

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

## EFFECT OF THE CULTIVATION MEDIUM ON THE *in vitro* PROPAGATION OF *Cedrela odorata* L. GENOTYPES

**Sampayo-Maldonado, S.<sup>1</sup>; Castillo-Martínez, C.R.<sup>2\*</sup>; Jasso-Mata, J.<sup>1</sup>;  
Jiménez-Casas, M.<sup>1</sup>; López-Upton, J.<sup>1</sup>; Sánchez-Monsalvo, V.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Posgrado en Ciencias Forestales, Colegio de Postgraduados *Campus* Montecillo. Km 36.5 carretera México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México. <sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. CENID-COMEF. Av. Progreso No. 5, Colonia Barrio de Santa Catarina, Delegación Coyoacán, Ciudad de México. <sup>3</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental El Palmar, km 16 Carretera Tezonapa-El Palmar Grande. Tezonapa, Veracruz, México. C. P. 95096.

**\*Autor de correspondencia:** castillo.carlos@inifap.gob.mx

### RESUMEN

Para la industria forestal de México *Cedrela odorata* es la especie de mayor importancia, con amplia demanda para el establecimiento de plantaciones comerciales, las cuales pueden ser cubiertas mediante propagación *in vitro* de genotipos sobresalientes. Se desarrolló un protocolo para propagación *in vitro* de *C. odorata*, a través de yemas axilares, evaluando efectos de diferentes medios de cultivo en fases de establecimiento, multiplicación y enraizamiento de cinco genotipos seleccionados de *C. odorata*. Con el medio MS adicionado con antioxidantes, bactericidas y auxinas se obtuvo 55% de establecimiento, mientras que fase de multiplicación el medio MS adicionado con mayor concentración de auxinas favoreció la emisión de brotes (95%) y todos los medios favorecieron la elongación de los mismos. *C. odorata* presentó buen nivel de enraizamiento aun sin auxinas pero el medio MS adicionado con 0.1 ml L<sup>-1</sup> de AIB y 0.1 ml L<sup>-1</sup> de ANA fue superior en la generación de raíces (12%), concluyendo que el efecto del medio de cultivo es determinante para el establecimiento, multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *C. odorata*. Mientras que el genotipo una vez establecido tiene efecto en la sobrevivencia y respuesta al enraizamiento.

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

### ABSTRACT

For México's forestry industry, *Cedrela odorata* is the species of greatest importance, with ample demand for the establishment of commercial plantations, which could be covered through the *in vitro* propagation of outstanding genotypes. A protocol for *in vitro* propagation of *C. odorata* was developed through auxiliary buds, evaluating effects from different cultivation mediums in the phases of establishment, multiplication and rooting of five *C. odorata* genotypes selected. Establishment of 55 % was obtained with the MS medium complemented with antioxidants, bactericides and auxins, while in the multiplication phase, the MS medium complemented with higher concentration of auxins favored the emission of shoots (95 %), and all the mediums favored their elongation. *C. odorata* presented a good level of rooting even without auxins, but the MS medium complemented with 0.1 ml L<sup>-1</sup> of AIB and 0.1 ml L<sup>-1</sup> of ANA was superior in root generation (12 %), concluding that the effect of the cultivation medium is determinant for the *in vitro* establishment, multiplication and rooting of *C. odorata*, while the genotype once established has an effect on the survival and response to rooting.

**Keywords:** Multiplication, rooting, auxins, MS medium.

**Agroproductividad:** Vol. 9, Núm. 2, febrero. 2016. pp: 62-69.

**Recibido:** octubre 2015. **Aceptado:** diciembre 2015.

## INTRODUCCIÓN

**El Cedro** (*Cedrela odorata* L.) es la especie de mayor importancia comercial para la industria forestal de México (Quinto *et al.*, 2009). Su rentabilidad económica la hace atractiva para el establecimiento de plantaciones comerciales (Ramírez *et al.*, 2008), y según CONAFOR (2015) es la especie maderable con más hectáreas establecidas en territorio nacional. Para abastecer la demanda de planta para plantaciones comerciales, será necesario contar con germoplasma de origen genético conocido, seleccionados de acuerdo a características de interés que garanticen buen rendimiento (Sánchez *et al.*, 2003). Mediante la propagación vegetativa se obtienen plantas con identidad genética idéntica de los árboles de procedencia (Kumar, 2007), y las técnicas más usadas son el enraizamiento de estacas, acodado, injerto y micropropagación (Peña *et al.*, 2010; Hannrup *et al.*, 2008). Para la producción comercial de clones de genotipos sobresalientes de *C. odorata*, la propagación *in vitro* es una propuesta viable desde el punto de vista técnico y económico (Ewald *et al.*, 2000; Peña *et al.*, 2010), y consiste en producir plantas a partir de pequeñas porciones de tejidos, cultivadas asépticamente donde se puede controlar estrictamente las condiciones ambientales, sanitarias y de nutrición para la producción de un gran número de plantas en espacios reducidos y en cualquier época del año (Borges *et al.*, 2011; González *et al.*, 2012). Para propagar *C. odorata* y otras especies tropicales se ha usado el medio Murashige & Skoog (MS) (Mukherjee *et al.*, 2010), sin embargo, no existe un protocolo que garantice el éxito con porcentajes aceptables de propagación. Según Pérez *et al.* (2012), los principales problemas para el establecimiento *in vitro* de *C. odorata* es la contaminación durante el establecimiento y recalcitrancia de los explantes en las fases de multiplicación y enraizamiento. *C. odorata* se encuentra incluida en la lista de especies en riesgo sujeta a protección especial en la NOM. 059 (SEMARNAT, 2010), razón por la cual su conservación, propagación y uso sustentable cobra especial importancia (Muellner *et al.*, 2009). Con base en lo anterior, se desarrolló un protocolo para la propagación clonal de cinco genotipos selectos de *C. odorata*, a través de ápices y yemas axilares, probando diferentes medios de cultivo durante las fases de multiplicación y enraizamiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Fase de establecimiento

Se utilizaron yemas y ápice de plantas establecidas por

semilla de *C. odorata*, recolectada en mayo del 2012 de la familia 99 del Huerto semillero del Campo Experimental El Palmar, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). La siembra se realizó en abril 2013, en condiciones de invernadero en el Colegio de Postgraduados, Texcoco, estado de México. Como sustrato se usó una mezcla de turba, agrolita y vermiculita (2:1:1) contenida en tubetes de polietileno de un litro de capacidad con la adición de  $10 \text{ gr}^{-1}$  de fertilizante de liberación controlada por tubete. La germinación se inició a los 15 días, y se completó a los 35 días, obteniendo un 95% de germinación. Después de año y medio la planta fue llevada al invernadero del Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG), Tepatitlan, Jalisco, México, donde se le dio un manejo de riegos frecuentes y con aplicación foliar de fungicida (captan®  $1 \text{ g L}^{-1}$ ) cada mes. Para estimular la formación de material juvenil se realizaron tres podas cada dos meses a una altura de 6 cm sobre el cuello de raíz. Después los brotes sin lignificar que tuvieron una longitud mayor a 25 cm y diámetro de 1 cm, fueron recolectados y se eliminaron los folíolos. Finalmente, los brotes se seccionaron en explantes de aproximadamente 5 cm de largo y llevados al laboratorio. Los explantes fueron lavados con jabón en agua corriente por 10 min y se enjuagaron tres veces con agua destilada, seguidamente, se dejaron 60 minutos en Captan® ( $3 \text{ g L}^{-1}$ ), se enjuagaron tres veces con agua destilada, se trataron con etanol al 70% durante un minuto y enjuagaron tres veces con agua destilada. Posteriormente, se dejaron en inmersión en cloro al 30% durante 18 minutos. Finalmente, en la campana de flujo laminar se les aplicaron tres enjuagues con agua estéril.

Se probaron dos medios de cultivo, utilizando como base el medio Murashige y Skoog (MS) (1962) con  $4.43 \text{ g L}^{-1}$ . Al medio uno (ME-1) se les adicionaron  $9 \text{ g L}^{-1}$  de agar,  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarosa,  $2 \text{ g L}^{-1}$  de carbón activado,  $1 \text{ g L}^{-1}$  de Polivinilpirrolidona (PVP) como antioxidante y  $1 \text{ ml L}^{-1}$  de Plant Preservative Mixture (PPM) como agente biocida. Para el medio dos (ME-2), además de los anteriores, se le adicionaron  $1 \text{ ml L}^{-1}$  de benciladenina (BA) y  $0.01 \text{ ml L}^{-1}$  de ácido indolacético (AIA). El pH de los medios se ajustó a 5.7 y mediante un despachador se vaciaron 10 ml de medio a los tubos de ensayo y después fueron esterilizados. La siembra de explantes se realizó en condiciones asépticas en campana de flujo laminar. Las explantes se disectaron en cajas petri con bisturí estéril para obtener secciones nodales de 1 cm con una yema. Se sembró un explante en cada tubo de ensayo, después fueron sellados con parafilm y etiquetaron.

Posteriormente fueron colocados en la cámara de incubación a  $24 \pm 2$  °C con fotoperiodo de 16 horas luz, usando lámparas de alógeno con una intensidad lumínica de  $28.05 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y 8 h de oscuridad. La siembra se realizó el 25 de mayo 2015, y durante un mes se realizaron conteos y determinó el porcentaje de contaminación, así como, explantes vivos y muertos.

### Fase de multiplicación

Se utilizaron los brotes viables desarrollados en la fase de establecimiento. Se seleccionaron cinco familias (1, 5, 6, 39 y 59) para evaluar su respuesta a la multiplicación en cinco medios de cultivo. Se evaluaron cinco medios de cultivo, el primero: medio Murashigue y Skoog (MS) (1962) (MM-1); el segundo, medio MS adicionado con  $0.5 \text{ ml L}^{-1}$  de BA y  $0.05 \text{ ml L}^{-1}$  de ácido naftalenacético (ANA) (MM-2); el tercer medio, MS adicionado con  $1 \text{ ml L}^{-1}$  de BA y  $0.1 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA (MM-3), el cuarto medio; MS adicionado con  $2 \text{ ml L}^{-1}$  de BA y  $0.2 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA (MM-4) y el quinto medio MS adicionado con  $4 \text{ ml L}^{-1}$  de BA y  $0.4 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA (MM-5). A los cinco medios anteriores se les adicionaron  $9 \text{ g L}^{-1}$  de agar,  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarosa y  $2 \text{ g L}^{-1}$  de carbón activado. El pH de los medios se ajustó a 5.7 y mediante un despachador se depositaron 10 ml de medio a los tubos de ensayo, los cuales después fueron esterilizados. La siembra de explantes se realizó en condiciones asépticas en la campana de flujo laminar, disectandolos en cajas petri con bisturí estériles para obtener ápices de 1 cm y sembrar uno por cada tubo de ensayo, después fueron sellados con parafilm y etiquetaron. Posteriormente fueron colocados en la cámara de incubación a  $24 \pm 2$  °C con un fotoperiodo de 16 horas luz, usando lámparas de alógeno con una intensidad lumínica de  $28.05 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . La siembra se realizó entre el 29 de junio 2015, y durante dos meses se realizó conteo diario y determinó el porcentaje de contaminación, cantidad de ápices vivos, desarrollados y enraizados.

### Fase de enraizamiento

En ésta fase se utilizaron los brotes, correspondientes a las mismas familias evaluadas que sobrevivieron y desarrollaron en la fase de establecimiento para evaluar su respuesta al enraizamiento en cinco medios de cultivo. el primero: medio Murashigue y Skoog (MS) (MR-1) (1962); el segundo medio: MS adicionado con  $0.05 \text{ ml L}^{-1}$  de ácido indolbutírico (AIB) y  $0.05 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA (MR-2); el tercer medio: MS adicionado con  $0.1 \text{ ml L}^{-1}$  de AIB y  $0.1 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA (MR-3); el cuarto medio MS adicionado con  $0.15 \text{ ml L}^{-1}$  de AIB y  $0.15 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA

(MR-4) y el quinto: MS adicionado con  $0.2 \text{ ml L}^{-1}$  de AIB y  $0.2 \text{ ml L}^{-1}$  de ANA (MR-5). A los cinco medios anteriores se les adicionaron  $9 \text{ g L}^{-1}$  de agar,  $30 \text{ g L}^{-1}$  de sacarosa y  $2 \text{ g L}^{-1}$  de carbón activado. El pH de los medios se ajustó a 5.7 y mediante un dispensador ajustable se depositaron 10 ml de medio a los tubos de ensayo, los cuales después fueron esterilizados para sembrar los explantes en condiciones asépticas en campana de flujo laminar, disectando en cajas petri con bisturí estéril para obtener ápices de 1 cm y sembrar un ápice en cada tubo de ensayo. Las condiciones de incubación fueron iguales a las registradas en la fase de multiplicación. La siembra se realizó el 2 de julio 2015, y durante dos meses se realizó conteo y determinó el porcentaje de contaminación, cantidad de ápices vivos, desarrollados y enraizados.

### Diseño experimental

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

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la fase de establecimiento el efecto del medio de cultivo resultó significativo ( $p \leq 0.05$ ), en la sobrevivencia de los explantes. Para la fase de multiplicación el efecto del medio resultó significativo ( $p \leq 0.05$ ) en la sobrevivencia, enraizamiento y longitud del brote. Mientras que el genotipo fue significativo para la generación de raíz. En la fase de enraizamiento el efecto del medio resultó significativo ( $p \leq 0.05$ ) en la sobrevivencia y enraizamiento, mientras que el genotipo fue significativo en la sobrevivencia (Cuadro 1). Las interacciones entre los medios

**Cuadro 1.** Valores de P del análisis de varianza de las variables consideradas en el establecimiento, multiplicación y enraizamiento *in vitro* de *Cedrela odorata* L.

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

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

de cultivo y genotipos no fueron significativas en las diferentes fases de la propagación *in vitro*.

### Fase de establecimiento

Con el ME-2 los porcentajes de supervivencia mejoraron 10% respecto al ME-1. Mientras que el establecimiento de cinco familias (genotipos) no presentó diferencias significativas para la supervivencia (Cuadro 2). En los porcentajes de contaminación no se presentaron diferencias significativas, sin embargo, la contaminación de hongos fue dos veces más alta que la de bacterias y nueve veces más que la necrosis (Cuadro 2).

En el establecimiento de yemas de *C. odorata* se obtuvo 50 % de sobrevivencia, atribuido a la adición del antioxidante (PVP) al medio de cultivo que evitó el deterioro y muerte del tejido. Concepción *et al.* (2005) mencionan que la adición de antioxidantes como el PVP limita la exudación de compuestos fenólicos al medio de cultivo y que las yemas de

**Cuadro 2.** Valores medio y error estándar para determinar el efecto del medio de cultivo y el genotipo en la fase de establecimiento *in vitro* de *Cedrela odorata* L.

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

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ). M: medio, F: familia, CV: coeficiente de variación.



brotos juveniles poseen el menor contenido de fenoles. Azofeifa (2009) menciona que el establecimiento *in vitro* especialmente en especies leñosas está limitado por la ocurrencia de oxidación de explantes en medio de cultivo. También menciona que las principales estrategias para evitar o disminuir los problemas oxidativos son el uso de explantes juveniles, subcultivos frecuentes, uso de adsorbentes como carbón activado y antioxidantes, entre otros.

La contaminación por hongos y bacterias se presentó a pesar de los tratamientos preventivos de desinfección y adición al medio de PPM. En el caso de *Saccharum officinarum* L., Digonzelli *et al.* (2005) menciona que PPM en concentración de 0.25 ml L<sup>-1</sup> controla la contaminación por bacterias. De acuerdo con Valverde *et al.* (2008) es frecuente observar la contaminación de bacterias en el cultivo *in vitro* de *C. odorata*, lo que hace suponer presencia intracelular. En el caso de *Cedrela salvadorensis* Standl, el mejor método para la desinfección fue con cloro al 3% por 10 minutos con sólo 10% de contaminación; aunque en éste caso se utilizaron materiales más juveniles de sólo ocho meses de edad (Soto *et al.*, 2010). En esta investigación, probablemente la habilidad del operador al momento de la siembra pudo generar la contaminación en los medios, además, se debe considerar incrementar la concentración de PPM.

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

### Fase de multiplicación

El MM-3 fue significativamente superior en la supervivencia (100%) de los explantes y buen porcentaje de explantes con brotes, pero no favoreció el desarrollo de raíz; mientras que el MM-4 presentó los valores más bajos en sobrevivencia, generación de brotes y raíz (Cuadro 3). Respecto a la elongación de brotes, el MM-5 fue significativamente superior en más de 0.7 cm. En ésta fase el genotipo fue determinante en la generación de raíz, siendo significativamente superior la familia 59 con más de 10%, mientras que para sobrevivencia, generación y longitud de brotes no hubo diferencias significativas (Cuadro 3).

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

Además, Flores *et al.* (2011) mencionan que el carbón activado fomenta una mayor aireación genera un medio oscuro que propicia el desarrollo de las raíces y absorbe sustancias inhibitoras indeseables como etileno o pigmentos tóxicos.

### Fase de enraizamiento

En ésta fase, el medio de cultivo presentó diferencias significativas en el porcentaje de sobrevivencia y generación de

**Cuadro 3.** Valores estadísticos del efecto de medio de cultivo y genotipo en la fase de multiplicación *in vitro* de *Cedrela odorata* L.

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

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p>0.05). M: medio, F: familia, CV: coeficiente de variación.

raíz. El MR-3 presentó el mayor valor y fue significativamente superior en la generación de raíces en 12% (Cuadro 4). Referente a sobrevivencia, el genotipo presentó diferencias significativas, siendo la familia 59 superior con un 8%. Mientras que no se encontraron diferencias significativas en cuanto a generación de brotes y raíz. En el caso de longitud de brotes, el medio de cultivo y genotipo no registraron diferencias significativas (Cuadro 4).

El 77.6% de los explantes generaron raíces, y respecto a ello, Millán *et al.* (2011) mencionan que *C. odorata* presenta buena capacidad de enraizamiento aún sin auxinas, pero la aplicación exógena de éstas, aumentan el porcentaje de enraizamiento, siendo significativamente superior con la aplicación de AIB en el medio de cultivo (Figura 1).

En un híbrido de almendro con durazno H1, Parada y Villegas (2009)

mencionan que aumentar la concentración de AIB aumenta el número de raíces. Joshi *et al.* (2003) en un medio MS suplementado con 1 mg L<sup>-1</sup> de AIB obtuvieron 75% de enraizamiento en eucalipto (*Eucalyptus* spp.). En brotes de caoba (*Swietenia macrophylla*) en un medio de cultivo MS al 50% con diferentes concentraciones de ANA, no se favoreció el enraizamiento (Carranza *et al.*, 2003).

## CONCLUSIONES

En la fase de establecimiento el uso de materiales juveniles en el medio MS adicionado con antioxidantes, desinfectante y auxinas favoreció la sobrevivencia de explantes. Para la fase de multiplicación el medio MS adicionado con 1 ml L<sup>-1</sup> de BA y 0.1 ml L<sup>-1</sup> de ANA fue significativamente superior en la sobrevivencia, mientras que la elongación de los brotes el uso del medio MS adicionado con 4 ml L<sup>-1</sup> de BA y 0.4 ml

L<sup>-1</sup> de ANA fue significativamente superior. En la fase de enraizamiento el medio MS adicionado con 0.1 ml L<sup>-1</sup> de AIB y 0.1 ml L<sup>-1</sup> de ANA presentó la mayor sobrevivencia y fue significativamente superior en generar raíces en 12%, por lo que se puede concluir que el efecto del medio de cultivo y el genotipo es determinante para la propagación *in vitro* de *C. odorata*.

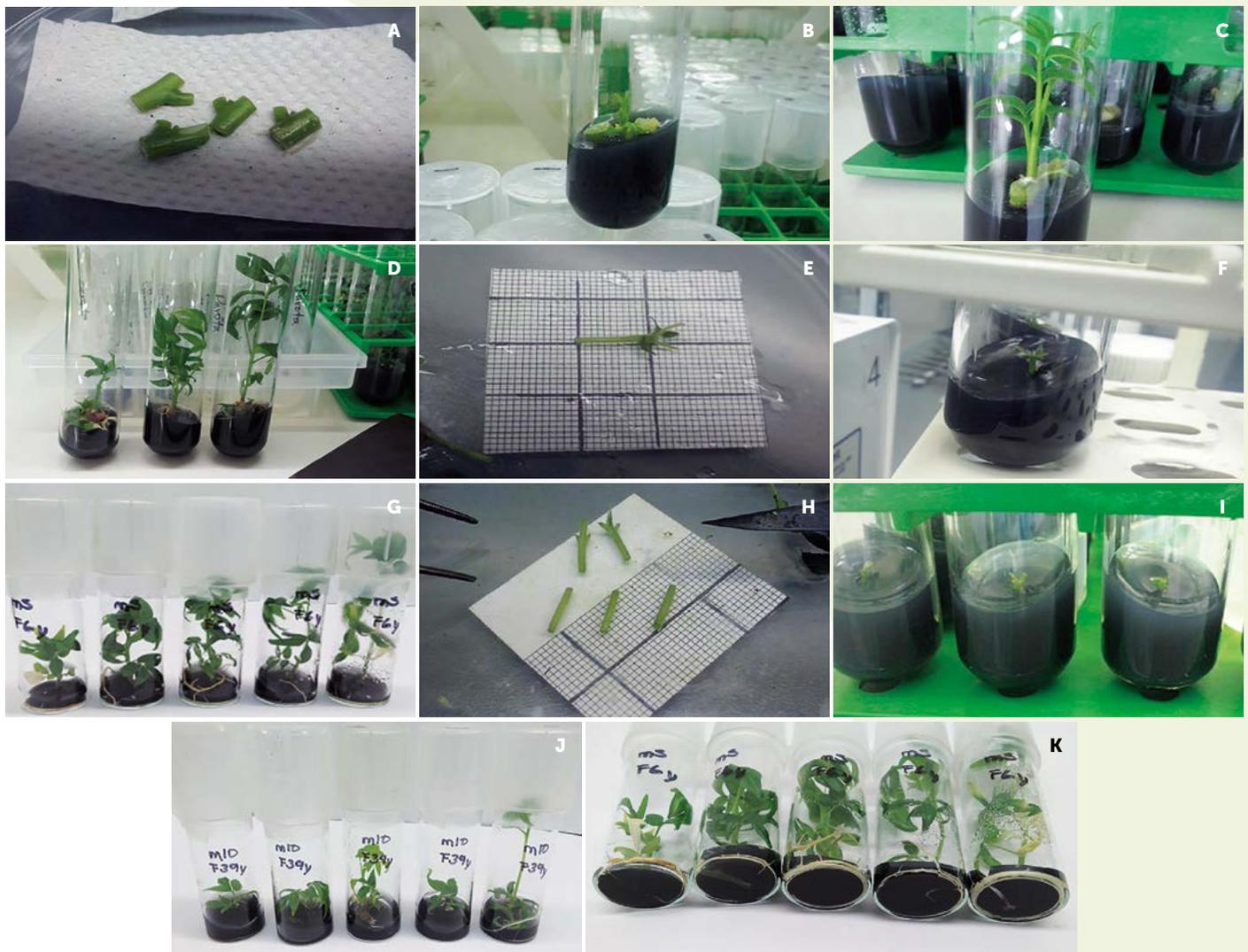
## LITERATURA CITADA

- Azofeifa A. 2009. Problemas de oxidación y oscurecimiento de explantes cultivados *in vitro*. *Agronomía Mesoamericana* 20(1): 153-175.
- Basto S., Serrano C., Hodson de J.E. 2012. Effects of donor plant age and explants on *in vitro* culture of *Cedrela montana* Moritz ex Turcz. *Universitas Scientiarum* 17(3): 263-271.
- Borges G.M., Destrade B.R., Meneses R.S., Gómez K.R., Malaurie B., Hamon P., Demenorval L.C. 2011. Optimización de un medio de cultivo para plantas micropropagadas de *Dioscorea alata* L. *Revista Colombiana de Biotecnología* 13(2): 221-228.
- Carranza P.M., Reyes M.H., Mora S.W., Cevallos F.O., Escobar T.A., Cadme A.M., Nieto R.J., Morante C.J. 2013. Propagación clonal *in vitro* de *Swietenia macrophylla* King (caoba). *Ciencia y Tecnología* 6(2): 1-8.
- CONAFOR. 2015. Principales especies maderables establecidas en plantaciones forestales comerciales 2000-2014. Consultado en CONAFOR. Mayo de 2015.
- Concepción O., Nápoles L., Pérez A.T., Peralta N., Hernández M., Trujillo R. 2005. Efecto de tres antioxidantes en el cultivo *in vitro* de ápices de guayaba (*Psidium guajava* L.) relación entre origen del explante y el contenido de compuestos fenólicos. *Cultivos Tropicales* 26(1): 33-39.
- Digonzeili P., Díaz L., Carrizo B.S. 2005. Uso de PPM (Plant Preservative Mixture) para controlar contaminantes bacterianos en la multiplicación *in vitro* de caña de azúcar. *Revista Facultad de Agronomía* 22: 22-32.
- Ewald D., Naujoks G., Piegert H. 2000. Performance and Wood Quality of *in Vitro* Propagated Hybrid Curly

**Cuadro 4.** Valores estadísticos del efecto de medio de cultivo y genotipo en la fase de enraizamiento *in vitro* de *Cedrela odorata* L.

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

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ ). M: medio, F: familia, CV: coeficiente de variación.



**Figura 1.** Fase de establecimiento: A: corte de yemas. B: establecimiento de yemas. C-D: crecimiento y desarrollo de brotes. Fase de multiplicación: E: corte de ápices. F: establecimiento de ápices. G: crecimiento y desarrollo de brotes con raíz. Fase de enraizamiento: H: corte de ápices. I: establecimiento de ápices: J: crecimiento de ápices y K: brotes con raíces desarrolladas.

Birch (*Betula pendula* × *Betula pendula* var. *carelica* SOK.) Clones. *Silvae Genetica* 49(2): 98-101.

Flores E.G., Gil V.I., Colinas L.M.T., Mata R.M. 2011. Propagación *in vitro* de la orquídea *Brassia verrucosa* Bateman Ex.Lindl. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17(1): 5-8.

González M., Mogollón N., Alvarado G., Jiménez A. Capote T. 2012. Efecto del medio del cultivo *in vitro* y la fuente nitrogenada sobre el crecimiento del cocuy (*Agave cocui* Trelease). *Bioagro* 24(1): 39-44.

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

Hannrup B., Jansson G., Danell O. 2008. Genotype by environment interaction in *Pinus sylvestris* L. in southern Sweden. *Silvae Genetica* 57(6): 306-311.

Itoh A., Yamakura T., Kanzaki M., Ohkubo T., Palmiotto P.A., LaFrankie J.V., Kendawang J.J., Lee H.S. 2002. Rooting ability of cuttings relates to phylogeny, habitat preference and growth characteristics of tropical rainforest trees. *Forest Ecology and Management* 168: 275-287.

Joshi I., Bisht P., Sharma V.K., Uniyal D.P. 2003. *In vitro* clonal propagation of mature Eucalyptus F1 hybrid (*Eucalyptus tereticornis* Sm. × *E. grandis* Hill ex. Maiden). *Silvae Genetica* 52(3-4): 110-113.

Millán O.L., Corredoira E., San José M.C. 2011. *In vitro* rhizogenesis: histoanatomy of *Cedrela odorata* (Meliaceae) microcuttings. *Revista Biología Tropical* 59(1): 447-453.

Muellner A.N., Pennington T.D., Chase M.W. 2009. Molecular phylogenetics of Neotropical Cedreleae (mahogany family, Meliaceae) based on nuclear and plastid DNA sequences reveal multiple origins of "*Cedrela odorata*". *Molecular Phylogenetics and Evolution* 52: 461-469.

Mukherjee P., Husain N., Misra S.C., Rao V.S. 2010. *In vitro* propagation of a grape rootstock, de Grasset (*Vitis champinii* Planch.): Effects of medium compositions and plant growth regulators. *Scientia Horticulturae* 126: 13-19.

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

- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology* 15: 473-497.
- Parada P.D.M., Villegas M. A. 2009. Propagación *in vitro* del híbrido almendro×manzano H1. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32(2): 103-109.
- Peña R.Y.J., Juárez G.J., Gómez L.L., Jerónimo P.J., García S.L.I., González R.J.A., Robert M.L. 2010. Multiple adventitious shoot formation in Spanish Red Cedar (*Cedrela odorata* L.) cultured *in vitro* using juvenile and mature tissues: an improved micropropagation protocol for a highly valuable tropical tree species. *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Plant*. 46: 149-160.
- Pérez F.J., Aguilar V.M.E., Roca T.R. 2012. Assays for the *in vitro* establishment of *Swietenia macrophylla* and *Cedrela odorata*. *Rev. Colombiana de Biotecnología* 14(1): 20-30.
- Quinto L.P., Martínez H.A., Pimentel B.L., Rodríguez T.D.A. 2009. Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles tropicales. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 15(1): 23-28.
- Ramírez G.C., Vera C.G., Carrillo A.F., Magaña T.O.S. 2008. El cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) como alternativa de reconversión en terrenos abandonados por la agricultura comercial en el Sur de Tamaulipas. *Agricultura Técnica en México* 34(2): 243-256.
- Rout G.R., Reddy G.M., Das P. 2001. Studies on *in vitro* clonal propagation of *Paulownia tomentosa* Studed and evaluation of genetic fidelity through RAPD marker. *Silvae Genetica* 50(5-6): 208-212.
- Ruiz G.R., Vargas H.J.J., Cetina A.V.M., Villegas M A. 2005. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28(4): 319-326.
- Sánchez M.V., Salazar G.J.G., Vargas H.J.J., López U. J., Jasso M.J. 2003. Genetic parameters and response to selection for growth traits in *Cedrela odorata* L. *Revista Fitotecnia Mexicana* 26(1): 19-27.
- SAS Institute. 2004 SAS/STAT 9.1 Guide for Personal Computers. SAS Institute Inc. Cary, N.C. 378 p.
- SEMARNAT. 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental -Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario oficial. p. 67.
- Soto V.B., Valverde C.L., Rojas V.A., Hine G A. 2010. Establecimiento *in vitro* de *Cedrela salvadorensis* Standl. *Tecnología en Marcha* 23(4): 66-73.
- Syros T., Yupsanis T., Zafiriadis H., Economou A. 2004. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. *Journal of Plant Physiology* 161: 69-77.
- Valdés A.E., Fernández B., Centeno M.L. 2003. Alterations in endogenous levels of cytokinins following grafting of *Pinus radiata* support ratio of cytokinins as an index of ageing and Vigour. *J. Plant Physiology* 160: 1407-1410.
- Valverde L., Rojas A., Hine A. 2008. *In vitro* propagation of *Albizia guachapele*, *Cedrela odorata*, *Playmiscium pinnatu* and *Guaicum sanctum*. *Plan Tissue Cult & Biotech*, 18(2): 151-156.