidió a las treinta y seis horas (Figura 54). En el estudio histológico estos cambios corresponden con la fase de **desdiferenciación**.

Nuestros datos concuerdan con los de Arellano (2005) y Vidal (2002) ambos en roble en que inicialmente se producen niveles ascendentes de AIA endógeno después de los tratamientos de inducción del enraizamiento. En los renuevos basales de roble el pico máximo de AIA ocurrió a las veinticuatro horas (Arellano 2005) que coincidió con las primeras manifestaciones de división celular (Vidal y col., 2003).

En cambio nuestros resultados difieren con los de García (1992) en las estaquillas control de *Persea americana* porque el nivel endógeno de auxina asciende solo ligeramente.

Otros autores mencionan la presencia de un pico de AIA en material que enraíza sin auxina como Carlson y Larson (1977) en roble americano, Wample y Reid (1979) en girasol, Maldine y col. (1986) en tomate, Weigel y col. (1984) en crisantemo, Moncousin y col. (1989) en vid, Tonon y col. (2001) en *Fraxinus angustifolia* y Nag y col. (2001) en *Vigna radiata*.

Los brotes de manzana captan el AIB exógeno y lo convierte en AIA. La toma de AIB es casi dos veces más alta que la toma de AIA; la aplicación de AIB conduce a una concentración de AIA libre siete veces más alta en el tejido que la aplicación de AIA. Además la concentración de AIA libre derivada de la toma de AIB está presente en el tejido por un período de tiempo más largo. De manera similar Epstein y Lavee (1984) demostraron la capacidad de los brotes de *Vitis vinifera* y *Olea purpurea* para transformar el AIB captado en AIA.

El **AIA-Asp** en *Cedrela odorata* solo lo pudimos evaluar en el segundo experimento a partir de las treinta y seis horas, que coincidió justo con el pico más alto con un valor de $3,03 \text{ nmolg}^{-1}$ p.s. La concentración de AIA-Asp en este tiempo es menor que la concentración de AIA contrario a lo que manifiesta Vidal (2002), Bandurski y Schultze (1977 y Nordström y Eliasson (1991) en guisante, al inicio del proceso de enraizamiento. Además la concentración de AIA-Asp en la sección basal del renuevo basal está cerca de los 60 nmolg^{-1} p.s. Por otra parte Arellano (2005) encontró que la concentración de AIA-Asp de los renuevos basales de roble es inferior a las de AIA.

El contenido endógeno de **AIB** (Figura 54) se comporta de manera distinta tanto en el control como en los brotes tratados con AIB exógeno en ambas repeticiones. El incremento de AIB endógeno en los brotes de *C. odorata* que no fueron tratados con AIB exógeno nos indica que aparte de que este pudo participar en la desdiferenciación celular ya que tiene el mismo comportamiento que el AIA endógeno, también nos da a entender que el AIB se encuentra de forma natural en la especie que trabajamos. Por otra parte el AIB ha sido identificado de forma natural en otras especies como guisante, maíz, tabaco, *Arabidopsis* y ciprés (Nordström y col., 1991; Epstein y col., 1988; Sutter y Cohen, 1992; Ludwig-Müller y col., 1993).

Incluso en *C. odorata* los niveles de AIB endógenos son mayores a los niveles de AIA endógenos en los brotes del control. De forma similar Nordström y col. (1991) y Van der Krieken y col. (1992) han demostrado que los niveles endógenos de AIB y no los de AIA se incrementan y permanecen elevados durante la inducción de enraizamiento en brotes tratados con AIB.

En *C. odorata* el nivel de AIB endógeno disminuyó levemente después de las veinticuatro horas, en los brotes tratados con AIB exógeno, o sea justo cuando la auxina exógena fue retirada del medio de cultivo. La misma tendencia ocurrió en otras especies aunque con una disminución más drástica como en peral (Baraldi y col., 1993), copo (Pythoud y Buchala, 1989), manzano (Van der Krieken y col., 1992), roble (Arellano, 2003) y en la sección basal de brotes del clon NL100 de roble (Vidal, 2002).

En la etapa de “**inducción de enraizamiento**” en *Cedrela odorata* (que comprendió los **días dos y tres**) el contenido endógeno de **AIA** (Figura 54) tendió a disminuir en la primera repetición tanto en el control como en el tratamiento con AIB. En el tratamiento con AIB las concentraciones son $7,47 \text{ nmolg}^{-1}$ p.s. (el día dos) y $4,96 \text{ nmolg}^{-1}$ p.s. (el día tres). En los brotes del control ocurre lo mismo, las concentraciones disminuyen en el día dos y en el día tres.

Jarvis (1986) ha propuesto que la auxina es necesaria cuando comienzan las primeras divisiones celulares, pero que los niveles de la misma disminuyen durante la organización del primordio. Por otro lado la formación de meristemoides en roble el día cuatro (Vidal y col., 2003) coincidió con un descenso en los niveles de auxina (Arellano, 2005).

El **AIA-Asp endógeno** en la etapa de “inducción de enraizamiento” en *Cedrela odorata* se comporta de forma muy distinta en el control y en el tratamiento con auxina. En los brotes del control la concentración endógena asciende menos que en los brotes tratados con auxina. Comparando con los niveles de AIA endógeno, los niveles de AIA-Asp son inferiores.

Nuestros resultados con el aspartato no concuerdan con los de Caboni (1997), ellos midieron los niveles de **AIA libre** y el **AIA aspartato endógeno** en la parte basal de un genotipo de almendro difícil de enraizar y en uno muy fácil de enraizar. El nivel de AIA libre fue significativamente más alto en el fácil de enraizar que en el difícil de enraizar. El nivel endógeno de **AIA aspartato** es más alto en el genotipo fácil de enraizar que en el difícil de enraizar. Ellos hipotetizan que la formación de raíz de almendro está relacionada con el nivel del AIA libre, además el nivel más alto constitutivo del AIA aspartato está presente en los genotipos fácil de enraizar quizás debido a la capacidad más alta de estos genotipos para sintetizar AIA (Caboni y col, 1997).

Según Jarvis y Shaheed (1986) la cantidad de AIA endógeno transportado después de la adición de auxina al medio de cultivo en estaquillas de *Phaseolus aureus* fue 480 veces mayor que en las estaquillas control. Nordström y col. (1991) en *Pisum sativum* y Alvarez y col. (1989) en *Malus pumila* han descrito la formación de AIA-Asp como respuesta a la adición de AIB.

Según Epstein y Ludwig-Müller (1993) los conjugados de AIA pero no los conjugados de AIB están sujetos a la oxidación y así a la desactivación. La eficiencia de las dos auxinas en la inducción de enraizamiento parece depender de la estabilidad de sus conjugados. La mayor capacidad de promoción de enraizamiento de AIB en manzano fue atribuida además al hecho de que su nivel permaneció elevado durante más tiempo que el de AIA, aún a pesar de que el AIB fue metabolizado en el tejido.

Como vimos en el estudio histológico de *Cedrela odorata*, los **días cuatro y cinco** corresponden a la etapa de “**diferenciación morfológica**” del primordio de raíz adventicia. En este estado las concentraciones de **AIA endógeno** disminuyeron en ambos experimentos, tanto en el control como en los brotes tratados con auxina. El contenido endógeno de **AIA-Asp** en los brotes tratados con AIB es ligeramente mayor el día cuatro que el día cinco. En este último día el valor coincide para el control el día cinco. Sin embargo estas concentraciones son inferiores a las del AIA endógeno. Nuestros resultados pueden semejar en parte a los de Blakesley y col. (1991) en *Cotinus coggygria*, ellos reportaron una correlación entre el porcentaje de enraizamiento y sus niveles endógenos de auxina. Los brotes de *Cotinus* que subsecuentemente enraizaron bien contenían niveles significativamente más altos de AIA libre en el tejido del tallo que los brotes que no enraizaron. Después el nivel de AIA conjugado fue significativamente más alto en los esquejes que no enraizaron.

7. MICORRIZACIÓN DE *Cedrela odorata*

7.1 Efecto de la inoculación de *Cedrela odorata* con distintos hongos formadores de Micorriza Arbuscular (MA) sobre el crecimiento.

Después de los tres meses bajo el efecto de los inóculos el tratamiento suelo presentó el mayor número de raíces, era el que contenía las mejores condiciones para el desarrollo de *C. odorata* debido a su semejanza con la realidad en el campo. El tratamiento suelo mostró ventajas notables sobre los otros cuatro (sin inóculo, *Glomus aggregatum*, *G. deserticola* y *G. macrocarpum*) ya que disponía de mayor cantidad de nutrientes que la turba, mayor variedad de inóculos, mas cantidad de intercambio catiónico, buena capacidad de retención de agua y de nutrientes y mejores condiciones fisicoquímicas.

El mayor incremento de la raíz primaria la produjo *G. deserticola* y el de la raíz secundaria *G. macrocarpum*, lo que indica que estos dos inóculos produjeron cierta influencia sobre el cedro comparándolo con el control. Puede ser que *G. deserticola* produjera mayor cantidad de AIB que beneficiase la producción de raíces, pues según Ludwig- Müller (2000) la síntesis del AIB aumenta durante la colonización de las raíces de maíz con el hongo micorrízico *Glomus intrarradices*.

Clark (1996) encontró resultados similares en los efectos de los hongos *Glomus etunicatum*, *Glomus diaphanum* y *Glomus intrarradices* sobre el crecimiento y la colonización de maíz (*Zea mays* L.). La materia seca de los brotes y raíces y la longitud de la raíz fueron mayores para las plantas micorrizadas que para las no micorrizadas.

En nuestro caso los mayores porcentajes de sobrevivencia los produjeron *G. aggregatum* y *G. macrocarpum*, de nuevo este último vuelve a tener buena incidencia sobre el cedro. Si realizamos la comparación de los pesos secos de los cuatro tratamientos (excluyendo el del suelo que produjo valores mayores) vemos que los mejores efectos los produjeron *G. macrocarpum* seguido de *G. deserticola*. Tanto el peso de la raíz, como su longitud y el porcentaje de sobrevivencia fueron bastante óptimos. Hay que destacar que el cedro produce un sistema radicular abundante.

En otro caso, la media de los pesos fresco y seco de las plantas *Fragaria vesca* micorrizadas in vitro e in vivo con *G. fistulosum* determinadas cuatro meses después del establecimiento de los cultivos in vitro fueron $\pm 3,9$ g (micorrización in vivo) y $\pm 7,4$ g (micorrización in vitro) de peso fresco y $\pm 0,9$ (micorrización in vivo) y $\pm 1,8$ g (micorrización in vitro) de peso seco. Además el hongo MVA aumentó la calidad de las microplantas en y después de la aclimatación (Cassells y col., 1996).

En el mismo sentido plantas micropropagadas de *Musa* spp. inoculadas con *Acaulospora scrobiculata*, *Glomus clarum* o *Glomus etunicatum* durante la aclimatación, después de tres meses el área y la altura de las plantas eran aproximadamente 57% y 32% mayores respectivamente que las plantas no inoculadas. La materia seca de los brotes incrementó 45-64% en las plantas micorrizadas. Las plántulas inoculadas con *G. clarum* mostraron un incremento alrededor de 45% en los pesos frescos de brotes y raíces sobre las plantas no inoculadas (Yano-Melo y col., 1999).

Otro ejemplo son los hongos *Glomus fasciculatum* y *Glomus aggregatum* que fueron las mejores especies para la tasa de crecimiento más alta y para la producción total de materia seca en bambú (Ravikumar y col., 1997). De la misma manera plantas de tomate micorrizadas con *Glomus*

aggregatum, *Glomus fasciculatum*, *Glomus geosporum* y *Glomus sinuosum* exhibieron altura del brote y biomasa significativamente mayores que las plantas no micorrizadas (Edhatil y col., 1996).

En nuestro caso el inóculo ***G. aggregatum*** no produjo resultados notables, salvo por el porcentaje de sobrevivencia que fue del 100% al igual que el de *G. macrocarpum*. Es posible que *G. aggregatum* tenga poca compatibilidad con las raíces de *C. odorata* o que el sustrato turba haya inhibido su actividad colonizadora. De forma similar las raíces de *Daucus carota* inoculadas con *Glomus intrarradices* expresaron períodos de retraso de crecimiento más largos. El peso seco final de la raíz fue ligeramente menor para las raíces micorrizadas; además hubo un descenso significativo de la tasa de crecimiento (Jolicoeur, 2002). Del mismo modo la inoculación de plántulas micropropagadas de *Robinia pseudoacacia* con *Glomus* sp. no produjo efecto positivo en la tasa de supervivencia. La tasa de crecimiento de las plantas inoculadas fue significativamente menor que la del control. Esto puede suponer que algunos aislados de micorrizas actúan como hongos parasíticos muy al principio del crecimiento (Balla y col, 1998).

La bibliografía menciona varios casos de aclimatación de especies de plantas propagadas *in vitro* que han sido inoculadas con las MVA del género *Glomus* con diferentes resultados. Por ejemplo la inoculación de *Solanum tuberosum* procedente de cultivo *in vitro* con combinaciones duales de *Glomus* sp. con bacterias, en el sustrato turba fue exitosa en la respuesta de crecimiento de la planta (Vosátka y Gryndler, 2000). Plantas micropropagadas de *Malus pumila* L. transplantadas e inoculadas con *Glomus mosseae* fueron colonizadas fuertemente después de ciento doce días de crecimiento. Durante este período el contenido de fósforo del sustrato se redujo notablemente, esto puede explicar la intensa colonización de la raíz y el aumento de la toma de nutrientes (Schubert y Lubraco, 2000). Por otro lado en plantas de *Prunus dulcis*, *Prunus persica* x *Prunus dulcis* y *Prunus domestica* x *Prunus persica* micropropagadas y enraizadas *in vitro* e inoculadas con esporas de *Glomus mosseae* y *Scutellospora calospora* no se observaron efectos significativos en la sobrevivencia. *Glomus mosseae* infectó a *Prunus persica* x *P. dulcis* en la fase de transplante pero no colonizó a *Prunus domestica* x *Prunus persica* (Monticelli y col., 2000).

Nosotros no observamos especificidad absoluta de ningún inóculo con las raíces de *C. odorata*, las diferencias presentadas fueron graduales, al menos con las tres especies de *Glomus* que evaluamos. Ninguno de los cinco tratamientos sobresalió en todos los parámetros medidos con respecto a los otros. Mientras unos presentaron mayor altura de la planta, otros mostraron mayor sobrevivencia o longitud de la raíz.

Otra buena opción puede ser utilizar una combinación de tres inóculos al mismo tiempo como lo hicieron Estrada-Luna y col. (2000), ellos inocularon plántulas micropropagadas de *Psidium guajava* con una mezcla de *Glomus diaphanum*, *Glomus albidum* y *G. claroides* durante la aclimatación. La tasa de crecimiento relativo y el desarrollo de brotes más fuertes y vigorosos fue mayor en las plántulas micorrizadas que en las no micorrizadas seis a doce semanas después del transplante. Además las plántulas micorrizadas tuvieron 1,5 y 1,8 veces más hojas y área foliar respectivamente que las plántulas no micorrizadas. En las semanas catorce y dieciséis la tasa de crecimiento relativo de los brotes fue comparable entre las plantas micorrizadas y no micorrizadas, pero en la semana dieciocho la tasa de crecimiento relativo fue mayor para las plantas no

micorrizadas que para las micorrizadas. Sin embargo el crecimiento acumulativo de las plantas micorrizadas fue siempre mayor que las plantas no micorrizadas (Estrada-Luna, 2000).

VI. Conclusiones

1. Se han definido los protocolos de regeneración de plantas mediante cultivo *in vitro* de cuatro especies maderables de interés forestal para Colombia: *Cedrela odorata* (cedro rosado), *Cedrela montana* (cedro de montaña), *Chlorophora tinctoria* (dinde) y *Quercus humboldtii* (roble colombiano). El medio mineral de Murashige y Skoog es el más adecuado para la micropropagación de las tres primeras especies, mientras que el de Gresshoff y Doy lo es para el roble colombiano.
2. La capacidad de multiplicación de las especies estudiadas está relacionada con el medio mineral utilizado, la combinación de reguladores de crecimiento y, sobre todo el origen de la fuente de los explantos iniciales para el establecimiento de los cultivos. Las especies estudiadas tienen cierta capacidad de enraizamiento espontáneo en el medio de multiplicación (en presencia de citoquinina), que se ve incrementada con la aplicación de una auxina (ácido indol-butírico, AIB) a los brotes aislados al final del proceso de multiplicación. La cinética de enraizamiento no se ve alterada por la aplicación de la auxina. Hay diferencias en la capacidad de aclimatación de las diferentes especies estudiadas.
3. Los cultivos de cedro rosado toleran relativamente bien concentraciones de aluminio de $2,0 \text{ mgL}^{-1}$, sobre todo en los cultivos iniciales. A concentraciones mayores, la viabilidad disminuye, produciéndose deformaciones notables en hojas y tallos así como la proliferación exagerada de callo basal. Los explantos control muestran un fuerte crecimiento, posiblemente debido al efecto del bajo pH del medio utilizado (4.3).
4. El estudio histológico del proceso de enraizamiento en *Cedrela odorata* muestra que la diferencia entre los brotes del control y los tratados con AIB $1,0 \text{ mgL}^{-1}$ es mínima. Estos procesos los podemos dividir en la desdiferenciación, la inducción y la diferenciación morfológica. La fase de desdiferenciación ocurrió entre las doce y las treinta y seis horas después de iniciado el proceso de enraizamiento, y se caracterizó por el aumento de las divisiones mitóticas en diferentes estados (profase, metafase y anafase). La fase de inducción comprendió entre las cuarenta y ocho a setenta y dos horas que se caracteriza por la polarización de los grupos meristemáticos de los meristemoides de la raíz tanto en el cámbium vascular como en el floema; hasta el día cuatro cuando se distinguen bien los primordios de raíz con una clara polarización hacia el exterior del tallo, atravesando la corteza de éste. Finalmente la fase de diferenciación empieza a ocurrir también a partir del cuarto día en el cedro rosado, cuando se empiezan a diferenciar los haces vasculares de la nueva raíz adventicia y otros tejidos especializados como la caliptra, las células iniciales, la epidermis radical y la corteza.
5. El estudio del contenido endógeno del ácido indolacético durante el proceso de enraizamiento demuestra que hay un incremento significativo (tanto en los brotes tratados con AIB como en los del control) que va desde el día inicial de la experiencia hasta los 2-2,5 días precisamente cuando las células están en diferentes estados de divisiones mitóticas activas, llamada la fase de

desdiferenciación. Posteriormente, se produce una disminución paulatina en los brotes tratados y en el control hasta alcanzar los valores mínimos a los 4-5 días de iniciar el proceso coincidiendo con la fase de diferenciación morfológica.

6. En el caso del ensayo de micorrizas, el inóculo que produjo mejores resultados durante la aclimatación de *Cedrela odorata* en el invernadero fue *Glomus deserticola*, este produjo mayor número de raíces, número de hojas y longitud de la raíz principal. Los mayores porcentajes de sobrevivencia los produjeron *G. aggregatum* y *G. macrocarpum*. Sin embargo nosotros no observamos especificidad absoluta de alguno de los tres inóculos (*G. aggregatum*, *G. deserticola* y *G. macrocarpum*) con las raíces de *Cedrela odorata*, las diferencias fueron graduales. La escasa inoculación en las raíces de *Cedrela odorata* se produjo posiblemente por tres factores: el tipo de sustrato, la cantidad de inoculante (dos unidades por maceta), y por el tiempo de exposición en invernadero.

VII. Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA

- Agrell, D., Larsson, C.M., Larsson, M., MacKown, Ch.T. y Rufty, Jr. T.W. 1997. Initial kinetics of ^{15}N nitrate labelling of root and shoot N fractions of barley cultured at different relative addition rates of nitrate-N. **Plant Physiol. Biochem.** **35** (12). P. 923-931.
- Ahmadi, M. y Baker, D.A. 2000. Identification and quantification of the major endogenous cytokinins in pistachio seedlings. **Plant Growth Regulation** **32**: 351-357.
- Ajithkumar, D. y Seeni, S. 1998. Rapid clonal multiplication through *in vitro* axillary shoot proliferation of *Aegle marmelos* (L.) Corr., a medicinal tree. **Plant Cell Reports** **17**: 422-426.
- Al-Bahrany, A.M. y Al-Khayri, J.M. 2003. Micropropagation of grey mangrove *Avicennia marina*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **72**: 87-93.
- Aldana, G. 1988. Razones para preferir el uso de tableros aglomerados por madera maciza. En: **El Mueble y la Madera. Año 4, No.18. Bogotá Colombia.**
- Alegre, J., Toledo, J.L., Martínez, A., Mora, O. y De Andrés, E.F. 1998. Rooting ability of *Dorycnium* spp. under different conditions. **Scientia Horticulturae** **76**. P. 123-129.
- Alemanno, L., Berthouly, M. y Michaux-Ferrière, N. 1996. Histology of somatic embryogenesis from floral tissues cocoa. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **46**: 187-194.
- Altamura, MM. 1996. Root histogenesis in herbaceous and woody explants cultured *in vitro*. A critical review. **Agronomie** **16**, 589-602.
- Alvarez, R., Nissen, S.J. y Sutter, E.G. 1989. Relationship between indole-3-acetic acid levels in apple (*Malus pumilla* Mill) rootstocks cultured *in vitro* and adventitious root formation in the presence of indole-3-butyric acid. **Plant Physiol.** **89**: 439-443.
- Amin, M.N. y Jaiswal, V.S. 1987. Rapid clonal propagation of guava through *in vitro* shoot proliferation on nodal explants of mature trees. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **9**: 235- 243. **Netherlands.**
- Anandi, S., Thangavel, P. y Subburam, V. 2002. Influence of aluminium on the restoration potential of a terrestrial vascular plant, *Portulaca oleracea* L. as a biomonitoring tool of fresh water aquatic environments. **Environmental Monitoring and Assessment** **78**: 19-29.
- Andersson, M.E. 1993. Aluminium toxicity as a factor limiting the distribution of *Allium ursinum* (L.). **Annals of Botany, Volume 72, No. 6. P. 607-611.**
- Andreae, W.A. y Good, N.E. 1955. The formation of indoleacetylaspatic acid in pea seedlings. **Plant Physiol** **30**: 380.
- Andreae, W.A. y Van Ysselstein, M.W.H. 1956. Studies on 3-indoleacetic acid metabolism, III. The uptake of 3-indoleacetic acid by pea epicotyls and its conversion to 3-indoleacetylaspatic acid. **Plant Physiol.** **31**: 235.
- Arboleda, S. 1998. Los indeterminados costos de la madera. En: **El mueble y la madera. Año 4, No. 18. Bogotá, Colombia.**
- Arellano, G. 2005. Aspectos bioquímicos y moleculares del enraizamiento *in vitro* de brotes con características juveniles y adultas de *Quercus robur* L. **Memoria presentada para obtener el grado de doctor en Producción Vegetal. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Universidad Santiago de Compostela. España.**
- Arrillaga, I., Marzo, T. y Segura, J. 1991. Micropropagation of juvenile and adult *Sorbus domestica* L. **Plant Cell Tissue and Organ Culture** **27**: 341- 348. **Netherlands.**
- Auer, C.A., Motyka, V., Brezinová, A. y Kamírek, M. 1999. Endogenous cytokinin accumulation and cytokinin oxidase activity during shoot organogenesis of *Petunia hybrida*. **Physiologia Plantarum** **105**: 141-147.
- Azcón-Aguilar, C., Cantos, M., Troncoso, A. y Barea, J.M. 1997. Beneficial effect of arbuscular mycorrhizas on acclimatization of micropropagated cassava plantlets. **Scientia Horticulturae** **72**. P. 63-71.

- Bajaj, Y.P.S. 1986. Biotechnology of Tree Improvement for rapid propagation and Biomass Energy Production. En: **Biotechnology in Agriculture and Forestry. Trees I** (Ed. Bajaj, Y.P.S.). Springer-Verlag. Berlin. P. 1-23.
- Bak, S. y Feyereisen, R. 2001. The involvement of two P450 enzymes, CYP83B1 and CYP83A1, in auxin homeostasis and glucosinolate biosynthesis. **Plant Physiol** **127**: 108-118.
- Baker, D.A. 2000. Vascular transport of auxins and cytokinins in *Ricinus* 2000. **Plant Growth Regulation** **32**: 157-160.
- Balla, I., Vértessy, J., Köves-Péchy, K., Vörös, I., Bujtós, Z. y Bíró, B. 1998. Acclimation results of micropropagated black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) improved by symbiotic micro-organisms. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **52**: 113-115.
- Balla, J., Blazková, J., Reinöhl, V. y Procházka, S. 2002. Involvement of auxin and cytokinins in initiation of growth of isolated pea buds. **Plant Growth Regulation** **38**: 149-156.
- Ballester, A., San-José, M.C., Vidal, N., Fernández-Lorenzo, J.L. y Viéitez, A.M. 1999. Anatomical and biochemical events during *in vitro* rooting of microcuttings from juvenile and mature phases of chesnut. **Annals of Botany** **83**. P. 619-629.
- Bandurski, R.S. y Schultze, A. 1977. Concentration of Indole-3-acetic acid and its derivation in plants. **Plant Physiol.** **60**: 211-213.
- Bandurski, R.S. 1980. Homeostatic control of concentrations of indole-3-acetic acid. En: **Plant Growth Substances 1979**. F. Skoog, ed., Springer-Verlag, Berlin.
- Bandurski, R.S., Cohen, J.D., Slovin, J.P. y Reinecke, D.M. 1995. Hormone biosynthesis and metabolism. En: **Plant Hormones: Physiology, Biochemistry and Molecular Biology** (P.J. Davies ed). Kluwer Academic Publishers. Netherlands. Pág. 39-65.
- Bangerth, F., Li, Ch.J. y Gruber, J. 2000. Mutual interaction of auxin and cytokinins in regulating correlative dominance. **Plant Growth Regulation** **32**: 205-217.
- Baraldi, R., Bertazza, G., Predieri, S., Bregoli, A.M., Cohen, J.D. 1993. Uptake and metabolism of indole-3-butyric acid during the *in vitro* rooting phase in pear cultivars (*Pyrus communis*). **Acta Hort.** **329**: 289-291.
- Barceló, A.R., Pedreno, M.A., Ferrer, M.A., Sabater, F. y Muñoz, R. 1990. Indole-3-methanol is the main product of the oxidation of indole-3-acetic-acid catalyzed by 2 cytosolic basic isoperoxidases from *Lupinus*. **Planta** **181**: 448-450.
- Barker, S.J. y Tagu, D. 2000. The roles of auxins and cytokinins in Micorrhizal symbioses. **Journal of plant growth regulation** **19** (2). P. 144-154.
- Barlier, I., Kowalczyk, M., Marchant, A., Ljung, K., Bhalerao, R., Bennett, M., Sandberg, G. y Bellini, C. 2000. The use SUR2 gene of *Arabidopsis thaliana* encodes the cytochrome P450 CYP83B1, a modulator of auxin homeostasis. **Proc. Natl Acad Sci USA** **97**: 14819-14824.
- Barlow, P.W. 1986. Adventitious roots of whole plants: their forms, functions, and evolution. En: **New Root Formation in Plants and Cuttings** (Ed. Michel B. Jackson). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. P. 67-110.
- Barlow, P.T. y Palma, B. 1997. The place of roots in plant development. En: **Biology of Root Formation and Development**. (Eds. A. Altman y Y. Waisel). Plenum Press. New York. P. 1-11.
- Barnabás, B., Kovács, G., Hegedús, A., Erdei, S. y Horváth, G. 2000. Regeneration of doubled haploid plants from *in vitro* selected microspores to improve aluminium tolerance in wheat. **J. Plant Physiol.** Vol. **156**. P. 217-222.
- Barrat, N.M., Dong, W., Gage, D.A., Magnus, V. y Town Ch.D. 1999. Metabolism of exogenous auxin by *Arabidopsis thaliana*: Identification of the conjugate N α -(indol-3-ylacetyl)-glutamine and initiation of a mutant screen. **Physiologia Plantarum** **105**: 207-217.
- Bartel, B. y Fink, G.R. 1994. Differential regulation of auxin producing nitrilase gene family in *Arabidopsis thaliana*. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **91**: 6649-6653.
- Bartel, B. 1997. Annu. Rev. Plant Physiol. **Plant Mol. Biol.** **48**, 51.

- Bartel, B., Le Clere, S., Magidin, M. y Zolman, B.K. 2001. Inputs to the active indole-3-acetic acid pool: De Novo synthesis, conjugate hydrolysis, and indole-3-butyric acid β -oxidation. 2001. **Journal Plant Growth Regulation**, **20** : 198-216.
- Bartholomäus, A., De la Rosa, A., Santos, J.O., Acero, L.E. y Werner, M. 1995. **El manto de la tierra. Flora de los Andes. CAR, GTZ y KFW. Editorial Lerner Ltda. P. 332.**
- Bartling, D., Seedorf, M., Mithöfer, A., Weiler, E.W. 1992. Cloning and expression of an *Arabidopsis* nitrilase which can convert indole-3-acetonitrile to the plant hormone, indole-3-acetic acid. **Eur. J. Biochem** **205**: 417-424.
- Basak, U.C.; Das, A.B. y Das, P. 2000. Rooting response in stem cuttings from five species of mangrove trees: effect of auxins and enzyme activities. **Marine Biology** **136**: 185-189.
- Basto, S.I.M. 1995. Evaluación del potencial organogénico *in vitro* de material juvenil y adulto rejuvenecido de *Cedrela montana* Turcz. **Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Bióloga. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia.**
- Bauer, G.A. y Berntson, G.M. 2001. Ammonium and nitrate acquisition by plants in response to elevated CO₂ concentration: the roles of root physiology and architecture. **Tree Physiol** **21** (2/3). P. 137-144.
- Beck, S.L., Dunlop, R. y Van Staden, J. 2000. Meristem culture of *Acacia mearnsii*. **Plant Growth Regulation** **32**: 49-58.
- Becking, M.L. 1994. Sinecología, diversidad y conservación de la vegetación altoandina en el sur de la cordillera occidental, departamento del Cauca. En: **Memorias I Congreso Nacional sobre Biodiversidad. Universidad del Valle, Instituto de Estudios del Pacífico, Ministerio del Medio Ambiente y Proyecto Biopacífico. Cali, Colombia. P. 125- 133.**
- Beemster, G.T. y Baskin, T.I. 2000. Stunted plant 1 mediates effects of cytokinin, but not of auxin, on cell division and expansion in the root of *Arabidopsis*. **Plant Physiol.** **124** (4). P. 1718-1727.
- Bejoy, M. y Hariharan, M. 1992. *In vitro* plantlet differentiation in *Annona muricata*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **31**: 245-247.
- Berger, T.W. y Glatzel, G. 2001. Response of *Quercus petraea* seedlings to nitrogen fertilization. **Forest Ecology and Management** **149**: 1-14.
- Bergman, L., Von Arnold, S. y Eriksson, T. 1985. Effects of N⁶-benzyladenine on shoots of five willow clones (*Salix* spp.) cultures *in vitro*. **Plant Cell Tissue Organ Culture** **4**. 135- 144. **Netherlands.**
- Berleth, T. y Sachs, T. 2001. Plant morphogenesis: long-distance coordination and local patterning. **Current Opinion in Plant Biology**, **4**: 57-62.
- Berthouly, M. y Michaux-Ferriere, N.M. 1996. High frequency somatic embryogenesis in *Coffea canephora*. Induction conditions and histological evolution. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **44**: 169-176.
- Betancourt, A.B. 1999. **Silvicultura especial de árboles maderables tropicales. Instituto cubano del libro. Editorial Científico – Técnica. La Habana, Cuba. P.**
- Bhojwani, S.S. y Razdan, M.K. 1983. **Plant Tissue Culture: Theory and Practice Development in Crop Science (5). Elsevier Science Publishers B.V. P. Amsterdam. 502.**
- Bi, Y.L., Li, X.L., Christie, P., Hu, Z.Q. y Wong, M.H. 2003. Growth and nutrient uptake of arbuscular mycorrhizal maize in different depths of soil overlying coal fly ash. **Chemosphere** **50**. P. 863-869.
- Bialek, K., Meudt, W.J. y Cohen, J.D. 1983. Indole-3-acetic acid (IAA) and IAA conjugates applied to bean stem sections. IAA content and the growth response. **Plant Physiol.** **73**. P. 130-134.
- Bialek, K. y Cohen, J.D. 1986. Isolation and partial characterization of the major amide-linked conjugate of indole-3-acetic acid from *Phaseolus vulgaris* L. **Plant Physiol.** **80**. P. 99-104.
- Bisse, J. 1988. **Arboles de Cuba. Ministerio de Cultura. Editorial Científico-Técnica. Cuba. P. 217.**
- Blakesley, D., Hall, J.F., Weston, G.D. y Elliott, M.C. 1985. Endogenous plant growth substances and the rooting of *Phaseolus aureus* cuttings. In **Abst. 12th Int. Conf. Plant Growth Subs."** **Heidelberg.**

Blakesley, D., Weston, G.D. y Hall, J.F. 1991. The role of endogenous auxin in root initiation. I., Evidence from studies on auxin application, and analysis of endogenous levels. **Plant Growth Regul.** **10:** 341-353.

Blakesley, D. y Chaldecott, M.C. 1993. The role of endogenous auxin in root initiation, Part II: Sensitivity and evidence from studies on transgenic plant tissue. **Plant Growth Reg.**

Blakesley, D. 1994. Auxin metabolism and adventitious root initiation. En: **Biology of adventitious root formation**. Edited by T.D. Davis and B.E. Haissig, Plenum Press. New York. P. 143-154.

Blancaflor, E.B., Zhao, L y Harrison, M.J. 2001. Microtubule organization in root cells of *Medicago truncatula* during development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis with *Glomus versiforme*. **Protoplasma** **217 (4):** 154-65.

Blazkova, A., Sotta, B., Tranvan, H., Maldiney, R., Bonnet, M., Einhorn, J., Kerhoas, L. y Miginiac, E. 1997. Auxin metabolism and rooting in young and mature clones of *Sequoia sempervirens*. **Physiol. Plant.** **99:** 73-80.

Blazich, F.A. 1988. Chemicals and formulations used to promote adventitious rooting. En: **Adventitious Root Formation in Cuttings**. **Advances in Plant Sciences Series. Volumen 2.** Editor General T.R. Dudley. Ed. T.D. Davis, B.E. Haissig, N. Sankhla.

Bollmark, M. y Eliasson, L. 1990. A rooting inhibitor present in Norway spruce seedlings grown at high irradiance a putative cytokinin. **Physiologia Plantarum** **80:** 527-533.

Bonga, J.M. 1977. Applications of tissue culture in forestry. En: **Applied and Fundamental Aspects of Plant Cell, Tissue, and Organ Culture**. J. Reinert, Y.P.S. Bajaj, eds. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. P. 93-108.

Bonga, J.M. 1982. Vegetative propagation in relation to juvenility, maturity and rejuvenation. En: **Tissue culture in forestry**. Bonga, J.M.; Durzan, D.J. (Eds.). Martinus Nijhoff/W. Junk Publishers. The Hague. 387-412.

Bonga, J.M. 1987. Clonal Propagation of mature trees: Problems and possible solutions. En: **Cell and Tissue Culture in Forestry. Vol. 1. General Principles and Biotechnology** (Ed. J.M. Bonga y Don J. Durzan). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. P. 249-271.

Bon, M.C., Bonal, D., Goh, D.K. y Monteuiis, O. 1998. Influence of different macronutrient solutions and growth regulators on micropropagation of juvenile *Acacia mangium* and *Paraserianthes falcataria* explants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **53:** 171-177.

Boscolo, P.R.S., Menossi, M. y Jorge, R.A. 2003. Aluminum-induced oxidative stress in maize. **Phytochemistry** **62. P.** 181-189.

Bouza, L., Jacques, M., Sotta, B. y Miginiac, E. 1993. The differential effect of N⁶-benzyladenine and N⁶-(Δ^2 -isopentenyl)-adenine on *in vitro* propagation of *Paeonia suffruticosa* Andr. Is correlated with different hormone contents. **Plant Cell Reports** **12. P.** 593-596.

Brault, M. y Maldiney, R. 1999. Mechanisms of cytokinin action. **Plant Physiol. Biochem.** **37 (5).** P. 403-412.

Brown C.L. y Sommer, H.E. 1982. Vegetative propagation of dicotyledonous trees. En: **Forestry Sciences Tissue Culture in Forestry**. (Ed. J.M. Bonga y D.J. Durzan). Martinus Nijhoff/ Dr W. Junk Publishers. The Hague. P. 420.

Buee, M., Rossignol, M., Jauneau, A., Ranjeva, R. y Becard, G. 2000. The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. **Mol. Plant Microbe Interact** **13 (6):** 693-8.

Burch, L.R. y McGau, B.A. 1993. Citoquininas. En: **Fisiología y Bioquímica Vegetal** (Ed. J. Azcón-Bieto y M. Talón). Interamericana-McGraw-Hill. Nueva York. P. 319-326.

Burns, J.A. y Wetzstein, H.Y. 1998. Embryogenic cultures of the leguminous tree *Albizia julibrissin* and recovery of plants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **54:** 55-59.

Caboni, E., Lauri, P., Tonelli, M.G., Iacovacci, P. y Damiano, C. 1997. Biochemical and molecular factors affecting *in vitro* rooting ability in almond. En: **Biology of Root Formation and Development** (Ed. Altman, A. y Waisel, Y.). Plenum Press. New York. P. 117-124.

Calba, H., Cazevieuille, P. y Jaillard, B. 1999. Modelling of the dynamics of Al and protons in the rhizosphere of maize cultivated in acid substrate. **Plant and Soil** **209:** 57-69.

- Calle, R. 1994. Régimen de protección y regulación de los recursos genéticos en Colombia y el pacto andino. En: **Memorias I Congreso Nacional sobre Biodiversidad. Universidad del Valle, Instituto de Estudios del Pacífico, Ministerio del Medio Ambiente y Proyecto Biopacífico. Cali, Colombia. P. 35-47.**
- Cambridge, A.P. and Morris, D.A. 1996. Transfer of exogenous auxin from the ploem to the polar auxin transport pathway in pea (*Pisum sativum* L.). **Planta** **199**: 583-588.
- Capuana, M. y Deberg, P.C. 1997. Improvement of the maturation and germination of horse chestnut somatic embryos. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **48**: 23-29.
- Carlson, W.C. y Larson, M.M. 1977. Changes in auxin and cytokinin activity in root of red oak (*Quercus rubra*) seedlings during lateral root formation. **Physiology of plants** (41): 162-166.
- Carpita, N.C. 1994. Importancia especial de la pared celular en el desarrollo de las plantas. En: **Fisiología Vegetal (Ed. F.B. Salisbury y C.W. Ross). Grupo Editorial Iberoamérica. México. P. 368-371.**
- Carrizosa, M.S.P. y Serrano, C.M. 1997. Propagación de *Cedrela montana* por cultivo *in vitro*. En: **Memorias IV Congreso La Investigación en la Universidad Javeriana. Tomo I. P. 255-260. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia.**
- Cassells, A.C, Mark, G.L. and Periappuram, C. 1996. Establishment of arbuscular mycorrhizal fungi in autotrophic strawberry cultures *in vitro*. Comparison with inoculation of microplants *in vivo*. **Agronomie**, **16**, 625-632.
- Castro, R.D., Restrepo, E.A., Montoya, P.N., Giraldo, C.M., Díaz, G.J., Ríos, G.D. y Ochoa, I.O. 1997. Propagación, conservación de germoplasma *in vitro* y adaptación ambiental de especies forestales nativas. **Convenio de investigación financiado por Colciencias. Universidad Católica de Oriente. Río Negro, Antioquia, Colombia.**
- (CDMB) Corporación de defensa de la meseta de Bucaramanga y (ACDI) Agencia Canadiense para el Desarrollo Internacional. 1989. **Guía de Reforestación. Bucaramanga (Colombia). P. 142.**
- Clark, R.B. y Zeto, S.K. 1996. Growth and root colonization of mycorrhizal maize grown on acid and alkaline soil. **Soil Biology and Biochemistry. Volume 28. No. 10-11. P. 1505-1511.**
- Clune, T.S. y Copeland, L. 1999. Effects of aluminium on canola roots. **Plant and Soil** **216**: 27-33.
- Cohen, J.D. 1982. Identification and quantitative analysis of indole-3-acetyl-L-aspartate from seeds of *Glycine max* L. **Plant Physiol.** **70**: 749-753.
- Cohen, J.D. y Bandurski, R.S. 1982. Chemistry and physiology of the bound auxins. **Ann. Rev. Plant. Physiol.** **33**: 403-430.
- Cohen, J.D. y Slovin, J.P. 1999. Recent research advances concerning indole-3-acetic acid metabolism. En: **Mechanism of Action of Plant Hormones. Edited by Palme K., Walden R., Schell J. Berlin: Springer. In press.**
- Collet, C.F., Nowbuth, L. y Le, C. 1994. Comparison of easy-to-root Jork and Cepiland and the difficult-to-root EMLA 9 and Lancep *Malus* rootstocks *in vitro*. **Adv. Hortic. Sci.** **8**: 45-48.
- Collet, L., de León, C., Kollmeier, M., Schmohl, N. y Horst, W.J. 2002. **J. Plant. Nutr. Soil Sci.** **165**. P. 357-365.
- CONIF. 1996. Investigación forestal del Pacífico colombiano. **Memorias Técnicas de la Investigación de de CONIF-INDERENA 1981-1995. Serie Técnica No. 33. Corporación Nacional de Investigación y Fomento Forestal. Bogotá. Colombia.**
- Cooney, T.P. y Nonhebel, H.M. 1991. Biosynthesis of indole-3-acetic acid in tomato shoots: measurement, mass spectral identification and incorporation of H₂ from H₂O₂ into indole-3-acetic acid, D- and L-Tryptophan, indole-3-pyruvic acid and tryptamina. **Planta** **184**: 368-376.
- Cramer, Ch.S. y Bridgen, M.P. 1997. Somatic embryogenesis and shoot proliferation of *Mussaenda* cultivars. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **50**: 135-138.
- Chakraborti, S.P., Vijayan, K., Roy, B.N. y Qadri, S.M.H. 1998. *In vitro* induction of tetraploidy in mulberry (*Morus alba* L.). **Plant Cell Reports** **17**: 799-803.

- Chalupa, V. 1987. Temperature. In **Cell and Tissue culture in Forestry. Volume 1. General Principles and Biotechnology** (Ed. J.M. Bonga y Don J. Durzan). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. P. 142-151.
- Chamarro, J., Östin, A. y Sandberg, G. 2001. Metabolism of indole-3-acetic acid by orange (*Citrus sinensis*) flavedo tissue during fruit development. **Phytochemistry** 57: 179-187.
- Chang, S.H., Ho, Ch.K., Tsai, J.Y. y Chen, G.F. 1998. Micropropagation of *Taxus mairei* seedlings at different ages and recoverability of their plagiotropic shoots. 1998. **Taiwan Journal of Forest Science**. Vol 13, No. 1.
- Chang, S.H., Ho, C.K., Chen, Z.Z. y Tsay, J.Y. 2001. Micropropagation of *Taxus mairei* from mature trees. **Plant Cell Reports** 20: 496-502.
- Chang, S.Ch. 2003. Seedling sweetgum (*Liquidambar styraciflua* L.) half-sib family response to N and P fertilization: growth, leaf area, net photosynthesis and nutrient uptake. **Forest Ecology and Management** 173. P. 281-291.
- Cheng, B., Peterson, C.M. y Mitchell, R.J. 1992. The role of sucrose, auxin and explant source on *in vitro* rooting of seedling explants of *Eucalyptus sideroxylon*. **Plant Science**, Vol. 87, No. 2. P. 207-214.
- Chen, H.J., Bollmark, M. y Eliasson, L. 1996. Evidence that cytokinin controls bud size and branch form in Norway spruce. **Physiologia Plantarum** 98: 612-618.
- Chiantante, D., Sarnatore, M., Di Iorio, A., Tamasi, E. Y Scippa, G. 2000. **Influence of slope on root architecture in woody plants: morphological and biochemical investigations**. Rhizopon. Third International Symposium on adventitious root formation. Netherlands.
- Choi, Y.E., Kim, J.W. y Soh, W.Y. 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration from suspension cultures of *Acanthopanax koreanum* Nakai. **Plant Cell Reports** 17: 84-88.
- Choi, Y.E., Yang, D.Ch. y Choi, K.T. 1998. Induction of somatic embryos by macrosalt stress from mature zygotic embryos of *Panax ginseng*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 52: 177-181.
- Choi, Y.E., Yang, D.C., Park, J.C. Soh, W.Y. y Choi, K.T. 1998. Regenerative ability of somatic single and multiple embryos from cotyledons of korean ginseng on hormone-free medium. **Plant Cell Reports** 17: 544-551.
- Chou, Ch.Ch., Chen, W.S., Huang, K.L., Yu, H.Ch. y Liao, L.J. 2000. Changes in cytokinin levels of *Phalaenopsis* leaves at high temperature. **Plant Physiol. Biochem.** 38 (4). P. 309-314.
- Da Costa Nunes, E., Volkmer de Castilho, C., Netto Moreno, F. y Viana, A.M. 2002. *In vitro* culture of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 70: 259-268.
- Davies, M.J., Hipps, N.A. y Kingswell, G. 2002. The effects of indole-3-butyric acid root dips on the root development and shoot growth of transplanted *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. seedlings. **Journal of Horticultural Science & Biotechnology** 77 (2). P. 209-216.
- Declerck, S., Risede, J.M y Delvaux, B. 2002. Greenhouse response of micropropagated bananas inoculated with *in vitro* monoxenically produced arbuscular mycorrhizal fungi. **Scientia Horticulturae** 93. P. 301-309.
- De Graaf, M.C.C., Bobbing, R., Verbeek, P.J.M. y Roelofs, J.G.M. 1996. Aluminium toxicity and tolerance in three heathland species. En: **Water, Air and Soil Pollution**. Vol. 98. No. 3-4. P. 229-239.
- De Klerk, G.J., Keppel, M., Ter, J.B. y Meekes, H. 1995. Timing of the phases in adventitious root formation in apple microcuttings. **Jornal of Experimental Botany**, Vol. 46, No. 289. P. 965-972.
- De Klerk, G.J., Ter Brugge, J. y Marinova, S. 1997. Choice of auxin for *in vitro* rooting of apple microcuttings. En: **Biology of Root Formation and Development** (Ed. Altman, A. y Waisel, Y.). Plenum Press. New York. P. 111-116.
- De Klerk, G.J., Brugge J.T. y Marinova, S. 1997. Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthaleneacetic acid during adventitious root formation *in vitro* in *Malus* "Jork 9". **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 49: 39-44.
- De Klerk, G.J. 2002. Rooting of microcuttings: Theory and practice. **In vitro Cell. Dev. Biol. Plant.** 38: 415-422.
- Departamento Nacional de Planeación. 1996. Política de bosques. **Documento CONPES 2834- Min-Ambiente DNP- UPA. Santa Fé de Bogotá.**

- del Valle, I. 1985. Crecimiento del roble (*Tabebuia rosea*) y del cedro (*Cedrela odorata*) en la región de Urabá, Antioquia. **Universidad Nacional de Colombia. Medellín. Facultad de Agronomía. 106 p.**
- De Riek, J., Piqueras, A. y Debergh, P.C. 1997. Sucrose uptake and metabolism in a double layer system for micropropagation of *Rosa multiflora*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture 47: 269-278.**
- De Wit, H.A., Mulder, J., Nygaard, P.H. y Aamlid, D. 2001. Testing the aluminium toxicity hypothesis: A field manipulation experiment in mature spruce forest in Norway. **Water, Air, and Soil Pollution 130: 995-1000.**
- Dewitte, W. y Van Onckelen, H. 2001. Probing the distribution of plant hormones by immunocytochemistry. **Plant Growth Regulation 33: 67-74.**
- Díaz-Sala, C., Rey, M. y Rodríguez, R. 1990. *In vitro* establishment of a cycloclonal chain from nodal segments and apical buds of adult hazel (*Corylus avellana* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture 23: 151- 157. Netherlands.**
- Dietrich, J.T., Kaminek, M., Blevins, D.G., Reinbott, T.M. y Morris, R.O. 1995. Changes in cytokinins and cytokinin oxidase activity in developing maize kernels and the effects of exogenous cytokinin on kernel development. **Plant Physiol Biochem 33 (3). P. 327-336.**
- Dixon, R.K. y Marx, D.H. 1987. Micorrhizae. En: **Cell and Tissue Culture in Forestry. Forestry Sciences. Vol. 2. Specific Principles and Methods: Growth and Developments. Ed. J.M. Bonga y Don J. Durzan.**
- Druart, Ph. y Gruselle, R. 1986. Fruit Trees. Plum (*Prunus domestica*). In **Biotechnology in Agriculture and Forestry. Trees I (Ed. Y.P.S. Bajaj). Springer-Verlag. Berlin. P. 130-154.**
- D'Silva, I. y D'Souza, L. 1992. *In vitro* propagation of *Anacardium occidentale* L. **Plant Cell Tissue and Organ Culture 29: 1-6. Netherlands.**
- Dumas, E. y Monteuis, O. 1995. *In vitro* rooting of micropropagated shoots from juvenile and mature *Pinus pinaster* explants : influence of activated charcoal. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture 40: 231-235.**
- Durzan, D.J. 1985. Tissue culture and improvement of woody perennials: An overview. En: **Tissue Culture in Forestry and Agriculture. Ed. R.R. Henke, K.W. Hughes, M.J. Constantin, A. Hollaender. Ed. Técnico C.M. Wilson. Plenum Press. New York.**
- Dutra, P.V., Abad, M., Almela, V. y Agusti, M. 1996. Auxin interaction with the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck & Smith improves vegetative growth of two *Citrus* rootstocks. En: **Scientia Horticulturae. Volume 66, No. 1-2. P. 77-83.**
- Edathil, T.T., Manian, S. y Udaiyan, K. 1996. Interaction of multiple VAM fungal species on root colonization, plant growth and nutrient status of tomato seedlings (*Lycopersicon esculentum* Mill). En: **Agriculture, Ecosystems y Environment. Volume 59. No. 1-2. P. 63-68.**
- Engelmann, F. 1997. *In Vitro* Conservation Methods. En: **Biotechnology and Plant Genetic Resources. Conservation and Use. Biotechnology in Agriculture Series: 19. (Ed. J.A. Callow, B.V. Ford-Lloyd y H.J. Newbury). CAB International. U.K. P. 119-161.**
- Epstein, E., Cohen, J.D., Bandurski, R.S. 1980. Concentration and metabolic turnover of indoles in germinating kernels of *Zea mays* L. **Plant Physiol. 65, 415-421.**
- Epstein, E. y Lavee, S. 1984. Conversion of indole-3-butyric acid to indole-3-acetic acid by cuttings of grapevine (*Vitis vinifera*) and olive (*Olea europea*). **Plant Cell Physiol. 25: 697-703.**
- Epstein, E., Baldi, B.G. y Cohen, J.D. 1986. Identification of indole-3-acetylglutamate from seeds of *Glycine max* L. **Plant Physiol 80: 256-258.**
- Epstein, E., Muszkat, L. y Cohen, J.D. 1988. Identification of indole-3-butyric acid (IBA) in leaves of cypress and maize by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Alon Hanotea- 42: 917-919. (In Hebrew).**
- Epstein, E. y Ludwig-Müller, J. 1993. Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport. **Physiologia Plantarum 88: 382-389.**
- Ermel, F.F., Vizoso, S., Charpentier, J-P. y Jay-Allemand, C. 2000. Mechanisms of primordium formation during adventitious root development from walnut cotyledon explants. **Planta. 211: 563-574.**
- Esau, K. 1953. **Plant Anatomy. Chapman and may. London.**

Esau, K. 1985. **Anatomía Vegetal. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. P. 779.**

Eshed, Y. y Riov, J. 1997. Role of endogenous cytokinins in rooting of etiolated and light grown oak cuttings. En: **Biology of Root Formation and Development (Ed. Altman, A. y Waisel, Y.). Plenum Press. New York. P. 160-161.**

Estrada-Luna, A.A., Davies, Jr., F.T. y Egilla, J.N. 2000. Mycorrhizal fungi enhancement of growth and gas exchange of micropropagated guava plantlets (*Psidium guajava* L.) during *ex vitro* acclimatization and plant establishment. En: **Mycorrhiza 10. P. 1-8.**

Fahn, A. 1982. **Anatomía Vegetal. Ediciones Pirámide, S.A. Madrid. P. 599.**

FAO. 1999. Directrices para la ordenación de los bosques tropicales. 1. Producción de madera. Basado en el trabajo de Ian Armitage. **Estudio FAO Montes No. 135. Roma. P. 278.**

Favre, J.M. y Juncker, B. 1987. *In vitro* growth of buds taken from seedlings and adult plant material in *Quercus robur* L. **Plant Cell Tissue and Organ Culture 8: 49- 60. Netherlands.**

Feito, I., Gea, M.A., Fernández, B. y Rodríguez, R. 1996. Endogenous plant growth regulators and rooting capacity of different walnut tissues. **Plant Growth Regul. 19: 101-108.**

Ford, Y.Y., Bonham, E.C., Cameron, R.W.F., Blake, P.S., Judd, H.L. y Harrison-Murray, R.S. 2001. Adventitious rooting: examining the role of auxin in easy and a difficult to root plant. **Plant Growth Regulation 00: 1-11.**

Forero, G. Jorge. 1996. Invertir en el bosque un negocio del futuro. En: **El Mueble y la Madera. Año 3, No. 12. Bogotá, Colombia.**

Fortuna, P., Citeresi, S., Morini, S., Giovannetti, M., y Loreti, F. 1992. Infectivity and effectiveness of different species of arbuscular mycorrhizal fungi in micropropagated plants of Mr S 2/5 plum rootstock. **Agronomie. 12, 825-829.**

Franco, C.R., Chagas, A.P. y Jorge, R.A. 2002. Ion-exchange equilibria with aluminum pectinates. **Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects 204. P. 183-192.**

Friml, J. y Palme, K. 2002. Polar auxin transport- old questions and new concepts. **Plant Molecular Biology, 49: 273-284.**

Galuszka, P., Frébort, I., Sebel, M. y Pec, P. 2000. Degradation of cytokinins by cytokinin oxidases in plants. **Plant Growth Regulation 32: 315-327.**

García, M.L. 1992. Niveles endógenos de ácido indol-3-acético e indol-3-acetil-aspartato durante el proceso de enraizamiento de tallos juveniles de aguacate (*Persea americana* M.) cultivados *in vitro*. **Memoria presentada para optar al grado de doctora en Ciencias Biológicas. Universidad de Málaga. España.**

García, J.L., Troncoso, J. Sarmiento, R. y Troncoso, A. 2002. Influence of carbon source and concentration on the *in vitro* development of olive zygotic embryos and explants raised from them. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture 69: 95-100.**

Garin, E., Grenier, E. Grenier-De March, Gh. 1997. Somatic embryogenesis in wild cherry (*Prunus avium*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture 48: 83-91.**

Garrido, G., Cano, E.A., Acosta, M. y Sánchez-Bravo, J. 1998. Formation and growth of roots in carnation cuttings: influence of cold storage period and auxin treatment. **Scientia Horticulturae 74. P. 219-231.**

Gaspar, T., Moncousin, C. y Greppin, H. 1990. The place and role of exogenous and endogenous auxin in adventitious root formation. En: **Intracellular communications in plants, B. Millet and H. Greppin, eds, INRA, Paris.**

Gaspar, T., Claire, K. y Hausman, J.F. 1997. Indissociable chief factors in the inductive of adventitious rooting. **Biology of Root Formation and Development. (Ed. A. Altman y Y. Waisel). P. 55-63.**

Gaspar, T., Kevers, C., Faivre-Rampant, O., Crevecoeur, M., Penel, Cl., Greppin, H. y Dommes, J. 2003. Changing concepts in plant hormone action. **In vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 39: 85-106.**

Geneve, R.L. y Kester, S.H. 1991. Polyamines and adventitious root formation in the juvenile and mature phases of english ivy. **J. Exp. Bot. 42: 71-75.**

- Gilroy, S. y Jones, D. 2000. Through form to function: root hair development and nutrient uptake. **Trends in plant science**. Vol. 5, No. 2. P. 56-60.
- Gonçalves, J.C.; Diogo, G. y Amâncio, S. 1998. *In vitro* propagation of chesnut (*Castanea sativa* x *C. crenata*): Effects of rooting treatments on plant survival, peroxidase activity and anatomical changes during adventitious root formation. **Sci. Hortic.** 72: 265-275.
- Goyal, Y.; R.L., Bingham y Peter F. 1985. Propagation of the tropical tree, *Leucaena leucocephala* K67, by *in vitro* bud culture. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, 4 (3-10).
- Gray, D.J. y Trigiano, R.N. 2000. Introduction to plant tissue culture. En: **Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. Second Edition. Edited by Robert N. Trigiano y Dennis J. Gray. CRC Press, Boca Ratón. P. 3-7.**
- Greenwood, M.S. 1987. Rejuvenation of forest trees. En: **Hormonal Control of Tree Growth (Ed. Kossuth, S.V. y Ross, S.D.). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. P. 1-12.**
- Grönroos, R. 1987. Rooting of *Pinus sylvestris* and *Pinus contorta* hypocotyl cuttings *in vitro*. **Doctoral dissertation for the degree of Doctor of Philosophy. Uppsala University. Faculty of Science.**
- Guardiola, B.J.L. y García, L.A. 1990. **Fisiología Vegetal I: Nutrición y Transporte. Colección Ciencias de la Vida No. 16. Editorial Síntesis, S.A. Madrid. P. 440.**
- Guevara, M.G. 1988. Experiencias colombianas con cedro (*Cedrela odorata* L.). **Serie documentación N° 12. Corporación Nacional de Investigación y Fomento Dorestal (CONIF). Convenio CONIF-HOLANDA. Bogotá, Colombia.**
- Guevara, E.B., Hidalgo, N.D. y Murillo, O.G. 1992. Cultivo *in vitro* de cedro dulce (*Cedrela tonduzii*). **Tecnología en Marcha. Vol. II. No. 3. P. 10-16.**
- Gupta, M.L., Prasad, A., Ram, M. y Kumar, S. 2002. Effect of the vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) fungus *Glomus fasciculatum* on the essential oil yield related characters and nutrient acquisition in the crops of different cultivars of menthol mint (*Mentha arvensis*) under field conditions. **Bioresour technol** 81 (1). P. 77- 79.
- Guttenberger, M. 2000. Arbuscules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi inhabit an acidic compartment within plants roots. **Planta** 211 (3). P. 299-304.
- Hackett, W.P. 1987. Juvenility and maturity. En: **Cell and Tissue Culture in Forestry. Volume 1. General Principles and Biotechnology (Ed. J.M. Bonga y Don J. Durzan). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. P. 216-231.**
- Haissig, B.E. 1974. Influence of auxina and auxin synergists on adventitious root primordium initiation and development. **N. Z. J. Sci.** 4: 299-310.
- Haissig, B.E. 1986. Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings. En: **New Root Formation in Plants and Cuttings (Ed. Michael B. Jackson). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. P. 141-189.**
- Hamann, A. 1998. Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation. **Trees** 12: 175-180.
- Hammatt, N. 1999. Delayed flowering and reduced branching in micropropagated mature wild cherry (*Prunus avium* L.) compared with rooted cuttings and seedlings. **Plant Cell Reports** 18: 478- 484.
- Hammerton, R.D., Nicander, B. y Tillberg, E. 1996. Identification of some major cytokinins in *Phaseolus vulgaris* and their distribution. **Physiologia Plantarum** 96: 77-84.
- Hand, P. 1994. Biochemical and molecular markers of cellular competence for adventitious rooting. En: **Biology of Adventitious Root Formation (Ed. Davis, T.D. y Haissig, B.E.). Plenum Press. New York. P. 111-121.**
- Hangarter, R.P. y Good, N.E. 1981. Evidence that IAA conjugates are slow-release sources of free IAA in plant tissues. **Plant Physiol.** 68, 1424-1427.
- Hare, P.D. y Van Staden, J. 1997. The molecular basis of cytokinin action. **Plant Growth Regulation** 23: 41-78.
- Harrison, M.A. y Kaufman, P.B. 1984. The role of hormone transport and metabolism in apical dominance in oats. **Bot. Gaz.** 145 (3). P. 293-297.

Hartmann, H.T y Kester D.E. 1989. **Propagación de plantas. Principios y prácticas.** Compañía Editorial Continental S.A.. México.

Hayward, M.D. y Sackville Hamilton, N.R. 1997. Genetic Diversity-Population Structure and Conservation. **Biotechnology and Plant Genetic Resources. Conservation and Use. Biotechnology in Agriculture. Series: 19.** Edited by J.A. Callow; B.V. Ford-Lloyd y H.J. Newbury. U.K. P. 49-76.

Heile-Sudholt, C., Huetteman, C.A., Preece, J.E., Van Sambeek, J.W. y Gaffney, G.R. 1986. *In vitro* embryonic axis and seedling shoot tip culture of *Juglans nigra* L.P. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 6: 189- 197. Netherlands.

Hicks, G.S. 1986. Adventitious rooting of apple microcuttings *in vitro*: an anatomical study. **Can. J. Bot.** 65: 1913-1920.

Hiremath, A.J. 2000. Photosynthetic nutrient-use efficiency in three fast-growing tropical trees with differing leaf longevities. **Tree Physiol** 20 (14). P. 937-44.

Hoagland, D.R. y Arnon, D.I. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. **Calif. Agric. Exp. Sta. Cir.** 347. P. 4-31.

Hodson, E. de J., Orozco, C.J. y Santamaría, L.M. 1990. **Proyecto cultivo de tejidos en forestales. Informe final. III. *Tabebuia rosea*.** Universidad Javeriana, INDERENA-CIID. Bogotá, Colombia. P. 66.

Hodson, M.J. y Sangster, A.G. 1993. The interaction between silicon and aluminium in *Sorghum bicolor* (L.) Moench: Growth analysis and X-ray microanalysis. **Annals of Botany, Volume 72, No. 5.** P. 389-400.

Holme, I.B. 1998. Growth characteristics and nutrient depletion of *Miscanthus x ogiformis* Honda "Giganteus" suspension cultures. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 53. P. 143-151.

Horst, W.J., Püschel, A.K. y Schmohl, N. 1997. Induction of callose formation is a sensitive marker for genotypic aluminium sensitivity in maize. **Plant and Soil** 192: 23-30.

Horst, W.J., Schmohl, N., Kollmeier, M., Baluska, F. y Mayandi, S. 1999. Does aluminium affect root growth of maize through interaction with the cell wall- plasma membrane- cytoskeleton continuum?. **Plant and Soil** 215: 163-174.

Hossain, M., Rahman, S.M., Zaman, A., Joarder, O.I. y Islam, R. 1992. Micropropagation of *Morus laevigata* Wall. From mature trees. **Plant Cell Reports** 11: 522-524.

Hull, A.K., Vij, R. y Celenza, J. 2000. *Arabidopsis* cytochrome P450s that catalyze the first step of tryptophan dependent indole-3 acetic acid biosynthesis. **Proc. Natl. Acad. Sci.** 97(5): 2379-2384.

Hutchinson, M.J., Senaratna, T., Tsujita, J.M. y Saxena, P.K. 1997. Somatic embryogenesis in liquid cultures of a tetraploid *Alstroemeria*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 47: 293-297.

Hvoslef-Eide, A.K. y Corke, F.M.K. 1997. Embryogenesis specific protein changes in birch suspension cultures. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 51: 35-41.

Ingvarsen, Ch., Veierskov, B. y Joshi, P.A. 2001. Immunohistochemical localisation of ubiquitin and the proteasome in sunflower *Helianthus annuus* CV. Giganteus. **Planta** 213 (3): 333-41.

Ishii, K. y Maruyama, E. 1992. Tissue culture of some tropical tree species in Peru. En: **Plant Tissue Culture and Gene Manipulation for Breeding and Formation of Phytochemicals. Proceedings of the German-Japanese joint meeting on "plant tissue culture".** National Institute of Agrobiological Resources (NIAR). Japan. P. 219-223.

Islam, R., Zaman, A., Joarder, O.I. y Barman, A.C. 1993. *In vitro* propagation as an aid for cloning of *Morus laevigata* Wall. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 33: 339-341.

Jain, N. y Babbar, S.B. 2000. Recurrent production of plants of black plum, *Syzygium cumini* (L.) skeels, a myrtaceous fruit tree, from *in vitro* cultured seedling explants. **Plant Cell Reports** 19: 519-524.

Jarvis, B.C. 1986. Endogenous control of adventitious rooting in non-woody cuttings. En: **New Root formation in plants and cuttings (Ed. M.B. Jackson).** Martinus Nijhoff. Dordrecht. P.191-222.

Jarvis, B.C and Shaheed, Al. 1986. Adventitious root formation in relation to: the uptake and distribution of supplied auxin. **New phytol.** 103: 23-31.

- Jásik, J. y De Klerk, G.J. 1997. Anatomical and ultrastructural examination of adventitious root formation in stem slices of apple. **Biologia Plantarum** **39** (1): 79-90.
- Jay-Allemand, C., Doumas, P., Sotta, B., Tranvan, H. y Migianac, E. 1995. Juvenility and physiology or rhizogenesis in two woody species (*Sequoia sempervirens* and *Juglans nigra* x *Juglans regia*). En: **Colloques de L'INRA, No. 76. EUROSILVA: Contribution to forest tree physiology, International Conference Dourdan, France, November 7-10, 1994** (Ed. H. In Sanderman, Jr. Y M. Bonnet- Masimbert). P. 79-99.
- Jensen, P.J. y Bandurski, R.S. 1996. Incorporation of deuterium into indole-3-acetic acid and tryptophan in *Zea mays* seedlings grown on 30% deuterium oxide. **Plant Physiol.** **147**: 679-702.
- Jeong, B.R., Fujiwara, K. y Kozai, T. 1995. Environmental control and photoautrophic micropropagation. **Horticultural Reviews, Vol 17**. P. 125-172.
- Johnson Jr.J.P., Carver, B.F. y Baligar, V.C. 1997. Productivity in great plains acid soils of wheat genotypes selected for aluminium tolerance. **Plant and Soil** **188**: 101-106.
- Jolicoeur, M., Bouchard-Marchand, E., Bécard, G. y Perrier, M. 2002. Regulation of mycorrhizal symbiosis: development of a structured nutritional dual model. **Ecological Modelling** **158**. P. 121-142.
- Jordan, M. y Oyanedel, E. 1992. Regeneration of *Pouteria lucuma* (Sapotaceae) plants *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **31**: 249- 252. Netherlands.
- Jose, S., Merritt, S. y Ramsey, C.L. 2003. Growth, nutrition, photosynthesis and transpiration responses of longleaf pine seedlings to light, water and nitrogen. **Forest Ecology and Management** **6178**. P. 1-10.
- Joseph, B., Joseph, D. y Philip, V.J. 1996. Plant regeneration from somatic embryos in black pepper. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **47**: 87-90.
- Joshi, M.S. y Thengane, S.R. 1996. *In vitro* propagation of *Azadirachta indica* A. Juss (neem) by shoot proliferation. **Indian Journal of Experimental Biology. Vol 34** (480- 482). India.
- Joy IV, R.W. y Thorpe, T.A. 1999. Shoot morphogenesis: Structure physiology, biochemistry and molecular biology. En: **Morphogenesis in Plant Tissue Cultures** (Ed. Soh, W.Y. y Bhojwani, S.S.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. P. 171-212.
- Juncker, B. y Favre, J.M. 1989. Clonal effects in propagating oak trees via *in vitro* culture. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **19**: 267- 276. Netherlands.
- Kane, M.E. 2000. Propagation from preexisting meristems. En: **Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. Second edition. Edited by Robert n. Trigiano and Dennis J. Gray. CRC Press. Boca Ratón.**
- Karhu, S.T. 1997. Axillary shoot proliferation of blue honeysuckle. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **48**: 195- 201. Netherlands.
- Kato, M. 1996. Somatic embryogenesis from immature leaves of *in vitro* grown tea shoots. **Plant Cell Reports** **15**: 920-923.
- Kaur, K., Verma, B., Kant, U. 1998. Plants obtained from the khair tree (*Acacia catechu* Willd) using mature nodal segments. **Plant Cell Reports** **17**: 427-429.
- Keenan F.J. y Tejada, M. 1987. Maderas tropicales como material de construcción en los países del Grupo Andino de América del Sur. **Centro Internacional de Investigaciones para el Desarrollo CIID, Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Bogotá, Colombia.**
- Kappelle, M. 1996. Los bosques de roble (*Quercus*) de la cordillera de Talamanca, Costa Rica. **Biodiversidad**,
- Kracke, H., Cristoferi, G. y Marangoni, B. 1981. Hormonal changes during the rooting of hardwood cuttings of grapevine rootstocks. **Amer. J. Enol. Vitic.** **32**: 135.
- Ecología, Conservación y Desarrollo. Instituto Nacional de Biodiversidad: Universidad de Amsterdam. 1ª ed. Heredia, C.R. P. 336.**
- Kim, Y.W., Youn, Y., Noh, E.R. y Kim, J.C. 1997. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature embryos of five families of *Quercus acutissima*. **Plant Cell Reports** **16**: 869-573.
- King, S.M. y Morehart, A.L. 1988. Tissue culture of osage-orange. **HortScience** **23** (3): 613-615.

- Kooi, L.T. y Keng, Ch.L. y Kheng Hoe, Ch.T. 1999. *In vitro* rooting of sentang shoots (*Azadirachta excelsa* L.) and acclimatization of the plantlets. **In vitro Cell. Dev. Biol. Plant.** **35:** 396-400.
- Koshiba, T., Kamiya, Y. e lino, M. 1995. Biosynthesis of indole-3-acetic acid from L- tryptophan in coleoptile tips of maize (*Zea mays* L.). **Plant Cell Physiol.** **36:** 1503-1510.
- Kowalczyk, M. y Sandber, G. 2001. Quantitative analysis of indole-3-acetic acid metabolites in *Arabidopsis*. **Plant Physiol** **127:** 1845-1853.
- Kristiansen, K. 1992. Micropropagation of *Ficus benjamina* clones. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **28:** 53-58.
- Kronzucker, H.J., Siddiqi, M.Y., Glass, A.D.M. y Britto, D.T. 2003. Root ammonium transport efficiency as a determinat in forest colonization patterns: an hypothesis. **Physiologia Plantarum** **117.** P. 164-170.
- Lacombe, B., Pilot, G., Michard, E., Gaymard, F., Sentenac, H. y Thibaud J.B. 2000. A shaker-like K⁺ channel with weak rectification is expressed in both source and sink phloem tissues of *Arabidopsis*. **The Plant Cell, Vol. 12.** P. 837-851.
- Larsen, P.B., Stenzler, L.M., Tai, Ch-Y., Degenhardt, J., Howell, S.H. y Kochian, L.V. 1997. Molecular and physiological analysis of *Arabidopsis* mutants exhibiting altered sensitivities to aluminium. **Plant and Soil** **192:** 3-7.
- Last, R.L. y Fink, G.R. 1988. **Science**, **240.** P. 257-364.
- Last, R.L., Bissinger, P.H., Mahoney, D.J., Radwanski, E.R. y Fink, G.R. 1991. **Plant Cell**, **3.** P. 345-358.
- Lebrun, A., Toussaint, A.N. y Roggemans, J. 1998. Description of *Syzygium paniculatum* Gaertn. "Verlaine" and its propagation by stem cuttings. **Scientia Horticulturae** **75.** P. 103-111.
- LeClere, S., Tellez, R., Rampey, R.A., Matsuda, S.P.T. y Bartel, B. 2002. Characterization of a family of AIA-Amino acid conjugate hydrolases from *Arabidopsis*. **The Journal of Biological Chemistry**, vol 277, No 23, p. 20446-20452.
- Lee, K.S., Zapata-Arias, F.J., Brunner, H. y Afza, R. 1997. Histology of somatic embryo initiation and organogenesis from rhizome explants of *Musa* spp. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **51:** 1-8.
- Lee, S.K. y Rao, A.N. 1986. *In vitro* regeneration of plant lets in *Fragaea fragans* Roxb., a tropical tree. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **7:** 43-51. **Netherlands.**
- Leonardi, Ch., Ruggeri, A. y La Malfa, S. 2001. Hormone effects on *in vitro* proliferation and rooting of *Grevillea* explants. **Scientia Horticulturae** **90.** P. 335-341.
- Leslie, C. y McGranahan, G. 1992. Micropropagation of persian walnut (*Juglans regia* L.) En: **Biotechnology in Agriculture and Forestry 18. High-Tech and Micropropagation II.** Ed. Y.P.S. Bajaj. Springer-Verlag. Berlin. P. 136-150.
- Letham, D.S. y Palni, M.S. 1983. The biosynthesis and metabolism of cytokinins. **Ann. Rev. Plant Physiol.** **34:** 163-197.
- K, T.L. y Teo, C.K.H. 1998. Multiple shoot production *in vitro* of the tropical timber tree, senting (*Azadirachta excelsa* Linn.). **HortScience** **33 (6):** 1073- 1075.
- Linington, I.M. 1991. *In vitro* propagation of *Dipterocarpus alatus* y *Dipterocarpus intricatus*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **27:** 81- 88. **Netherlands.**
- Liu, F.H. y Lognecker, N. 2001. Interactive effect of cytokinin and potassium on sink-source relationships in *Lupinus angustifolius*. **Plant Growth Regulation** **00:** 1-6.
- Ljung, K., Hull, A.K., Kowalczyk, M., Marchant, A., Celenza, J., Cohen, J.D. y Sandberg, G. 2002. Biosynthesis, conjugation, catabolism and homeostasis of indole-3-acetic acid in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Molecular Biology**, **49:** 249-272. In **Auxin Molecular Biology. Edited by Catherine Perrot-Rechenmann and Gretchen Hagen. Reprinted from Plant Molecular Biology, Volume 49 Nos 3-4, 2002. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht/Boston/London.**
- Ljung, K., Bhalerao, R.P. y Sandberg, G. 2001. Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. **The Plant Journal** **28 (4)** 465-474.

- Ljung, K., Östin, A., Lioussanne, L. y Sandberg, G. 2001. Developmental regulation of indole-3-acetic acid turnover in scots pine seedlings. **Plant physiology**, vol. 125. P. 464-475.
- Lomax, T.L., Muday, G. y Rubery, P.H. 1995. Auxin Transport. En: **Plant hormones**. P.J. Davies (ed.). Kluwer Academic Publishers. Netherlands. P. 509-530.
- López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A. y Herrera-Estrella, L. 2003. The role of nutrient availability in regulating root architecture. **Current Opinion in Plant Biology** 6: 280-287.
- Lovell, P.H. y White, J. 1986. Anatomical changes during adventitious root formation. En: **New Root Formation in Plants and Cuttings** (Ed. Michael B. Jackson). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. P. 111-140.
- Lozano, G. y Torres, J. 1974. Aspectos sobre la distribución sistemática, fitosociológica y clasificación ecológica de bosques de roble (*Quercus*) en Colombia. **Ec. Trop.** 1(2). P. 211-249.
- Ludwig-Müller, J., Sass, S., Sutter, E.G., Wodner, M. y Epstein, E. 1993. Indole-3-butyric acid in *Arabidopsis thaliana*. I. Identification and quantification. **Plant Growth Regul.** 13: 179-187.
- Ludwig-Müller, J. 2000. Indole-3-butyric acid in plant growth and development. **Plant Growth Regulation** 32: 219-230.
- Lugo, A.E. 1985. Countering the effects of tropical deforestation with modern technology. **Tissue Culture in Forestry and Agriculture**. Ed. R.R. Henke, K.W. Hughes, M.J. Constantin and A. Hollaender. Ed. Técnico C.M. Wilson. Plenum Press. New York.
- Lüttge, V. y Clarkson, D.T. 1992. Mineral nutrition: aluminium. **Prog. Bot.** 53: 63-77.
- Lüttge, U. 1997. **Physiological Ecology of Tropical Plants**. Springer-Verlag. Berlin. P. 384.
- Lyon, G.D., Reglinski, T. y Newton, C. 1995. Novel disease control compounds: the potential to "immunize" plants against infection. **Plant Path.** 44: 407-427.
- Ma, J.F., Sasaki, M. y Matsumoto, H. 1997. Al-induced inhibition of root elongation in corn, *Zea mays* L. is overcome by Si addition. **Plant and Soil**. Vol. 188, No. 2. P. 171-176.
- Machácková, I., Eder, J., Motyka, V., Hanus, J. y Krekule, J. 1996. Photoperiodic control of cytokinin transport and metabolism in *Chenopodium rubrum*. **Physiologia Plantarum** 98: 564-570.
- Mahecha, G. 1997. Fundamentos y metodología para la identificación de plantas. **Proyecto Biopacífico. Ministerio del Medio Ambiente- GEF- PNUD. Editorial Lerner. Bogotá, Colombia**. P. 282.
- Maldiney, R., Pelese, F., Pilate, G., Sotta, B., Sossountzov, L. y Miginiac, E. 1986. Endogenous levels of abscisic acid, indole-3-acetic acid, zeatin and zeatin riboside during the course of adventitious root formation in cuttings of *Craigella* and *Craigella* lateral suppresor tomatoes. **Physiol. Plant.** 68: 426-430.
- Manzanera, J.A. y Pardos, J.A. 1990. Micropropagation of juvenile and adult *Quercus suber* L. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** 21: 1- 8. Netherlands.
- Margara, J. 1988. Multiplicación vegetativa y cultivo *in vitro*. **Los meristemas y la Organogénesis**. Ediciones Mundi Prensa. Madrid.
- Marks, T.R. y Simpson, S.E. 2000. Rhizogenesis in *Forsythia* x intermedia and *Syringa vulgaris*; application of a simple internode experimental system. **Plant Cell Reports** 19: 1171- 1176.
- Maruyama, E., Ishii, K., Saito, A. y Migita, K. 1989. Micropropagation of cedro (*Cedrela odorata* L.) by shoot-tip culture. **Journal of the Japanese Forestry Society**. Vol. 71, No. 8. P. 329-331.
- Maruyama, E., Ishii, K., Saito, A. y Ohba, K. 1993. Micropropagation of jacaranda (*Jacaranda mimosaeifolia* D. Don) by shoot-tip culture. **Journal of the Japanese Forestry Society**. Vol. 75. No. 4.
- Maruyama, E., Kinoshita, I., Ishii, K., Ohba, K. y Saito, A. 1997. Germplasm conservation of the tropical forest trees, *Cedrela odorata* L., *Guazuma crinita* Mart. y *Jacaranda mimosaeifolia* D. Don, by shoot tip encapsulation in calcium- alginate and storage at 12- 25 degrees-C. **Plant Cell Reports** 16 (6): 393- 396.
- Mathur, J. y Mukunthakumar, S. 1992. Micropropagation of *Bauhinia variegata* y *Parkinsonia aculeata* from nodal explants of mature trees. **Plant Cell Tissue and Organ Culture** 28: 119- 121. Netherlands.

- Mathur, N., Ramawat, K.G. y Nandwani, D. 1995. Rapid *in vitro* multiplication of jujube through mature stem explants. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **43**: 75-77.
- Mathur, J. y Koncz, C. 1998. En: **Arabidopsis Protocols**, J.M. Martínez-Zapatero, J. Salinas, Eds. (Human Press, Totowa, NJ.) vol. 82. P. 31-34.
- Mayda, E., Marques, C., Conejero, V., y Vera, P. 2000. Expression of a pathogen-induced gene can be mimicked by auxin insensitivity. **Mol. Plant. Microbe Interact.** **13**: 23-31.
- McClelland, M.T., Smith, M.A.L. y Carothers, Z.B. 1990. The effects of *in vitro* and *ex vitro* root initiation on subsequent microcutting root quality in three woody plants. **Plant Cell, Tissue Organ Culture.** **23**: 115-123. Netherlands.
- McCown, B.H. 1988. Adventitious rooting of tissue cultured plants. En: **Adventitious Root Formation in Cuttings. Advances in Plant Science Series. Volumen 2.** Ed. T.D. Davis, B.E. Haissig y N. Sankhla. Editor general T.R. Dudley.
- McCown, C.T., Volk, R.J. y Jackson, W.A. 1988. Nitrate assimilation by decapitated corn root systems: effects of ammonium during induction. **Plant Science Letters, Volume 24, No. 3.** P. 295-302.
- McCown, R.J. And Jackson, W.A. 1982. Nitrate assimilation by decapitated corn root systems: effect of ammonium during induction. **Plant Sci Lett** **24**: 295-302.
- Meynier, V. 1984. **Contribution de la culture de méristèmes á la micropropagation *in vitro* du noyer. AFOCEL. P. 77-85 (Extrait).**
- Mezzetti, B., Rosati, P. y Casalicchio, G. 1991. *Actinidia deliciosa* C.F. Liang *in vitro*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **25**. P. 91-98.
- Michalczyk, L., Ribnicky, D.M., Cooke, T.J y Cohen, J.D. 1992. Regulation of indole 3-acetic acid biosynthetic pathways in carrot cell cultures. **Plant Physiol.** **100**: 1346-1353.
- Mikkelsen, M.D., Horslev, C.H., Wittstock, U. y Halkier, B.A. 2000. Cytochrome P450 CYP79B2 from *Arabidopsis* catalyzes the conversion of tryptophan to indole-3-acetaldoxime, a precursor of indole glucosinolates and indole-3-acetic acid. **The Journal of Biological Chemistry.** Vol. 275, No. 43. P. 33712-33717.
- Millán, S. 1997. ¿ Cómo va la reforestación en Colombia?. En: **El Mueble y la Madera. Año 4, No. 16.** P. 35-39. Bogotá. Colombia.
- MinAmbiente e INDERENA, 1994. **Lineamientos y estrategias de política para el desarrollo forestal sustentable. Con apoyo financiero de la Organización Internacional de maderas Tropicales (OIMT) Bogotá.**
- Minh, T.V. y Tuong, B.T.T. 2001. Manipulation of tissue culture techniques in woody species conservation and improvement: (2) sandal wood (*Aquilaria crassna* Pierre ex. Lecombe) meristem culture. En: **International Plant & Animal Genome, IX Conference. San Diego.**
- Ministerio del Medio Ambiente. 1999. Evaluación de la oferta y la demanda nacional de productos forestales maderables y no maderables. **Informe final. Resumen ejecutivo. Bogotá, Colombia.** P.89.
- Mittal, A., Agarwal, R. y Gupta, S. 1989. *In vitro* development of plantlets from Axillary buds of *Acacia auriculiformis* – a leguminous tree. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **19**: 65- 70. Netherlands.
- Mohammed, G.H. y Vidaver W.E. 1990. The influence of acclimatization treatment and plantlet morphology on early greenhouse- performance of tissue- cultured Douglas fir [*Pseudotsuga menziessii* (Mirb.) Franco]. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **21**: 111-117.
- Molina, S.M. 1991. *In vitro* growth and multiplication of *Hypericum canariense* L. **Acta Hort.** **289**: 133-134.
- Moncaleán, P., López-Iglesias, C., Fernández, B. y Rodríguez, A. 2001. Immunocytochemical location of endogenous cytokinins in buds of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) during the first hours of *in vitro* culture. **Histochem. J.** **33** (7): 403-411.
- Moncaleán, P., Rodríguez, A. y Fernández, B. 2003. *In vitro* response of *Actinidia deliciosa* explants to different BA incubation periods. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **67**: 257-266.

- Moncousin, Ch., Favre J.M. y Gaspar, Th. 1989. Early changes in auxin and ethylene production in vine cuttings before adventitious rooting. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **19**. P. 235-242.
- Monteuuis, O. y Bon M.C. 2000. Influence of auxins and darkness on *in vitro* rooting of Micropropagated shoots from mature and juvenile *Acacia mangium*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **63**: 173-177. **Netherlands**.
- Monticelli, S., Puppi, G. y Damiano, C. 2000. Effects of *in vivo* mycorrhization on micropropagated fruit tree rootstocks. En: **Applied Soil Ecology** **15**. P. 105-111.
- Mora, O. L. E. 1994. Biodiversidad, tropicalidad y modelo de desarrollo. En: **Memorias I Congreso Nacional sobre Biodiversidad. Universidad del Valle, Instituto de Estudios del Pacífico, Ministerio del Medio Ambiente y Proyecto Biopacífico. Cali, Colombia. P. 3-7.**
- Moritz, T. y Sundberg, B. 1996. Endogenous cytokinins in the vascular cambial region of *Pinus sylvestris* during activity and dormancy. **Physiologia Plantarum** **98**. P. 693-698.
- Morris, D.A., Briant, R.E., Thomson, P.G. 1969. The transport and metabolism of ^{14}C -labeled indoleacetic acid in intact pea seedlings. **Planta** **89**: 178-197.
- Morris, D.A. y Thomas. 1978. A microautoradiographic study of auxin transport in the stem of intact pea seedlings (*Pisum sativum* L.). **J. Exp. Bot.** **29**: 147-157.
- Mosquera, J.A. Las implicaciones forestales de la Ley 70 de 1993. 1994. En: **Memorias I Congreso Nacional sobre Biodiversidad. Universidad del Valle, Instituto de Estudios del Pacífico, Ministerio del Medio Ambiente y Proyecto Biopacífico. Cali, Colombia. P.539- 547.**
- Motta, R.L. 1981. Trees. En: **Cloning Agricultural Plants Via In Vitro Techniques**. Ed. B.V. Conger. CRC Press, Inc. Boca Ratón. P. 273.
- Moustakas, M., Ouzounidou, G., Eleftheriou, E.P. y Lannoye. 1996. Indirect effects of aluminium stress on the function of the photosynthetic apparatus. **Plant Physiol. Biochem.** **34** (4). P. 553-560.
- Muday, G.K. y Delong, 2001. Polar auxin transport: controlling where and how much. **Trends Plant Sci.** **6** (11). P. 535-542.
- Muhammad, N.A. y Jaiswal, V.S. 1987. Rapid clonal propagation of guava through *in vitro* shoot proliferation on nodal explants of mature trees. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. Vol. 9. No. 3. P.235-243.
- Müller, A. Hillerbrand, H. y Weiler, E.W. 1998. Indole-3-acetic acid is synthesised from L-tryptophan in roots of *Arabidopsis thaliana*. **Planta** **206**: 362-369.
- Müller, A. y Weiler, E.W. 2000. Indolic constituents and indole-3-acetic acid biosynthesis in the wild-type and a tryptophan auxotroph mutant of *Arabidopsis thaliana*. **Planta**, **211**: 855-863.
- Murashige, T. y Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. **Physiol. Plant.** **15**: 473-497.
- Murthy, B.N.S. y Saxena, P.K. 1998. Somatic embryogenesis and plant regeneration of neem (*Azadirachta indica* A. Juss). **Plant Cell Reports** **17**. No. 5. P. 469-475.
- Nag, S., Saha, K. y Choudhuri, M.A. 2001. Role of auxin and polyamines in adventitious root formation in relation to changes in compounds involved in rooting. **Journal of Plant Growth Regulation. Online publication.**
- Naik, D., Vartak, V. y Bhargava, S. 2003. Provenance and subculture depend variation during micropropagation of *Gmelina arborea*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **73**: 189-195.
- Nair, L.G. y Seení, S. 2003. *In vitro* multiplication of *Calophyllum apetalum* (Clusiaceae), an endemic medicinal tree of the western ghats. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**. Vol. 75. No. 2. P. 169-174.
- Navarro, C., Escobedo, R.M. y Mayo, A. 1997. *In vitro* plant regeneration from embryogenic cultures of a diploid and a triploid, cavendish banana. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **51**: 17-25.
- Nawrot, M., Szarejko, I. y Maluszynski, M. 2001. Barley mutants with increased tolerance to aluminium toxicity. **Euphytica** **120**: 345-356.

- Németh, G. 1986. Induction of rooting. En: **Biotechnology in Agriculture and Forestry. Trees I** (Ed. Y.P.S. Bajaj). Springer-Verlag. Berlin. P. 49-64.
- Nonhebel, H.M., Kruse, L.I. y Bandurski, R.S. 1985. Indole-3 acetic acid catabolism in *Zea mays* seedlings. Metabolic conversion of oxindole-3-acetic acid to 7-hydroxy-2-oxindole-3-acetic acid 7'-O- β -D-glucopyranoside. **J. Biol. Chem.** **260**: 12685-12689.
- Nonhebel, H.M., Cooney, T.P. y Simpson, R. 1993. The route, control and compartmentation of auxin synthesis. **Aust. J. Plant. Physiol.** **20**: 527-539.
- Nordström, A.C. y Eliasson, L. 1991. Levels of endogenous indole-3-acetic acid and indole-3-acetylserine during adventitious root formation in pea cuttings. **Physiol Plant.** **82**: 599.
- Nordström, A.C., Alvarado, J.F. y Eliasson, L. 1991. Effect of exogenous indole-3-acetic acid and indole-3-butyric acid on internal levels of the respective auxins and their conjugation with aspartic acid during adventitious root formation in pea cuttings. **Plant Physiol.** **96**: 856.
- Normah, M.N., Nor-Azza, A.B. y Aliudin, R. 1995. Factors affecting *in vitro* shoot proliferation and *ex vitro* establishment of mangostan. **Plant Cell, Tissue Organ Culture** **43**: 291-294.
- Normah, M.N., Hamidah, S. y Ghani, F.D. 1997. Micropropagation of *Citrus halimii*- an endangered species of South-east Asia. **Plant Cell Tissue and Organ Culture** **50**: 225-227.
- Normanly, J., Cohen, J.D. y Fink, G. 1993. *Arabidopsis thaliana* auxotrophs reveal a tryptophan independent biosynthetic pathway for indole-3-acetic acid. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** Vol. **90**. P. 10355-10359.
- Normanly, J. 1997. Auxin metabolism. **Physiologia Plantarum** **100**: 431-442.
- Normanly, J. y Bartel, B. 1999. Redundancy as a way of life- IAA metabolism. **Current Opinion in Plant Biology**, **2**: 207-213.
- Nortcliff, S. 1989. A review of soil and soil-related constraints to development in Amazonia. **Applied Geography, Volume 9, No. 3.** P. 147-160.
- Nowacki, J. y Bandurski, R.S. 1980. Myo-inositol esters of indole-3-acetic acid as seed auxin precursors of *Zea mays* L. **Plant Physiol.** **65**: 422-427.
- Offord, C.A.; Campbell, L.C. y Mullins, M.G. 1992. Micropropagation of *Telopea speciosissima* R.Br. (Proteaceae). 1: Explant establishment and proliferation. **Plant Cell Tissue and Organ Culture** **29**: 215-221. Netherlands.
- Ortega, G., Nelly. 1989. Adaptación de técnicas de cultivo de tejidos vegetales para la propagación de *Cedrela odorata* L. (cedro). **Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de bióloga. Pontificia Universidad Javeriana. Departamento de Biología. Bogotá.**
- Östin, A. 1995. Metabolism of indole-3-acetic acid in plants with emphasis on non-decarboxylative catabolism. **Ph.D. dissertation, Department of Forest Genetics and Plant Physiology, SLU. Umea, Sweden.**
- Östin, A., Kowalczyk, M., Bhalerao, R.P. y Sandberg, G. 1998. Metabolism of indole-3-acetic acid in *Arabidopsis*. **Plant Physiol.** **118**: 285-296.
- Östin, A., Ilic, N. y Cohen, J.D. 1999. An *in vivo* system from maize seedlings for tryptophan independent indole-3-acetic acid biosynthesis. **Plant Physiol.** **119**: 173-178.
- Ouyang, J., Shao, X. y Li, J. 2000. Indole-3-glycerol phosphate, a branchpoint of indole-3-acetic acid biosynthesis from the tryptophan biosynthetic pathway in *Arabidopsis thaliana*. **The Plant Journal** **24(3)**. P. 327-333.
- Pacheco, R.A. y Pinzón, C.A. 1997. **El roble (*Quercus humboldtii*, Bonpland), notas divulgativas. Jardín Botánico de Bogotá, José Celestino Mutis. Bogotá, Colombia.**
- PAFC. 1997. Plan de Acción Forestal para Colombia. República de Colombia. **Departamento Nacional de Planeación y Ministerio de Agricultura. Bogotá, Colombia.** P. 63.
- PAFC. 1988. Plan de Acción Forestal para Colombia. **Departamento Nacional de Planeación. Los bosques naturales y plantados en Colombia. Posibilidades comerciales de nuevas especies maderables. I. Diagnóstico de los bosques naturales.**

- Pan, J.W., Zhu, M.Y. y Chen, H. 2001. Aluminum-induced cell death in root-tip cells of barley. **Environmental and Experimental Botany** **46**. P. 71-79.
- Paquette, A.J. y Benfey, P.N. 2001. Axis formation and polarity in plants. **Current Opinion in Genetic & Development**, **11**: 405-409.
- Parfitt, D.E. y Arulsekhar, S. 1987. Measurement and origin of genetic variation in tissue culture systems. **Cell and Tissue Culture in Forestry. Vol. 1. General Principles and Biotechnology.** (ED. J.M. Bonga y Don J. Durzan). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. P. 286-297.
- Pattnaik, S.K., Sahoo, Y. y Chand, P.K. 1996. Micropropagation of a fruit tree, *Morus australis* Poir. Syn. *M. acidosa* Griff. **Plant Cell Reports**. **15**: 841-845.
- Pattnaik, S.K. y Chand, P.K. 1997. Rapid clonal propagation of three mulberries, *Morus cathayana* Hemsl., *M. ihou* Koiz. And *M. serrata* Roxb., through *in vitro* culture of apical shoot buds and nodal explants from mature trees. **Plant Cell Reports** **16**: 503-508.
- Pengelly, W.L. and Bandurski, R.S. 1983. Analysis of indole-3-acetic acid metabolism in *Zea mays* using deuterium oxide as tracer. **Plant Physiol.** **73**: 445-449.
- Pennington, T.D., Styles, B.T. y Taylor, D.A.H. 1981. Meliaceae. **Flora Neotropica. Monograph 28. The New York Botanical Garden. Bronx. New York.**
- Périnet, P., Vallée, G. y Tremblay, F.M. 1988. *In vitro* propagation of mature trees of *Alnus incana* (L.) Moench. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **15**: 85-89.
- Perrin, Y., Doumas, P., Lardet, L. y Carron, M.P. 1997. Endogenous cytokinins as biochemical markers of rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) clone rejuvenation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **47**: 239-245.
- Perrin, Y., Doumas, P., Lardet, L. y Carron M.P. 1997. Endogenous cytokinins biochemical markers of rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) clone rejuvenation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **47**: 239-245.
- Pierik, R.L.M., Oosterkamp, J. y Ebbing, M.A.C. 1997. Factors controlling adventitious root formation of explants from juvenile and adult *Quercus robur* "Fastigiata". **Scientia Horticulturae** **71**. P. 87-92.
- Pintro, J., Barloy, J. y Fallavier, P. 1998. Uptake of aluminium by the root tips of an Al-sensitive and Al-tolerant cultivar of *Zea mays*. **Plant Physiol. Biochem.** **36** (6). P. 463-467.
- Piqueras, A. y Debergh, P.C. 1999. Morphogenesis in micropropagation. En: **Morphogenesis in Plant Tissue Cultures** (Ed. Soh, W.Y. y Bhojwani, S.S.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. P. 443-462.
- PNDF, Plan Nacional de Desarrollo Forestal. 1999. **Documento para discusión. Ministerio Del Medio Ambiente. Viceministerio de política y Regulación. Dirección de Ecosistemas. Bogotá. Colombia.**
- Prehn, D., Serrano, C., Mercado, A., Stange, C., Barrales, L. y Arce-Johnson, P. 2003. Regeneration of whole plants from apical meristems of *Pinus radiata*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **73**: 91-94.
- Puhe, J. 2003. Growth and development of the root system of Norway spruce (*Picea abies*) in forest stands – a review. **Forest Ecology and Management** **175**. P. 253-273.
- Purohit, V.K., Tamta, S., Chandra, S., Vyas, P., Palni, L.M. y Shyamal, K.N. 2002. *In vitro* multiplication of *Quercus leucotrichophora* and *Q. Glauca*: Important Himalayan oaks. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **69**: 121-133.
- Pythoud, F. y Buchala, A.J. 1989. Peroxidase activity and adventitious rooting in cuttings of *Populus tremula* L. **Plant Physiol. Biochem.** **27**: 503-510.
- Quoirin, M., da Silva, M.C., Martins, K.G. y de Oliveira, D.E. 2001. Multiplication of juvenile black wattle by microcuttings. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **66**: 199-205.
- Quraishi, A. y Mishra, S.K. 1998. Micropropagation of nodal explants from adult trees of *Cleistanthus collinus*. **Plant Cell Reports** **17**: 430-433.
- Rahman, M.A. y Blake, J. 1988. Factors affecting *in vitro* proliferation and rooting of shoots of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **13**: 179- 187. Netherlands.

- Ramgareeb, S., Watt, M.P., Marsh, C. y Cooke, J.A. 1999. Assessment of Al^{3+} availability in callus culture media for screening tolerant genotypes of *Cynodon dactylon*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **56**: 65-68.
- Rangel, CH, O., Castaño, O., Styles, G., Ruiz, P., Lowy, P., Sánchez, H., Aguilar, P. y Garzón C. 1994. Estudio de la diversidad biótica en Colombia. En: **Memorias I Congreso Nacional sobre Biodiversidad. Universidad del Valle, Instituto de Estudios del Pacífico, Ministerio del Medio Ambiente y Proyecto Biopacífico. Cali, Colombia. P 25- 32.**
- Rani, V. y Raina, S.N. 2000. Genetic fidelity of organized meristem-derived micropropagated plants: A critical reappraisal. 2000. **In vitro Cell. Dev. Biol. Plant** **36**: 319-330.
- Rapparini, F., Cohen, J.D. y Slovin, J.P. 1999. Indole-3-acetic acid biosynthesis in *Lemna gibba* studied using stable isotope labeled anthranilate and tryptophan. **Plant Growth Regulation** **27**: 139-144.
- Rashotte, A.M., Brady, S., Reed, R., Ante, S. y Muday, G.K. 2000. Basipetal auxin transport is required for gravitropism in roots of *Arabidopsis*. **Plant Physiol.** **122**: 481-490.
- Ravikumar, R., Ananthakrishnan, G., Appasamy, T. y Ganapathi, A. 1997. Effect of endomycorrhizae (VAM) on bamboo seedling growth and biomass productivity. **Forest Ecology and Management. No. 98. P. 205-208.**
- Rekoslavskaya, N.I. 1995. Pathways of indoleacetic acid and tryptophan synthesis in developing maize endosperm: studies *in vitro*. Russ. **J. Plant Physiol.** **42**: 143-151.
- Reinecke, D.M. y Bandurski, R.S. 1987. Auxin biosynthesis and metabolism. En: P.J. Davies (Ed). **Plant Growth and Development, Martinus Nijhoff, Dordrecht, Netherlands, p. 24-42.**
- Remy, W.; Taylor, T.N.; Hass, H. y Kerp, H. 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** **91 (25)**: 11841-3.
- Rengel, Z. 2002. Genetic control of root exudation. **Plant and Soil** **245**: 59-70.
- Ricker, M. y Daly, D. 1998. **Botánica económica en los bosques tropicales. Principios y métodos para su estudio y aprovechamiento. Editorial Diana. México. P. 293.**
- Riov, J. y Bangerth, F. 1992. Metabolism of auxin in tomato fruit tissue: formation of high molecular weight conjugates of oxindole-3-acetic acid via the oxidation of indole-3 acetylaspatic acid. **Plant Physiol.** **100**: 1396-1402.
- Roberts, S.K y Snowman, B.N. 2000. The effects of ABA on channel-mediated K^{+} transport across higher plant roots. **J. Exp. Bot.** **51 (350)**. P. 1585-94.
- Rodríguez, R., Revilla, A., Albuerne, M. y Perez, C. 1989. Walnut (*Juglans* spp.). En: **Biotechnology in Agriculture and Forestry 5. Trees II (Ed. Y.P.S. Bajaj). Springer-Verlag. Berlin. P. 99-126.**
- Rojas. G.M. 1993. **Fisiología Vegetal Aplicada. Cuarta edición. Interamericana- McGraw Hill. México. P. 275.**
- Rout, S. y Das, P. 1997. Regeneration of a metal tolerant grass *Echinochloa colona* via somatic embryogenesis from suspensión cultura. **Biologia Plantarum. Vol. 40. No. 1. P. 17-23 (7).**
- Roy, S.K., Rahman, L. y Datta, P.C. 1988. *In vitro* propagation of *Mitragyna parvifolia* Korth. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture.** **12**: 75-80. **Netherlands.**
- Ruíz-Lozano, J.M., Gómez, M. y Azcón, R. 1995. Influence of different *Glomus* species on the time-course of physiological plant responses of lettuce to progresive drought stress periods. **Plant Science. Vol. 110, No. 1. P. 37-44.**
- Ryan, P.R., Dong, B., Watt, M., Kataoka, T. y Delhaize, E. 2003. Strategies to isolate transporters that facilitate organic anion efflux from plant roots. **Plant and Soil** **248**. P. 61-69.
- Salisbury, F.B. y Ross, C.W. 1994. **Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica. México. P. 759.**
- Sánchez, M.C., San José, M.C., Ballester, A. y Vieitez, A.M. 1996. Requirements for *in vitro* rooting of *Quercus robur* and *Quercus rubra* shoots derived from mature trees. **Tree physiology (16)** 673- 680. **Canadá.**
- Sánchez, M.C., Ballester, A y Vieitez A.M. 1997. Reinvigoration treatments for the micropropagation of mature chesnut trees. **Ann Sci For, 54, 359- 370.**

- Sánchez, M. 1999. **Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos. Universidad Nacional de Colombia-Sede Palmira. Editorial Feriva S.A. Palmira (Valle), Colombia. P. 227.**
- Sané, D., Borgel, A., Chevallier, M.H. y Gassama-Dia, Y.K. 2001. Induction *in vitro* de l'enracinement de microboutures d' *Acacia tortilis* subsp. *raddiana* par traitement transitoire à l'auxine. **Ann. For. Sci. 58. P. 431-437.**
- Sasaki, K., Shimomura, K., Kamada, H., y Harada, H. 1994. IAA metabolism in embryogenic and nonembryogenic carrot cells. **Plant Cell Physiol. 35: 1159-1164.**
- Savidge, R.A. 2000. Intrinsic Regulation of Cambial Growth. **Journal of Plant Growth Regulation. 20: 52-77.**
- Savitsky, P.A., Gazaryan, I.G., Tishkov, V.I., Lagrimini, L.M., Ruzgas, T. y Gorton, L. 1999. Oxidation of indole-3-acetic acid by dioxygen catalysed by plant peroxidases: specificity for the enzyme structure. **Biochem. J. 340: 579-583.**
- Scarpa, G.M., Milia, M. y Satta, M. 2000. The influence of growth regulators on proliferation and rooting of *in vitro* propagated myrtle. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture 62: 175- 179. Netherlands.**
- Schiefelbein, J. 1998. Cell-fate specification in the root epidermis. **Trends in Plant Science. Vol. 3, No. 1. P. 3-4.**
- Schmülling, Th. 2002. New insights into the functions of cytokinins in plant development. **J. Plant Growth. Regul. 21: 40-49.**
- Schreiner, R.P. y Koide, R.T. 1993. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi by mycotrophic and non mycotrophic plant root systems. **Applied and Environmental Microbiology, Vol. 59, No. 8. P. 2750-2752.**
- Schubert, A. y Lubraco, G. 2000. Mycorrhizal inoculation enhances growth and nutrient uptake of micropropagated apple roots tocks during weaning in commercial substrates of high nutrient availability. **Applied Soil Ecology 15. P. 113-118.**
- Schwarz, O.J. y Beaty, R.M. 2000. Organogenesis. En: **Plant Tissue Culture Concepts and Laboratory Exercises. Second Edition (Ed. R.N. Trigiano y D.J. Gray). CRC Press. Boca Raton. P. 125-137.**
- Segura, J. 1993. Morfogénesis *in vitro*. En: **Fisiología y Bioquímica Vegetal. (Ed. J. Azcón-Bieto y M. Talon). Interamericana, McGraw-Hill. P. 381-392.**
- Sekimoto, H., Seo, M., Kawakkami, N., Komono, T., Desloire, S., Liotenberg, S., Marion-Pol, A., Caboche, M., Kamiya, Y. y Koshiba, T. 1998. Molecular cloning and characterisation of aldehyde oxidases in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell Physiol 39: 433-442.**
- Sembdner, G., Gross, D., Liebisch, H.W. y Schneider, G. 1981. Biosynthesis and metabolism of plant hormones. En: **MacMillan J. (ed.), Hormonal Regulation of Plant Development. I Molecular Aspects of Plant Hormones. Encyclopedia of Plant Physiology, Volume 9. Springer-Verlag, Berlin. P. 281-444.**
- Seo, M., Akaba, S., Oritani, T., Delarue, M., Bellini, C., Caboche, M. y Koshiba, T. 1998. Higher activity of an aldehyde oxidase in the auxin overproducing "superroot1" mutant of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiol 116: 687-693.**
- Serrano, C., Cancino, G., Carrizosa, M.S. y Rodríguez, C.E. 1996. **Sistemas modelo para la micropropagación y conservación de especies forestales- Primera etapa (Código No. 1203- 09- 009- 92). Proyecto Colciencias- Universidad Javeriana.**
- Sha, L., McCown, B.H. y Peterson, L.A. 1985. Occurrence and cause of shoot-tip necrosis in shoot cultures. **J. Am. Soc. Hortic. Sci. 110. P. 631-634.**
- Sharma, A.R., Trigiano, R.N., Witte, W.T. y Schwarz, O.J. 2004. *In vitro* adventitious rooting of *Cornus florida* microshoots. **Scientia Horticulturae in press**
- Sharp, W.R. y Evans. D.A. 1986. Plant Cell Culture: The Foundation for Genetic Engineering in Higher Plants. En: **Biotechnology of Plants and Microorganisms. Ed. O.J. Crocomo, W.R. Sharp, D.A. Evans, J.E. Bravo, F.C.A. Tavares y E.F. Paddock. Ohio State University Press: Columbus. P. 473.**
- Shen, R. y Ma, J.F. 2001. Distribution and mobility of aluminium in an Al-accumulating plant, *Fagopyrum esculentum* Moench. **Journal of Experimental Botany. Vol. 52, No. 361. P. 1683-1687.**

- Shen, Q.R. y Shen, Z.G. 2001. Effects of pig manure and wheat straw on growth of mung bean seedlings grown in aluminium toxicity soil. **Bioresource Technology** **76**. P. 235-240.
- Singha, S., Oberly, G.H. y Townsed, E.C. 1987. Changes in nutrient composition and pH of the culture medium during *in vitro* shoot proliferation of crabapple and pear. **Plant Cell Tiss. Org. Cult.** **11**. P. 209-220.
- Silverstone, P. 1994. En: **Atlas de Recursos Naturales del Valle del Cauca. Volumen II: Flora y Fauna. CVC, (Corporación Autónoma Regional del Valle del Cauca). Cali, Colombia. P. 112.**
- Sitbon, F., Astot, C., Edlund, A., Crozier, A. y Sandberg, G. 2000. The relative importance of tryptophan dependent and tryptophan independent biosynthesis of indole-3-acetic acid in tobacco during vegetative growth. **Planta** **211**: 715-721.
- Skirvin, R.M., Kovider, M., Joung, H. y Korban, S.S. 1986. Fruit Trees. Apple (*Malus x domestica* Borkh). En: **Biotechnology in Agriculture and Forestry. Trees I. (Ed. By Y.P.S. Bajaj). Springer-Verlag. Berlin. P. 183-198.**
- Smith, D.R. y Thorpe, T.A. 1975. Root initiation in cuttings of *Pinus radiata* seedlings. I. Developmental sequence. **J. Exp. Bot.** **26**: 184-192.
- Soh, W.Y., Bhojwani, S.S. y Lee, S. 1999. Developmental and structural aspects of root organogenesis. En: **Morphogenesis in Plant Tissue Cultures (Ed. Soh, W.Y. y Bhojwani, S.S.). Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. P. 133-169.**
- Sreenivasu, K., Malik, S.K., Kumar, P.A. y Sharma, R.P. 1998. Plant regeneration via somatic embryogenesis in pigeonpea (*Cajanus cajan* L. Millsp). **Plant Cell Reports** **17**: 294-297.
- Stevens, D.P., McLaughlin, M.J. y Alston, A.M. 1997. Phytotoxicity of aluminium-fluoride complexes and their uptake from solution culture by *Avena sativa* and *Lycopersicon esculentum*. **Plant and Soil** **192**: 81-93.
- Stirk, W.A. y Van Staden, J. 2001. The role of cytokinins in root development of pea seedlings. **Plant Growth Regulation** **34**: 173-180.
- Subhan, S., Sharmila, P., Pardha Saradi, P. 1998. *Glomus fasciculatum* alleviates transplantation shock of micropropagated *Sesbania sesban*. **Plant Cell Reports**, **17**, 268-272.
- Sunnichan, V.G., Shivanna, K.R. y Mohan Ran H.Y. 1998. Micropropagation of gum karaya (*Sterculia urens*) by adventitious shoot formation and somatic embryogenesis. **Plant Cell Reports**, **17**: 951- 956.
- Sutter, E.G., y Cohen, J.D. 1992. Measurement of indolebutyric acid in plant tissues by isotope dilution gas chromatography mass spectrometry analysis. **Plant Physiol.** **99**: 1719.
- Sutter, E.G. y Barker, P.B. 1985. *In vitro* propagation of mature *Liquidambar styraciflua*. **Plant Cell Tissue Organ Culture** **5**: 13- 21. **Netherlands.**
- Swarup, R., Friml, J., Marchant, A., Ljung, K., Sandberg, G., Palme, K. y Bennett, M. 2001. Localization of the auxin permease AUX1 suggests two functionally distinct hormone transport pathways operate in the *Arabidopsis* root apex. **Genes & Development** **15**: 2648-2653.
- Sztein, A.E., Cohen, J.D. y Cooke, T.J. 2000. Evolutionary patterns in the auxin metabolism of green plants. **Int. J. Plant Sci.** **161** (6): 849-859.
- Sztein, A.E., Ilic, N., Cohen, J.D. y Cooke, T.J. 2002. Indole-3-acetic acid biosynthesis in isolated axes from germinating bean seeds: The effect of wounding on the biosynthetic pathway. **Plant Growth Regulation** **36**: 201-207.
- Tawaraya, K., Tokairin, K. y Wagatsuma, T. 2001. Dependence of *Allium fistulosum* cultivars on the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus fasciculatum*. **Applied Soil Ecology** **17**. P. 119- 124.
- Taylor, J.L.S. y Van Staden, J. 1997. Variation in the level and type of cytokinin with the stage of root development in *Impatiens wallerana* Hook. F. stem cuttings. **Plant Growth Regulation** **22**: 175-180.
- Thakur, R., Rao, P.S. y Bapat, V.A. 1998. *In vitro* plant regeneration in *Melia azedarach* L. **Plant Cell Reports** **18**: 127-131.

The Columbia Electronic Encyclopedia. 2003. Columbia University Press. Licensed from Columbia University Press. Sixth Edition. (<http://www.answers.com/topic/auxin>)

Thompson, M.R. y Thorpe, T.A. 1987. Metabolic and non-metabolic roles of carbohydrates. En: **Cell and Tissue Culture in Forestry. Volume 1. General Principles and Biotechnology** (Ed. J.M. Bonga y Don J. Durzan). Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht. P. 89-112.

Tiwari, S.K., Tiwari, K.P. y Siril, E.A. 2002. An improved micropropagation protocol for teak. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **71**: 1-6.

Tokura, Y., Rondón, M.A., Villanueva, G., Botero, L.F. 1996. Kun. **Especies forestales del Valle del Cauca. JICA y CVC. Editorial Lenner. Cali. Colombia. P. 349.**

Tonon, G., Kevers, C. y Gaspar, T. 2001. Changes in polyamines, auxins and peroxidase activity during *in vitro* rooting of *Fraxinus angustifolia* shoots: an auxin- independent rooting model. **Tree Physiology** **21**. P. 655-663.

Torres, R.J. 1983. Contribución al conocimiento de plantas tánicas registradas en Colombia. Instituto de Ciencias Naturales Museo de Historia Natural. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. P. 176. Colombia. **Instituto de Ciencias Naturales Museo de Historia Natural. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. P. 176.**

Torrey, J.A. 1966. The initiation of organized development in plants. *Advances Morphog.* 5: 39-91. En: **Advances in morphogenesis. Abercrombie M, Brachet J, eds. Vol. 5. New York: Academic Press. P. 39-91.**

Tremblay, F.M. y Lalonde, M. 1984. Requirements for *in vitro* propagation of seven nitrogen- fixing *Alnus* species. **Plant Cell Tissue Organ Culture** **3**: 189- 199. Netherlands.

Tremblay, F.M., Périnet, P. y Lalonde, M. 1986. Tissue culture of *Alnus* spp. with regards to symbioses. En: **Biotechnology in Agriculture and Forestry. Trees I. (Ed. Y.P.S. Bajaj). Springer-Verlag. Berlin. P. 87-100.**

Tuominen, H., Östin, A., Sandberg, G., y Sundberg, B. 1994. A novel metabolic pathway for indole-3-acetic acid in apical shoots of *Populus tremula* (L.) x *Populus tremuloides* (Michx). **Plant Physiol.** **106**: 1511-1520.

Van der Krieken, W.M., Breteler, H., Visser, M.H.M. y Mavridou, D. 1993. The role of the conversion of IBA into IAA on root regeneration in apple: introduction of a test system. **Plant Cell Reports** **12**: 203-206.

Van der Krieken, W.M., Kodde, J., Visser, M.H.M., Tsardakas, D., Blaakmeer, A., De Groot, K. y Leegstra, L. 1997. Increased induction of adventitious rooting by slow release auxins and elicitors. En: **Biology of Root Formation and Development (Ed. Altman, A. y Waisel, Y.). Plenum Press. New York. P. 95-104.**

Vanková, R. 1999. Cytokinin glycoconjugates- distribution, metabolism and function. En: **Strnad M., Pec P. And Beck E. (eds), Advances in regulation of plant growth and development. Peres Publishers, Prague, Czech Republic. P. 67-78.**

Vatulescu, A.D., Fortunato, A.S., Sá, M.C., Amancio, S., Ricardo, C.P.P. y Jackson, P.A. 2004. Cloning and characterisation of a basic IAA oxidase associated with root induction in *Vitis vinifera*. **Plant Physiology and Biochemistry.** **42**. P. 609-615.

Vega, L. 1974. Influencia de la silvicultura en el comportamiento de *Cedrela* en Surinam. **Boletín del Instituto Latinoamericano de Investigación y Capacitación** (46): 57-87.

Venis, M.A. 1972. Auxin induced conjugation system in peas. **Plant physiol.** **49**: 24.

Vidal, N. 2002. Relación entre el contenido endógeno de reguladores de crecimiento, el estado ontogenético y la capacidad de enraizamiento de brotes de castaño y roble cultivados *in vitro*. **Memoria para optar al grado de doctora en Biología. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Universidad Santiago de Compostela. España.**

Vidal, N., Arellano, G., San-José, M.C., Vieitez, A.M. y Ballester, A. 2003. Developmental stages during the rooting of *in-vitro*-cultured *Quercus robur* shoots from material of juvenile and mature origin. **Tree Physiol.** **23**: 1247-1254.

Vieitez, A.M., Ballester, A., García, M.T. y Vieitez, E. 1980. Starch depletion and anatomical changes during the rooting of *Castanea sativa* Mill. Cuttings. **Scientia Horticulturae**, **13**. P. 261-266.

Vieitez, A.M. y Vieitez, M.L. 1983. Secuencia de cambios anatómicos durante la rizogénesis *in vitro* del castaño. **Phyton** **43**: 185-191.

- Vieitez, F.J., Ballester, A. y Vieitez, A.M. 1992. Somatic embryogenesis and plantlet regeneration from cell suspension cultures of *Fagus sylvatica* L. **Plant Cell Reports** **11**: 609-613.
- Vieitez, A.M., Sánchez, M.C., Amo-Marco, J.B. y Ballester, A. 1994. Forced flushing of branch segments as a method for obtaining reactive explants of mature *Quercus robur* trees for micropropagation. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, **37**: 287-295.
- Villalobos, A.V.M. y Thorpe, T.A. 1993. Micropropagación: conceptos, metodología y resultados. En: **Cultivo de Tejidos en la Agricultura, Fundamentos y Aplicaciones**. CIAT Centro Internacional de Agricultura Tropical (Ed. W.M. Roca y L.A. Mroginski). Cali. Colombia. P. 127-141.
- Vosátka, M. y Gryndler, M. 2000. Response of micropropagated potatoes transplanted to peat media to *post-vitro* inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria. **Applied Soil Ecology** **15**. P. 145-152.
- Walia, N., Sinha, S. y Babbar, S.B. 2003. Micropropagation of *Crataeva nurvala*. **Biología Plantarum** **46** (2): 181-185.
- Walz, A., Park, S., Momonoki, Y.S., Slovin, J.P., Ludwig-Müller, J., Cohen, J.D. 2001. A gene encoding a protein modified by the phytohormone indoleacetic acid. **Plant Biology** **2001**. Providence, R.I: American Society of Plant Biologists.
- Wample, R.L. y Reid, D.M. 1979. The role of endogenous auxins and ethylene in the formation of adventitious roots and hypocotyl hypertrophy in flooded sunflower plants (*Helianthus annuus*). **Physiol. Plant.** **45**: 219-216.
- Weigel, U., Horn, W. y Hock, B. 1984. Endogenous auxin levels in the terminal stem cuttings of *Chrysanthemum morifolium* during adventitious rooting. **Physiol. Plant.** **61**: 422-428.
- Welander, M., Jansson, E. y Lindquist, H. 1989. *In vitro* propagation of *Populus* x *Wilsocarpa*- a hybrid of ornamental value. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **18**: 209- 219. Netherlands.
- Wen Su, W., Hwang, W.I., Kim, S.Y. y Sagawa, Y. 1997. Induction of somatic embryogenesis in *Azadirachta indica*. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture** **50**. No. 2. P. 91-95.
- Went, F.W. 1974. Reflections and speculations. Annu. Rev. **Plant Physiol.** **25**: 1-26.
- White, P.J. 2002. Al's families. The phylogeny of aluminium accumulation in angiosperms. **TRENDS in Plant Science**, Vol. 7 No. 12. P. 526.
- White, J. y Lovell, P.H. 1984. Variation in the lag phase and uniformity of the lenght of the rooting phase prior to adventitious root production in cuttings of *Agathis australis*. **Physiologia Plantarum**, **61**, 459-463.
- Wissemeier, A.H., Hahn, G. y Marschner, H. 1998. Callose in roots of Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) is sensitive parameter for aluminium supply at a forest site (Höglwald). **Plant and Soil** **199**: 53-57.
- Wikipedia. 2001. Base de datos (<http://www.answers.com/topic/auxin>).
- Woong-Young, S., Eup-Dong, Y. y Sang-Sup, S. 1990. Artificial seed production and somatic embryogenesis from the cultured cells of *Cedrela sinensis* Juss. Reprinted from **Korean Society of Plant Tissue Culture**, vol **17**. No. 4, Seoul, Korea.
- Wright, A.D., Sampson, M.B., Neuffer, M.G., Michalczuk, L., Slovin, J.P. y Cohen, J.D. 1991. Indole-3-acetic acid biosynthesis in the mutant maize "orange pericarp", a tryptophan auxotroph. **Science**, vol **254**. P. 998-1000.
- Wright, A.D., Moehlenkamp, C.A., Perrot, G.H., Neuffer, M.G. y Cone, K.C. 1992. The maize auxotrophic mutant "orange pericarp" is defective in duplicate genes for tryptophan synthase?. **Plant Cell** **4**: 711-719.
- Yang, T. y Davies, P.J. 1999. Promotion of stem elongation by indole-3-butyric acid in intact plants of *Pisum sativum* L. **Plant Growth Regulation**, **27**: 157-160.
- Yano-Melo, A.M.; Saggin Júnior, O.J.; Lima-Filho, J.M.; Melo, N.F. y Maia, L.C. 1999. Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on the acclimatization of micropropagated banana plantlets. **Mycorrhiza**, **9**. P. 119-123.
- Zaer, J.B. y Mapes, M.O. 1982. Mapes action of growth regulators. En: **Forestry Sciences. Tissue Culture in Forestry**. Ed. J.M. Bonga y D.J. Durzan. Martinus Nijhoff/ Dr W. Junk Publishers. The Hague.

Zazimalova, E. y Napier, R.M. 2003. Points of regulation for auxin action. **Plant Cell Reports**, vol 21, No. 7. P 625-634.

Zhang, H., Horgan, K.J., Stewart Reynolds, P.H. y Jameson, P.E. 2003. Cytokinins and bud morphology in *Pinus radiata*. **Physiologia Plantarum** 117: 264-269.

Zhao, Y., Christiansen, S.K., Fankhauser, Ch., Cashman, J.R., Cohen, J.D., Weigel, D. y Chory, J. 2001. **Science**, vol 291. P. 306-309.

Zhou, J., Wu, H. y Collet, G.F. 1992. Histological study of initiation and development *in vitro* of adventitious roots in minicuttings of apple rootstocks of M26 and EMLA9. **Physiologia plantarum** 84: 433-440.

Zimmerman, R.H. 1985. Application of tissue culture propagation to woody plants. En: **Tissue Culture in Forestry and Agriculture**. Ed. R.R. Henke, K.W. Hughes, M.J. Constantin, A. Hollaender. Editor Técnico Claire M. Wilson. Plenum Press. New York. P. 390.

Zimmerman, R.H. 1986. Regeneration in woody ornamentals and fruit trees. En: **Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants. Plant Regeneration and Genetic Variability. Volume 3**. Ed. Indra K. Vasil. Academic Press, Inc. Harcourt Brace Jovanovich Publishers. Orlando. P. 657.

Anexos

ANEXOS

1. ESTABLECIMIENTO

1.1 *Cedrela odorata*

▪ Semilla

Anexo 1:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Altura brote	33,877(a)	20	1,694	8,758	,000
	Número brotes	41,838(b)	20	2,092	3,195	,000
	Número segmentos	43,650(c)	20	2,183	2,959	,000
Intercepto	Altura brote	174,180	1	174,180	900,595	,000
	Número brotes	355,799	1	355,799	543,477	,000
	Número segmentos	404,101	1	404,101	547,933	,000
Repetición	Altura brote	1,407	6	,235	1,213	,307
	Número brotes	5,808	6	,968	1,479	,195
	Número segmentos	5,250	6	,875	1,187	,321
Mes subcultivo	Altura brote	28,834	2	14,417	74,542	,000
	Número brotes	26,769	2	13,384	20,444	,000
	Número segmentos	23,464	2	11,732	15,908	,000
Repetición * Mes subcultivo	Altura brote	3,713	12	,309	1,600	,106
	Número brotes	8,995	12	,750	1,145	,336
	Número segmentos	13,659	12	1,138	1,543	,124
Error	Altura brote	17,020	88	,193		
	Número brotes	57,611	88	,655		
	Número segmentos	64,900	88	,738		
Total	Altura brote	294,350	109			
	Número brotes	485,000	109			
	Número segmentos	573,000	109			
Total corregida	Altura brote	50,897	108			
	Número brotes	99,450	108			
	Número segmentos	108,550	108			

a R cuadrado = ,666 (R cuadrado corregida = ,590)

b R cuadrado = ,421 (R cuadrado corregida = ,289)

c R cuadrado = ,402 (R cuadrado corregida = ,266)

Anexo 2:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Mes Subcultivo	(J) Mes Subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
ALTURA	1,00	3,00	-1,544(*)	,132	,000
		5,00	-1,059(*)	,108	,000
	3,00	1,00	1,544(*)	,132	,000
		5,00	,485(*)	,109	,000
	5,00	1,00	1,059(*)	,108	,000
		3,00	-,485(*)	,109	,000
No. BROTES	1,00	3,00	-1,286(*)	,243	,000
		5,00	-,063	,198	,749
	3,00	1,00	1,286(*)	,243	,000
		5,00	1,222(*)	,201	,000
	5,00	1,00	,063	,198	,749
		3,00	-1,222(*)	,201	,000
No. SEGMENTOS	1,00	3,00	-1,333(*)	,258	,000
		5,00	-,276	,210	,192
	3,00	1,00	1,333(*)	,258	,000
		5,00	1,057(*)	,213	,000
	5,00	1,00	,276	,210	,192
		3,00	-1,057(*)	,213	,000

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 3:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
1,00	23	1,5652	
5,00	64	1,6563	
3,00	22		2,8636

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,655.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 28,692

b Alfa = ,05.

Anexo 4:

Número de segmentos

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
1,00	23	1,6087	
5,00	64	1,9219	
3,00	22		2,9545

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,738.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 28,692

b Alfa = ,05.

Anexo 5:**Altura**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto		
		1	2	3
1,00	23	,5652		
5,00	64		1,6250	
3,00	22			2,0864

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,193.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 28,692

b Alfa = ,05.

▪ **Edad Cuatro meses**

Anexo 6:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	29,592(a)	20	1,480	1,861	,019
	Número segmentos	35,014(b)	20	1,751	2,082	,007
	Altura brote	17,697(c)	20	,885	5,701	,000
Intercepto	Número brotes	618,334	1	618,334	777,908	,000
	Número segmentos	633,946	1	633,946	754,031	,000
	Altura brote	203,041	1	203,041	1308,156	,000
Repetición	Número brotes	4,195	6	,699	,880	,511
	Número segmentos	4,116	6	,686	,816	,559
	Altura brote	,321	6	,054	,345	,912
Mes subcultivo	Número brotes	5,353	2	2,677	3,367	,037
	Número segmentos	6,215	2	3,108	3,696	,027
	Altura brote	12,094	2	6,047	38,961	,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	14,170	12	1,181	1,486	,134
	Número segmentos	16,781	12	1,398	1,663	,080
	Altura brote	3,810	12	,318	2,046	,023
Error	Número brotes	127,974	161	,795		
	Número segmentos	135,360	161	,841		
	Altura brote	24,989	161	,155		
Total	Número brotes	989,000	182			
	Número segmentos	1032,000	182			
	Altura brote	360,490	182			
Total corregida	Número brotes	157,566	181			
	Número segmentos	170,374	181			
	Altura brote	42,686	181			

a R cuadrado = ,188 (R cuadrado corregida = ,087)

b R cuadrado = ,206 (R cuadrado corregida = ,107)

c R cuadrado = ,415 (R cuadrado corregida = ,342)

Anexo 7:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Mes Subcultivo	(J) Mes Subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	1,00	3,00	-,514(*)	,205	,013
		5,00	-,407(*)	,184	,028
	3,00	1,00	,514(*)	,205	,013
		5,00	,107	,155	,491
	5,00	1,00	,407(*)	,184	,028
		3,00	-,107	,155	,491
No. SEGMENTOS	1,00	3,00	-,535(*)	,211	,012
		5,00	-,465(*)	,189	,015
	3,00	1,00	,535(*)	,211	,012
		5,00	,070	,159	,663
	5,00	1,00	,465(*)	,189	,015
		3,00	-,070	,159	,663
ALTURA BROTE	1,00	3,00	-,433(*)	,091	,000
		5,00	-,704(*)	,081	,000
	3,00	1,00	,433(*)	,091	,000
		5,00	-,271(*)	,069	,000
	5,00	1,00	,704(*)	,081	,000
		3,00	,271(*)	,069	,000

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 8:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
1,00	31	1,7419	
5,00	102		2,1863
3,00	49		2,2857

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,795.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 48,023

b Alfa = ,05.

Anexo 9:

Número de segmentos

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
1,00	31	1,7419	
5,00	102		2,2451
3,00	49		2,3061

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,841.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 48,023

b Alfa = ,05.

Anexo 10:**Altura del brote**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto		
		1	2	3
1,00	31	,8032		
3,00	49		1,2449	
5,00	102			1,5157

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,155.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 48,023

b Alfa = ,05.

▪ **Edad doce meses**

Anexo 11:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	26,306(a)	20	1,315	3,465	,000
	Número segmentos	33,934(b)	20	1,697	3,964	,000
	Altura brote	9,382(c)	20	,469	5,950	,000
Intercepto	Número brotes	285,908	1	285,908	753,090	,000
	Número segmentos	338,854	1	338,854	791,732	,000
	Altura brote	85,827	1	85,827	1088,665	,000
Repetición	Número brotes	4,004	6	,667	1,758	,118
	Número segmentos	10,022	6	1,670	3,903	,002
	Altura brote	3,260	6	,543	6,892	,000
Mes subcultivo	Número brotes	7,980	2	3,990	10,509	,000
	Número segmentos	11,713	2	5,857	13,684	,000
	Altura brote	4,081	2	2,041	25,883	,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	11,847	12	,987	2,600	,006
	Número segmentos	10,084	12	,840	1,963	,038
	Altura brote	1,827	12	,152	1,931	,042
Error	Número brotes	31,131	82	,380		
	Número segmentos	35,095	82	,428		
	Altura brote	6,465	82	,079		
Total	Número brotes	372,000	103			
	Número segmentos	442,000	103			
	Altura brote	110,810	103			
Total corregida	Número brotes	57,437	102			
	Número segmentos	69,029	102			
	Altura brote	15,847	102			

a R cuadrado = ,458 (R cuadrado corregida = ,326)

b R cuadrado = ,492 (R cuadrado corregida = ,368)

c R cuadrado = ,592 (R cuadrado corregida = ,493)

Anexo 12:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	1,00	3,00	-,164	,162	,314
		5,00	-,629(*)	,146	,000
	3,00	1,00	,164	,162	,314
		5,00	-,464(*)	,148	,002
	5,00	1,00	,629(*)	,146	,000
		3,00	,464(*)	,148	,002
No. SEGMENTOS	1,00	3,00	-,343(*)	,172	,050
		5,00	-,797(*)	,155	,000
	3,00	1,00	,343(*)	,172	,050
		5,00	-,454(*)	,158	,005
	5,00	1,00	,797(*)	,155	,000
		3,00	,454(*)	,158	,005
ALTURA BROTE	1,00	3,00	-,288(*)	,074	,000
		5,00	-,478(*)	,066	,000
	3,00	1,00	,288(*)	,074	,000
		5,00	-,190(*)	,068	,006
	5,00	1,00	,478(*)	,066	,000
		3,00	,190(*)	,068	,006

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 13:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
1,00	30	1,4333	
3,00	28	1,6071	
5,00	45		2,0444

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,380.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 32,870

b Alfa = ,05.

Anexo 14:

Número segmentos

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto		
		1	2	3
1,00	30	1,4667		
3,00	28		1,8214	
5,00	45			2,2444

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,428.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 32,870

b Alfa = ,05.

Anexo 15:**Altura brote**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto		
		1	2	3
1,00	30	,6733		
3,00	28		,9679	
5,00	45			1,1467

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,079.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 32,870

b Alfa = ,05.

▪ **Edad catorce meses**

Anexo 16:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	1,158(a)	13	,089	,223	,987
	No. Segmentos	1,158(a)	13	,089	,223	,987
	Altura brote	,844(b)	13	,065	1,623	,310
Intercepto	Número brotes	20,212	1	20,212	50,531	,001
	No. Segmentos	20,212	1	20,212	50,531	,001
	Altura brote	6,907	1	6,907	172,666	,000
Repetición	Número brotes	,967	6	,161	,403	,850
	No. Segmentos	,967	6	,161	,403	,850
	Altura brote	,319	6	,053	1,328	,387
Mes subcultivo	Número brotes	,000	2	,000	,000	1,000
	No. Segmentos	,000	2	,000	,000	1,000
	Altura brote	,232	2	,116	2,902	,146
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	,000	5	,000	,000	1,000
	No. Segmentos	,000	5	,000	,000	1,000
	Altura brote	,240	5	,048	1,198	,424
Error	Número brotes	2,000	5	,400		
	No. Segmentos	2,000	5	,400		
	Altura brote	,200	5	,040		
Total	Número brotes	31,000	19			
	No. Segmentos	31,000	19			
	Altura brote	8,750	19			
Total corregida	Número brotes	3,158	18			
	No. Segmentos	3,158	18			
	Altura brote	1,044	18			

a R cuadrado = ,367 (R cuadrado corregida = -1,280)

b R cuadrado = ,808 (R cuadrado corregida = ,310)

Anexo 17:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	1,00	3,00	-,107(b)	,334	,761
		5,00	,143(b)	,427	,752
	3,00	1,00	,107(c)	,334	,761
		5,00	,250(c,b)	,443	,597
	5,00	1,00	-,143(c)	,427	,752
		3,00	-,250(c,b)	,443	,597
No. SEGMENTOS	1,00	3,00	-,107(b)	,334	,761
		5,00	,143(b)	,427	,752
	3,00	1,00	,107(c)	,334	,761
		5,00	,250(c,b)	,443	,597
	5,00	1,00	-,143(c)	,427	,752
		3,00	-,250(c,b)	,443	,597
ALTURA BROTE	1,00	3,00	-,161(b)	,106	,188
		5,00	-,319(b)	,135	,065
	3,00	1,00	,161(c)	,106	,188
		5,00	-,158(c,b)	,140	,309
	5,00	1,00	,319(c)	,135	,065
		3,00	,158(c,b)	,140	,309

Basadas en las medias marginales estimadas.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

b Una estimación de la media marginal poblacional modificada (J).

c Una estimación de la media marginal poblacional modificada (I).

Anexo 18:**Número de brotes**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto
		1
5,00	3	1,0000
1,00	9	1,2222
3,00	7	1,2857

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,400.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,108

b Alfa = ,05.

Anexo 19:**Número de segmentos**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto
		1
5,00	3	1,0000
1,00	9	1,2222
3,00	7	1,2857

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,400.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,108

b Alfa = ,05.

Anexo 20:**Altura brote**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto
		1
1,00	9	,5222
3,00	7	,7000
5,00	3	,8333

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,040.

A Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,108

b Alfa = ,05.

- **Modelo Lineal General opción “Medidas repetidas”**
 - **No. de brotes**

Anexo 21:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	1,773	2	,887	6,153	,014
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	1,729	12	,144		
SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	4,523	2	2,261	11,761	,001
Error(SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	2,307	12	,192		
EDAD * SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	5,348	4	1,337	6,890	,001
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	4,657	24	,194		

Anexo 22:

- **Número de segmentos**

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	1,183	2	,592	2,702	,107
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	2,627	12	,219		
SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	5,989	2	2,994	12,893	,001
Error(SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	2,787	12	,232		
EDAD * SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	4,359	4	1,090	5,309	,003
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	4,926	24	,205		

▪ **Altura del brote más largo**

Anexo 23:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	2,583	2	1,291	30,891	,000
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	,502	12	,042		
SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	7,877	2	3,939	55,491	,000
Error(SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	,852	12	,071		
EDAD * SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	3,411	4	,853	24,076	,000
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	,850	24	,035		

1.2 Cedrela montana

- **Modelo Lineal General opción “Multivariante”**
 ▪ **Edad nueve meses**

Anexo 24:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	3,033(a)	13	,233	,589	,829
	No. Segmentos	3,033(a)	13	,233	,589	,829
	Atura brote	4,450(b)	13	,342	4,208	,004
Intercepto	Número brotes	60,000	1	60,000	151,579	,000
	No. Segmentos	60,000	1	60,000	151,579	,000
	Atura brote	26,867	1	26,867	330,248	,000
Repetición	Número brotes	,367	6	,061	,154	,985
	No. Segmentos	,367	6	,061	,154	,985
	Atura brote	2,511	6	,419	5,145	,004
Mes subcultivo	Número brotes	1,667	1	1,667	4,211	,057
	No. Segmentos	1,667	1	1,667	4,211	,057
	Atura brote	1,426	1	1,426	17,529	,001
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	1,033	6	,172	,435	,845
	No. Segmentos	1,033	6	,172	,435	,845
	Atura brote	,487	6	,081	,998	,460
Error	Número brotes	6,333	16	,396		
	No. Segmentos	6,333	16	,396		
	Atura brote	1,302	16	,081		
Total	Número brotes	71,000	30			
	No. Segmentos	71,000	30			
	Atura brote	32,260	30			
Total corregida	Número brotes	9,367	29			
	No. Segmentos	9,367	29			
	Atura brote	5,752	29			

a R cuadrado = ,324 (R cuadrado corregida = -,226)

b R cuadrado = ,774 (R cuadrado corregida = ,590)

Anexo 25:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	(a)
No. BROTES	1,00	3,00	-,476	,232	,057
	3,00	1,00	,476	,232	,057
No. SEGMENTOS	1,00	3,00	-,476	,232	,057
		1,00	,476	,232	,057
ALTURA BROTE	1,00		-,440(*)	,105	,001
	3,00	1,00		,105	,001

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

▪ **Edad doce meses**

Anexo 26:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	,068(a)	2	,034	1,054	,362
	No. Segmentos	,068(a)	2	,034	1,054	,362
	Altura Brote	,193(b)	2	,096	2,572	,094
Intercepto	Número brotes	32,638	1	32,638	1015,396	,000
	No. Segmentos	32,638	1	32,638	1015,396	,000
	Altura Brote	11,940	1	11,940	318,649	,000
Mes subcultivo	Número brotes	,068	2	,034	1,054	,362
	No. Segmentos	,068	2	,034	1,054	,362
	Altura Brote	,193	2	,096	2,572	
Error	Número brotes	,900	28	,032		
	No. Segmentos	,900	28	,032		
	Altura Brote	1,049	28	,037		
Total	Número brotes	34,000	31			
	No. Segmentos	34,000	31			
	Altura Brote	13,010	31			
Total corregida	Número brotes	,968	30			
	No. Segmentos	,968	30			
	Altura Brote	1,242	30			

a R cuadrado = ,070 (R cuadrado corregida = ,004)

b R cuadrado = ,155 (R cuadrado corregida = ,095)

Anexo 27:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	1,00	3,00	-,100	,077	,203
		5,00	1,015E-16	,079	1,000
	3,00	1,00	,100	,077	,203
		5,00	,100	,082	,235
	5,00	1,00	-1,015E-16	,079	1,000
		3,00	-,100	,082	,235
No. SEGMENTOS	1,00	3,00	-,100	,077	,203
		5,00	1,015E-16	,079	1,000
	3,00	1,00	,100	,077	,203
		5,00	,100	,082	,235
	5,00	1,00	-1,015E-16	,079	1,000
		3,00	-,100	,082	,235
ALTURA BROTE	1,00	3,00	-,058	,083	,487
		5,00	-,192(*)	,085	,033
	3,00	1,00	,058	,083	,487
		5,00	-,133	,089	,145
	5,00	1,00	,192(*)	,085	,033
		3,00	,133	,089	,145

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 28:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto
		1
1,00	12	1,0000
5,00	9	1,0000
3,00	10	1,1000

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,032.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10,189

b Alfa = ,05.

Anexo 29:**Número de segmentos**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto 1
1,00	12	1,0000
5,00	9	1,0000
3,00	10	1,1000

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,032.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10,189

b Alfa = ,05.

Anexo 30:**Altura brote**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto 1
1,00	12	,5417
3,00	10	,6000
5,00	9	,7333

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,037.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 10,189

b Alfa = ,05.

1.3 *Chlorophora tinctoria*

- **Modelo Lineal General opción “Multivariante”**
- **Semilla**

Anexo 31:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	9,717(a)	20	,486	2,553	,002
	No. Segmentos	9,717(a)	20	,486	2,553	,002
	Altura brotes	2,180(b)	20	,109	3,594	,000
Interceptos	Número brotes	165,075	1	165,075	867,469	,000
	No. Segmentos	165,075	1	165,075	867,469	,000
	Altura brotes	64,685	1	64,685	2132,163	,000
Repetición	Número brotes	2,836	6	,473	2,483	,030
	No. Segmentos	2,836	6	,473	2,483	,030
	Altura brotes	,765	6	,127	4,201	,001
Mes subcultivo	Número brotes	1,789	2	,895	4,702	,012
	No. Segmentos	1,789	2	,895	4,702	,012
	Altura brotes	,498	2	,249	8,211	,001
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	4,962	12	,414	2,173	,021
	No. Segmentos	4,962	12	,414	2,173	,021
	Altura brotes	,919	12	,077	2,526	,007
Error	Número brotes	15,033	79	,190		
	No. Segmentos	15,033	79	,190		
	Altura brotes	2,397	79	,030		
Total	Número brotes	207,000	100			
	No. Segmentos	207,000	100			
	Altura brotes	72,310	100			
Total corregida	Número brotes	24,750	99			
	No. Segmentos	24,750	99			
	Altura brotes	4,577	99			

a R cuadrado = ,393 (R cuadrado corregida = ,239)

b R cuadrado = ,476 (R cuadrado corregida = ,344)

Anexo 32:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	3,00	5,00	,271(*)	,099	,008
		7,00	,286(*)	,117	,017
	5,00	3,00	-,271(*)	,099	,008
		7,00	,014	,116	,903
	7,00	3,00	-,286(*)	,117	,017
		5,00	-,014	,116	,903
No. SEGMENTOS	3,00	5,00	,271(*)	,099	,008
		7,00	,286(*)	,117	,017
	5,00	3,00	-,271(*)	,099	,008
		7,00	,014	,116	,903
	7,00	3,00	-,286(*)	,117	,017
		5,00	-,014	,116	,903
ALTURA BROTE	3,00	5,00	-,117(*)	,040	,004
		7,00	-,177(*)	,047	,000
	5,00	3,00	,117(*)	,040	,004
		7,00	-,060	,046	,200
	7,00	3,00	,177(*)	,047	,000
		5,00	,060	,046	,200

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 33:**Número de brotes**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
7,00	22	1,2273	
5,00	40	1,2500	
3,00	38		1,5263

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,190.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 31,001

b Alfa = ,05.

Anexo 34:**Número de segmentos**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
7,00	22	1,2273	
5,00	40	1,2500	
3,00	38		1,5263

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,190.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 31,001

b Alfa = ,05.

Anexo 35:

Altura brote

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
3,00	38	,7342	
5,00	40		,8550
7,00	22		,9182

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,030.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 31,001

b Alfa = ,05.

▪ Edad cuatro meses

Anexo 36:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	70,473(a)	13	5,421	4,166	,000
	No. Segmentos	70,473(a)	13	5,421	4,166	,000
	Altura brote	2,781(b)	13	,214	4,450	,000
Intercepto	Número brotes	456,569	1	456,569	350,852	,000
	No. Segmentos	456,569	1	456,569	350,852	,000
	Altura brote	51,246	1	51,246	1065,879	,000
Repetición	Número brotes	49,075	6	8,179	6,285	,000
	No. Segmentos	49,075	6	8,179	6,285	,000
	Altura brote	,776	6	,129	2,691	,028
Mes subcultivo	Número brotes	6,948	1	6,948	5,339	,026
	No. Segmentos	6,948	1	6,948	5,339	,026
	Altura brote	,006	1	,006	,132	,718
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	10,196	6	1,699	1,306	,278
	No. Segmentos	10,196	6	1,699	1,306	,278
	Altura brote	1,998	6	,333	6,925	,000
Error	Número brotes	49,450	38	1,301		
	No. Segmentos	49,450	38	1,301		
	Altura brote	1,827	38	,048		
Total	Número brotes	576,000	52			
	No. Segmentos	576,000	52			
	Altura brote	56,010	52			
Total corregida	Número brotes	119,923	51			
	No. Segmentos	119,923	51			
	Altura brote	4,608	51			

a R cuadrado = ,588 (R cuadrado corregida = ,447)

b R cuadrado = ,604 (R cuadrado corregida = ,468)

Anexo 37:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	1,00	3,00	,740(*)	,320	,026
	3,00	1,00	-,740(*)	,320	,026
No. SEGMENTOS	1,00	3,00	,740(*)	,320	,026
	3,00	1,00	-,740(*)	,320	,026
ALTURA BROTE	1,00	3,00	-,022	,062	,718
	3,00	1,00	,022	,062	,718

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

▪ **Edad seis meses**

Anexo 38:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	6,700(a)	13	,515	1,558	,149
	No. Segmentos	7,163(b)	13	,551	1,240	,297
	Altura Brote	4,287(c)	13	,330	1,355	,233
Intercepto	Número brotes	112,540	1	112,540	340,197	,000
	No. Segmentos	138,519	1	138,519	311,668	,000
	Altura Brote	57,245	1	57,245	235,205	,000
Repetición	Número brotes	3,841	6	,640	1,935	,104
	No. Segmentos	3,867	6	,645	1,450	,226
	Altura Brote	1,833	6	,305	1,255	,305
Mes subcultivo	Número brotes	,079	1	,079	,237	,629
	No. Segmentos	1,442	1	1,442	3,245	,081
	Altura Brote	,442	1	,442	1,814	,187
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	2,996	6	,499	1,510	,206
	No. Segmentos	1,863	6	,311	,699	,653
	Altura Brote	1,800	6	,300	1,233	,315
Error	Número brotes	10,917	33	,331		
	No. Segmentos	14,667	33	,444		
	Altura Brote	8,032	33	,243		
Total	Número brotes	131,000	47			
	No. Segmentos	158,000	47			
	Altura Brote	71,410	47			
Total corregida	Número brotes	17,617	46			
	No. Segmentos	21,830	46			
	Altura Brote	12,319	46			

a R cuadrado = ,380 (R cuadrado corregida = ,136)

b R cuadrado = ,328 (R cuadrado corregida = ,063)

c R cuadrado = ,348 (R cuadrado corregida = ,091)

Anexo 39:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	1,00	3,00	,083	,171	,629
	3,00	1,00	-,083	,171	,629
No. SEGMENTOS	1,00	3,00	,357	,198	,081
	3,00	1,00	-,357	,198	,081
ALTURA BROTE	1,00	3,00	-,198	,147	,187
	3,00	1,00	,198	,147	,187

Basadas en las medias marginales estimadas.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

- **Modelo Lineal General opción “Medidas repetidas”**
- **Edad meses cuatro y seis, subcultivos uno y tres**
 - **Número de brotes**

Anexo 40:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	14,172	1	14,172	10,644	,017
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	7,989	6	1,331		
SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	1,193	1	1,193	6,268	,046
Error(SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	1,142	6	,190		
EDAD * SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	,762	1	,762	1,726	,237
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	2,649	6	,442		

- **Número de segmentos**

Anexo 41:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	10,900	1	10,900	7,316	,035
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	8,940	6	1,490		
SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	2,079	1	2,079	14,280	,009
Error(SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	,874	6	,146		
EDAD * SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	,255	1	,255	,588	,472
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	2,600	6	,433		

▪ **Altura del brote más largo**

Anexo 42:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	,098	1	,098	,806	,404
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	,730	6	,122		
SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	,083	1	,083	1,196	,316
Error(SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	,415	6	,069		
EDAD * SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	,052	1	,052	,437	,533
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	,716	6	,119		

1.4 *Quercus humboldtii*

▪ **Modelo Lineal General opción “Multivariante”**

▪ **Edad dos meses**

Anexo 43:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	21,716(a)	13	1,670	8,018	,000
	No. Segmentos	4,637(b)	13	,357	1,223	,333
	Altura brote	15,321(c)	13	1,179	4,669	,001
Intercepto	Número brotes	114,116	1	114,116	547,756	,000
	No. Segmentos	210,042	1	210,042	720,143	,000
	Altura brote	139,362	1	139,362	552,112	,000
Repetición	Número brotes	3,164	6	,527	2,531	,055
	No. Segmentos	2,595	6	,433	1,483	,234
	Altura brote	1,728	6	,288	1,141	,375
Mes subcultivo	Número brotes	14,005	1	14,005	67,222	,000
	No. Segmentos	,375	1	,375	1,286	,270
	Altura brote	10,890	1	10,890	43,143	,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	3,272	6	,545	2,618	,049
	No. Segmentos	1,265	6	,211	,723	,636
	Altura brote	2,696	6	,449	1,780	,154
Error	Número brotes	4,167	20	,208		
	No. Segmentos	5,833	20	,292		
	Altura brote	5,048	20	,252		
Total	Número brotes	154,000	34			
	No. Segmentos	228,000	34			
	Altura brote	153,980	34			
Total corregida	Número brotes	25,882	33			
	No. Segmentos	10,471	33			
	Altura brote	20,369	33			

a R cuadrado = ,839 (R cuadrado corregida = ,734)

b R cuadrado = ,443 (R cuadrado corregida = ,081)

c R cuadrado = ,752 (R cuadrado corregida = ,591)

Anexo 44:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	2,00	3,00	-1,310(*)	,160	,000
	3,00	2,00	1,310(*)	,160	,000
No. SEGMENTOS	2,00	3,00	-,214	,189	,270
	3,00	2,00	,214	,189	,270
ALTURA BROTE	2,00	3,00	1,155(*)	,176	,000
	3,00	2,00	-1,155(*)	,176	,000

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

▪ **Edad seis meses**

Anexo 45:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	13,330(a)	20	,666	2,666	,010
	No. Segmentos	16,053(b)	20	,803	3,211	,003
	Altura brote	8,093(c)	20	,405	2,029	,045
Intercepto	Número brotes	78,605	1	78,605	314,419	,000
	No. Segmentos	84,218	1	84,218	336,871	,000
	Altura brote	99,303	1	99,303	497,793	,000
Repetición	Número brotes	2,510	6	,418	1,673	,168
	No. Segmentos	2,246	6	,374	1,497	,218
	Altura brote	1,385	6	,231	1,157	,359
Mes subcultivo	Número brotes	5,328	2	2,664	10,656	,000
	No. Segmentos	7,328	2	3,664	14,656	,000
	Altura brote	2,081	2	1,041	5,216	,012
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	5,072	12	,423	1,691	,127
	No. Segmentos	5,350	12	,446	1,783	,105
	Altura brote	4,176	12	,348	1,745	,114
Error	Número brotes	6,500	26	,250		
	No. Segmentos	6,500	26	,250		
	Altura brote	5,187	26	,199		
Total	Número brotes	99,000	47			
	No. Segmentos	107,000	47			
	Altura brote	119,030	47			
Total corregida	Número brotes	19,830	46			
	No. Segmentos	22,553	46			
	Altura brote	13,280	46			

a R cuadrado = ,672 (R cuadrado corregida = ,420)

b R cuadrado = ,712 (R cuadrado corregida = ,490)

c R cuadrado = ,609 (R cuadrado corregida = ,309)

Anexo 46:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	2,00	3,00	-,214	,173	,225
		5,00	-,857(*)	,187	,000
	3,00	2,00	,214	,173	,225
		5,00	-,643(*)	,202	,004
	5,00	2,00	,857(*)	,187	,000
		3,00	,643(*)	,202	,004
No. SEGMENTOS	2,00	3,00	-,214	,173	,225
		5,00	-1,000(*)	,187	,000
	3,00	2,00	,214	,173	,225
		5,00	-,786(*)	,202	,001
	5,00	2,00	1,000(*)	,187	,000
		3,00	,786(*)	,202	,001
ALTURA BROTE	2,00	3,00	-,260	,154	,104
		5,00	-,531(*)	,167	,004
	3,00	2,00	,260	,154	,104
		5,00	-,271	,180	,145
	5,00	2,00	,531(*)	,167	,004
		3,00	,271	,180	,145

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 47:**Número de brotes**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
2,00	21	1,0000	
3,00	14	1,2143	
5,00	12		1,9167

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,250.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 14,824

b Alfa = ,05.

Anexo 48:**Número de segmentos**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
2,00	21	1,0000	
3,00	14	1,2143	
5,00	12		2,0833

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,250.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 14,824

b Alfa = ,05.

Anexo 49:**Altura brote**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
2,00	21	1,2619	
3,00	14	1,5214	1,5214
5,00	12		1,8917

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,199.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 14,824

b Alfa = ,05.

2. MULTIPLICACIÓN**2.1 Cedrela odorata**

- **Modelo Lineal General opción “Multivariante”**
- **Semilla**

Anexo 50:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	212,394(a)	139	1,528	2,126	,000
	No. Segmentos	239,044(b)	139	1,720	1,851	,000
	Altura brote	461,703(c)	139	3,322	11,032	,000
Intercepto	Número brotes	3379,206	1	3379,206	4702,672	,000
	No. Segmentos	4211,556	1	4211,556	4532,035	,000
	Altura brote	3699,321	1	3699,321	12286,021	,000
Repetición	Número brotes	27,194	19	1,431	1,992	,008
	No. Segmentos	31,901	19	1,679	1,807	,019
	Altura brote	6,251	19	,329	1,093	,354
Mes subcultivo	Número brotes	46,114	6	7,686	10,696	,000
	No. Segmentos	14,314	6	2,386	2,567	,018
	Altura brote	412,861	6	68,810	228,529	,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	139,086	114	1,220	1,698	,000
	No. Segmentos	192,829	114	1,691	1,820	,000
	Altura brote	42,591	114	,374	1,241	,060
Error	Número brotes	402,400	560	,719		
	No. Segmentos	520,400	560	,929		
	Altura brote	168,616	560	,301		
Total	Número brotes	3994,000	700			
	No. Segmentos	4971,000	700			
	Altura brote	4329,640	700			
Total corregida	Número brotes	614,794	699			
	No. Segmentos	759,444	699			
	Altura brote	630,319	699			

a R cuadrado = ,345 (R cuadrado corregida = ,183)

b R cuadrado = ,315 (R cuadrado corregida = ,145)

c R cuadrado = ,732 (R cuadrado corregida = ,666)

Anexo 51:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	7,00	9,00	-,820(*)	,120	,000
		11,00	-,650(*)	,120	,000
		13,00	-,350(*)	,120	,004
		15,00	-,430(*)	,120	,000
		17,00	-,440(*)	,120	
	9,00	19,00	-,160	,120	,183
		7,00	,820(*)	,120	,000
		11,00	,170	,120	,157
		13,00	,470(*)	,120	,000
		15,00	,390(*)	,120	,001
	11,00	17,00	,380(*)	,120	,002
		19,00	,660(*)	,120	,000
		7,00	,650(*)	,120	,000
		9,00	-,170	,120	,157
		13,00	,300(*)	,120	,013
	13,00	15,00	,220	,120	,067
		17,00	,210	,120	,080
		19,00	,490(*)	,120	,000
		7,00	,350(*)	,120	,004
		9,00	-,470(*)	,120	,000
	15,00	11,00	-,300(*)	,120	,013
		15,00	-,080	,120	,505
		17,00	-,090	,120	,453
		19,00	,190	,120	,114
		7,00	,430(*)	,120	,000
	17,00	9,00	-,390(*)	,120	,001
		11,00	-,220	,120	,067
		13,00	,080	,120	,505
		17,00	-,010	,120	,934
		19,00	,270(*)	,120	,025
	19,00	7,00	,440(*)	,120	,000
		9,00	-,380(*)	,120	,002
		11,00	-,210	,120	,080
		13,00	,090	,120	,453
		15,00	,010	,120	,934
No. SEGMENTOS	7,00	19,00	,280(*)	,120	,020
		7,00	,160	,120	,183
		9,00	-,660(*)	,120	,000
		11,00	-,490(*)	,120	,000
		13,00	-,190	,120	,114
		15,00	-,270(*)	,120	,025
		17,00	-,280(*)	,120	,020
		9,00	-,110	,136	,420
		11,00	-,030	,136	,826
		13,00	,180	,136	,187
		15,00	-,090	,136	,509
		17,00	,150	,136	,272

ALTURA BROTE	9,00	19,00	,300(*)	,136	,028
		7,00	,110	,136	,420
		11,00	,080	,136	,558
		13,00	,290(*)	,136	,034
		15,00	,020	,136	,883
	11,00	17,00	,260	,136	,057
		19,00	,410(*)	,136	,003
		7,00	,030	,136	,826
		9,00	-,080	,136	,558
		13,00	,210	,136	,124
	13,00	15,00	-,060	,136	,660
		17,00	,180	,136	,187
		19,00	,330(*)	,136	,016
		7,00	-,180	,136	,187
		9,00	-,290(*)	,136	,034
	15,00	11,00	-,210	,136	,124
		15,00	-,270(*)	,136	,048
		17,00	-,030	,136	,826
		19,00	,120	,136	,379
		7,00	,090	,136	,509
	17,00	9,00	-,020	,136	,883
		11,00	,060	,136	,660
		13,00	,270(*)	,136	,048
		17,00	,240	,136	,079
		19,00	,390(*)	,136	,004
	19,00	7,00	-,150	,136	,272
		9,00	-,260	,136	,057
		11,00	-,180	,136	,187
		13,00	,030	,136	,826
		15,00	-,240	,136	,079
	7,00	19,00	,150	,136	,272
		7,00	-,300(*)	,136	,028
		9,00	-,410(*)	,136	,003
		11,00	-,330(*)	,136	,016
		13,00	-,120	,136	,379
	9,00	15,00	-,390(*)	,136	,004
		17,00	-,150	,136	,272
		9,00	,112	,078	,150
		11,00	-,044	,078	,571
		13,00	-,825(*)	,078	,000
	11,00	15,00	-1,037(*)	,078	,000
		17,00	-1,780(*)	,078	,000
		19,00	-1,836(*)	,078	,000
		7,00	-,112	,078	,150
		11,00	-,156(*)	,078	,045
	9,00	13,00	-,937(*)	,078	,000
		15,00	-1,149(*)	,078	,000
		17,00	-1,892(*)	,078	,000
		19,00	-1,948(*)	,078	,000
		7,00	,044	,078	,571
	13,00	9,00	,156(*)	,078	,045
		13,00	-,781(*)	,078	,000
		15,00	-,993(*)	,078	,000

	17,00	-1,736(*)	,078	,000
	19,00	-1,792(*)	,078	,000
13,00	7,00	,825(*)	,078	,000
	9,00	,937(*)	,078	,000
	11,00	,781(*)	,078	,000
	15,00	-,212(*)	,078	,006
	17,00	-,955(*)	,078	,000
	19,00	-1,011(*)	,078	,000
15,00	7,00	1,037(*)	,078	,000
	9,00	1,149(*)	,078	,000
	11,00	,993(*)	,078	,000
	13,00	,212(*)	,078	,006
	17,00	-,743(*)	,078	,000
	19,00	-,799(*)	,078	,000
17,00	7,00	1,780(*)	,078	,000
	9,00	1,892(*)	,078	,000
	11,00	1,736(*)	,078	,000
	13,00	,955(*)	,078	,000
	15,00	,743(*)	,078	,000
	19,00	-,056	,078	,471
19,00		1,836(*)	,078	,000
	9,00	1,948(*)	,078	,000
	11,00	1,792(*)	,078	,000
	13,00	1,011(*)	,078	,000
	15,00	,799(*)	,078	,000
	17,00	,056	,078	,471

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 52:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
7,00	100	1,7900			
19,00	100	1,9500	1,9500		
13,00	100		2,1400	2,1400	
15,00	100		2,2200	2,2200	
17,00	100		2,2300	2,2300	
11,00	100			2,4400	2,4400
9,00	100				2,6100

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,719.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos.

No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 53:

Número de segmentos

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
19,00		2,2100	
13,00	100	2,3300	2,3300
	100	2,3600	2,3600
7,00	100	2,5100	
11,00	100	2,5400	2,5400
	100	2,6000	2,6000
9,00	100		

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III.

El término error es la Media cuadrática (Error) = ,929.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos.

No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 54:

Altura brote

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto			
		1	2	3	
9,00		1,4140			
7,00	100	1,5260			
11,00	100	1,5700			
13,00	100		2,3510		
15,00	100			2,5630	
17,00	100				3,3060
19,00	100				3,3620

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III.

El término error es la Media cuadrática (Error) = ,301.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos.

No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

▪ **Edad cuatro meses**

Anexo 55:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	163,570(a)	139	1,177	2,279	,000
	No. Segmentos	178,564(b)	139	1,285	2,460	,000
	Altura brote	46,597(c)	139	,335	3,033	,000
Intercepto	Número brotes	1952,230	1	1952,230	3780,252	,000
	No. Segmentos	2006,036	1	2006,036	3841,929	,000
	Altura brote	1556,157	1	1556,157	14079,226	,000
Repetición	Número brotes	17,284	19	,910	1,762	,024
	No. Segmentos	18,621	19	,980	1,877	,014
	Altura brote	7,688	19	,405	3,661	,000
Mes subcultivo	Número brotes	63,380	6	10,563	20,455	,000
	No. Segmentos	71,134	6	11,856	22,706	,000
	Altura brote	14,529	6	2,421	21,908	,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	82,906	114	,727	1,408	,007
	No. Segmentos	88,809	114	,779	1,492	,002
	Altura brote	24,381	114		1,935	,000
Error	Número brotes	289,200	560			
	No. Segmentos	292,400	560			
	Altura brote		560			
Total	Número brotes	2405,000	700			
	No. Segmentos	2477,000	700			
	Altura brote	1664,650				
Total corregida	Número brotes		699			
	No. Segmentos	470,964	699			
	Altura brote	108,493	699			

a R cuadrado = ,361 (R cuadrado corregida = ,203)

b R cuadrado = ,379 (R cuadrado corregida = ,225)

c R cuadrado = ,429 (R cuadrado corregida = ,288)

Anexo 56:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES		9,00	,290(*)	,102	,004
		11,00	,030	,102	,768
		13,00	-,340(*)	,102	,001
		15,00	-,380(*)	,102	,000
		17,00	-,700(*)	,102	,000
		19,00	-,160	,102	,116
		7,00	-,290(*)	,102	,004
		11,00	-,260(*)	,102	,011
		13,00	-,630(*)	,102	,000
		15,00	-,670(*)	,102	,000
		17,00	-,990(*)	,102	,000
		19,00	-,450(*)		,000
	11,00	7,00		,102	,768
		9,00	,260(*)	,102	,011
		13,00	-,370(*)	,102	,000
			-,410(*)	,102	,000
	13,00	17,00	-,730(*)	,102	,000
		19,00	-,190		,062
		7,00	,340(*)	,102	,001
		9,00	,630(*)	,102	,000
	15,00	11,00	,370(*)	,102	
		15,00	-,040		,694
		17,00	-,360(*)	,102	,000
		19,00		,102	,077
	17,00	7,00	,380(*)	,102	,000
		9,00	,670(*)	,102	,000
		11,00	,410(*)	,102	,000
		13,00	,040	,102	,694
	19,00	17,00	-,320(*)	,102	,002
		19,00	,220(*)	,102	,031
		7,00	,700(*)	,102	,000
		9,00	,990(*)	,102	,000
		11,00	,730(*)	,102	,000
		13,00	,360(*)	,102	,000
		15,00	,320(*)	,102	,002
		19,00	,540(*)	,102	,000
	7,00	9,00	,160	,102	,116
		11,00	,450(*)	,102	,000
		13,00	,190	,102	,062
		15,00	-,180	,102	,077
		17,00	-,220(*)	,102	,031
		19,00	-,540(*)	,102	,000
No. SEGMENTOS	7,00	9,00	,290(*)	,102	,005
		11,00	-2,073E-16	,102	1,000
		13,00	-,390(*)	,102	,000
		15,00	-,400(*)	,102	,000
		17,00		,102	,000

		19,00	-,160		,118
	9,00	7,00	-,290(*)	,102	
		11,00	-,290(*)	,102	,005
		13,00	-,680(*)	,102	,000
		15,00	-,690(*)	,102	,000
		17,00	-1,050(*)	,102	,000
			-,450(*)	,102	,000
		7,00	2,073E-16	,102	1,000
		9,00	,290(*)	,102	,005
		13,00	-,390(*)	,102	,000
		15,00	-,400(*)	,102	,000
		17,00	-,760(*)	,102	,000
		19,00	-,160	,102	,118
		7,00	,390(*)	,102	,000
		9,00	,680(*)	,102	,000
		11,00	,390(*)	,102	,000
		15,00	-,010	,102	,922
		17,00	-,370(*)	,102	,000
		19,00	,230(*)	,102	,025
	15,00	7,00	,400(*)	,102	,000
		9,00	,690(*)	,102	,000
		11,00	,400(*)	,102	,000
		13,00	,010	,102	,922
		17,00	-,360(*)	,102	,000
		19,00	,240(*)	,102	,019
	17,00	7,00	,760(*)	,102	,000
		9,00	1,050(*)	,102	,000
		11,00	,760(*)	,102	,000
		13,00	,370(*)	,102	,000
		15,00	,360(*)	,102	,000
		19,00	,600(*)	,102	,000
	19,00	7,00	,160	,102	,118
		9,00	,450(*)	,102	,000
		11,00	,160	,102	,118
		13,00	-,230(*)	,102	,025
		15,00	-,240(*)	,102	,019
		17,00	-,600(*)	,102	,000
ALTURA BROTE	7,00	9,00	,068	,047	,149
		11,00	-,114(*)	,047	,016
		13,00	-,180(*)	,047	,000
		15,00	-,179(*)	,047	,000
		17,00	-,350(*)	,047	,000
		19,00	-,330(*)	,047	,000
	9,00	7,00	-,068	,047	,149
		11,00	-,182(*)	,047	,000
		13,00	-,248(*)	,047	,000
		15,00	-,247(*)	,047	,000
			-,418(*)	,047	,000
		19,00	-,398(*)	,047	,000
	11,00	7,00	,114(*)	,047	,016
		9,00	,182(*)	,047	,000
		13,00	-,066	,047	
		15,00	-,065		,167

	13,00	17,00	-,236(*)	,047	,000
		19,00	-,216(*)	,047	,000
		7,00	,180(*)	,047	,000
		9,00	,248(*)	,047	,000
		11,00	,066		,161
	15,00	15,00	,001	,047	,983
		17,00	-,170(*)	,047	,000
		19,00	-,150(*)	,047	,002
		7,00	,179(*)	,047	,000
		9,00	,247(*)	,047	,000
	17,00	11,00	,065	,047	,167
		13,00	-,001		,983
		17,00	-,171(*)	,047	,000
		19,00	-,151(*)		,001
		7,00	,350(*)	,047	,000
	19,00	9,00	,418(*)	,047	,000
		11,00	,236(*)	,047	,000
		13,00	,170(*)		,000
		15,00	,171(*)	,047	,000
		19,00	,020	,047	,671
		7,00	,330(*)	,047	,000
		9,00	,398(*)	,047	,000
		11,00	,216(*)	,047	,000
		13,00	,150(*)	,047	,002
		15,00	,151(*)	,047	,001
		17,00	-,020		,671

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 57:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
9,00	100	1,2000			
11,00	100		1,4600		
7,00	100		1,4900		
19,00	100		1,6500	1,6500	
13,00	100			1,8300	
15,00	100			1,8700	
17,00	100				2,1900

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III.

El término error es la Media cuadrática (Error) = ,516.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos.

No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 58:**Número de segmentos**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
9,00	100	1,2000			
7,00	100		1,4900		
11,00	100		1,4900		
19,00	100		1,6500	1,6500	
13,00	100			1,8800	
15,00	100			1,8900	
17,00	100				2,2500

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III.

El término error es la Media cuadrática (Error) = ,522.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos.

No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 59:**Altura brote**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
9,00	100	1,2680			
7,00	100	1,3360	1,3360		
	100		1,4500	1,4500	
15,00	100			1,5150	
13,00				1,5160	
19,00	100				1,6660
17,00	100				1,6860

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III.

El término error es la Media cuadrática (Error) = ,111.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos.

No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

▪ **Edad doce meses**

Anexo 60:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes		139	,972	1,775	,000
	No. Segmentos	184,199(b)	139	1,325	1,917	,000
	Altura brote	111,740(c)	139	,804	4,502	,000
Intercepto	Número brotes	1850,063	1	1850,063	3376,907	,000
	No. Segmentos	2019,601	1	2019,601	2920,911	,000
	Altura brote	1495,918	1	1495,918	8377,813	,000
Repetición		23,594	19	1,242	2,267	,002
	No. Segmentos		19	1,686	2,438	,001
		16,253	19	,855	4,791	,000
Mes subcultivo	Número brotes	14,937	6	2,490	4,544	,000
	No. Segmentos	22,989	6	3,831	5,541	,000
	Altura brote	29,252	6	4,875		,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	96,606	114		1,547	,001
	No. Segmentos	129,183	114	1,133	1,639	,000
	Altura brote	66,235	114	,581	3,254	,000
Error	Número brotes	306,800	560	,548		
	No. Segmentos	387,200	560	,691		
	Altura brote	99,992	560	,179		
Total	Número brotes	2292,000	700			
	No. Segmentos	2591,000	700			
	Altura brote	1707,650	700			
Total corregida	Número brotes	441,937	699			
	No. Segmentos	571,399	699			
	Altura brote	211,732	699			

a R cuadrado = ,306 (R cuadrado corregida = ,133)

b R cuadrado = ,322 (R cuadrado corregida = ,154)

c R cuadrado = ,528 (R cuadrado corregida = ,411)

Anexo 61:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	7,00	9,00	,200	,105	,057
		11,00	,460(*)	,105	,000
		13,00	,100	,105	,340
		15,00	,260(*)	,105	,013
		17,00	,020	,105	,849
		19,00	,180	,105	,086
	9,00	7,00	-,200	,105	,057
		11,00	,260(*)	,105	,013
		13,00	-,100	,105	,340
		15,00	,060	,105	,567
		17,00	-,180	,105	,086
		19,00	-,020	,105	,849
	11,00	7,00	-,460(*)	,105	,000
		9,00	-,260(*)	,105	,013
		13,00	-,360(*)	,105	,001
		15,00	-,200	,105	,057
		17,00	-,440(*)	,105	,000
		19,00	-,280(*)	,105	,008
	15,00	7,00	-,100	,105	,340
		9,00	,100	,105	,340
		11,00	,360(*)	,105	,001
		15,00	,160	,105	,127
		17,00	-,080	,105	,445
		19,00	,080	,105	,445
	17,00	7,00	-,260(*)	,105	,013
		9,00	-,060	,105	,567
		11,00	,200	,105	,057
		13,00	-,160	,105	,127
		17,00	-,240(*)	,105	,022
		19,00	-,080	,105	,445
	19,00	7,00	-,020	,105	,849
		9,00	,180	,105	,086
		11,00	,440(*)	,105	,000
		13,00	,080	,105	,445
		15,00	,240(*)	,105	,022
		19,00	,160	,105	,127
No. SEGMENTOS		7,00	-,180	,105	,086
		9,00	,020	,105	,849
		11,00	,280(*)	,105	,008
		13,00	-,080	,105	,445
		15,00	,080	,105	,445
		17,00	-,160	,105	,127
		9,00	,200	,118	,090
		11,00	,450(*)	,118	,000
		13,00	1,869E-16	,118	1,000
		15,00	,070	,118	,552
		17,00	-,170	,118	,149

ALTURA BROTE	9,00	19,00	,160	,118	,174
		7,00	-,200	,118	,090
		11,00	,250(*)	,118	,034
		13,00	-,200	,118	,090
		15,00	-,130	,118	,269
	11,00	17,00	-,370(*)	,118	,002
		19,00	-,040	,118	,734
		7,00	-,450(*)	,118	,000
		9,00	-,250(*)	,118	,034
		13,00	-,450(*)	,118	,000
	13,00	15,00	-,380(*)	,118	,001
		17,00	-,620(*)	,118	,000
		19,00	-,290(*)	,118	,014
		7,00	-1,869E-16	,118	1,000
		9,00	,200	,118	,090
	15,00	11,00	,450(*)	,118	,000
		15,00	,070	,118	,552
		17,00	-,170	,118	,149
		19,00	,160	,118	,174
		7,00	-,070	,118	,552
	17,00	9,00	,130	,118	,269
		11,00	,380(*)	,118	,001
		13,00	-,070	,118	,552
		17,00	-,240(*)	,118	,042
		19,00	,090	,118	,444
	9,00	7,00	,170	,118	,149
		9,00	,370(*)	,118	,002
		11,00	,620(*)	,118	,000
		13,00	,170	,118	,149
		15,00	,240(*)	,118	,042
	7,00	19,00	,330(*)	,118	,005
		7,00	-,160	,118	,174
		9,00	,040	,118	,734
		11,00	,290(*)	,118	,014
		13,00	-,160	,118	,174
	9,00	15,00	-,090	,118	,444
		17,00	-,330(*)	,118	,005
		9,00	-,133(*)	,060	,026
		11,00	-,079	,060	,187
		13,00	-,565(*)	,060	,000
	11,00	15,00	-,405(*)	,060	,000
		17,00	-,475(*)	,060	,000
		19,00	-,134(*)	,060	,025
		7,00		,060	,026
		11,00	,054	,060	,367
	9,00	13,00	-,432(*)	,060	,000
		15,00	-,272(*)	,060	,000
		17,00	-,342(*)	,060	,000
		19,00	-,001	,060	,987
		7,00	,079	,060	,187
	11,00	9,00	-,054	,060	,367
		13,00		,060	,000
		15,00	-,326(*)	,060	,000

	17,00	-,396(*)	,060	,000
	19,00	-,055	,060	,358
13,00	7,00	,565(*)	,060	,000
	9,00	,432(*)	,060	,000
	11,00	,486(*)	,060	,000
	15,00	,160(*)	,060	,008
	17,00	,090	,060	,133
	19,00	,431(*)	,060	
15,00	7,00	,405(*)	,060	,000
	9,00	,272(*)	,060	,000
	11,00	,326(*)	,060	,000
	13,00	-,160(*)	,060	,008
		-,070	,060	,242
	19,00	,271(*)	,060	,000
17,00	7,00		,060	,000
	9,00	,342(*)	,060	,000
	11,00	,396(*)	,060	
	13,00	-,090		,133
	15,00		,060	,242
		,341(*)	,060	,000
19,00		,134(*)	,060	,025
	9,00	,001	,060	,987
	11,00	,055	,060	,358
	13,00	-,431(*)	,060	,000
	15,00	-,271(*)	,060	,000
		-,341(*)	,060	,000

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 62:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
11,00	100	1,3400	
15,00	100	1,5400	1,5400
9,00	100	1,6000	1,6000
19,00	100	1,6200	1,6200
13,00	100		1,7000
17,00	100		1,7800
7,00	100		1,8000

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III.

El término error es la Media cuadrática (Error) = ,548.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos.

No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 63:

Número de segmentos

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto		
		1	2	3
11,00	100	1,3500		
9,00	100	1,6000	1,6000	
19,00	100	1,6400	1,6400	1,6400
15,00	100		1,7300	1,7300
13,00	100		1,8000	1,8000
7,00	100		1,8000	1,8000
17,00	100			1,9700

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III.

El término error es la Media cuadrática (Error) = ,691.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos.

No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 64:

Altura brote

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto		
		1	2	3
7,00	100			
11,00	100	1,2850		
9,00	100	1,3390		
	100	1,3400		
15,00	100		1,6110	
17,00	100		1,6810	1,6810
	100			1,7710

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III.

El término error es la Media cuadrática (Error) = ,179.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos.

No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

- **Modelo Lineal General opción “Medidas repetidas”**

- **Número de brotes**

Anexo 65:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	28,248		14,124	58,103	,000
Error(EDAD)	Esfericidad asumida		38	,243		
SUBCULTIVO		5,306	6	,884	3,724	,002
Error(SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	27,068	114	,237		
	Esfericidad asumida	19,849	12	1,654	9,846	
SUBCULTIVO						
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	38,301	228	,168		

- **Número de segmentos**

Anexo 66:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	54,013	2	27,006	81,207	,000
Error(EDAD)		12,637	38	,333		
SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	8,232	6	1,372	4,838	,000
Error(SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	32,327	114	,284		
EDAD *	Esfericidad asumida	13,343	12	1,112	5,142	,000
SUBCULTIVO						
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	49,306	228	,216		

- **Altura del brote más largo**

Anexo 67:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	63,241	2	31,621	338,040	,000
Error(EDAD)		3,555	38	,094		
	Esfericidad asumida	49,429	6	8,238	92,404	,000
Error(EDAD)		10,164	114	,089		
EDAD *	Esfericidad asumida	41,895	12	3,491	48,222	,000
SUBCULTIVO						
Error(EDAD * SUBCULTIVO)		16,507	228	,072		

2.2 Cedrela montana

Modelo Lineal General opción “Multivariante”

Anexo 68:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido		150,462(a)	103	1,461	3,929	,000
	No. Segmentos	155,333(b)	103	1,508	3,921	,000
	Altura brote	79,300(c)	103	,770	4,553	,000
Intercepto	Número brotes	840,205	1	840,205	2259,862	,000
	No. Segmentos	866,667	1	866,667	2253,333	,000
	Altura brote	740,617	1	740,617	4379,691	,000
Repetición	Número brotes	2,564	7	,366	,985	,443
	No. Segmentos	2,410	7	,344	,895	,511
	Altura brote	8,900	7	1,271	7,518	,000
Mes subcultivo	Número brotes	87,462	12	7,288	19,603	,000
	No. Segmentos	92,833	12	7,736	20,114	,000
	Altura brote	40,970	12	3,414	20,190	,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	60,436	84	,719	1,935	,000
	No. Segmentos	60,090	84	,715	1,860	,000
	Altura brote	29,430	84	,350	2,072	,000
Error	Número brotes	77,333	208	,372		
	No. Segmentos	80,000	208	,385		
	Altura brote	35,173	208	,169		
Total	Número brotes	1068,000	312			
	No. Segmentos	1102,000	312			
	Altura brote		312			
Total corregida	Número brotes		311			
	No. Segmentos		311			
	Altura brote		311			

a R cuadrado = ,661 (R cuadrado corregida = ,492)

b R cuadrado = ,660 (R cuadrado corregida = ,492)

c R cuadrado = ,693 (R cuadrado corregida = ,541)

Anexo 69:

Es extremadamente extenso, opté no incluirlo.

Anexo 70:**Número de brotes**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto					
		1	2	3	4	5	6
11,00	24	1,0000					
9,00	24	1,0417	1,0417				
13,00	24	1,0417	1,0417				
15,00		1,2083	1,2083	1,2083			
14,00	24	1,3333	1,3333	1,3333			
18,00	24	1,5000	1,5000	1,5000			
16,00	24		1,5833	1,5833			
20,00	24			1,6250	1,6250		
22,00	24			1,6250	1,6250		
7,00	24				2,1250	2,1250	
24,00	24				2,1250	2,1250	
26,00	24					2,4167	2,4167
28,00	24						2,7083

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,372.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 24,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 71:**Número de segmentos**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto				
		1	2	3	4	5
11,00	24	1,0000				
9,00	24	1,0417				
13,00	24	1,0417				
15,00	24		1,2083			
14,00	24		1,3333			
18,00	24		1,5417			
20,00	24		1,6250	1,6250		
22,00	24		1,6250	1,6250		
16,00	24		1,6667	1,6667		
24,00	24			2,1250	2,1250	
7,00	24				2,3333	2,3333
26,00	24				2,4167	2,4167
28,00	24					2,7083

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,385.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 24,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 72:

Altura brote

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto					
		1	2	3	4	5	
11,00	24	1,1000					
	24	1,1625	1,1625				
13,00	24	1,1833	1,1833				
22,00	24		1,3000	1,3000			
	24	1,3625	1,3625	1,3625			
18,00	24	1,3708	1,3708	1,3708			
9,00	24	1,4583	1,4583	1,4583	1,4583		
14,00	24		1,5250	1,5250	1,5250		
16,00	24			1,5875	1,5875		
24,00	24				1,7375	1,7375	
7,00	24				1,7750	1,7750	
26,00	24					2,0583	
28,00	24						2,4083

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,169.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 24,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

2.3 *Chlorophora tinctoria*

- **Modelo Lineal General opción “Multivariante”**
- **Edad cuatro meses**

Anexo 73:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	200,592(a)	99	2,026	2,251	,020
	No. Segmentos	201,967(b)	99	2,040	2,267	,020
	Altura brote	13,969(c)	99	,141	7,525	,000
Intercepto	Número brotes	928,011	1	928,011	1031,123	,000
	No. Segmentos	934,444	1	934,444	1038,272	,000
	Altura brote	221,057	1	221,057	11789,690	,000
Repetición	Número brotes	63,192	19	3,326	3,695	,003
	No. Segmentos	64,967	19	3,419	3,799	,002
	Altura brote	4,093	19	,215	11,488	,000
Mes subcultivo	Número brotes	10,711	4	2,678	2,975	,044
	No. Segmentos	10,389	4	2,597	2,886	,049
	Altura brote	2,149	4	,537	28,653	,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	128,017	76	1,684	1,872	,058
	No. Segmentos	127,783	76	1,681	1,868	,058
	Altura brote	7,828	76	,103	5,493	,000
Error	Número brotes	18,000	20	,900		
	No. Segmentos	18,000	20	,900		
	Altura brote	,375	20	,019		
Total	Número brotes	1165,000	120			
	No. Segmentos	1172,000	120			
	Altura brote	242,320	120			
Total corregida	Número brotes	218,592	119			
	No. Segmentos	219,967	119			
	Altura brote	14,344	119			

a R cuadrado = ,918 (R cuadrado corregida = ,510)

b R cuadrado = ,918 (R cuadrado corregida = ,513)

c R cuadrado = ,974 (R cuadrado corregida = ,844)

Anexo 74:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	7,00	9,00	-,675(*)	,285	,028
		11,00	-3,553E-16	,285	1,000
		13,00	,200	,285	,490
		15,00	-,350	,285	,233
	9,00	7,00	,675(*)	,285	,028
		11,00	,675(*)	,285	,028
		13,00	,875(*)	,285	,006
		15,00	,325	,285	,267
	11,00	7,00	3,553E-16	,285	1,000
		9,00	-,675(*)	,285	,028
		13,00	,200	,285	,490
		15,00	-,350	,285	,233
	13,00	7,00	-,200	,285	,490
		9,00	-,875(*)	,285	,006
		11,00	-,200	,285	,490
		15,00	-,550	,285	,068
	15,00	7,00	,350	,285	,233
		9,00	-,325	,285	,267
		11,00	,350	,285	,233
		13,00	,550	,285	,068
No. SEGMENTOS	7,00	9,00	-,675(*)	,285	,028
		11,00	-,050	,285	,862
		13,00	,200	,285	,490
		15,00	-,350	,285	,233
	9,00	7,00	,675(*)	,285	,028
		11,00	,625(*)	,285	,040
		13,00	,875(*)	,285	,006
		15,00	,325	,285	,267
	11,00	7,00	,050	,285	,862
		9,00	-,625(*)	,285	,040
		13,00	,250	,285	,390
		15,00	-,300	,285	,304
	13,00	7,00	-,200	,285	,490
		9,00	-,875(*)	,285	,006
		11,00	-,250	,285	,390
		15,00	-,550	,285	,068
	15,00	7,00	,350	,285	,233
		9,00	-,325	,285	,267
		11,00	,300	,285	,304
		13,00	,550	,285	,068
ALTURA BROTE	7,00	9,00	-,075	,041	,083
		11,00	-,185(*)	,041	,000
		13,00	,032	,041	,438
		15,00	-,350(*)	,041	,000
	9,00	7,00	,075	,041	,083
		11,00	-,110(*)	,041	,014
		13,00	,107(*)	,041	,017
		15,00	-,275(*)	,041	,000

11,00	7,00	,185(*)	,041	,000
	9,00	,110(*)	,041	,014
	13,00	,217(*)	,041	,000
	15,00	-,165(*)	,041	,001
13,00	7,00	-,032	,041	,438
	9,00	-,107(*)	,041	,017
	11,00	-,217(*)	,041	,000
	15,00	-,382(*)	,041	,000
15,00	7,00	,350(*)	,041	,000
	9,00	,275(*)	,041	,000
	11,00	,165(*)	,041	,001
	13,00	,382(*)	,041	,000

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 75:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
13,00	24	2,4167	
11,00	24	2,7083	2,7083
8,00	24	2,7083	2,7083
15,00	24	2,9583	2,9583
9,00	24		3,2500

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,900.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 24,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 76:

Número de segmentos

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
13,00	24	2,4167	
8,00	24	2,7083	2,7083
11,00	24	2,7500	2,7500
15,00	24	2,9583	2,9583
9,00	24		3,2500

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,900.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 24,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 77:**Altura brote**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto		
		1	2	3
13,00	24	1,2583		
8,00	24	1,2583		
9,00	24	1,3333		
11,00	24		1,4375	
15,00	24			1,6042

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,019.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 24,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

▪ **Edad seis meses**

Anexo 78:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	463,148(a)	159	2,913	2,346	,000
	No. Segmentos	464,992(b)	159	2,924	2,387	,000
	Altura brote	26,303(c)	159	,165	1,996	,000
Intercepto	Número brotes	2416,519	1	2416,519	1946,190	,000
	No. Segmentos	2439,008	1	2439,008	1991,027	,000
	Altura brote	1046,071	1	1046,071	12619,099	,000
Repetición	Número brotes	45,773	19	2,409	1,940	,011
	No. Segmentos	46,825	19	2,464	2,012	,008
	Altura brote	3,415	19	,180	2,168	,004
Mes subcultivo	Número brotes	142,498	7	20,357	16,395	,000
	No. Segmentos	139,525	7	19,932	16,271	,000
	Altura brote	3,549	7	,507	6,116	,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	274,877	133	2,067	1,664	,000
	No. Segmentos	278,642	133	2,095	1,710	,000
	Altura brote	19,339	133	,145	1,754	,000
Error	Número brotes	397,333	320	1,242		
	No. Segmentos	392,000	320	1,225		
	Altura brote	26,527	320	,083		
Total	Número brotes	3277,000	480			
	No. Segmentos	3296,000	480			
	Altura brote	1098,900	480			
Total corregida	Número brotes	860,481	479			
	No. Segmentos	856,992	479			
	Altura brote	52,829	479			

a R cuadrado = ,538 (R cuadrado corregida = ,309)

b R cuadrado = ,543 (R cuadrado corregida = ,315)

c R cuadrado = ,498 (R cuadrado corregida = ,248)

Anexo 79:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	6,00	7,00	1,783(*)	,203	,000
		9,00	,217	,203	,288
		11,00	,233	,203	,252
		13,00	1,083(*)	,203	,000
		15,00	1,033(*)	,203	,000
		17,00	,800(*)	,203	,000
		19,00	,767(*)	,203	,000
	7,00	6,00	-1,783(*)	,203	,000
		9,00	-1,567(*)	,203	,000
		11,00	-1,550(*)	,203	,000
		13,00	-,700(*)	,203	,001
		15,00	-,750(*)	,203	,000
		17,00	-,983(*)	,203	,000
		19,00	-1,017(*)	,203	,000
	9,00	6,00	-,217	,203	,288
		7,00	1,567(*)	,203	,000
		11,00	,017	,203	,935
		13,00	,867(*)	,203	,000
		15,00	,817(*)	,203	,000
		17,00	,583(*)	,203	,004
		19,00	,550(*)	,203	,007
	11,00	6,00	-,233	,203	,252
		7,00	1,550(*)	,203	,000
		9,00	-,017	,203	,935
		13,00	,850(*)	,203	,000
		15,00	,800(*)	,203	,000
		17,00	,567(*)	,203	,006
		19,00	,533(*)	,203	,009
	13,00	6,00	-1,083(*)	,203	,000
		7,00	,700(*)	,203	,001
		9,00	-,867(*)	,203	,000
		11,00	-,850(*)	,203	,000
		15,00	-,050	,203	,806
		17,00	-,283	,203	,165
		19,00	-,317	,203	,121
	15,00	6,00	-1,033(*)	,203	,000
		7,00	,750(*)	,203	,000
		9,00	-,817(*)	,203	,000
		11,00	-,800(*)	,203	,000
		13,00	,050	,203	,806
		17,00	-,233	,203	,252
		19,00	-,267	,203	,191
	17,00	6,00	-,800(*)	,203	,000
		7,00	,983(*)	,203	,000
		9,00	-,583(*)	,203	,004
		11,00	-,567(*)	,203	,006
		13,00	,283	,203	,165

No. SEGMENTOS	19,00	15,00	,233	,203	,252
		19,00	-,033	,203	,870
		6,00	-,767(*)	,203	,000
		7,00	1,017(*)	,203	,000
		9,00	-,550(*)	,203	,007
		11,00	-,533(*)	,203	,009
		13,00	,317	,203	,121
		15,00	,267	,203	,191
		17,00	,033	,203	,870
	6,00	7,00	1,783(*)	,202	,000
		9,00	,217	,202	,284
		11,00	,233	,202	,249
		13,00	1,050(*)	,202	,000
		15,00	,983(*)	,202	,000
		17,00	,800(*)	,202	,000
		19,00	,767(*)	,202	,000
		6,00	-1,783(*)	,202	,000
		9,00	-1,567(*)	,202	,000
		11,00	-1,550(*)	,202	,000
	7,00	13,00	-,733(*)	,202	,000
		15,00	-,800(*)	,202	,000
		17,00	-,983(*)	,202	,000
		19,00	-1,017(*)	,202	,000
		6,00	-,217	,202	,284
		7,00	1,567(*)	,202	,000
		11,00	,017	,202	,934
		13,00	,833(*)	,202	,000
		15,00	,767(*)	,202	,000
		17,00	,583(*)	,202	,004
	9,00	19,00	,550(*)	,202	,007
		6,00	-,233	,202	,249
		7,00	1,550(*)	,202	,000
		9,00	-,017	,202	,934
		13,00	,817(*)	,202	,000
		15,00	,750(*)	,202	,000
		17,00	,567(*)	,202	,005
		19,00	,533(*)	,202	,009
		6,00	-1,050(*)	,202	,000
		7,00	,733(*)	,202	,000
	11,00	9,00	-,833(*)	,202	,000
		11,00	-,817(*)	,202	,000
		15,00	-,067	,202	,742
		17,00	-,250	,202	,217
		19,00	-,283	,202	,162
		6,00	-,983(*)	,202	,000
		7,00	,800(*)	,202	,000
		9,00	-,767(*)	,202	,000
		11,00	-,750(*)	,202	,000
		13,00	,067	,202	,742
	13,00	17,00	-,183	,202	,365
		19,00	-,217	,202	,284
		6,00	-,800(*)	,202	,000
		7,00	,983(*)	,202	,000
	15,00	15,00	-,983(*)	,202	,000
		6,00	-,800(*)	,202	,000
		7,00	,800(*)	,202	,000
		9,00	-,767(*)	,202	,000
		11,00	-,750(*)	,202	,000
		13,00	,067	,202	,742
		17,00	-,183	,202	,365
		19,00	-,217	,202	,284
		6,00	-,800(*)	,202	,000
		7,00	,983(*)	,202	,000

ALTURA BROTE	19,00	9,00	-,583(*)	,202	,004
		11,00	-,567(*)	,202	,005
		13,00	,250	,202	,217
		15,00	,183	,202	,365
		19,00	-,033	,202	,869
		6,00	-,767(*)	,202	,000
		7,00	1,017(*)	,202	,000
		9,00	-,550(*)	,202	,007
		11,00	-,533(*)	,202	,009
		13,00	,283	,202	,162
		15,00	,217	,202	,284
		17,00	,033	,202	,869
	6,00	8700	,037	,053	,486
		9,00	-,112(*)	,053	,034
		11,00	-,172(*)	,053	,001
		13,00	-,122(*)	,053	,021
		15,00	-,118(*)	,053	,025
		17,00	,045	,053	,393
		19,00	,058	,053	,268
	7,00	6,00	-,037	,053	,486
		9,00	-,148(*)	,053	,005
		11,00	-,208(*)	,053	,000
		13,00	-,158(*)	,053	,003
		15,00	-,155(*)	,053	,003
		17,00	,008	,053	,874
		19,00	,022	,053	,680
	9,00	6,00	,112(*)	,053	,034
		7,00	,148(*)	,053	,005
		11,00	-,060	,053	,255
		13,00	-,010	,053	,849
		15,00	-,007	,053	,899
		17,00	,157(*)	,053	,003
		19,00	,170(*)	,053	,001
	11,00	6,00	,172(*)	,053	,001
		7,00	,208(*)	,053	,000
		9,00	,060	,053	,255
		13,00	,050	,053	,342
		15,00	,053	,053	,311
		17,00	,217(*)	,053	,000
		19,00	,230(*)	,053	,000
	13,00	6,00	,122(*)	,053	,021
		7,00	,158(*)	,053	,003
		9,00	,010	,053	,849
		11,00	-,050	,053	,342
		15,00	,003	,053	,949
		17,00	,167(*)	,053	,002
		19,00	,180(*)	,053	,001
	15,00	6,00	,118(*)	,053	,025
		7,00	,155(*)	,053	,003
		9,00	,007	,053	,899
		11,00	-,053	,053	,311
		13,00	-,003	,053	,949
		17,00	,163(*)	,053	,002

	19,00	,177(*)	,053	,001
17,00	6,00	-,045	,053	,393
	7,00	-,008	,053	,874
	9,00	-,157(*)	,053	,003
	11,00	-,217(*)	,053	,000
	13,00	-,167(*)	,053	,002
	15,00	-,163(*)	,053	,002
	19,00	,013	,053	,800
19,00	6,00	-,058	,053	,268
	7,00	-,022	,053	,680
	9,00	-,170(*)	,053	,001
	11,00	-,230(*)	,053	,000
	13,00	-,180(*)	,053	,001
	15,00	-,177(*)	,053	,001
	17,00	-,013	,053	,800

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 80:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto		
		1	2	3
7,00	60	1,2000		
13,00	60		1,9000	
15,00	60		1,9500	
17,00	60		2,1833	
19,00	60		2,2167	
11,00	60			2,7500
9,00	60			2,7667
6,00	60			2,9833

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = 1,242.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 60,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 81:**Número de segmentos**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto		
		1	2	3
7,00	60	1,2000		
13,00	60		1,9333	
15,00	60		2,0000	
17,00	60		2,1833	
19,00	60		2,2167	
11,00	60			2,7500
9,00	60			2,7667
6,00	60			2,9833

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = 1,225.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 60,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 82:**Altura brote**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto		
		1	2	3
19,00	60	1,3700		
17,00	60	1,3833		
7,00	60	1,3917		
6,00	60	1,4283	1,4283	
9,00	60		1,5400	1,5400
15,00	60		1,5467	1,5467
13,00	60		1,5500	1,5500
11,00	60			1,6000

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,083.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 60,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

▪ **Edad siete meses**

Anexo 83:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	452,595(a)	159	2,847	2,172	,000
	No. Segmentos	453,180(b)	159	2,850	2,183	,000
	Altura brote	19,838(c)	159	,125	2,341	,000
Intercepto	Número brotes	3706,605	1	3706,605	2828,120	,000
	No. Segmentos	3715,220	1	3715,220	2845,549	,000
	Altura brote	1424,178	1	1424,178	26726,314	,000
Repetición	Número brotes	39,195	19	2,063	1,574	,057
	No. Segmentos	39,380	19	2,073	1,587	,054
	Altura brote	2,625	19	,138	2,592	,000
Mes subcultivo	Número brotes	108,215	7	15,459	11,795	,000
	No. Segmentos	108,240	7	15,463	11,843	,000
	Altura brote	1,708	7	,244	4,579	,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	305,185	133	2,295	1,751	,000
	No. Segmentos	305,560	133	2,297	1,760	,000
	Altura brote	15,505	133	,117	2,188	,000
Error	Número brotes	838,800	640	1,311		
	No. Segmentos	835,600	640	1,306		
	Altura brote	34,104	640	,053		
Total	Número brotes	4998,000	800			
	No. Segmentos	5004,000	800			
	Altura brote	1478,120	800			
Total corregida	Número brotes	1291,395	799			
	No. Segmentos	1288,780	799			
	Altura brote	53,942	799			

a R cuadrado = ,350 (R cuadrado corregida = ,189)

b R cuadrado = ,352 (R cuadrado corregida = ,191)

c R cuadrado = ,368 (R cuadrado corregida = ,211)

Anexo 84:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	3,00	5,00	-,240	,162	,139
		6,00	-,350(*)	,162	,031
		7,00	-,760(*)	,162	,000
		8,00	,210	,162	,195
		9,00	-,240	,162	,139
		11,00	-,420(*)	,162	,010
	5,00	13,00	-1,020(*)	,162	,000
		3,00	,240	,162	,139
		6,00	-,110	,162	,497

		7,00	-,520(*)	,162	,001
		8,00	,450(*)	,162	,006
		9,00	1,316E-15	,162	1,000
		11,00	-,180	,162	,267
		13,00	-,780(*)	,162	,000
	6,00	3,00	,350(*)	,162	,031
		5,00	,110	,162	,497
		7,00	-,410(*)	,162	,012
		8,00	,560(*)	,162	,001
		9,00	,110	,162	,497
		11,00	-,070	,162	,666
		13,00	-,670(*)	,162	,000
	7,00	3,00	,760(*)	,162	,000
		5,00	,520(*)	,162	,001
		6,00	,410(*)	,162	,012
		8,00	,970(*)	,162	,000
		9,00	,520(*)	,162	,001
		11,00	,340(*)	,162	,036
		13,00	-,260	,162	,109
	8,00	3,00	-,210	,162	,195
		5,00	-,450(*)	,162	,006
		6,00	-,560(*)	,162	,001
		7,00	-,970(*)	,162	,000
		9,00	-,450(*)	,162	,006
		11,00	-,630(*)	,162	,000
		13,00	-1,230(*)	,162	,000
	9,00	3,00	,240	,162	,139
		5,00	-1,316E-15	,162	1,000
		6,00	-,110	,162	,497
		7,00	-,520(*)	,162	,001
		8,00	,450(*)	,162	,006
		11,00	-,180	,162	,267
		13,00	-,780(*)	,162	,000
	11,00	3,00	,420(*)	,162	,010
		5,00	,180	,162	,267
		6,00	,070	,162	,666
		7,00	-,340(*)	,162	,036
		8,00	,630(*)	,162	,000
		9,00	,180	,162	,267
		13,00	-,600(*)	,162	,000
	13,00	3,00	1,020(*)	,162	,000
		5,00	,780(*)	,162	,000
		6,00	,670(*)	,162	,000
		7,00	,260	,162	,109
		8,00	1,230(*)	,162	,000
		9,00	,780(*)	,162	,000
		11,00	,600(*)	,162	,000
No. SEGMENTOS	3,00	5,00	-,240	,162	,138
		6,00	-,370(*)	,162	,022
		7,00	-,760(*)	,162	,000
		8,00	,210	,162	,194
		9,00	-,240	,162	,138
		11,00	-,420(*)	,162	,010

		13,00	-1,020(*)	,162	,000
	5,00	3,00	,240	,162	,138
		6,00	-,130	,162	,421
		7,00	-,520(*)	,162	,001
		8,00	,450(*)	,162	,006
		9,00	1,599E-15	,162	1,000
		11,00	-,180	,162	,266
		13,00	-,780(*)	,162	,000
	6,00	3,00	,370(*)	,162	,022
		5,00	,130	,162	,421
		7,00	-,390(*)	,162	,016
		8,00	,580(*)	,162	,000
		9,00	,130	,162	,421
		11,00	-,050	,162	,757
		13,00	-,650(*)	,162	,000
	7,00	3,00	,760(*)	,162	,000
		5,00	,520(*)	,162	,001
		6,00	,390(*)	,162	,016
		8,00	,970(*)	,162	,000
		9,00	,520(*)	,162	,001
		11,00	,340(*)	,162	,036
		13,00	-,260	,162	,108
	8,00	3,00	-,210	,162	,194
		5,00	-,450(*)	,162	,006
		6,00	-,580(*)	,162	,000
		7,00	-,970(*)	,162	,000
		9,00	-,450(*)	,162	,006
		11,00	-,630(*)	,162	,000
		13,00	-1,230(*)	,162	,000
	9,00	3,00	,240	,162	,138
		5,00	-1,599E-15	,162	1,000
		6,00	-,130	,162	,421
		7,00	-,520(*)	,162	,001
		8,00	,450(*)	,162	,006
		11,00	-,180	,162	,266
		13,00	-,780(*)	,162	,000
	11,00	3,00	,420(*)	,162	,010
		5,00	,180	,162	,266
		6,00	,050	,162	,757
		7,00	-,340(*)	,162	,036
		8,00	,630(*)	,162	,000
		9,00	,180	,162	,266
		13,00	-,600(*)	,162	,000
	13,00	3,00	1,020(*)	,162	,000
		5,00	,780(*)	,162	,000
		6,00	,650(*)	,162	,000
		7,00	,260	,162	,108
		8,00	1,230(*)	,162	,000
		9,00	,780(*)	,162	,000
		11,00	,600(*)	,162	,000
ALTURA BROTE	3,00	5,00	-,082(*)	,033	,012
		6,00	,031	,033	,343
		7,00	,054	,033	,099

	8,00	,021	,033	,520
	9,00	,079(*)	,033	,016
	11,00	,001	,033	,976
	13,00	,054	,033	,099
5,00	3,00	,082(*)	,033	,012
	6,00	,113(*)	,033	,001
	7,00	,136(*)	,033	,000
	8,00	,103(*)	,033	,002
	9,00	,161(*)	,033	,000
	11,00	,083(*)	,033	,011
	13,00	,136(*)	,033	,000
6,00	3,00	-,031	,033	,343
	5,00	-,113(*)	,033	,001
	7,00	,023	,033	,481
	8,00	-,010	,033	,759
	9,00	,048	,033	,142
	11,00	-,030	,033	,358
	13,00	,023	,033	,481
7,00	3,00	-,054	,033	,099
	5,00	-,136(*)	,033	,000
	6,00	-,023	,033	,481
	8,00	-,033	,033	,312
	9,00	,025	,033	,444
	11,00	-,053	,033	,105
	13,00	-1,176E-14	,033	1,000
8,00	3,00	-,021	,033	,520
	5,00	-,103(*)	,033	,002
	6,00	,010	,033	,759
	7,00	,033	,033	,312
	9,00	,058	,033	,076
	11,00	-,020	,033	,540
	13,00	,033	,033	,312
9,00	3,00	-,079(*)	,033	,016
	5,00	-,161(*)	,033	,000
	6,00	-,048	,033	,142
	7,00	-,025	,033	,444
	8,00	-,058	,033	,076
	11,00	-,078(*)	,033	,017
	13,00	-,025	,033	,444
11,00	3,00	-,001	,033	,976
	5,00	-,083(*)	,033	,011
	6,00	,030	,033	,358
	7,00	,053	,033	,105
	8,00	,020	,033	,540
	9,00	,078(*)	,033	,017
	13,00	,053	,033	,105
13,00	3,00	-,054	,033	,099
	5,00	-,136(*)	,033	,000
	6,00	-,023	,033	,481
	7,00	1,176E-14	,033	1,000
	8,00	-,033	,033	,312
	9,00	,025	,033	,444
	11,00	-,053	,033	,105

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 85:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
8,00	100	1,5900			
3,00	100	1,8000	1,8000		
5,00	100	2,0400	2,0400		
9,00	100	2,0400	2,0400		
6,00	100		2,1500	2,1500	
11,00	100		2,2200	2,2200	
7,00	100			2,5600	2,5600
13,00	100				2,8200

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = 1,311.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 86:

Número de segmentos

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
8,00	100	1,5900			
3,00	100	1,8000	1,8000		
5,00	100	2,0400	2,0400		
9,00	100	2,0400	2,0400		
6,00	100		2,1700	2,1700	
11,00	100		2,2200	2,2200	
7,00	100			2,5600	2,5600
13,00	100				2,8200

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = 1,306.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 87:**Altura brote**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto	
		1	2
9,00	100	1,2750	
13,00	100	1,3000	
7,00	100	1,3000	
6,00	100	1,3230	
8,00	100	1,3330	
11,00	100	1,3530	1,3530
3,00	100	1,3540	1,3540
5,00	100		1,4360

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,053.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 100,000

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

- **Modelo Lineal General opción “Medidas repetidas”**
 - **Edad cuatro, seis y siete meses. Subcultivos siete, nueve, once y trece**
 - **Número de brotes**

Anexo 88:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	24,917	2	12,458	17,495	,000
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	27,060	38	,712		
SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	27,279	3	9,093	9,959	,000
Error(SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	52,042	57	,913		
EDAD * SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	31,137	6	5,190	5,396	,000
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	109,647	114	,962		

- **Número de segmentos**

Anexo 89:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	25,520	2	12,760	17,013	,000
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	28,499	38	,750		
SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	27,680	3	9,227	10,160	,000
Error(SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	51,764	57	,908		
EDAD * SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	30,212	6	5,035	5,222	,000
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	109,919	114	,964		

▪ Altura del brote más largo

Anexo 90:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	1,884	2	,942	12,176	,000
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	2,940	38	,077		
SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	,625	3	,208	3,108	,033
Error (SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	3,820	57	,067		
EDAD * SUBCULTIVO	Esfericidad asumida	,491	6	,082	1,662	,137
Error(EDAD * SUBCULTIVO)	Esfericidad asumida	5,615	114	,049		

2.4 *Quercus humboldtii*

▪ Modelo Lineal General opción “Multivariante”

Anexo 91:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número brotes	234,229(a)	71	3,299	1,871	,001
	No. Segmentos	223,233(b)	71	3,144	1,660	,004
	Altura brote	38,088(c)	71	,536	3,216	,000
Intercepto	Número brotes	1703,482	1	1703,482	966,297	,000
	No. Segmentos	1961,060	1	1961,060	1035,489	,000
	Altura brote	835,920	1	835,920	5011,047	,000
Repetición	Número brotes	7,156	7	1,022	,580	,772
	No. Segmentos	5,420	7	,774	,409	,896
	Altura brote	7,079	7	1,011	6,063	,000
Mes subcultivo	Número brotes	125,917	8	15,740	8,928	,000
	No. Segmentos	93,713	8	11,714	6,185	,000
	Altura brote	18,927	8	2,366	14,182	,000
Repetición * Mes subcultivo	Número brotes	102,883	56	1,837	1,042	,411
	No. Segmentos	123,588	56	2,207	1,165	,228
	Altura brote	13,177	56	,235	1,411	,049
Error	Número brotes	296,167	168	1,763		
	No. Segmentos	318,167	168	1,894		
	Altura brote	28,025	168	,167		
Total	Número brotes	2373,000	240			
	No. Segmentos	2630,000	240			
	Altura brote	952,770	240			
Total corregida	Número brotes	530,396	239			
	No. Segmentos	541,400	239			
	Altura brote	66,113	239			

a R cuadrado = ,442 (R cuadrado corregida = ,206)

b R cuadrado = ,412 (R cuadrado corregida = ,164)

c R cuadrado = ,576 (R cuadrado corregida = ,397)

Anexo 92:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Mes subcultivo	(J) Mes subcultivo	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
No. BROTES	4,00	5,00	,250	,383	,515
		7,00	,625	,383	,105
		9,00	,167	,383	,664
		11,00	,542	,383	,159
		13,00	-,729(*)	,332	,029
		15,00	-,875(*)	,383	,024
		17,00	-1,417(*)	,383	,000
		19,00	-1,375(*)	,383	,000
	5,00	4,00	-,250	,383	,515
		7,00	,375	,383	,329
		9,00	-,083	,383	,828
		11,00	,292	,383	,448
		13,00	-,979(*)	,332	,004
		15,00	-1,125(*)	,383	,004
		17,00	-1,667(*)	,383	,000
		19,00	-1,625(*)	,383	,000
	7,00	4,00	-,625	,383	,105
		5,00	-,375	,383	,329
		9,00	-,458	,383	,233
		11,00	-,083	,383	,828
		13,00	-1,354(*)	,332	,000
		15,00	-1,500(*)	,383	,000
		17,00	-2,042(*)	,383	,000
		19,00	-2,000(*)	,383	,000
	9,00	4,00	-,167	,383	,664
		5,00	,083	,383	,828
		7,00	,458	,383	,233
		11,00	,375	,383	,329
		13,00	-,896(*)	,332	,008
		15,00	-1,042(*)	,383	,007
		17,00	-1,583(*)	,383	,000
		19,00	-1,542(*)	,383	,000
	11,00	4,00	-,542	,383	,159
		5,00	-,292	,383	,448
		7,00	,083	,383	,828
		9,00	-,375	,383	,329
		13,00	-1,271(*)	,332	,000
		15,00	-1,417(*)	,383	,000
		17,00	-1,958(*)	,383	,000
		19,00	-1,917(*)	,383	,000
	13,00	4,00	,729(*)	,332	,029
		5,00	,979(*)	,332	,004
		7,00	1,354(*)	,332	,000
		9,00	,896(*)	,332	,008
		11,00	1,271(*)	,332	,000
		15,00	-,146	,332	,661

No. SEGMENTOS	15,00	17,00	-,687(*)	,332	,040
		19,00	-,646	,332	,053
		4,00	,875(*)	,383	,024
		5,00	1,125(*)	,383	,004
		7,00	1,500(*)	,383	,000
		9,00	1,042(*)	,383	,007
		11,00	1,417(*)	,383	,000
		13,00	,146	,332	,661
		17,00	-,542	,383	,159
		19,00	-,500	,383	,194
	17,00	4,00	1,417(*)	,383	,000
		5,00	1,667(*)	,383	,000
		7,00	2,042(*)	,383	,000
		9,00	1,583(*)	,383	,000
		11,00	1,958(*)	,383	,000
		13,00	,687(*)	,332	,040
		15,00	,542	,383	,159
		19,00	,042	,383	,914
		4,00	1,375(*)	,383	,000
		5,00	1,625(*)	,383	,000
	19,00	7,00	2,000(*)	,383	,000
		9,00	1,542(*)	,383	,000
		11,00	1,917(*)	,383	,000
		13,00	,646	,332	,053
		15,00	,500	,383	,194
		17,00	-,042	,383	,914
		5,00	,250	,397	,530
		7,00	,625	,397	,118
		9,00	-,750	,397	,061
		11,00	,083	,397	,834
	5,00	13,00	-,646	,344	,062
		15,00	-,792(*)	,397	,048
		17,00	-1,333(*)	,397	,001
		19,00	-1,292(*)	,397	,001
		4,00	-,250	,397	,530
		7,00	,375	,397	,347
		9,00	-1,000(*)	,397	,013
		11,00	-,167	,397	,675
		13,00	-,896(*)	,344	,010
		15,00	-1,042(*)	,397	,010
	7,00	17,00	-1,583(*)	,397	,000
		19,00	-1,542(*)	,397	,000
		4,00	-,625	,397	,118
		5,00	-,375	,397	,347
		9,00	-1,375(*)	,397	,001
		11,00	-,542	,397	,175
		13,00	-1,271(*)	,344	,000
		15,00	-1,417(*)	,397	,000
		17,00	-1,958(*)	,397	,000
		19,00	-1,917(*)	,397	,000
	9,00	4,00	,750	,397	,061
		5,00	1,000(*)	,397	,013
		7,00	1,375(*)	,397	,001

ALTURA BROTE		11,00	,833(*)	,397	,037
		13,00	,104	,344	,762
		15,00	-,042	,397	,917
		17,00	-,583	,397	,144
		19,00	-,542	,397	,175
	11,00	4,00	-,083	,397	,834
		5,00	,167	,397	,675
		7,00	,542	,397	,175
		9,00	-,833(*)	,397	,037
		13,00	-,729(*)	,344	,036
		15,00	-,875(*)	,397	,029
		17,00	-1,417(*)	,397	,000
		19,00	-1,375(*)	,397	,001
	13,00	4,00	,646	,344	,062
		5,00	,896(*)	,344	,010
		7,00	1,271(*)	,344	,000
		9,00	-,104	,344	,762
		11,00	,729(*)	,344	,036
		15,00	-,146	,344	,672
		17,00	-,687(*)	,344	,047
		19,00	-,646	,344	,062
	15,00	4,00	,792(*)	,397	,048
		5,00	1,042(*)	,397	,010
		7,00	1,417(*)	,397	,000
		9,00	,042	,397	,917
		11,00	,875(*)	,397	,029
		13,00	,146	,344	,672
		17,00	-,542	,397	,175
		19,00	-,500	,397	,210
	17,00	4,00	1,333(*)	,397	,001
		5,00	1,583(*)	,397	,000
		7,00	1,958(*)	,397	,000
		9,00	,583	,397	,144
		11,00	1,417(*)	,397	,000
		13,00	,687(*)	,344	,047
		15,00	,542	,397	,175
		19,00	,042	,397	,917
	19,00	4,00	1,292(*)	,397	,001
		5,00	1,542(*)	,397	,000
		7,00	1,917(*)	,397	,000
		9,00	,542	,397	,175
		11,00	1,375(*)	,397	,001
		13,00	,646	,344	,062
		15,00	,500	,397	,210
		17,00	-,042	,397	,917
	4,00	5,00	-,571(*)	,118	,000
		7,00	-,108	,118	,360
		9,00	-,446(*)	,118	,000
		11,00	-,367(*)	,118	,002
		13,00	-,610(*)	,102	,000
		15,00	-,692(*)	,118	,000
		17,00	-,863(*)	,118	,000
		19,00	-,913(*)	,118	,000

5,00	4,00	,571(*)	,118	,000
	7,00	,463(*)	,118	,000
	9,00	,125	,118	,291
	11,00	,204	,118	,085
	13,00	-,040	,102	,699
	15,00	-,121	,118	,307
	17,00	-,292(*)	,118	,014
	19,00	-,342(*)	,118	,004
7,00	4,00	,108	,118	,360
	5,00	-,463(*)	,118	,000
	9,00	-,338(*)	,118	,005
	11,00	-,258(*)	,118	,030
	13,00	-,502(*)	,102	,000
	15,00	-,583(*)	,118	,000
	17,00	-,754(*)	,118	,000
9,00	19,00	-,804(*)	,118	,000
	4,00	,446(*)	,118	,000
	5,00	-,125	,118	,291
	7,00	,338(*)	,118	,005
	11,00	,079	,118	,503
	13,00	-,165	,102	,109
	15,00	-,246(*)	,118	,039
11,00	17,00	-,417(*)	,118	,001
	19,00	-,467(*)	,118	,000
	4,00	,367(*)	,118	,002
	5,00	-,204	,118	,085
	7,00	,258(*)	,118	,030
	9,00	-,079	,118	,503
	13,00	-,244(*)	,102	,018
13,00	15,00	-,325(*)	,118	,006
	17,00	-,496(*)	,118	,000
	19,00	-,546(*)	,118	,000
	4,00	,610(*)	,102	,000
	5,00	,040	,102	,699
	7,00	,502(*)	,102	,000
	9,00	,165	,102	,109
15,00	11,00	,244(*)	,102	,018
	15,00	-,081	,102	,427
	17,00	-,252(*)	,102	,015
	19,00	-,302(*)	,102	,004
	4,00	,692(*)	,118	,000
	5,00	,121	,118	,307
	7,00	,583(*)	,118	,000
17,00	9,00	,246(*)	,118	,039
	11,00	,325(*)	,118	,006
	13,00	,081	,102	,427
	17,00	-,171	,118	,149
	19,00	-,221	,118	,063
	4,00	,863(*)	,118	,000
	5,00	,292(*)	,118	,014
	7,00	,754(*)	,118	,000
	9,00	,417(*)	,118	,001
	11,00	,496(*)	,118	,000

19,00	13,00	,252(*)	,102	,015
	15,00	,171	,118	,149
	19,00	-,050	,118	,672
	4,00	,913(*)	,118	,000
	5,00	,342(*)	,118	,004
	7,00	,804(*)	,118	,000
	9,00	,467(*)	,118	,000
	11,00	,546(*)	,118	,000
	13,00	,302(*)	,102	,004
	15,00	,221	,118	,063
	17,00	,050	,118	,672

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

Anexo 93:

Número de brotes

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto			
		1	2	3	4
7,00	24	1,7917			
11,00	24	1,8750			
5,00	24	2,1667	2,1667		
9,00	24	2,2500	2,2500	2,2500	
4,00	24	2,4167	2,4167	2,4167	
13,00	48		3,1458	3,1458	3,1458
15,00	24			3,2917	3,2917
19,00	24				3,7917
17,00	24				3,8333

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = 1,763.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 25,412

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 94:**Número de segmentos**

Tukey B

MESSUBCU	N	Subconjunto		
		1	2	3
7,00	24	1,8750		
5,00	24	2,2500	2,2500	
11,00	24	2,4167	2,4167	
4,00	24	2,5000	2,5000	
13,00	48		3,1458	3,1458
9,00	24		3,2500	3,2500
15,00	24		3,2917	3,2917
19,00	24			3,7917
17,00	24			3,8333

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = 1,894.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 25,412

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

Anexo 95:**Altura brote**

Tukey B

Mes subcultiv	N	Subconjunto				
		1	2	3	4	5
4,00	24	1,4042				
7,00	24	1,5125	1,5125			
11,00	24		1,7708	1,7708		
9,00	24			1,8500		
5,00	24			1,9750	1,9750	
13,00	48			2,0146	2,0146	2,0146
15,00	24			2,0958	2,0958	2,0958
17,00	24				2,2667	2,2667
19,00	24					2,3167

Se muestran las medias para los grupos en subconjuntos homogéneos. Basado en la suma de cuadrados tipo III. El término error es la Media cuadrática (Error) = ,167.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 25,412

b Los tamaños de los grupos son distintos. Se empleará la media armónica de los tamaños de los grupos. No se garantizan los niveles de error tipo I.

c Alfa = ,05.

3. INFLUENCIA DE ALUMINIO, NITRÓGENO, FÓSFORO, POTASIO Y SACAROSA SOBRE EL DESARROLLO DEL CULTIVO DE *Cedrela odorata*

3.1 Influencia de la adición de aluminio al medio de cultivo sobre la micropropagación de *C. odorata*

Anexo 96. Modelo Lineal General para analizar los efectos de las diferentes concentraciones de aluminio en *Cedrela odorata*.

Medias marginales estimadas

VARIABLE DEPENDIENTE	TRATAMIENTO	MEDIA	ERROR TÍPICO
ALTURA PLANTA	1	6,386	0,218
	2	5,827	0,225
	3	5,778	0,244
	4	4,062	0,232
	5	1,604	0,228
No.BROTOS	1	1,420	0,078
	2	1,466	0,080
	3	1,111	0,087
	4	0,792	0,083
	5	0,542	0,081
No.SEGMENTOS	1	2,418	0,112
	2	2,429	0,115
	3	2,062	0,125
	4	1,479	0,119
	5	0,854	0,116

Comparaciones múltiples

DMS

VARIABLE DEPENDIENTE	(I) Trata- miento	(J) Trata- miento	DIFERENCIA ENTRE MEDIAS	ERROR TÍPICO	SIGNIFICA CIÓN
ALTURA PLANTA	1	2	0,5687	0,3080	0,066
		3	0,5840	0,3142	0,065
		4	2,5494*	0,3100	0,001
		5	5,0347*	0,3061	0,001
	2	1	-0,5687	0,3080	0,066
		3	0,01	0,3178	0,962
		4	1,9807*	0,3136	0,001
		5	4,4660*	0,3098	0,001
	3	1	-0,5840	0,3142	0,065
		2	-0,01	0,3178	0,962
		4	1,9654*	0,3197	0,001
		5	4,4508*	0,3159	0,001
	4	1	-2,5494*	0,3100	0,001
		2	-1,9807*	0,3136	0,001
		3	-1,9654*	0,3197	0,001
		5	2,4854*	0,3118	0,001
	5	1	-5,0347*	0,3061	0,001
		2	-4,4660*	0,3098	0,001
		3	-4,4508*	0,3159	0,001
		4	-2,4854*	0,3118	0,001
No. BROTOS	1	2	0,006	0,1094	0,542
		3	0,2405	0,1116	0,032
		4	0,6221*	0,1101	0,001
		5	0,8959	0,1088	0,001
	2	1	0,06	0,1094	0,542
		3	0,3074*	0,1129	0,007
		4	0,6890*	0,1114	0,001
		5	0,9628*	0,1101	0,001
	3	1	-0,2405	0,1116	0,032
		2	-0,3074*	0,1129	0,007
		4	0,3816*	0,1136	0,001
		5	0,6554*	0,1123	0,001
	4	1	-0,6221*	0,1101	0,001
		2	-0,6890*	0,1114	0,001
		3	-0,3816*	0,1136	0,001
		5	0,2738	0,1108	0,014
	5	1	-0,8959*	0,1088	0,001
		2	-0,9628*	0,1101	0,001
		3	-0,6554*	0,1123	0,001
		4	-0,2738	0,1108	0,014

Comparaciones múltiples (Continuación)

DMS

VARIABLE DEPENDIENTE	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	DIFERENCIA ENTRE MEDIAS	ERROR TÍPICO	SIGNIFICACIÓN
No.SEGMENTOS	1	2	-0,04	0,1575	0,787
		3	0,2931	0,1606	0,070
		4	0,9721*	0,1585	0,001
		5	1,6816*	0,1565	0,001
	2	1	0,04	0,1575	0,787
		3	0,3357	0,1625	0,040
		4	1,0146*	0,1603	0,001
		5	1,7242*	0,1584	0,001
	3	1	-0,2931	0,1606	0,070
		2	-0,3357	0,1625	0,040
		4	0,6789*	0,1634	0,001
		5	1,3885*	0,1615	0,001
	4	1	-0,9721*	0,1585	0,001
		2	-1,0146*	0,1603	0,001
		3	-0,6789*	0,1634	0,001
		5	0,7095*	0,1594	0,001
	5	1	-1,6816*	0,1565	0,001
		2	-1,7242*	0,1584	0,001
		3	-1,3885*	0,1615	0,001
		4	-0,7095*	0,1594	0,001

Anexo 97. ANOVA para contrastar las medias de las cinco variables dependientes con la variable independiente (tratamiento con aluminio).

Fuente		gl	Cuadrado medio	F	Sig
VIABILIDAD (Combinados) * TRATAM.	Inter-grupos	4	2020,094	1,936	0,157
	Intra-grupos	15	1043,392		
	Total	19			
No.BROTOS (Combinados) * TRATAM.	Inter-grupos	4	0,634	3,422	0,035
	Intra-grupos	15	0,185		
	Total	19			
No.SEGMEN (Combinados) * TRATAM.	Inter-grupos	4	1,829	4,164	0,018
	Intra-grupos	15	0,439		
	Total	19			
ALT. PLANT. (Combinados) * TRATAM.	Inter-grupos	4	12,446	2,845	0,061
	Intra-grupos	15	4,374		
	Total	19			
COEFIC.MULT (Combinados) * TRATAM.	Inter-grupos	4	1,718	4,786	0,011
	Intra-grupos	15	0,359		
	Total	19			

Nivel de significación 0.01

Anexo 98. ANOVA para contrastar las medias de las cinco variables dependientes con los meses de medidas.

Fuente		gl	Cuadrado medio	F	Sig
VIABILIDAD (Combinados) * MESMED	Inter-grupos	3	3684,359	4,650	0,016
	Intra-grupos	16	792,386		
	Total	19			
No.BROTOS (Combinados) * MESMED	Inter-grupos	3	0,083	0,262	0,852
	Intra-grupos	16	0,317		
	Total	19			
No.SEGMEN (Combinados) * MESMED	Inter-grupos	3	0,372	0,465	0,711
	Intra-grupos	16	0,799		
	Total	19			
LONGPLAN (Combinados) * MESMED	Inter-grupos	3	5,344	0,861	0,482
	Intra-grupos	16	6,210		
	Total	19			
COEFICMULT (Combinados) * MESMED	Inter-grupos	3	1,168	2,136	0,136
	Intra-grupos	16	0,547		
	Total	19			

Nivel de significación 0.01

3.2 Influencia de una fuente adicional de nitratos, fósforo y potasio.

Anexo 99. Anova I para el efecto de una fuente adicional de nitrógeno, fósforo y potasio sobre *Cedrela odorata*.

TRATAMIENTO	FUENTE DE VARIACIÓN		gl	Cuadrado Medio	F	Sig.
Control	Altura brote	Inter-grupos	4	3.240	6.306	0.001
		Intra-grupos	175	0.514		
		Total	179			
	No. Brotes	Inter-grupos	4	3.603	6.186	0.001
		Intra-grupos	175	0.582		
		Total	179			
	No. Segmentos	Inter-grupos	4	3.381	3.341	0.012
		Intra-grupos	175	1.012		
		Total	179			
Nitrógeno	Altura brote	Inter-grupos	4	10.047	23.174	0.001
		Intra-grupos	175	0.399		
		Total	179			
	No. Brotes	Inter-grupos	4	3.369	7.587	0.001
		Intra-grupos	175	0.444		
		Total	179			
	No. Segmentos	Inter-grupos	4	10.422	13.069	0.001
		Intra-grupos	175	0.797		
		Total	179			
Fósforo	Altura brote	Inter-grupos	4	3.778	7.421	0.001
		Intra-grupos	175	0.509		
		Total	179			
	No. Brotes	Inter-grupos	4	7.016	18.466	0.001
		Intra-grupos	175	0.380		
		Total	179			
	No. Segmentos	Inter-grupos	4	15.210	21.362	0.001
		Intra-grupos	175	0.712		
		Total	179			
Potasio	Altura brote	Inter-grupos	4	5.079	11.725	0.001
		Intra-grupos	175	0.433		
		Total	179			
	No. Brotes	Inter-grupos	4	2.847	0.4952	0.001
		Intra-grupos	175	0.575		
		Total	179			
	No. Segmentos	Inter-grupos	4	6.153	0.7627	0.001
		Intra-grupos	175	0.807		
		Total	179			

Nivel de significación 0.01

Anexo 100. Anova para comparar las medias del ensayo nitrógeno, fósforo y potasio

Fuente		gl	Cuadrado medio	F	Sig
NoBROTES *TRATAMIE	Inter-grupos (Combinados)	3	0,045	0,386	0,765
	Intra-grupos	16	0,116		
	Total	19			
No.SEGMEN * TRATAMIE	Inter-grupos (Combinados)	3	0,124	0,512	0,680
	Intra-grupos	16	0,243		
	Total	19			
ALT. BROTE *TRATAMIE	Inter-grupos (Combinados)	3	0,177	1,160	0,356
	Inter-grupos	16	0,153		
	Total	19			
COEF.MULT *TRATAMIE	Inter-grupos (Combinados)	3	0,124	0,512	0,680
	Inter-grupos	16	0,243		
	Total	19			

Nivel de significación 0.01

3.3 Influencia de la adición de tres concentraciones de sacarosa (3, 4 y 5%) al medio de cultivo.

Anexo 101. Anova para comparar las medias de las cuatro variables dependientes con las concentraciones de sacarosa.

Fuente		gl	Cuadrado medio	F	Sig
NoBROTOS	Inter-grupos (Combinados)	2	0,023	0,410	0,681
*SACAROSA	Intra-grupos	6	0,055		
	Total	8			
No.SEGMEN	Inter-grupos (Combinados)	2	0,006	0,071	0,932
* SACAROSA	Intra-grupos	6	0,087		
	Total	8			
ALT. BROTE	Inter-grupos (Combinados)	2	0,126	1,572	0,282
* SACAROSA	Inter-grupos	6	0,080		
	Total	8			
COEF.MULT	Inter-grupos (Combinados)	2	0,006	0,071	0,932
* SACAROSA	Inter-grupos	6	0,087		
	Total	8			

Nivel de significación 0.01

Anexo 102. Anova para comparar las medias de las cuatro variables dependientes con los meses de medida.

Fuente		gl	Cuadrado medio	F	Sig
NoBROTOS	Inter-grupos (Combinados)	2	0,034	0,669	0,547
*MESMEDIDA	Intra-grupos	6	0,051		
	Total	8			
No.SEGMEN	Inter-grupos (Combinados)	2	0,010	0,115	0,893
* MESMEDIDA	Intra-grupos	6	0,086		
	Total	8			
ALT. BROTE	Inter-grupos (Combinados)	2	0,008	0,069	0,934
* MESMEDIDA	Inter-grupos	6	0,119		
	Total	8			
COEF.MULT	Inter-grupos (Combinados)	2	0,010	0,115	0,893
* MESMEDIDA	Inter-grupos	6	0,086		
	Total	8			

Nivel de significación 0.01

4. ENRAIZAMIENTO

4.1 *Cedrela odorata*

- Modelo Lineal General opción “Multivariante”
- Origen semilla

Anexo 103:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número raíces	24,870(a)	7	3,553	1,211	,299
	Long. Raíz primaria	257,829(b)	7	36,833	2,827	,008
	Long. Raíz secundaria	7,136(c)	7	1,019	1,040	,404
	Altura plántula	2,479(d)	7	,354	,787	,599
	No. Hojas	7,083(e)	7	1,012	1,048	,399
Intercepto	Número raíces	510,255	1	510,255	173,905	,000
	Long. Raíz primaria	3524,327	1	3524,327	270,507	,000
	Long. Raíz secundaria	29,767	1	29,767	30,379	,000
	Altura plántula	1380,307	1	1380,307	3066,116	,000
	No. Hojas	533,333	1	533,333	552,604	,000
Tratamiento	Número raíces	,630	1	,630	,215	,644
	Long. Raíz primaria	138,380	1	138,380	10,621	,001
	Long. Raíz secundaria	,227	1	,227	,232	,631
	Altura plántula	,017	1	,017	,037	,847
	No. Hojas	3,521	1	3,521	3,648	,058
Repetición	Número raíces	13,349	3	4,450	1,517	,212
	Long. Raíz primaria	43,438	3	14,479	1,111	,346
	Long. Raíz secundaria	2,397	3	,799	,815	,487
	Altura plántula	1,968	3	,656	1,457	,228
	No. Hojas	2,292	3	,764	,791	,500
Tratamiento * Repetición	Número raíces	10,891	3	3,630	1,237	,298
	Long. Raíz primaria	76,011	3	25,337	1,945	,124
	Long. Raíz secundaria	4,512	3	1,504	1,535	,207
	Altura plántula	,494	3	,165	,366	,778
	No. Hojas	1,271	3	,424	,439	,725
Error	Número raíces	539,875	184	2,934		
	Long. Raíz primaria	2397,264	184	13,029		
	Long. Raíz secundaria	180,297	184	,980		
	Altura plántula	82,833	184	,450		
	No. Hojas	177,583	184	,965		
Total	Número raíces	1075,000	192			
	Long. Raíz primaria	6179,420	192			
	Long. Raíz secundaria	217,200	192			
	Altura plántula	1465,620	192			
	No. Hojas	718,000	192			
Total corregida	Número raíces	564,745	191			
	Long. Raíz primaria	2655,093	191			
	Long. Raíz secundaria	187,432	191			
	Altura plántula	85,313	191			
	No. Hojas	184,667	191			

a R cuadrado = ,044 (R cuadrado corregida = ,008)

b R cuadrado = ,097 (R cuadrado corregida = ,063)
 c R cuadrado = ,038 (R cuadrado corregida = ,001)
 d R cuadrado = ,029 (R cuadrado corregida = -,008)
 e R cuadrado = ,038 (R cuadrado corregida = ,002)

Anexo 104:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
Número raíces	5,00	6,00	,115	,247	,644
	(Ausencia)	(Presencia)			
	6,00	5,00	-,115	,247	,644
Longitud raíz primaria	5,00	6,00	1,698(*)	,521	,001
	6,00	5,00	-1,698(*)	,521	,001
Longitud raíz secundaria	5,00	6,00	,069	,143	,631
	6,00	5,00	-,069	,143	,631
Altura plántula	5,00	6,00	-,019	,097	,847
	6,00	5,00	,019	,097	,847
Número de hojas	5,00	6,00	,271	,142	,058
	6,00	5,00	-,271	,142	,058

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

▪ **Origen cuatro meses de edad**

Anexo 105:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número raíces	606,113(a)	7	86,588	18,031	,000
	Longitud raíz primaria	1557,480(b)	7	222,497	9,202	,000
	Long. Raíz secundaria	13,288(c)	7	1,898	2,505	,018
	Altura plántula	9,103(d)	7	1,300	3,148	,004
	Número hojas	97,370(e)	7	13,910	7,319	,000
Intercepto	Número raíces	884,513	1	884,513	184,193	,000
	Longitud raíz primaria	3831,507	1	3831,507	158,459	,000
	Long. Raíz secundaria	29,610	1	29,610	39,072	,000
	Altura plántula	513,194	1	513,194	1242,258	,000
	Número hojas	931,922	1	931,922	490,333	,000
Tratamiento	Número raíces	513,848	1	513,848	107,005	,000
	Longitud raíz primaria	1372,275	1	1372,275	56,753	,000
	Long. Raíz secundaria	9,275	1	9,275	12,239	,001
	Altura plántula	5,234	1	5,234	12,669	,000
	Número hojas	57,422	1	57,422	30,213	,000
Repetición	Número raíces	71,138	3	23,713	4,938	,003
	Longitud raíz primaria	173,114	3	57,705	2,386	,071
	Long. Raíz secundaria	1,249	3	,416	,550	,649

Tratamiento *	Altura plántula	2,199	3	,733	1,775	,154
	Número hojas	31,641	3	10,547	5,549	,001
	Número raíces	21,127	3	7,042	1,467	,225
	Longitud raíz primaria	12,090	3	4,030	,167	,919
	Long. Raíz secundaria	2,764	3	,921	1,216	,305
Error	Altura plántula	1,670	3	,557	1,348	,260
	Número hojas	8,307	3	2,769	1,457	,228
	Número raíces	883,585	184	4,802		
	Longitud raíz primaria	4449,084	184	24,180		
	Long. Raíz secundaria	139,442	184	,758		
Total	Altura plántula	76,013	184	,413		
	Número hojas	349,708	184	1,901		
	Número raíces	2374,210	192			
	Longitud raíz primaria	9838,070	192			
	Long. Raíz secundaria	182,340	192			
Total corregida	Altura plántula	598,310	192			
	Número hojas	1379,000	192			
	Número raíces	1489,697	191			
	Longitud raíz primaria	6006,563	191			
	Long. Raíz secundaria	152,730	191			
	Altura plántula	85,116	191			
	Número hojas	447,078	191			

a R cuadrado = ,407 (R cuadrado corregida = ,384)

b R cuadrado = ,259 (R cuadrado corregida = ,231)

c R cuadrado = ,087 (R cuadrado corregida = ,052)

d R cuadrado = ,107 (R cuadrado corregida = ,073)

e R cuadrado = ,218 (R cuadrado corregida = ,188)

Anexo 106:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
Número raíces	5,00	6,00	-3,272(*)	,316	,000
	(Ausencia)	(Presencia)			
	6,00	5,00	3,272(*)	,316	,000
Longitud raíz primaria	5,00	6,00	-5,347(*)	,710	,000
	6,00	5,00	5,347(*)	,710	,000
Longitud raíz secundaria	5,00	6,00	-,440(*)	,126	,001
	6,00	5,00	,440(*)	,126	,001
Altura plántula	5,00	6,00	-,330(*)	,093	,000
	6,00	5,00	,330(*)	,093	,000
Número hojas	5,00	6,00	-1,094(*)	,199	,000
	6,00	5,00	1,094(*)	,199	,000

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

▪ Origen doce meses de edad

Anexo 107:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número raíces	266,812(a)	7	38,116	11,618	,000
	Longitud raíz primaria	421,080(b)	7	60,154	4,513	,000
	Long. raíz secundaria	28,663(c)	7	4,095	5,633	,000
	Altura plántula	1,275(d)	7	,182	1,715	,108
	No. Hojas	38,562(e)	7	5,509	4,176	,000
Intercepto	Número raíces	667,521	1	667,521	203,463	,000
	Longitud raíz primaria	2781,607	1	2781,607	208,692	,000
	Long. raíz secundaria	37,277	1	37,277	51,278	,000
	Altura plántula	435,909	1	435,909	4103,458	,000
	No. Hojas	652,687	1	652,687	494,725	,000
Tratamiento	Número raíces	188,021	1	188,021	57,309	,000
	Longitud raíz primaria	23,660	1	23,660	1,775	,184
	Long. raíz secundaria	,403	1	,403	,555	,457
	Altura plántula	,050	1	,050	,471	,493
	No. Hojas	,083	1	,083	,063	,802
Repetición	Número raíces	30,687	3	10,229	3,118	,027
	Longitud raíz primaria	237,458	3	79,153	5,938	,001
	Long. raíz secundaria	22,121	3	7,374	10,143	,000
	Altura plántula	1,134	3	,378	3,559	,015
	No. Hojas	17,187	3	5,729	4,343	,006
Tratamiento * Repetición	Número raíces	48,104	3	16,035	4,887	,003
	Longitud raíz primaria	159,962	3	53,321	4,000	,009
	Long. raíz secundaria	6,139	3	2,046	2,815	,041
	Altura plántula	,091	3	,030	,284	,837
	No. Hojas	21,292	3	7,097	5,380	,001
Error	Número raíces	603,667	184	3,281		
	Longitud raíz primaria	2452,492	184	13,329		
	Long. raíz secundaria	133,760	184	,727		
	Altura plántula	19,546	184	,106		
	No. Hojas	242,750	184	1,319		
Total	Número raíces	1538,000	192			
	Longitud raíz primaria	5655,180	192			
	Long. raíz secundaria	199,700	192			
	Altura plántula	456,730	192			
	No. Hojas	934,000	192			
Total corregida	Número raíces	870,479	191			
	Longitud raíz primaria	2873,573	191			
	Long. raíz secundaria	162,423	191			
	Altura plántula	20,821	191			
	No. Hojas	281,313	191			

a R cuadrado = ,307 (R cuadrado corregida = ,280)

b R cuadrado = ,147 (R cuadrado corregida = ,114)

c R cuadrado = ,176 (R cuadrado corregida = ,145)

d R cuadrado = ,061 (R cuadrado corregida = ,026)

e R cuadrado = ,137 (R cuadrado corregida = ,104)

Anexo 108:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
Número raíces	5,00	6,00	-1,979(*)	,261	,000
	(Ausencia)	(Presencia)			
	6,00	5,00	1,979(*)	,261	,000
Longitud raíz primaria	5,00	6,00	-,702	,527	,184
	6,00	5,00	,702	,527	,184
Longitud raíz secundaria	5,00	6,00	-,092	,123	,457
	6,00	5,00	,092	,123	,457
Altura plántula	5,00	6,00	,032	,047	,493
	6,00	5,00	-,032	,047	,493
Número hojas	5,00	6,00	-,042	,166	,802
	6,00	5,00	,042	,166	,802

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

- **Modelo Lineal General opción “Medidas repetidas”**

- **Número de raíces**

Anexo 109:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	4,270	2	2,135	1,797	,183
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	35,649	30	1,188		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	70,317	1	70,317	77,294	,000
Error(TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	13,646	15	,910		
EDAD *	Esfericidad asumida	46,732	2	23,366	32,025	,000
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	21,889	30	,730		
Error(EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida					

Anexo 110:**Estadísticos descriptivos**

	Media	Desv. típ.	N
Semilla -Control	1,6872	,81633	16
Semilla – AIB	1,5722	,70179	16
Cuatro meses – Control	,5097	,62782	16
Cuatro meses – AIB	3,7814	1,57191	16
Doce meses – Control	,8748	,39219	16
Doce meses - AIB	2,8531	1,23273	16

▪ **Longitud raíz primaria**

Anexo 111:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	7,461	2	3,731	,483	,622
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	231,705	30	7,723		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	50,454	1	50,454	28,303	,000
Error(TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	26,739	15	1,783		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	205,244	2	102,622	20,163	,000
Error(EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	152,687	30	5,090		

Anexo 112:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Semilla- Control	5,1327	1,61839	16
Semilla - AIB	3,4341	,96879	16
Cuatro meses - Control	1,7931	2,66920	16
Cuatro meses - AIB	7,1396	3,43401	16
Doce meses - Control	3,4542	2,16941	16
Doce meses - AIB	4,1560	2,41731	16

▪ **Longitud raíz secundaria**

Anexo 113:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	,048	2	,024	,084	,919
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	8,455	30	,282		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,571	1	,571	4,438	,052
Error(TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	1,931	15	,129		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	1,083	2	,542	2,063	,145
Error(EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	7,877	30	,263		

Anexo 114:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Semilla - Control	,4277	,45529	16
Semilla - AIB	,3586	,34967	16
Cuatro meses - Control	,1725	,34682	16
Cuatro meses - AIB	,6125	,66940	16
Doce meses - Control	,3940	,57389	16
Doce meses - AIB	,4861	,55213	16

▪ **Altura de la plántula****Anexo 115:**

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	26,595	2	13,298	75,045	,000
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	5,316	30	,177		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,267	1	,267	5,200	,038
Error(TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	,770	15	,051		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,616	2	,308	7,138	,003
Error(EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	1,294	30	,043		

Anexo 116:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Semilla – Control	2,6713	,50516	16
Semilla – AIB	2,6902	,34922	16
Cuatro meses - Control	1,4691	,31076	16
Cuatro meses - AIB	1,7992	,27557	16
Doce meses - Control	1,5217	,14804	16
Doce meses - AIB	1,4892	,21959	16

▪ **Número de hojas****Anexo 117:**

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	4,780	2	2,390	3,496	,043
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	20,510	30	,684		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	1,997	1	1,997	5,044	,040
Error(TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	5,939	15	,396		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	8,180	2	4,090	10,323	,000
Error(EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	11,886	30	,396		

Anexo 118:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Semilla – Control	1,8015	,49541	16
Semilla – AIB	1,5310	,40933	16
Cuatro meses – Control	1,6554	,83732	16
Cuatro meses – AIB	2,7496	1,04854	16
Doce meses – Control	1,8218	,71579	16
Doce meses - AIB	1,8635	,61505	16

▪ **Porcentaje de enraizamiento (datos transformados)**

Anexo 119:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	1958,599	2	979,300	2,052	,146
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	14319,353	30	477,312		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	2520,470	1	2520,470	16,230	,001
Error(TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	2329,470	15	155,298		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	16901,283	2	8450,642	30,469	,000
Error(EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	8320,429	30	277,348		

Anexo 120

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Semilla – Control	69,9190	21,68100	16
Semilla – AIB	48,5751	9,85060	16
Cuatro meses - Control	27,4765	22,61453	16
Cuatro meses - AIB	71,0646	19,67883	16
Doce meses - Control	54,1517	14,99899	16
Doce meses - AIB	62,6512	14,96984	16

4.2 *Cedrela montana*

▪ Modelo Lineal General opción “Multivariante”

Anexo 121:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número raíces	787,786(a)	31	25,412	4,011	,000
	Longitud raíz primaria	2442,236(b)	31	78,782	3,698	,000
	Long. raíz secundaria	49,146(c)	31	1,585	2,080	,002
	Altura plántula	10,091(d)	31	,326	1,368	,110
	Número hojas	198,286(e)	31	6,396	3,180	,000
Intercepto	Número raíces	1349,380	1	1349,380	212,955	,000
	Longitud raíz primaria	6945,641	1	6945,641	325,990	,000
	Long. raíz secundaria	44,179	1	44,179	57,957	,000
	Altura plántula	829,172	1	829,172	3484,220	,000
	Número hojas	716,880	1	716,880	356,398	,000
Ensayo	Número raíces	6,432	3	2,144	,338	,798
	Longitud raíz primaria	6,055	3	2,018	,095	,963
	Long. raíz secundaria	2,109	3	,703	,922	,431
	Altura plántula	,414	3	,138	,580	,629
	Número hojas	6,807	3	2,269	1,128	,339
Tratamiento	Número raíces	174,422	1	174,422	27,527	,000
	Longitud raíz primaria	265,550	1	265,550	12,463	,001
	Long. raíz secundaria	5,234	1	5,234	6,866	,010
	Altura plántula	,101	1	,101	,424	,516
	Número hojas	26,255	1	26,255	13,053	,000
Repetición	Número raíces	194,766	3	64,922	10,246	,000
	Longitud raíz primaria	964,636	3	321,545	15,092	,000
	Long. raíz secundaria	27,818	3	9,273	12,164	,000
	Altura plántula	1,559	3	,520	2,183	,092
	Número hojas	55,516	3	18,505	9,200	,000
Ensayo * Tratamiento	Número raíces	4,807	3	1,602	,253	,859
	Longitud raíz primaria	39,113	3	13,038	,612	,608
	Long. raíz secundaria	,866	3	,289	,379	,769
	Altura plántula	1,066	3	,355	1,493	,218
	Número hojas	10,932	3	3,644	1,812	,147
Ensayo * Repetición	Número raíces	158,505	9	17,612	2,779	,005
	Longitud raíz primaria	502,271	9	55,808	2,619	,008
	Long. raíz secundaria	5,944	9	,660	,866	,557
	Altura plántula	3,680	9	,409	1,718	,089
	Número hojas	54,880	9	6,098	3,032	,002
Tratamiento * Repetición	Número raíces	99,141	3	33,047	5,215	,002
	Longitud raíz primaria	263,142	3	87,714	4,117	,008
	Long. raíz secundaria	2,593	3	,864	1,134	,337
	Altura plántula	2,650	3	,883	3,712	,013

Ensayo * Tratamiento * Repetición	Número hojas	8,224	3	2,741	1,363	,256
	Número raíces	149,714	9	16,635	2,625	,007
	Longitud raíz primaria	401,469	9	44,608	2,094	,033
	Long. raíz secundaria	4,581	9	,509	,668	,737
	Altura plántula	,621	9	,069	,290	,977
Error	Número hojas	35,672	9	3,964	1,970	,046
	Número raíces	1013,833	160	6,336		
	Longitud raíz primaria	3409,003	160	21,306		
	Long. raíz secundaria	121,965	160	,762		
	Altura plántula	38,077	160	,238		
Total	Número hojas	321,833	160	2,011		
	Número raíces	3151,000	192			
	Longitud raíz primaria	12796,880	192			
	Long. raíz secundaria	215,290	192			
	Altura plántula	877,340	192			
Total corregida	Número hojas	1237,000	192			
	Número raíces	1801,620	191			
	Longitud raíz primaria	5851,239	191			
	Long. raíz secundaria	171,111	191			
	Altura plántula	48,168	191			
	Número hojas	520,120	191			

a R cuadrado = ,437 (R cuadrado corregida = ,328)

b R cuadrado = ,417 (R cuadrado corregida = ,305)

c R cuadrado = ,287 (R cuadrado corregida = ,149)

d R cuadrado = ,210 (R cuadrado corregida = ,056)

e R cuadrado = ,381 (R cuadrado corregida = ,261)

Anexo 122:

Estimaciones

Variable dependiente	TRATAMIENTO	Media	Error típ.
Número raíces	5,00	1,698	,257
	6,00	3,604	,257
Longitud raíz primaria	5,00	7,191	,471
	6,00	4,839	,471
Longitud raíz secundaria	5,00	,645	,089
	6,00	,315	,089
Altura plántula	5,00	2,101	,050
	6,00	2,055	,050
Número hojas	5,00	2,302	,145
	6,00	1,563	,145

Anexo 123:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) TRATAMIENTO	(J) TRATAMIENTO	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
Número raíces	5,00 (Ausencia)	6,00 (Presencia)	-1,906(*)	,363	,000
	6,00	5,00	1,906(*)	,363	,000
Longitud raíz primaria	5,00	6,00	2,352(*)	,666	,001
	6,00	5,00	-2,352(*)	,666	,001
Longitud raíz secundaria	5,00	6,00	,330(*)	,126	,010
	6,00	5,00	-,330(*)	,126	,010
Altura plántula	5,00	6,00	,046	,070	,516
	6,00	5,00	-,046	,070	,516
Número hojas	5,00	6,00	,740(*)	,205	,000
	6,00	5,00	-,740(*)	,205	,000

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

4.3 Chlorophora tinctoria

- **Modelo Lineal General opción “Multivariante”**
- **Cuatro meses de edad**

Anexo 124:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número raíces	25,833(a)	7	3,690	1,463	,191
	Longitud raíz primaria	23,805(b)	7	3,401	2,454	,024
	Long. raíz secundaria	4,402(c)	7	,629	2,305	,033
	Altura plántula	1,357(d)	7	,194	8,644	,000
	Número hojas	62,073(e)	7	8,868	5,342	,000
Intercepto	Número raíces	228,167	1	228,167	90,444	,000
	Longitud raíz primaria	146,027	1	146,027	105,375	,000
	Long. raíz secundaria	11,207	1	11,207	41,071	,000
	Altura plántula	147,758	1	147,758	6586,446	,000
	Número hojas	2490,844	1	2490,844	1500,474	,000
REPETICIÓN	Número raíces	12,167	3	4,056	1,608	,193
	Longitud raíz primaria	7,543	3	2,514	1,814	,150
	Long. raíz secundaria	2,037	3	,679	2,488	,066
	Altura plántula	,159	3	,053	2,370	,076
	Número hojas	30,198	3	10,066	6,064	,001
TRATAMIENTO	Número raíces	,667	1	,667	,264	,608
	Longitud raíz primaria	1,450	1	1,450	1,047	,309
	Long. raíz secundaria	,020	1	,020	,075	,785
	Altura plántula	1,021	1	1,021	45,509	,000
	Número hojas	21,094	1	21,094	12,707	,001
REPETICIÓN * TRATAMIENTO	Número raíces	13,000	3	4,333	1,718	,169

Error	Longitud raíz primaria	14,812	3	4,937	3,563	,017
	Long. raíz secundaria	2,345	3	,782	2,864	,041
	Altura plántula	,177	3	,059	2,630	,055
	Número hojas	10,781	3	3,594	2,165	,098
	Número raíces	222,000	88	2,523		
Total	Longitud raíz primaria	121,948	88	1,386		
	Long. raíz secundaria	24,012	88	,273		
	Altura plántula	1,974	88	,022		
	Número hojas	146,083	88	1,660		
	Número raíces	476,000	96			
Total corregida	Longitud raíz primaria	291,780	96			
	Long. raíz secundaria	39,620	96			
	Altura plántula	151,090	96			
	Número hojas	2699,000	96			
	Número raíces	247,833	95			
	Longitud raíz primaria	145,753	95			
	Long. raíz secundaria	28,413	95			
	Altura plántula	3,332	95			
	Número hojas	208,156	95			
	Número raíces					

a R cuadrado = ,104 (R cuadrado corregida = ,033)

b R cuadrado = ,163 (R cuadrado corregida = ,097)

c R cuadrado = ,155 (R cuadrado corregida = ,088)

d R cuadrado = ,407 (R cuadrado corregida = ,360)

e R cuadrado = ,298 (R cuadrado corregida = ,242)

Anexo 125:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
Número raíces	5,00	6,00	,167	,324	,608
	6,00	5,00	-,167	,324	,608
Longitud raíz primaria	5,00	6,00	-,246	,240	,309
	6,00	5,00	,246	,240	,309
Longitud raíz secundaria	5,00	6,00	-,029	,107	,785
	6,00	5,00	,029	,107	,785
Altura plántula	5,00	6,00	-,206(*)	,031	,000
	6,00	5,00	,206(*)	,031	,000
Número hojas	5,00	6,00	,938(*)	,263	,001
	6,00	5,00	-,938(*)	,263	,001

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

▪ **Seis meses de edad**

Anexo 126:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número raíces	152,120(a)	7	21,731	5,313	,000
	Longitud raíz primaria	229,452(b)	7	32,779	7,093	,000
	Long. raíz secundaria	38,399(c)	7	5,486	5,657	,000
	Altura plántula	3,622(d)	7	,517	1,259	,273
	Número hojas	23,245(e)	7	3,321	,547	,798
Intercepto	Número raíces	510,255	1	510,255	124,746	,000
	Longitud raíz primaria	774,012	1	774,012	167,486	,000
	Long. raíz secundaria	72,275	1	72,275	74,533	,000
	Altura plántula	357,794	1	357,794	870,432	,000
	Número hojas	1944,380	1	1944,380	320,184	,000
TRATAMIENTO	Número raíces	66,505	1	66,505	16,259	,000
	Longitud raíz primaria	115,475	1	115,475	24,987	,000
	Long. raíz secundaria	17,885	1	17,885	18,444	,000
	Altura plántula	1,940	1	1,940	4,720	,031
	Número hojas	2,297	1	2,297	,378	,539
REPETICIÓN	Número raíces	28,057	3	9,352	2,286	,080
	Longitud raíz primaria	72,288	3	24,096	5,214	,002
	Long. raíz secundaria	17,514	3	5,838	6,020	,001
	Altura plántula	,108	3	,036	,088	,967
	Número hojas	2,391	3	,797	,131	,941
TRATAMIENTO * REPETICIÓN	Número raíces	57,557	3	19,186	4,690	,004
	Longitud raíz primaria	41,689	3	13,896	3,007	,032
	Long. raíz secundaria	3,000	3	1,000	1,031	,380
	Altura plántula	1,574	3	,525	1,277	,284
	Número hojas	18,557	3	6,186	1,019	,386
Error	Número raíces	752,625	184	4,090		
	Longitud raíz primaria	850,326	184	4,621		
	Long. raíz secundaria	178,426	184	,970		
	Altura plántula	75,634	184	,411		
	Número hojas	1117,375	184	6,073		
Total	Número raíces	1415,000	192			
	Longitud raíz primaria	1853,790	192			
	Long. raíz secundaria	289,100	192			
	Altura plántula	437,050	192			
	Número hojas	3085,000	192			
Total corregida	Número raíces	904,745	191			
	Longitud raíz primaria	1079,778	191			
	Long. raíz secundaria	216,825	191			
	Altura plántula	79,256	191			
	Número hojas	1140,620	191			

a R cuadrado = ,168 (R cuadrado corregida = ,136)

b R cuadrado = ,212 (R cuadrado corregida = ,183)

c R cuadrado = ,177 (R cuadrado corregida = ,146)

d R cuadrado = ,046 (R cuadrado corregida = ,009)

e R cuadrado = ,020 (R cuadrado corregida = -,017)

Anexo 127:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
Número raíces	5,00	6,00	-1,177(*)	,292	,000
	6,00	5,00	1,177(*)	,292	,000
Longitud raíz primaria	5,00	6,00	-1,551(*)	,310	,000
	6,00	5,00	1,551(*)	,310	,000
Longitud raíz secundaria	5,00	6,00	-,610(*)	,142	,000
	6,00	5,00	,610(*)	,142	,000
Altura plántula	5,00	6,00	-,201(*)	,093	,031
	6,00	5,00	,201(*)	,093	,031
Número hojas	5,00	6,00	-,219	,356	,539
	6,00	5,00	,219	,356	,539

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

▪ **Siete meses de edad**

Anexo 128:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número raíces	35,078(a)	7	5,011	2,267	,031
	Longitud raíz primaria	78,356(b)	7	11,194	2,453	,020
	Long. raíz secundaria	4,187(c)	7	,598	1,215	,296
	Altura plántula	,670(d)	7	,096	1,075	,381
	Número hojas	50,870(e)	7	7,267	1,412	,203
Intercepto	Número raíces	273,130	1	273,130	123,542	,000
	Longitud raíz primaria	500,844	1	500,844	109,736	,000
	Long. raíz secundaria	14,246	1	14,246	28,947	,000
	Altura plántula	486,413	1	486,413	5465,096	,000
	Número hojas	3544,922	1	3544,922	688,619	,000
Tratamiento	Número raíces	19,380	1	19,380	8,766	,003
	Longitud raíz primaria	13,600	1	13,600	2,980	,086
	Long. raíz secundaria	1,125	1	1,125	2,287	,132
	Altura plántula	,141	1	,141	1,582	,210
	Número hojas	,630	1	,630	,122	,727
Repetición	Número raíces	13,432	3	4,477	2,025	,112
	Longitud raíz primaria	33,479	3	11,160	2,445	,065
	Long. raíz secundaria	1,159	3	,386	,785	,504
	Altura plántula	,254	3	,085	,950	,417
	Número hojas	20,349	3	6,783	1,318	,270
Tratamiento * Repetición	Número raíces	2,266	3	,755	,342	,795
	Longitud raíz primaria	31,277	3	10,426	2,284	,080
	Long. raíz secundaria	1,902	3	,634	1,288	,280
	Altura plántula	,275	3	,092	1,031	,380
	Número hojas	29,891	3	9,964	1,935	,125

Error	Número raíces	406,792	184	2,211		
	Longitud raíz primaria	839,790	184	4,564		
	Long. raíz secundaria	90,557	184	,492		
	Altura plántula	16,377	184	,089		
	Número hojas	947,208	184	5,148		
Total	Número raíces	715,000	192			
	Longitud raíz primaria	1418,990	192			
	Long. raíz secundaria	108,990	192			
	Altura plántula	503,460	192			
	Número hojas	4543,000	192			
Total corregida	Número raíces	441,870	191			
	Longitud raíz primaria	918,146	191			
	Long. raíz secundaria	94,744	191			
	Altura plántula	17,047	191			
	Número hojas	998,078	191			

a R cuadrado = ,079 (R cuadrado corregida = ,044)

b R cuadrado = ,085 (R cuadrado corregida = ,051)

c R cuadrado = ,044 (R cuadrado corregida = ,008)

d R cuadrado = ,039 (R cuadrado corregida = ,003)

e R cuadrado = ,051 (R cuadrado corregida = ,015)

Anexo 129:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
Número raíces	5,00	6,00	-,635(*)	,215	,003
	6,00	5,00	,635(*)	,215	,003
Longitud raíz primaria	5,00	6,00	-,532	,308	,086
	6,00	5,00	,532	,308	,086
Longitud raíz secundaria	5,00	6,00	-,153	,101	,132
	6,00	5,00	,153	,101	,132
Altura plántula	5,00	6,00	-,054	,043	,210
	6,00	5,00	,054	,043	,210
Número hojas	5,00	6,00	,115	,327	,727
	6,00	5,00	-,115	,327	,727

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

- **Modelo Lineal General opción “Medidas repetidas”**
- **Porcentaje de enraizamiento (datos transformados) para los tres ensayos**

Anexo 130:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses – Control	52,6435	9,20010	8
Cuatro meses – AIB	57,4911	5,17738	8
Seis meses – Control	25,4958	24,91695	8
Seis meses – AIB	41,9752	21,58994	8
Siete meses – Control	46,0160	35,48210	8
Siete meses – AIB	52,2130	27,98266	8

Anexo 131:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	3877,312	2	1938,656	3,059	,079
Error(EDAD)	Esfericidad asumida	8871,399	14	633,671		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	1010,097	1	1010,097	3,425	,107
Error(TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	2064,371	7	294,910		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	323,801	2	161,901	,421	,665
Error(EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	5386,184	14	384,727		

Anexo 132:**Estadísticos descriptivos**

	Media	Desv. típ.	N
Seis meses - Control	35,2478	30,51512	16
Seis meses - AIB	51,7149	22,97076	16
Siete meses - Control	45,5886	26,22594	16
Siete meses - AIB	49,7051	24,58352	16

Anexo 133:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	277,621	1	277,621	,282	,603
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	14741,266	15	982,751		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	1694,724	1	1694,724	3,540	,079
Error (TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	7180,322	15	478,688		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	610,150	1	610,150	1,503	,239
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	6088,619	15	405,908		

- **Sustrato**

- **Cuatro meses de edad**

Anexo 134:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número raíces	1,792(a)	7	,256	1,423	,206
	Longitud raíz primaria	,022(a)	7	,003	1,421	,207
	Long. raíz secundaria	,000(b)	7	,000	.	.
	Altura plántula	1,805(c)	7	,258	1,081	,383
	Número hojas	15,292(d)	7	2,185	,817	,576
Intercepto	Número raíces	,375	1	,375	2,084	,152
	Longitud raíz primaria	,007	1	,007	3,061	,084
	Long. raíz secundaria	,000	1	,000	.	.
	Altura plántula	116,600	1	116,600	488,728	,000
	Número hojas	759,375	1	759,375	283,959	,000
Tratamiento	Número raíces	,167	1	,167	,926	,338
	Longitud raíz primaria	,000	1	,000	,191	,663
	Long. raíz secundaria	,000	1	,000	.	.
	Altura plántula	,135	1	,135	,566	,454
	Número hojas	1,042	1	1,042	,390	,534
Repetición	Número raíces	1,125	3	,375	2,084	,108
	Longitud raíz primaria	,020	3	,007	3,061	,032
	Long. raíz secundaria	,000	3	,000	.	.
	Altura plántula	,855	3	,285	1,195	,316
	Número hojas	7,375	3	2,458	,919	,435
Tratamiento * Repetición	Número raíces	,500	3	,167	,926	,432
	Longitud raíz primaria	,001	3	,000	,191	,902
	Long. raíz secundaria	,000	3	,000	.	.
	Altura plántula	,814	3	,271	1,138	,338
	Número hojas	6,875	3	2,292	,857	,467
Error	Número raíces	15,833	88	,180		
	Longitud raíz primaria	,192	88	,002		
	Long. raíz secundaria	,000	88	,000		
	Altura plántula	20,995	88	,239		
	Número hojas	235,333	88	2,674		
Total	Número raíces	18,000	96			
	Longitud raíz primaria	,220	96			
	Long. raíz secundaria	,000	96			
	Altura plántula	139,400	96			
	Número hojas	1010,000	96			
Total corregida	Número raíces	17,625	95			
	Longitud raíz primaria	,213	95			
	Long. raíz secundaria	,000	95			
	Altura plántula	22,800	95			
	Número hojas	250,625	95			

a R cuadrado = ,102 (R cuadrado corregida = ,030)

b R cuadrado = . (R cuadrado corregida = .)

c R cuadrado = ,079 (R cuadrado corregida = ,006)
d R cuadrado = ,061 (R cuadrado corregida = -,014)

Anexo 135:**Comparaciones por pares**

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
Número raíces	5,00	6,00	-,083	,087	,338
	(Ausencia)	(Presencia)			
	6,00	5,00	,083	,087	,338
Longitud raíz primaria	5,00	6,00	-,004	,010	,663
	6,00	5,00	,004	,010	,663
Longitud raíz secundaria	5,00	6,00	,000	,000	.
	6,00	5,00	,000	,000	.
Altura plántula	5,00	6,00	-,075	,100	,454
	6,00	5,00	,075	,100	,454
Número hojas	5,00	6,00	,208	,334	,534
	6,00	5,00	-,208	,334	,534

Basadas en las medias marginales estimadas.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

▪ **Siete meses de edad**

Anexo 136:**Pruebas de los efectos inter-sujetos**

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número raíces	4,250(a)	7	,607	1,000	,432
	Longitud raíz primaria	2,634(b)	7	,376	2,527	,017
	Long. raíz secundaria	,254(c)	7	,036	2,554	,016
	Altura plántula	1,125(d)	7	,161	1,673	,118
	Número hojas	24,870(e)	7	3,553	1,729	,105
Intercepto	Número raíces	14,083	1	14,083	23,206	,000
	Longitud raíz primaria	2,637	1	2,637	17,707	,000
	Long. raíz secundaria	,152	1	,152	10,690	,001
	Altura plántula	312,120	1	312,120	3249,227	,000
	Número hojas	2140,005	1	2140,005	1041,351	,000
Tratamiento	Número raíces	,333	1	,333	,549	,460
	Longitud raíz primaria	,921	1	,921	6,187	,014
	Long. raíz secundaria	,092	1	,092	6,467	,012
	Altura plántula	,441	1	,441	4,589	,033
	Número hojas	,005	1	,005	,003	,960
Repetición	Número raíces	3,417	3	1,139	1,877	,135
	Longitud raíz primaria	1,307	3	,436	2,925	,035
	Long. raíz secundaria	,108	3	,036	2,527	,059
	Altura plántula	,597	3	,199	2,070	,106
	Número hojas	21,891	3	7,297	3,551	,016
Tratamiento * Repetición	Número raíces	,500	3	,167	,275	,844
	Longitud raíz primaria	,406	3	,135	,908	,438

Error	Long. raíz secundaria	,054	3	,018	1,276	,284
	Altura plántula	,087	3	,029	,304	,823
	Número hojas	2,974	3	,991	,482	,695
	Número raíces	111,667	184	,607		
	Longitud raíz primaria	27,400	184	,149		
Total	Long. raíz secundaria	2,614	184	,014		
	Altura plántula	17,675	184	,096		
	Número hojas	378,125	184	2,055		
	Número raíces	130,000	192			
	Longitud raíz primaria	32,670	192			
Total corregida	Long. raíz secundaria	3,020	192			
	Altura plántula	330,920	192			
	Número hojas	2543,000	192			
	Número raíces	115,917	191			
	Longitud raíz primaria	30,033	191			
	Long. raíz secundaria	2,868	191			
	Altura plántula	18,800	191			
	Número hojas	402,995	191			

a R cuadrado = ,037 (R cuadrado corregida = ,000)

b R cuadrado = ,088 (R cuadrado corregida = ,053)

c R cuadrado = ,089 (R cuadrado corregida = ,054)

d R cuadrado = ,060 (R cuadrado corregida = ,024)

e R cuadrado = ,062 (R cuadrado corregida = ,026)

Anexo 137:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
Número raíces	5,00	6,00	-,083	,112	,460
	6,00	5,00	,083	,112	,460
Longitud raíz primaria	5,00	6,00	-,139(*)	,056	,014
	6,00	5,00	,139(*)	,056	,014
Longitud raíz secundaria	5,00	6,00	-,044(*)	,017	,012
	6,00	5,00	,044(*)	,017	,012
Altura plántula	5,00	6,00	-,096(*)	,045	,033
	6,00	5,00	,096(*)	,045	,033
Número hojas	5,00	6,00	-,010	,207	,960
	6,00	5,00	,010	,207	,960

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

▪ **Modelo Lineal General opción “Medidas repetidas”**

▪ **Número de raíces**

Anexo 138:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	1,819	2	,909	1,053	,375
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	12,087	14	,863		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	2,521	1	2,521	5,648	,049
Error (TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	3,125	7	,446		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	2,841	2	1,420	1,698	,219
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	11,709	14	,836		

Anexo 139:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses – Control	1,6242	,73842	8
Cuatro meses – AIB	1,4579	,23175	8
Seis meses – Control	,8748	,85317	8
Seis meses – AIB	1,8954	1,40016	8
Siete meses – Control	,8124	,91911	8
Siete meses – AIB	1,3333	1,15116	8

▪ **Longitud raíz primaria**

Anexo 140:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	2,421	2	1,211	,855	,446
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	19,831	14	1,417		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	6,569	1	6,569	32,584	,001
Error (TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	1,411	7	,202		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	3,217	2	1,609	1,428	,273
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	15,766	14	1,126		

Anexo 141:**Estadísticos descriptivos**

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses - Control	1,1104	,62208	8
Cuatro meses - AIB	1,3550	,38113	8
Seis meses - Control	,8813	1,17684	8
Seis meses - AIB	2,3358	1,94952	8
Siete meses - Control	,8124	,91911	8
Siete meses - AIB	1,3329	1,15042	8

- **Longitud raíz secundaria**

Anexo 142:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	,192	2	,096	1,575	,242
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	,852	14	,061		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,121	1	,121	,905	,373
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	,933	7	,133		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,032	2	,016	,148	,863
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	1,521	14	,109		

Anexo 143:**Estadísticos descriptivos**

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses - Control	,3267	,26028	8
Cuatro meses - AIB	,3542	,19262	8
Seis meses – Control	,1367	,24053	8
Seis meses – AIB	,2659	,23225	8
Siete meses – Control	,2575	,39881	8
Siete meses – AIB	,4017	,56496	8

▪ **Altura de la plántula**

Anexo 144:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	1,574	2	,787	7,190	,007
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	1,532	14	,109		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,398	1	,398	4,224	,079
Error (TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	,660	7	,094		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,064	2	,032	,610	,557
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	,736	14	,053		

Anexo 145:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses – Control	1,1358	,09241	8
Cuatro meses – AIB	1,3429	,03405	8
Seis meses – Control	1,1283	,65300	8
Seis meses – AIB	1,3850	,20092	8
Siete meses – Control	1,5904	,23851	8
Siete meses – AIB	1,6733	,06213	8

▪ **Número de hojas**

Anexo 146:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	100,682	2	50,341	47,458	,000
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	14,850	14	1,061		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,001	1	,001	,002	,968
Error (TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	4,462	7	,637		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	5,386	2	2,693	1,772	,206
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	21,271	14	1,519		

Anexo 147:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses - Control	5,5621	,85489	8
Cuatro meses - AIB	4,6241	,51756	8
Seis meses - Control	1,3124	,90606	8
Seis meses - AIB	1,7913	,70004	8
Siete meses - Control	3,2617	1,46347	8
Siete meses - AIB	3,7492	1,50127	8

- **Enraizamiento en sustrato**
 - **Número de raíces**

Anexo 148:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	,221	1	,221	2,723	,143
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	,569	7	,081		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,125	1	,125	4,486	,072
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	,194	7	,028		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,014	1	,014	,267	,621
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	,361	7	,052		

Anexo 149:**Estadísticos descriptivos**

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses - Control	,0208	,05894	8
Cuatro meses - AIB	,1042	,29462	8
Siete meses - Control	,1458	,20765	8
Siete meses - AIB	,3120	,22599	8

- **Longitud raíz primaria**

Anexo 150:**Pruebas de efectos intra-sujetos.**

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	,068	1	,068	8,906	,020
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	,053	7	,008		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,043	1	,043	10,209	,015
Error (TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	,030	7	,004		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,039	1	,039	6,860	,034
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	,040	7	,006		

Anexo 151:**Estadísticos descriptivos**

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses – Control	,0062	,01768	8
Cuatro meses – AIB	,0104	,02934	8
Siete meses – Control	,0288	,05249	8
Siete meses – AIB	,1721	,13461	8

▪ **Longitud raíz secundaria**

Anexo 152:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	,007	1	,007	11,048	,013
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	,004	7	,001		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,007	1	,007	11,048	,013
Error (TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	,004	7	,001		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,007	1	,007	11,048	,013
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	,004	7	,001		

Anexo 153:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses – Control	,0000	,00000	8
Cuatro meses – AIB	,0000	,00000	8
Siete meses – Control	,0000	,00000	8
Siete meses – AIB	,0582	,04954	8

▪ **Altura de la plántula**

Anexo 154:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	,142	1	,142	4,665	,068
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	,213	7	,030		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,069	1	,069	3,119	,121
Error (TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	,156	7	,022		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,003	1	,003	,224	,650
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	,094	7	,013		

Anexo 155:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses - Control	1,0646	,23560	8
Cuatro meses - AIB	1,1383	,17344	8
Siete meses - Control	1,1783	,08463	8
Siete meses - AIB	1,2909	,03567	8

▪ **Número de hojas**

Anexo 156:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	6,885	1	6,885	15,993	,005
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	3,014	7	,431		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,070	1	,070	,247	,634
Error (TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	1,983	7	,283		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	,106	1	,106	,192	,675
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	3,877	7	,554		

Anexo 157:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses - Control	2,9154	1,05775	8
Cuatro meses - AIB	2,7067	,65241	8
Siete meses - Control	3,7279	,56188	8
Siete meses - AIB	3,7496	,79178	8

- **Modelo Lineal General opción “Medidas repetidas”**
- **Porcentaje de enraizamiento (datos transformados)**

Anexo 158:

Estadísticos descriptivos

	Media	Desv. típ.	N
Cuatro meses - Control	3,0054	8,50066	8
Cuatro meses – AIB	4,4055	12,46065	8
Siete meses – Control	10,4164	14,78568	8
Siete meses – AIB	20,8099	13,72891	8

Anexo 159:

Pruebas de efectos intra-sujetos.

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
EDAD	Esfericidad asumida	1134,344	1	1134,344	4,044	,084
Error (EDAD)	Esfericidad asumida	1963,637	7	280,520		
TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	278,179	1	278,179	3,560	,101
Error (TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	546,932	7	78,133		
EDAD * TRATAMIENTO	Esfericidad asumida	161,766	1	161,766	,912	,371
Error (EDAD * TRATAMIENTO)	Esfericidad asumida	1241,435	7	177,348		

4.4 *Quercus humboldtii*

▪ Modelo Lineal General opción “Medidas repetidas”

Anexo 160:

Pruebas de los efectos inter-sujetos

Fuente	Variable dependiente	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Significación
Modelo corregido	Número raíces	63,500(a)	31	2,048	3,247	,000
	Longitud raíz primaria	106,860(b)	31	3,447	2,236	,001
	Long. raíz secundaria	,143(c)	31	,005	,912	,604
	Altura plántula	9,355(d)	31	,302	1,776	,012
	Número hojas	153,120(e)	31	4,939	1,569	,039
Intercepto	Número raíces	31,769	1	31,769	50,356	,000
	Longitud raíz primaria	66,270	1	66,270	42,996	,000
	Long. raíz secundaria	,019	1	,019	3,722	,055
	Altura plántula	789,752	1	789,752	4646,738	,000
	Número hojas	4830,047	1	4830,047	1533,855	,000
Ensayo	Número raíces	6,531	3	2,177	3,451	,018
	Longitud raíz primaria	7,895	3	2,632	1,707	,168
	Long. raíz secundaria	,011	3	,004	,753	,522
	Altura plántula	,630	3	,210	1,236	,299
	Número hojas	43,224	3	14,408	4,575	,004
Tratamiento	Número raíces	28,598	1	28,598	45,330	,000
	Longitud raíz primaria	48,200	1	48,200	31,272	,000
	Long. raíz secundaria	,003	1	,003	,505	,478
	Altura plántula	1,577	1	1,577	9,278	,003
	Número hojas	5,005	1	5,005	1,589	,209
Repetición	Número raíces	2,077	3	,692	1,098	,352
	Longitud raíz primaria	3,430	3	1,143	,742	,529
	Long. raíz secundaria	,019	3	,006	1,247	,294
	Altura plántula	,712	3	,237	1,397	,246
	Número hojas	3,016	3	1,005	,319	,811
Ensayo * Tratamiento	Número raíces	5,619	3	1,873	2,969	,034
	Longitud raíz primaria	4,063	3	1,354	,879	,454
	Long. raíz secundaria	,008	3	,003	,505	,679
	Altura plántula	,652	3	,217	1,278	,284
	Número hojas	17,682	3	5,894	1,872	,136
Ensayo * Repetición	Número raíces	7,923	9	,880	1,395	,194
	Longitud raíz primaria	21,687	9	2,410	1,563	,130
	Long. raíz secundaria	,072	9	,008	1,577	,126
	Altura plántula	2,169	9	,241	1,418	,184
	Número hojas	42,797	9	4,755	1,510	,148
Tratamiento * Repetición	Número raíces	2,823	3	,941	1,492	,219
	Longitud raíz primaria	3,889	3	1,296	,841	,473
	Long. raíz secundaria	,015	3	,005	1,000	,394
	Altura plántula	1,336	3	,445	2,620	,053
	Número hojas	3,307	3	1,102	,350	,789
Ensayo * Tratamiento * Repetición	Número raíces	9,928	9	1,103	1,748	,082

Error	Longitud raíz primaria	17,696	9	1,966	1,276	,254
	Long. raíz secundaria	,015	9	,002	,340	,960
	Altura plántula	2,279	9	,253	1,490	,156
	Número hojas	38,089	9	4,232	1,344	,218
	Número raíces	100,942	160	,631		
Total	Longitud raíz primaria	246,610	160	1,541		
	Long. raíz secundaria	,808	160	,005		
	Altura plántula	27,193	160	,170		
	Número hojas	503,833	160	3,149		
	Número raíces	196,210	192			
Total corregida	Longitud raíz primaria	419,740	192			
	Long. raíz secundaria	,970	192			
	Altura plántula	826,300	192			
	Número hojas	5487,000	192			
	Número raíces	164,441	191			
	Longitud raíz primaria	353,470	191			
	Long. raíz secundaria	,951	191			
	Altura plántula	36,548	191			
	Número hojas	656,953	191			

a R cuadrado = ,386 (R cuadrado corregida = ,267)

b R cuadrado = ,302 (R cuadrado corregida = ,167)

c R cuadrado = ,150 (R cuadrado corregida = -,014)

d R cuadrado = ,256 (R cuadrado corregida = ,112)

e R cuadrado = ,233 (R cuadrado corregida = ,084)

Anexo 161:

Comparaciones por pares

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia entre medias (I-J)	Error típ.	Significación (a)
Número raíces	5,00	6,00	-,772(*)	,115	,000
	6,00	5,00	,772(*)	,115	,000
Longitud raíz primaria	5,00	6,00	-1,002(*)	,179	,000
	6,00	5,00	1,002(*)	,179	,000
Longitud raíz secundaria	5,00	6,00	-,007	,010	,478
	6,00	5,00	,007	,010	,478
Altura plántula	5,00	6,00	-,181(*)	,060	,003
	6,00	5,00	,181(*)	,060	,003
Número hojas	5,00	6,00	-,323	,256	,209
	6,00	5,00	,323	,256	,209

Basadas en las medias marginales estimadas.

* La diferencia de las medias es significativa al nivel ,05.

a Ajuste para comparaciones múltiples: Diferencia menos significativa (equivalente a la ausencia de ajuste).

8.1 Micorrizas

Anexo 162. Test de Tuckey

Estadísticos de grupo para el ensayo de enraizamiento de *C. odorata*.

TRATAMIENTO		N	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA
Porcentaje Enraizamiento	1,00 (Control)	24	0,4583	0,510
	2,00 (AIB)	24	0,5417	0,510
Número raíces	1,00	24	0,7083	0,954
	2,00	24	2,00	2,62
Long. Raíz prim.	1,00	24	2,00	0,505
	2,00	24	4,58	1,00
Long.raíz secund.	1,00	24	0,005	0,005
	2,00	24	0,666	0,261
Longitud planta.	1,00	24	2,10	0,006
	2,00	24	2,058	0,109
Número hojas	1,00	24	1,16	0,115
	2,00	24	1,91	0,216

Anexo 163

Anova de un factor para el promedio de la longitud, peso de raíces y de ramas de las plantas sobrevivientes a los cinco tratamientos de inoculación.

Fuente		gl	Cuadrado medio	F	Sig.
Peso raíz	Inter-grupos	4	0,02	2,573	0,053
	Intra- grupos	38	0,01		
	Total	42			
Peso rama	Inter-grupos	4	0,03	4,048	0,008
	Intra- grupos	38	0,07		
	Total	42			
Longitud total	Inter-grupos	4	26305,757	3,897	0,010
	Intra- grupos	38	6750,055		
	Total	42			

Anexo 164

Pruebas post hoc (comparaciones múltiples) para peso de raíces y ramas del ensayo de inoculación.

DMS

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
PESO RAIZ	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. deserticola</i>	-0,05	0,04	0,234
		<i>G. macrocarpa</i>	-0,09	0,04	0,055
		Control	-0,01	0,05	0,804
		Suelo	-1,515 *	0,05	0,009
	<i>G. deserticola</i>	<i>G. aggregatum</i>	0,05	0,04	0,234
		<i>G. macrocarpa</i>	-0,03	0,04	0,476
		Control	0,04	0,05	0,374
		Suelo	-0,09	0,05	0,106
	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. aggregatum</i>	0,09	0,04	0,055
		<i>G. deserticola</i>	0,03	0,04	0,476
		Control	0,08	0,05	0,114
		Suelo	-0,05	0,05	0,300
	Control	<i>G. aggregatum</i>	0,01	0,05	0,804
		<i>G. deserticola</i>	-0,04	0,05	0,374
		<i>G. macrocarpa</i>	-0,08	0,05	0,114
		Suelo	-0,1390	0,05	0,020
	Suelo	<i>G. aggregatum</i>	0,1515 *	0,05	0,009
		<i>G. deserticola</i>	0,09	0,05	0,106
		<i>G. macrocarpa</i>	0,05	0,05	0,300
		Control	0,1390	0,05	0,020
PESO RAMA	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. deserticola</i>	-0,03	0,03	0,386
		<i>G. macrocarpa</i>	-0,07	0,03	0,079
		Control	-0,05	0,04	0,889
		Suelo			0,001
	<i>G. deserticola</i>	<i>G. aggregatum</i>	0,03	0,03	0,386
		<i>G. macrocarpa</i>	-0,03	0,03	0,384
		Control	0,02	0,04	0,493
		Suelo	-1,274 *	0,04	0,008
	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. aggregatum</i>	0,07	0,03	0,079
		<i>G. deserticola</i>	0,03	0,03	0,384
		Control	0,06	0,04	0,127
		Suelo	-0,09	0,04	0,047
	Control	<i>G. aggregatum</i>	0,005	0,04	0,889
		<i>G. deserticola</i>	-0,02	0,04	0,493
		<i>G. macrocarpa</i>	-0,06	0,04	0,127
		Suelo	-0,1566 *	0,04	0,002
	Suelo	<i>G. aggregatum</i>	0,1624 *	0,04	0,001
		<i>G. deserticola</i>	0,1274 *	0,04	0,008
		<i>G. macrocarpa</i>	0,09	0,04	0,047
		Control	0,1566 *	0,04	0,002
LONGITUD TOTAL	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. deserticola</i>	-89,0222	37,7493	0,024
		<i>G. macrocarpa</i>	-88,100	36,7425	0,022
		Control	-17,300	38,9713	0,660
		Suelo	-140,9667 *	42,4266	0,002
	<i>G. deserticola</i>	<i>G. aggregatum</i>	89,0222	37,7493	0,024
		<i>G. macrocarpa</i>	0,9222	37,7493	0,022
		Control	71,7222	39,9220	0,660
		Suelo	-51,9444	43,3014	0,002
	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. aggregatum</i>	88,100	36,7425	0,022
		<i>G. deserticola</i>	-0,9222	37,7493	0,981
		Control	70,800	38,9713	0,077
		Suelo	-52,8667	42,4266	0,220
	Control	<i>G. aggregatum</i>	17,300	38,9713	0,660
		<i>G. deserticola</i>	-71,7222	39,9220	0,080
		<i>G. macrocarpa</i>	-70,800	38,9713	0,077
		Suelo	-123,6667 *	44,3708	0,008
	Suelo	<i>G. aggregatum</i>	140,9667 *	42,4266	0,002
		<i>G. deserticola</i>	51,9444	43,3014	0,238
		<i>G. macrocarpa</i>	52,8667	42,4266	0,220
		Control	123,6667 *	44,3708	0,008

Anexo 165

Anova que contrasta las medias de las cinco variables evaluadas con los cinco tratamientos de inoculación.

Fuente	gl	Cuadrado medio	F	Sig
Número raíces Inter- grupos (Combinados)	4	3,505	0,430	0,783
* TRATAMIENTO Intra- grupos	5	8,143		
Total	9			
Long. Raíz prim. Inter- grupos (Combinados)	4	5,161	0,027	0,998
* TRATAMIENTO Intra- grupos	5	193,253		
Total	9			
Long.raíz secund. Inter- grupos (Combinados)	4	4,008	0,095	0,980
* TRATAMIENTO Intra- grupos	5	42,126		
Total	9			
Altura de planta. Inter- grupos (Combinados)	4	0,985	0,304	0,864
* TRATAMIENTO Intra- grupos	5	3,239		
Total	9			
Número hojas Inter- grupos (Combinados)	4	0,798	0,768	0,589
* TRATAMIENTO Intra- grupos	5	2,340		
Total	9			

Anexo 166

Anova que contrasta las medias de las cinco variables evaluadas con los meses de medida uno y cuatro

Fuente	gl	Cuadrado medio	F	Sig
Número raíces Inter-grupos(Combinados)	1	35,119	14,321	0,005
* MES MEDIDA Intra- grupos	8	2,452		
Total	9			
Long. Raíz prim. Inter-grupos (Combinados)	1	931,418	134,284	0,001
* MES MEDIDA Intra- grupos	8	6,936		
Total	9			
Long.raíz secund. Inter-grupos (Combinados)	1	196,958	53,049	0,001
* MES MEDIDA Intra-grupos	8	3,713		
Total	9			
Longitud planta. Inter-grupos (Combinados)	1	12,566	13,281	0,007
* MES MEDIDA Intra-grupos	8	,946		
Total	9			
Número hojas Inter-grupos (Combinados)	1	9,526	8,137	0,021
* MES MEDIDA Intra- grupos	8	1,171		
Total	9			

Anexo 167. Pruebas post hoc (comparaciones múltiples) del ensayo de inoculación.**DMS**

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
Número raíces	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. deserticola</i>	-2,1868	0,8922	0,016
		<i>G. macrocarpum</i>	-0,1000	0,8807	0,910
		Control	-1,3389	0,9048	0,143
		Suelo	-2,2000	0,9341	0,021
	<i>G. deserticola</i>	<i>G. aggregatum</i>	2,1868	0,8922	0,016
		<i>G. macrocarpum</i>	2,0868	0,8922	0,022
		Control	0,8480	0,9160	0,357
		Suelo	-0,01	9449	0,989
	<i>G. macrocarpum</i>	<i>G. aggregatum</i>	0,1000	0,8807	0,910
		<i>G. deserticola</i>	-2,0868	0,8922	0,022
		Control	-1,2389	0,9048	0,175
		Suelo	-2,1000	0,9341	0,027
	Control	<i>G. aggregatum</i>	2,2000	0,9341	0,021
		<i>G. deserticola</i>	0,01	0,9449	0,989
		<i>G. macrocarpum</i>	2,1000	0,9341	0,027
		Suelo	0,8611	0,9569	0,371
	Suelo	<i>G. aggregatum</i>	2,2000	0,9341	0,021
		<i>G. deserticola</i>	0,01	0,9449	0,989
		<i>G. macrocarpum</i>	2,1000	0,9341	0,027
		Control	0,8611	0,9569	0,371
Long. raíz primaria	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. deserticola</i>	-1,2621	2,5706	0,625
		<i>G. macrocarpum</i>	-,3350	2,5374	0,895
		Control	3,1522	2,6069	0,230
		Suelo	3,2363	2,6913	0,233
	<i>G. deserticola</i>	<i>G. aggregatum</i>	1,2621	2,5706	0,625
		<i>G. macrocarpum</i>	0,9271	2,5706	0,719
		Control	4,4143	2,6392	0,098
		Suelo	4,4984	2,7226	0,102
	<i>G. macrocarpum</i>	<i>G. aggregatum</i>	0,3350	2,5374	0,895
		<i>G. deserticola</i>	-0,9271	2,5706	0,719
		Control	3,4872	2,6069	0,185
		Suelo	3,5713	2,6913	0,188
	Control	<i>G. aggregatum</i>	-3,1522	2,6069	0,230
		<i>G. deserticola</i>	-4,4143	2,6392	0,098
		<i>G. macrocarpum</i>	-3,4872	2,6069	0,185
		Suelo	0,08	2,7570	0,976
	Suelo	<i>G. aggregatum</i>	-3,2363	2,6913	0,233
		<i>G. deserticola</i>	-4,4984	2,7226	0,102
		<i>G. macrocarpum</i>	-3,5713	2,6913	0,188
		Control	-0,08	2,7570	0,976
Long. raíz secundaria	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. deserticola</i>	-,4276	1,5608	0,785
		<i>G. macrocarpum</i>	-2,6800	1,5407	0,086
		Control	0,5806	1,5829	0,715
		Suelo	1,8625	1,6342	0,258
	<i>G. deserticola</i>	<i>G. aggregatum</i>	0,4276	1,5608	0,785
		<i>G. macrocarpum</i>	-2,2524	1,5608	0,153
		Control	1,0082	1,6025	0,531
		Suelo	2,2901	1,6532	0,170
	<i>G. macrocarpum</i>	<i>G. aggregatum</i>	2,6800	1,5407	0,086
		<i>G. deserticola</i>	2,2524	1,5608	0,153
		Control	3,2606	1,5829	0,043
		Suelo	4,5425*	1,6342	0,007
	Control	<i>G. aggregatum</i>	-0,5806	1,5829	0,715
		<i>G. deserticola</i>	-1,0082	1,6025	0,531
		<i>G. macrocarpum</i>	-3,2606	1,5829	0,043
		Suelo	1,2819	0,16740	0,446
	Suelo	<i>G. aggregatum</i>	-1,8625	1,6342	0,258
		<i>G. deserticola</i>	-2,2901	1,6532	0,170
		<i>G. macrocarpum</i>	-4,5425*	1,6342	0,007
		Control	-1,2819	1,6740	0,446

Continuación DMS

Variable dependiente	(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
Longitud planta	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. deserticola</i>	0,06	0,3035	0,822
		<i>G. macrocarpum</i>	-0,1750	0,2996	0,561
		Control	0,03	0,3078	0,913
		Suelo	-1,0425*	0,3178	0,002
	<i>G. deserticola</i>	<i>G. aggregatum</i>	-0,06	0,3035	0,822
		<i>G. macrocarpum</i>	-0,2437	0,3035	0,424
		Control	-0,03	0,3116	0,911
		Suelo	-1,1112*	0,3214	0,001
	<i>G. macrocarpum</i>	<i>G. aggregatum</i>	0,1750	0,2996	0,561
		<i>G. deserticola</i>	0,2437	0,3035	0,424
		Control	0,2089	0,3078	0,499
		Suelo	-0,8675 *	0,3178	0,008
	Control	<i>G. aggregatum</i>	-0,03	0,3078	0,913
		<i>G. deserticola</i>	0,03	0,3116	0,911
		<i>G. macrocarpum</i>	-0,2089	0,3078	0,499
		Suelo	-1,0764 *	0,3255	0,001
	Suelo	<i>G. aggregatum</i>	1,0425 *	0,3178	0,002
		<i>G. deserticola</i>	1,1112 *	0,3214	0,001
		<i>G. macrocarpum</i>	0,8675 *	0,3178	0,008
		Control	1,0764 *	0,3255	0,001
Número de hojas	<i>G. aggregatum</i>	<i>G. deserticola</i>	-0,4737	0,3910	0,229
		<i>G. macrocarpum</i>	-0,4000	0,3860	0,303
		Control	-0,05	0,3966	0,889
		Suelo	-1,8750 *	0,4094	0,000
	<i>G. deserticola</i>	<i>G. aggregatum</i>	0,4737	0,3910	0,229
		<i>G. macrocarpum</i>	0,07	0,3910	0,851
		Control	0,4181	0,4015	0,301
		Suelo	-1,4013 *	0,4142	0,001
	<i>G. macrocarpum</i>	<i>G. aggregatum</i>	0,4000	0,3860	0,303
		<i>G. deserticola</i>	-0,07	0,3910	0,851
		Control	0,3444	0,3966	0,388
		Suelo	-1,4750	0,4094	0,001
	Control	<i>G. aggregatum</i>	0,05	0,3966	0,889
		<i>G. deserticola</i>	-0,4181	0,4015	0,301
		<i>G. macrocarpum</i>	-0,3444	0,3966	0,388
		Suelo	-1,8194 *	0,4194	0,000
	Suelo	<i>G. aggregatum</i>	1,8750 *	0,4094	0,001
		<i>G. deserticola</i>	1,4013 *	0,4142	0,001
		<i>G. macrocarpum</i>	1,4750 *	0,4094	0,001
		Control	1,8194 *	0,4194	0,001