

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS DE PROPAGACIÓN EN Psidium sartorianum (O. Berg) Nied.

#### TESIS

## QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

#### PRESENTA:

#### MAGALI ISASSI SERRANO

CAMPUS UNIVERSITARIO EL CERRILLO. TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO, JUNIO



## EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS DE PROPAGACIÓN EN Psidium sartorianum (O. Berg) Nied.

El arrayán es apreciado por su consumo como fruta fresca ya que aporta vitaminas, minerales y antioxidantes, además posee versatilidad de usos (alimenticio, medicinal, maderable, industrial y ornamental). Es escasa la información sobre propagación de esta especie, lo cual representa una limitante para su producción. Con el objetivo de evaluar métodos de propagación se establecieron tres ensayos: por semilla (M1), estacas (M2) y cultivo in vitro (M3). Para el primer tipo se realizaron tres experimentos (E1, E2 y E3) bajo un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial. En E1 se evaluó el efecto de la fuente de semilla (FDS), la temperatura del agua TEM (50, 65 y 80 °C) y el tiempo de remojo TRE (3, 5 y 10 min); en E2 se consideró el efecto de la FDS y dosis de ácido giberélico (500, 1 000 y 1 500 mg.L<sup>-1</sup>) y en E3 se analizó el efecto de FDS y tipos de lijado (manual y mecánico). Se registraron germinación (PG), altura de la planta (AP) y número de hojas por planta (NH). Se generó un análisis de varianza con el SAS y se aplicó la prueba de la Diferencia Mínima Significativa DMS (P= 0.05). En los tres experimentos existieron diferencias significativas ( $P \le 0.05$ ) entre los factores y en sus interacciones. El máximo porcentaje de germinación (64.45 %) se obtuvo con FDS 5 + TEM 50 °C + TRE de 10 min. El ensayo 2 (M2) se realizó bajo un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial (4x4) con tres repeticiones, los factores de estudio fueron: enraizadores (Proroot, Radix 10 000 líquido, Bacillus subtilis y Raizal 400) y sustratos a base de turba, tierra de monte, agrolita, aserrín y fibra de coco. El enraizamiento de estacas fue de 0 %. Para el ensavo 3 (M3) se usó un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones; los tratamientos evaluados fueron: T1 (0 mg.L<sup>-1</sup> de  $BAP + 0 mg.L^{-1} de AIA), T2 (0.5 mg.L^{-1} de BAP + 0.5 mg.L^{-1} de AIA), T3 (0.5 mg.L^{-1} de BAP + 0.5 mg.L^{-1} de AIA)$ + 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIA), T4 (1.5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 1.5 mg.L<sup>-1</sup> de AIA) y T5 (0.5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 0 mg.L<sup>-1</sup> de AIA). Se registraron porcentaje de oxidación (OXI) y números de yemas activadas (NYA) y de hojas por yema activada (NHY). Se obtuvo un análisis de varianza con SAS y la prueba de la DMS (.5 %). En NYA hubo diferencias significativas (P=0.05); la aplicación de 0.5 mg.L<sup>-1</sup> de BAP + 1 mg.L<sup>-1</sup> de AIA permitió la activación de yemas de *P. sartorianum*.

Palabras clave: germinación; escarificación; tratamientos pregerminativos

### ASSESSMENT OF THREE SPREADING METHODS IN *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.

Myrtle (P. sartorianum) is an appreciated fresh fruit, as it provides minerals, vitamins and antioxidants, as well it has many different uses (alimentary, medicinal, timber- yielding, industrial and ornamental). It is very little the spreading information that exist of this species, which decrease its production. The aim of this work is to assess the spreading methods, therefore three experiments have been stablished: seed spreading, stake and through in vitro fertilization. Three experiments were made for the first method (E1, E2 and E3), with a randomly experimental design in factorial arrangement with different number of levels. The effect of the seed source (ESS) was assessed in E1, the water temperature TEM (50, 65 y 80 °C) and the soaking time SOT (3, 5 y 10 min), the ESS in E2 and gibberellic acid doses, (500, 1 000 y 1 500 mg.L<sup>-1</sup>), and the ESS effect in E3 and sand methods (manual and mechanical). The variables were registered: germination percentage (GP), plant height (PH) and number of leaves per plant (NL). A variance analysis was applied by the SAS program and the Difference Test of minimum significant DMS (0.5%). There were significant statistical differences among the factors and their interactions in the three experiments (p $\leq$ 0.05). The maximum germination percentage (64.45%) was obtained from the ESS 5 +TEM 50°C + SOT from 10 min. The method 2 was made through a randomly experimental design in factorial arrangement (4×4) with three repetitions, the studied factors were: Root Enhancers (Proroot, Radix 10 000 liquid, Bacillus subtilis and Raizal 400) and substratum based on peat moss, soil from hill, "agrolita", sawdust and coconut fiber. The stake root enhancer was of 0%. A randomly experimental design with five repetitions was made in method 3; the assessed treatments were: T1 (0 mg.L<sup>-1</sup> of BAP + 0 mg.L<sup>-1</sup> of AIA), T2 (0.5 mg.L<sup>-1</sup> of BAP + 0.5 mg.L<sup>-1</sup> of AIA), T3 (0.5 mg.L<sup>-1</sup> of BAP +1 mg.L<sup>-1</sup> of AIA), T4 (1.5 mg.L<sup>-1</sup> of BAP + 1.5 mg.L<sup>-1</sup> of AIA) and T5 (0.5 mg.L<sup>-1</sup> of BAP + 0 mg.L<sup>-1</sup> of AIA). The variables registered: oxidation percentage (OXI), number of activated buds (NAB) and number of leaves per activated bud (NLB). A variance analysis by the SAS program was applied and the DMS test (0.5%). The (NAB) variable showed significant statistical differences ( $P \le 0.05$ ); the application of 0.5 mg.L<sup>-1</sup> of BAP +1 mg.L<sup>-1</sup> of AIA allowed the activation of *P. sartorianum* buds.

**Keywords:** germination; scarification; germinative treatments

#### INDÍCE

	Página
DEDICATORIAS	2
AGRADECIMIENTOS	3
EVALUACIÓN DE TRES MÉTODOS DE PROPAGACIÓN EN Psidium sartorianum (O. Berg) Nied	4
ASSESSMENT OF THREE SPREADING METHODS IN <i>Psidium sartorianum</i> (O. Berg) Nied	5
INDÍCE	6
LISTA DE CUADROS	8
LISTA DE GRÁFICAS	8
LISTA DE FIGURAS	9
I. INTRODUCCIÓN	10
I. HIPÓTESIS	13
II. OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GENERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
III. REVISIÓN DE LITERATURA	14
3.1 Generalidades sobre <i>Psidium sartorianum</i>	14
3.1.1 Importancia	14
3.2 Clasificación taxonómica	15
3.3 Nombres comunes	15
3.4 Ecología	15
3.5 Distribución	16
3.6 Descripción morfológica	16
3.7 Métodos de propagación de las plantas	17
3.8 Propagación sexual	18
3.9 Germinación	18
3.10 Principales problemas durante la germinación de semillas	19
3.11 Tipos de latencia	19
3.12 Tratamientos pregerminativos	20
3.13 Reproducción asexual	21

	3.13	3.1	Importancia	21
3	.14	Proj	pagación por estacas	21
3	.15	Cult	ivo de tejidos vegetales	25
3	.16	Mic	ropropagación	25
3	.17	Hor	monas vegetales	26
3	.18	Aux	inas	27
3	.19	Cito	cininas	28
3	.20	Gibe	erelinas (GAs)	29
٧.	M	1ATEI	RIALES Y MÉTODOS	30
4	.1	Prop	pagación por semilla (M1)	30
	4.1.	1	Ubicación del experimento	30
	4.1.	2	Diseño y manejo del trabajo	31
	4.1.	3	Variables y análisis estadístico	37
4	.2	Prop	pagación por estaca (M2)	37
	4.2.	1	Ubicación del experimento	37
	4.2.	2	Recolecta de estacas	37
	4.2.	3	Selección y preparación de las estacas	37
	4.2.	4	Preparación de las estacas para el traslado	38
	4.2.	5	Preparación del sustrato	39
	4.2.	6	Características de los enraizadores	40
	4.2.	7	Establecimiento del estacado	41
	4.2.	8	Diseño experimental	42
	4.2.	9	Variables y análisis estadístico	43
	4.2.	10	Análisis estadístico:	43
4	.3	Prop	pagación por Cultivo <i>in vitro</i> (M3)	43
	4.3.	1	Ubicación del experimento	43
	4.3.	2	Manejo del trabajo	44
	4.3.	3	Colecta de explantes	44
	4.3.	4	Diseño experimental	45
	4.3.	5	Variables evaluadas	46
	4.3.	6	Análisis estadístico	46
/.	RFSI	UITA	DOS	47

	5.1.1	Resultados de la propagación por semillas (M1)	. 47		
	5.1.2	Resultados de propagación por estacas (M2)	. 72		
	5.1.3	Propagación por cultivo in vitro (M3).	. 73		
VI.	DISCU	SIÓN GENERAL	. 76		
VII.		USIÓNES GENERALES			
VIII.	REFER	ENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	. 79		
		LISTA DE CUADROS			
Cua	dro 1. Fa	ctores y niveles del experimento 1 (E1) como tratamientos pregerminativos para <i>I</i>	D.		
sart	orianum.		.31		
Cua	dro 2. Fa	ctores y niveles establecidos en el experimento 2 (E2) como tratamientos			
preg	germinati	vos para P. Sartorianum.	.33		
Cua	dro 3. Fa	ctores y niveles establecidos en el experimento 3 (E3) como tratamientos			
preg	germinati	vos para P. Sartorianum.	.35		
Cua	dro 4. Co	omposición de los sustratos utilizados	.39		
Cua	dro 5. Ca	racterísticas de los enraizadores.	.40		
Сиа	Cuadro 6. Tratamientos evaluados para el cultivo in vitro de P. sartorianum45				
Cua	dro 7. Aı	nálisis de varianza para porcentaje de oxidación (OXI), número de yemas activada	as		
(NY	(NYA) y número de hojas por yema activada (NHY)				
Cua	dro 8. Co	omparación de medias para número de yemas activadas (NYA)	.75		
		LISTA DE GRÁFICAS			
Grá	fica 1. Po	orcentaje de supervivencia de explantes de <i>P. sartorianum</i>	.73		
Grá	fica 2. Po	orcentaje de contaminación de explantes de P. sartorianum	.74		

#### LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Partes internas del tallo (incluye tejidos secundarios)	3
Figura 2. Experimento de remojo en agua caliente. A) semillas en agua caliente, B) Vista de las	
semillas después del remojo en agua caliente, C) Sustrato, D) Vista al término de la siembra32	2
Figura 3. Experimento de remojo en ácido giberélico. A) Remojo en ácido giberélico, B) Semilla	S
después del remojo y D) Siembra	1
Figura 4. Experimento de lijado. A) Semillas sin lijar, B) Bote revestido de lija, C) Lijado	
manual, D) Semillas lijadas manualmente, E) Siembra	5
Figura 5. Proceso de selección y corte de estacas A) Planta madre, B) Ramas seleccionadas, C)	
Estacas cortadas y D) Hidratación de las estacas	3
Figura 6. Preparación de las estacas. A) Con Prorrot, B) Con Radix 10 000 líquido, C) Presionado	)
de las estacas y D) Experimento establecido	2
Figura 7. Figura Selección de las planta madre de <i>P. sartorianum</i> . A) Plantas en invernadero y B)	)
Plantas seleccionadas	1

#### I. INTRODUCCIÓN

México se ubica entre los primeros lugares en biodiversidad, gracias a su ubicación geográfica, variedad de climas y suelos que han permitido una riqueza biológica significativa equivalente al 10 por ciento de la diversidad global y se sitúa en el cuarto lugar en plantas. Se han reportado 21 841 especies de plantas con flores (Magniolophytas): 11 001 son endémicas (Villaseñor y Ortiz, 2014), y en estas se encuentran los frutales.

En la República Mexicana Borys y Leszczyñska-Borys (2001) reportan 712 especies frutales; 65 son comercialmente aprovechadas (32 nativas y 33 introducidas), 25 se venden pero no figuran en la lista de estadística oficial y 633 son frutales cultivados localmente en los huertos familiares y de recolección, los cuales son fuente importante de genes para la selección de cultivares y porta injertos resistentes a condiciones y cambios climáticos adversos. Además son alimento para las familias de escasos recursos, y tienen uso ornamental, maderable, medicinal y ecológico.

Actualmente a nivel nacional las especies frutales ocupan una superficie de 1 465 108 ha, las más cultivadas son: *Citrus sinensis* L. (naranja con 334 849 ha), *Mangifera indica* L. (mango con 186 936 ha), *Persea americana* Mill. (aguacate con 175 939 ha), *Citrus limon* (L.) Osbeck (limón con 171 608 ha), *Musa paradisiaca* L. (plátano con 76 725 ha) y *Opuntia* spp. (tuna con 55 254 ha) (SIAP, 2014). En el estado de México los frutales se cultivan en 29 873 ha (3.44 % de la superficie agrícola) y aunque se reporta el aprovechamiento de 33 especies, sólo cuatro ocupan el 93.16 % de la superficie mexiquense: hay 16 986 ha de *Opuntia* spp, 7 420 ha de *Persea americana* Mill, 2 545 ha de *Prunus persica* (L.) Batsch. (durazno) y 881 ha de *Psidium guajava* L. (guayaba) (SIAP, 2014).

Lo anterior refleja un desaprovechamiento de la riqueza biológica presente dentro de la geografía estatal, ubicada en el octavo lugar a nivel nacional, que incluye un importante número de especies silvestres como: *Psidium sartorianum* (arrayán), *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl. (níspero), *Ardisia compressa* Kunth (capulincillo), *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth (nanche) y *Xylosma flexuosa* (Kunth) Hemsl (huismarín) (Martínez-De La Cruz et al., 2015).

P. sartorianum, especie nativa de México distribuida en diversos estados como Nayarit donde se cultivan 94 ha (SIAP, 2014). En el estado de México el arrayán se localiza en los municipios de Temascaltepec, San Simón de Guerrero, Tejupilco, Amatepec, Tlatlaya, Luvianos, Zacualpan, Sultepec, Ixtapan de la Sal y Zumpahuacán, principalmente. Almoloya de las Granadas, municipio de Tejupilco, es la zona de mayor producción, mejor aprovechamiento y mayor venta regional (Rebollar et al., 2013).

Los arrayanes son importantes por su alto contenido de vitamina C y proporcionan el 20 % de lo recomendado diariamente en la dieta de una persona (20 mg/día) (Delgado-Vargas et al., 2005); según un análisis bioquímico realizado a frutos frescos en la Facultad de Química de la UAEM se encontró un alto contenido de minerales como Ca (20.15 mg/g) y potasio (146.7 mg/g) en comparación con guayaba, además de ser ricos en fierro, magnesio y zinc. Martínez (2015) reporta que estos frutos contienen 85.9 % de antioxidantes (Taninos hidrolizables).

El arrayán puede ser consumirse como atole, helado, licor, mermelada, jalea, vinagre, almíbar (Martínez-De La Cruz et al., 2015) y en bebidas refrescantes (Arreguín et al., 1997); además sus extractos de metanol obtenidos de los frutos presentan actividad antifúngica contra siete especies de *Trichophyton* (Camacho-Hernández et al., 2004), y los extractos hexanicos tienen actividad antibacterial, principalmente contra enterobacterias como *Escherichia coli, Salmonella* spp y *Shigella* spp (Pío-León et al., 2013). Sus usos como ornamental, maderable, ecológico y de

servicios (leña, sombra y compostas entre otros) (Rebollar et al., 2013; Martínez de la Cruz et al., 2015) lo convierten en un frutal con potencial.

Los beneficios reportados anteriormente justifican su promoción comercial y la necesidad de generar conocimientos sobre ingeniería agronómica tomando como eje su propagación uniforme que garantice la producción de fruta de calidad. Sin embargo, es preciso señalar que es difícil de propagar y que es escasa la información generada pues la mayoría de sus plantas se producen sin intervención humana (Delgado-Vargas et al., 2005 y Rebollar et al., 2013), lo que genera segregantes de calidad variable.

Se han realizado algunos trabajos de propagación *in vitro* (González, 1992 y Flores, 2011) pero no se ha obtenido aún un método eficaz que permita su multiplicación masiva ya que las tasas de multiplicación y los porcentajes de sobrevivencia son bajos.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar tres métodos de propagación (semilla, estacas y cultivo *in vitro*) en arrayán (*Psidium sartorianum*) que permitan generar información para hacer más eficiente su propagación y la generación de plantas uniformes.

#### I. HIPÓTESIS

Los tratamientos evaluados permitirán generar un método eficaz de propagación de plantas de Psidium sartorianum.

#### II. OBJETIVOS

#### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los métodos de propagación por semilla, enraizamiento de estacas y cultivo *in vitro* en *Psidium sartorianum*.

#### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Analizar el efecto de diferentes tratamientos pregerminativos en semillas de *Psidium sartorianum*.

Determinar el efecto de cuatro sustratos y cuatro enraizadores en el enraizamiento de estacas de *Psidium sartorianum*.

Analizar el efecto de cuatro dosis de Benzilamilopurina (BAP) y ácido indolacetico (AIA) en el cultivo *in vitro* de *Psidium sartorianum*.

#### III. REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 Generalidades sobre *Psidium sartorianum*

#### 3.1.1 Importancia

El arrayán es una especie nativa de México y del trópico Americano (Pio-León et al., 2013); es importante por el consumo de sus frutos en fresco, algunas personas lo acompañan con sal, chile piquín (*Capsicum annuum* L.), limón (*Citrus limon* L.), mezclado con frijoles, sopa o huevo en salsa verde o roja (Rebollar et al., 2013) en atole, helado o paletas, además se elaboran alimentos procesados como licor, mermelada, jalea, vinagre, almíbar (Martínez-De La Cruz et al., 2015) y bebidas refrescantes (Arreguín et al., 1997), entre otros.

En la medicina tradicional se emplea para controlar diarrea, disentería, sarna, parásitos intestinales o como cicatrizante, entre otros (Pío-León et al., 2013). Los extractos de metanol obtenidos de frutos de arrayán presentan actividad antifúngica contra siete especies de *Trichophyton* (Camacho-Hernández et al., 2004), y los extractos hexanicos controlan enterobacterias como *Escherichia coli, Salmonella* spp y *Shigella* spp (Pío-León et al., 2013).

Los árboles de arrayán evitan la erosión del suelo, son fuente de alimento para la fauna silvestre, generan microclimas y sombra que favorece a personas y animales (Rebollar et al., 2013). El arrayán puede tener otros usos: ornamental (Lascurain et al., 2010), cerca viva (Rubí-Arriaga et al., 2014), maderable (construcciones rurales y elaboración de mangos de herramientas) (Lascurain et al., 2010; Martínez-De La Cruz et al., 2015) y en talabartería (curtir cueros) (Arreguín et al., 1997).

3.2 Clasificación taxonómica

El arrayán de acuerdo con Delgado-Vargas et al. (2005) se clasifica de la siguiente manera:

Reino: Plantae

División: Magniolophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Rosidae

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: Psidium

Especie: sartorianum.

3.3 Nombres comunes

En Cuba y en el Salvador es llamado guayabilla. En México es conocido como Guayabillo

(Chihuahua, Guerrero, Oaxaca, Chiapas y Yucatán), choqui (Sonora), arrayán (Sinaloa, Estado de

México, Veracruz, Oaxaca y Durango), pichiche (nombre maya en Yucatán), rayana (Oaxaca),

choquey (en una lengua guarigia de Chihuahua), guayabito (Tabasco), cho'ca, guayavillo y rowili

(Tarahumara) (Delgado-Vargas et al., 2005).

3.4 Ecología

Los árboles de P. sartonianum crecen en los bosques tropicales de hoja caduca y sub- caducifolia,

los tipos de suelo donde se desarrolla son variados, desde arcillosos a arenosos. En Chihuahua,

Durango, Guerrero, Jalisco, Oaxaca y Estado de México, tiene un hábitat ribereño, debido a que

crece en la ribera de los ríos en bosques de roble y pino-encino, así como con otros árboles de

15

coníferas en alturas que varían de 700 a 2 450 msnm (Delgado-Vargas et al., 2005). Pío-León et al., (2013) reportaron que el arrayán habita en climas cálidos y templados de México y Centroamérica, de 0 a 1 600 msnm.

#### 3.5 Distribución

En América, *P. sartorianum* ha sido registrado en México, Belice, Guatemala, Nicaragua, Cuba, Costa Rica, Panamá, Honduras, El Salvador, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia (Delgado-Vargas et al., 2005). En México, se localiza en Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán, Quintana Roo, Sonora, Sinaloa, Chihuahua, Durango, Nayarit, Jalisco, Colima, Querétaro, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Chiapas (Lascurain et al., 2010), Estado de México y Puebla. El SIAP (2014) reporta plantaciones comerciales en 94 ha solamente en Nayarit.

En el estado de México se distribuye principalmente en los municipios de Zumpahuacan, Tenancingo, Malinalco, Ixtapan de la sal, Temascaltepec, San Simón de Guerrero, Amatepec, Tlatlaya, Luvianos y Tejupilco (Martínez–De La Cruz et al., 2015); Almoloya de las Granadas conjuga características de clima y suelo que permiten una producción cuya calidad hacen que ésta sea considerada la capital de producción, aprovechamiento y venta regional de arrayán (Rebollar et al., 2013).

#### 3.6 Descripción morfológica

El arrayán es un árbol de 10 a 15 m de altura con un diámetro de 30-60 cm; corteza externa de color pardo-amarillenta, con manchas grisáceas, desprendiéndose en placas delgadas y corteza interna rosada (Sánchez-Vidas, 1990).

Las hojas son simples, tienen 1,5 a 6,5 cm de largo y de 0,7-2,3 cm de ancho, son lanceoladas o elípticas, con margen entero, ápice agudo y base aguda o redondeada. El haz de la hoja es verde

con tonos amarillos y brillantes, y el envés verde pálido; ambas superficies son glabras. Los pecíolos tienen de 1 a 4 mm de alto y son glabros, la renovación de las hojas de esta especie es en abril y mayo (Pennington y Sarukhán, 1968), aunque en el sureste del Estado de México se extiende hasta finales de junio (Rebollar et al., 2013).

Las flores generalmente son solitarias algunas veces en dicasios con la flor central sésil, las laterales sobre pedicelos de 7-8 mm de largo, axilares; cáliz caliptrado, circuncísil casi al nivel del ápice del ovario, dividido en cuatro lóbulos o segmentos irregulares; pétalos de 1 a 4 ovados o suborbiculados cóncavos de 3-4 mm de largo; estambres de 80-100, de 5 a 6 mm de largo; anteras linear—oblongas de 0.4 a 0.5 mm de largo; ovario de 3 lóculos; óvulos casi 20 en cada lóculo, estilo de 4-6 mm de largo con pelos largos principalmente en la base; estigma capitado (Sánchez-Vidas, 1990).

Los frutos son bayas globosas, de 2 a 2,5 cm de diámetro, amarillos y glabros, con el cáliz frecuentemente persistente y el mesocarpio pulposo amarillento con sabor a guayaba; contiene alrededor de 5 semillas angulosas, de 5 a 7 mm de largo, muy duras, amarillentas, la maduración de los frutos es de septiembre a febrero (Pennington y Sarukhán, 1968). Para el Estado de México se extiende hasta marzo y parte de abril.

#### 3.7 Métodos de propagación de las plantas

La propagación de las plantas es sexual y asexual: el primero consiste en la reproducción por semilla, lo cual genera variabilidad genética en las progenies y la asexual consiste en la multiplicación de individuos a partir de porciones vegetativas (célula, hoja, tallo o raíz) lo cual da origen a un *clon* (material genéticamente uniforme derivado de un individuo, propagado exclusivamente por medios vegetativos) (Hartmann y Kester, 1992).

#### 3.8 Propagación sexual

La reproducción sexual es un proceso biológico importante para la evolución y sobrevivencia de las plantas vasculares, empieza con la polinización, la fecundación de las flores, la formación de frutos, la dispersión de semillas y su germinación hasta el establecimiento de plántulas (García et al., 2011).

Sin embargo, la semilla representa la etapa inicial del ciclo de vida de las angiospermas, botánicamente esta estructura puede ser definida como un óvulo fecundado que ha madurado hasta adquirir la capacidad fisiológica para originar un nuevo individuo (Hartmann y Kester, 1992; Márquez et al., 2013)

Las semillas poseen características estructurales, anatómicas y metabólicas que le permiten proteger el material genético contenido en el embrión de condiciones ambientales adversas, asegurando la multiplicación, renovación y persistencia de los individuos de un ecosistema a través del tiempo (Márquez et al., 2013).

#### 3.9 Germinación

El proceso de germinación se inicia con la reanudación de la actividad metabólica y el crecimiento del embrión que resulta en la ruptura de las cubiertas de la semilla y en la emergencia de una nueva plántula (Miransaria y Smith, 2014).

Para que este proceso se realice es necesario que la semilla sea viable (embrión vivo, capaz de crecer) y presente condiciones internas favorables, es decir, se deben eliminar las barreras físicas o químicas que pudiera presentar esta estructura, además es necesario proporcionar condiciones ambientales favorables, siendo factores esenciales el agua, la temperatura, el oxígeno y la luz (Hartmann y Kester, 1992).

#### 3.10 Principales problemas durante la germinación de semillas

La forma de propagación de muchas especies vegetales es por semilla; pero existen principalmente dos razones por las cuales una semilla permanece sin germinar, la quiescencia que es causada por factores externos no favorables como humedad, oxigenación, luz y temperatura (Márquez et al., 2013) o la latencia que es inherente a factores intrínsecos de la semilla e independientes de las condiciones del medio (Moreno et al., 2013) que tiene como finalidad la preservación de las especies, ya que es un mecanismo de protección contra condiciones ambientales adversas.

La latencia se clasifica en exógena (la inhibición está en la cubierta) y endógena (la inhibición está en el embrión), la primera se subdivide en física, química y mecánica, y la segunda en morfológica, fisiológica (leve, intermedia o profunda) y morfofisiológica (Camacho, 1994)

#### 3.11 Tipos de latencia

Física: se debe a que las cubiertas de las semillas son impermeables al agua y puede estar relacionado con la presencia de capas de células esclerenquimatosas lignificadas, comprimidas e impregnadas con sustancias hidrofóbicas como calosa, cera, cutina, fenoles, quinonas, pectina, suberina, o lignina, en las células de cualquiera de las cubiertas de las semillas (testa, tegmen, funículo, pericarpio) (Márquez et al., 2013).

Química: originada por la presencia de inhibidores en la cubierta externa.

Mecánica: causada por la resistencia de las cubiertas al crecimiento del embrión (Camacho, 1994).

Morfológica: se relaciona con la presencia de embriones inmaduros o rudimentarios poco desarrollados, por lo que requieren tiempo para madurar antes de la germinación (Moreno et al., 2013).

Fisiológica: se ha atribuido a un desbalance hormonal, el más descrito se refiere a la relación entre ácido absicíco (ABA), producido por el embrión, y ácido giberélico (AG<sub>3</sub>); una alta concentración de ABA o una baja sensibilidad al AG<sub>3</sub> inhibe la germinación (Márquez et al., 2013).

Morfofisiológica: se presenta cuando el embrión no está desarrollado en su totalidad y además existen mecanismos fisiológicos fuertes que inhiben la germinación. (Moreno et al., 2013).

#### 3.12 Tratamientos pregerminativos

Desde la antigüedad se han propuesto e investigado tratamientos que eliminen el mecanismo de latencia en las semillas, entre los más usados se encuentran: a) la inmersión de semillas en agua caliente, entre 77 y 100 °C (Hartmann y Kester, 1992), b) la escarificación mecánica a través del rozamiento de cualquier material abrasivo sobre la semilla, como papel lija o arena gruesa, c) la escarificación química por medio de la inmersión de las semillas en líquidos corrosivos, como ácido sulfúrico concentrado y d) tratamientos químicos, en los que destaca la aplicación de reguladores de crecimiento como ácido giberélico (Atencio et al., 2003).

El tratamiento de inmersión en agua caliente ha sido eficiente en *Leucaena leucocephala* (Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos 2006), Acacia San Francisco (*Peltophorum pterocarpum*) (Atencio et al., 2003), *Prosopis leaevigata* (Sobrevilla-Solis et al., 2013), *Dodonaea viscosa* (Martínez et al., 2006), *Hymenaea courbaril* (López et al., 2010), entre otros.

#### 3.13 Reproducción asexual

#### 3.13.1 Importancia

La propagación vegetativa se define como la multiplicación de una planta a partir de una célula, un tejido o un órgano (raíces, tallos, ramas u hojas). Para las plantas superiores las técnicas de mayor importancia comercial son: propagación por estacas, injertos, acodos y cultivo in "vitro" (Garate, 2010).

Este tipo de propagación se utiliza para producir una planta que posea el mismo genotipo que la planta madre (planta donadora) sin embargo el éxito de la propagación vegetativa depende de la especie y del método de propagación que se emplee, de las características fisiológicas del material a multiplicar, el genotipo empleado y la metodología de manejo utilizada durante este proceso (Giraldo et al., 2009).

#### 3.14 Propagación por estacas

El enraizamiento de estacas leñosas es el método clásico de propagación clonal, en el cual la emisión de raíces suele favorecerse mediante un tratamiento con auxinas sintéticas (ácido indolbutírico o ácido naftalenacético) (Hartmann y Kester, 1992). Este método permite una rápida obtención de material para siembra de un genotipo uniforme, que se constituye en una alternativa útil para la multiplicación de especies difíciles de propagar por semilla (Giraldo et al., 2009).

Garate (2010) señaló, que la propagación vegetativa por estaca es el sistema más antiguo, pero es poco costoso, no requiere de habilidad especial de parte del operador y necesita poco espacio. Además, mencionó que casi todos los frutales nativos tropicales y subtropicales se pueden propagar por estaca. Así mismo define que una estaca es una porción separada de la planta, provista de yemas caulinares y hojas, e inducida a formar raíces y brotes a través de manipulaciones químicas, mecánicas y/o ambientales.

Un factor importante para la generación de raíces en estacas es la aplicación de reguladores de crecimiento, principalmente auxinas, las cuales estimulan la formación de raíces laterales y adventicias y en muchas especies favorecen la regeneración de raíces (Hartmann y Kester, 1992; Jankiewicz, 2003).

La aplicación de auxinas como sustancias inductoras de raíces ha sido evaluada en *Vaccinium meridionale* Swartz (Castrillón et al., 2008), *Symphoricarpus microphyllus* H. B. K. (Quintero et al., 2008), *Passiflora edulis f. flavicarpa Deg.* (Otahola y Vidal, 2010), *B. cruckshanksii y M. exsucca*, (Latsague et al., 2010), *Abies religiosa* (Castillo–Flores et al., 2013), entre otros. En el enraizamiento de estacas el sustrato o medio de enraizamiento tiene como funciones sostener, proporcionar humedad y permitir la aireación de la base de las estacas (Hartmann y Kester, 1992); la influencia del sustrato en la propagación por estacas ha sido evaluada en *Nauclea diderrichii* (Caspa et al., 2009), *Schefflera arboricola* L (Fatemeh y Zaynab 2015), *Pinus leiophylla* (Cuevas-Cruz et al., 2014) *Euphorbia antisyphilitica* (Villa-Castorena et al., 2010) y *Taxodium distichum* L (King et al., 2011).

#### 2.14.1 Bases anatómicas y fisiológicas de la propagación por estaca

Para comprender la formación de raíces adventicias es necesario conocer la estructura interna del tallo (Fig.1), ya que de esto dependerá si se trata de una planta herbácea o leñosa. Las plantas herbáceas tienen floema y xilema primarios; las leñosas presentan xilema y floema secundario y cámbium (zona generatriz integrada por células meristemáticas, que producen el floema y el xilema secundarios).

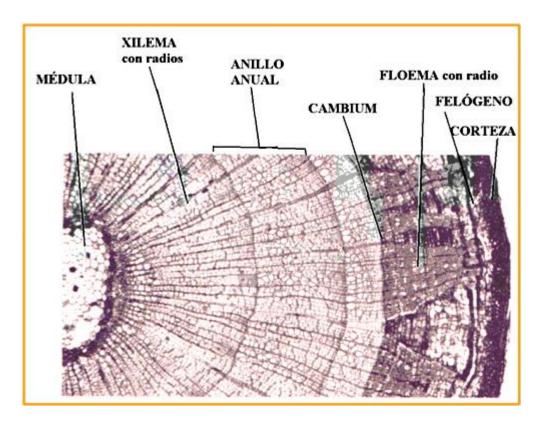


Figura 1. Partes internas del tallo (incluye tejidos secundarios).

El proceso de desarrollo de raíces adventicias en las estacas de tallo puede dividirse en tres fases:

1) Iniciación de grupos de células meristematicas (las iniciales de la raíz); 2) Diferenciación de esos grupos de células en primordios de raíz reconocibles, y 3) Desarrollo y emergencia de las nuevas raíces, incluyendo la ruptura de otros tejidos del tallo y la formación de conexiones vasculares con los tejidos conductores de la estaca.

En las estacas de tallo, el origen de la mayoría de las raíces adventicias se encuentra en grupos de células que son capaces de volverse meristematicas, sin embargo el origen de estas células depende de si se trata de una planta herbácea o leñosa.

En plantas herbáceas estas células (las iniciales de la raíz), por lo general se encuentran situadas justamente fuera y entre los haces vasculares, esos pequeños grupos de células, continúan dividiéndose, formando grupos que dan origen al primordio de la raíz en el cual se forma un

sistema vascular que se conecta con el haz vascular adyacente. La división celular continúa y pronto cada grupo de células adquiere el aspecto de una punta de raíz la cual sigue creciendo hacia afuera, a través de la corteza, saliendo de la epidermis del tallo.

En las plantas de tallo leñoso, donde hay una o más capas de xilema y floema secundarios, las raíces nuevas se originan en el floema secundario joven, aunque también pueden formarse de otros tejidos como los radios vasculares, el cambium o la médula. En general las raíces adventicias en los tallos se originan en forma endógena (se origina dentro del tejido del tallo y crecen hacia afuera).

Existen estructuras que pueden dar origen a la formación de raíces adventicias como las iniciales de raíces preformadas en las cuales las iniciales de las raíces adventicias (grupos de células meristematicas) se desarrollan en los primeros periodos de desarrollo del tallo, permaneciendo durmientes (como primordios de raíz) hasta que se hacen estacas de tallo y se coloca en condiciones ambientales favorables para su emergencia como raíces adventicias; este tipo de estructura se presenta sobretodo en especies de los géneros que son fácil de enraizar como sauce (*Salix*), álamo (*Populus*), jazmín (*Jazminum*), grosellero (*Ribes*) y acitrón (*Citrus medica*) (Hartmann y Kester, 1992).

También durante el enraizamiento de estacas puede existir la formación de otras estructuras como el callo que se origina en la parte basal de la estaca una vez que ésta se ha colocado en un lugar con las condiciones adecuadas para enraizar; el callo está formado por un grupo de células parenquimatosas en diferentes estados de lignificación, con frecuencia las primeras raíces aparecen a través del callo, lo que conduce a la suposición de que la formación de callo es esencial para el enraizado, sin embargo, la formación de callo y la formación de raíces son independientes. El hecho de que con frecuencia ocurran de manera simultánea se debe a su dependencia de condiciones internas y ambientales análogas (Hartmann y Kester, 1992).

#### 3.15 Cultivo de tejidos vegetales

Es un conjunto de técnicas para el cultivo aséptico de células, tejidos u órganos aislados de una planta madre en un medio artificial de composición definida bajo condiciones *in vitro* (George et al., 2008; Domínguez, 2011). La aplicación de esta técnica es posible por el principio de totipotencia de las células vegetales; esto es, la capacidad de expresar su potencial genético y fisiológico para regenerar una planta completa, siempre y cuando las células sean provistas de condiciones adecuadas para su desarrollo (González, 1992; Flores, 2011).

Las técnicas de cultivo de tejidos vegetales son diferentes y únicas para cada especie (George, 2008), pero existen diferentes factores que determinan su éxito como el medio de cultivo, la cantidad de hormonas adicionadas a los medios, la edad de la planta de la cual se extraen los explantes, tipo y origen topofísico del explante, entre otros.

#### 3.16 Micropropagación

La micropropagación o propagación clonal se define como la multiplicación masiva de una especie a través del cultivo de tejidos vegetales, logrando obtener descendencia uniforme, con plantas genéticamente idénticas, denominadas clones (González, 1992; Rai, 2007; George et al., 2008). Esta técnica ha permitido la propagación intensiva de diferentes especies de árboles con una alta sanidad y homogeneidad clonal en cualquier estación del año (Zamir et al., 2007; George et al., 2008; Diniz da Silva et al., 2014).

Sin embargo, es necesario lograr diseñar una técnica de cultivo de tejidos para cada especie en particular, ya que existen plantas que presentan dificultades para ser propagadas mediante cultivo *in vitro* como las especies que pertenecen a la familia Myrtaceae que presentan problemas de fenolización u oscurecimiento de los tejidos.

Se han intentado establecer técnicas de cultivo de tejidos vegetales para los géneros: *Psidium sartorianum* (González, 1992; Flores, 2011), *Eugenia squarrosa* Ekman & Urban y *Eugenia subdisticha* Urban (Montalvo et al., 2010), *Psidium guajava* L. (Zamir et al., 2007; Concepción, 2004; Tariq et al., 2008; Kumar et al., 2009, Perales et al., 2016) y *Psidium friedrichsthalianum* (Flores, 2011).

#### 3.17 Hormonas vegetales

Son sustancias orgánicas sintetizadas en una parte de la planta y translocadas a otra donde, en concentraciones bajas, influyen en procesos fisiológicos (Davies, 2010; Hernández y García-Martínez, 2016), como crecimiento, diferenciación y desarrollo, aunque otros procesos, como el movimiento en los estomas, también pueden verse afectados (Davies, 2010), existen productos químicos sintéticos que tienen la capacidad de modificar el crecimiento y las actividades fisiológicas de las plantas en similitud con las hormonas vegetales denominadas reguladores del crecimiento (George, 2008; Hernández y García-Martínez, 2016).

Se han descrito cinco grupos de hormonas: auxinas, citoquininas, giberelinas, etileno y ácido abscísico (George, 2008; Hernández y García-Martínez, 2016). En la actualidad se han descubierto otros compuestos considerados como hormonas entre los que se pueden citar a brasinoesteroides, jasmonatos, ácido salicílico, péptidos, poliaminas (Davies, 2010), las karrikinas (Chiwochaa et al., 2009) y strigolactonas (Brewer et al., 2013).

En el cultivo de tejidos vegetales las hormonas de mayor importancia para el crecimiento y la regulación de la morfogénesis son auxinas y citoquininas (George, 2008; Domínguez, 2011); en esta clase de hormonas se ha descubierto que los reguladores de crecimiento equivalentes a ellas muestran una actividad biológica igual o mayor (George, 2008).

#### 3.18 Auxinas

Son hormonas que se sintetizan en las regiones meristemáticas y partes jóvenes de las plantas como hojas, yemas apicales, puntas de las raíces, frutos tiernos e inflorescencias en desarrollo (Domínguez, 2011). El termino auxina (del griego auxein, aumentar) fue utilizado por primera vez por Frits Went, quien en 1926 descubrió una sustancia no identificada que era probablemente la causante de la curvatura de los coleóptilos de la avena hacia la luz, actualmente se sabe que la auxina de Went es el ácido indolacético (Salisbury y Ross, 2000). El Ácido indol-3-acético (IAA) es considerado la principal auxina en la mayoría de las plantas, se sintetiza a partir del triptófano principalmente en hojas jóvenes y en semillas en desarrollo (Davies, 2010) y regula la morfogénesis de las plantas en cualquier etapa de desarrollo, debido a que estimula la división, el alargamiento y la diferenciación celular (Yruela, 2015).

Las auxinas intervienen en alargamiento de las células, crecimiento del tallo, estimula la división celular y la diferenciación de los tejidos vasculares (floema y xilema), la iniciación de raíces (estacas), interfiere en la dominancia apical (el suministro de auxinas de la yema apical reprime el crecimiento de yemas laterales), retrasa la senescencia foliar, puede inhibir o promover la abscisión de hojas y fruto (George, 2008; Davies, 2010, Miransari y Smith, 2014), participan en la formación de curvaturas fototrópicas (hacia la fuente de luz) y gavitrópicas (de acuerdo al vector de gravedad en la raíz, o al contrario en el tallo), estimulan, en algunas especies de plantas, la formación de frutos partenocárpicos (sin fecundación de la flor) y la floración (como en las bromelias) (Jankiewicz, 2003).

En cultivo de tejidos vegetales las auxinas estimulan principalmente la división celular y las más empleadas son los ácidos 2,4-diclorofenoxiácetico (2,4-D), naftaleno acético (ANA), indolácetico (AIA) y indolbutírico (IBA) (Perales et al., 2016); también son importantes en la diferenciación de

raíces (Davies, 2010), pero el tipo de acción o de estimulación que ejerce esta hormona depende de la concentración y tipo de auxina así como de la presencia de otras hormonas en el medio (George, 2008).

#### 3.19 Citocininas

Estas se sintetizan de la modificación bioquímica de adenina en las puntas de raíces y semillas en desarrollo, se transportan a través del xilema de la raíz hacia las hojas (Davies, 2010), pero no se puede excluir su síntesis en otros tejidos meristematicos como cambium, yemas en desarrollo y frutos jóvenes (Jankiewiscz, 2003); su principal fuente es la raíz (Yruela, 2015), su función más importante de las es que estimulan la división celular en plantas y retrasan el envejecimiento, también participan en la biosíntesis de proteínas y ácidos nucleicos, crecimiento de yemas laterales, estimulan la expansión foliar, retrasan la senescencia foliar (al estimular la movilización de nutrientes) y la síntesis de clorofila, tambien pueden incrementar la apertura de estomas en algunas especies (Jankiewiscz, 2003; Davies, 2010), además afectan las actividades de la células meristematicas de tallos y raíces así como actividades relacionadas con la simbiosis entre microorganismos y plantas principalmente para la fijación de nitrógeno (Miransari y Smith, 2014).

En el cultivo de tejidos vegetales la principal función de las citocininas es la estimulación de la división celular en tejidos no meristemáticos, siendo una de la más empleada la bencilaminopurina (BAP) (Perales et al., 2016); ésta también es importante en la morfogénesis (Jankiewiscz, 2003; George, 2008; Davies, 2010), otras funciones dependen de su tipo y la concentración, así como la presencia de diferentes hormonas en el medio y de la etapa en la cual es aplicada (George, 2008).

#### 3.20 Giberelinas (GAs)

Las GAs fueron descubiertas en Japón en 1920 cuando se investigaba el ataque de *Gibberella fujikuroi*, que producía crecimiento excesivo en plantas de arroz; existen más de 125 miembros pero el compuesto más disponible es ácido giberélico (GA<sub>3</sub>). Las giberelinas se sintetizan a partir del acetato de acetil coenzima A, en tejidos jóvenes y semillas inmaduras (Miransari y Smith, 2014; Salisbury y Ross, 2000).

Las GAs promueven la elongación y división celular en meristemos vegetativos terminales, tejidos de hojas y frutos, estimulan el crecimiento de plantas intactas y tallos, induce la germinación de semillas, produce enzimas durante la germinación, en particular α amilasa, aumentan el cuajado y crecimiento de los frutos, induce la masculinidad en flores dioicas (Davies, 2010; Miransari y Smith, 2014).

Las gieberelinas son necesarias para la germinación de semillas debido a las vías de señalización de la hormona se activan diferentes genes y se estimula la síntesis de diversas hidrolasas principalmente la α amilasa. Estas enzimas permiten el debilitamiento de la cubierta de la semilla, facilitan la disponibilidad del endospermo y expansión de las células del embrión, y favorece la germinación (Miransari y Smith, 2014).

#### IV. MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio se evaluaron las metodologías de propagación por semilla, estacas y cultivo *in vitro*.

#### 4.1 Propagación por semilla (M1)

#### 4.1.1 Ubicación del experimento

Este trabajo se realizó en el invernadero 4 de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la UAEMex ubicado en Campus Universitario El Cerrillo, localizado en el Cerrillo Piedras Blancas, municipio de Toluca, Estado de México, a 19° 23′ 30" de latitud norte y 99° 42′ 30" de latitud oeste, a 2 650 msnm.

#### Obtención de la semilla.

Los frutos de arrayán se recolectaron en seis sitios diferentes del Estado de México, México: Tejupilco, San Simón de Guerrero, Temascaltepec y Valle de Bravo, lo que correspondió a las fuentes de semilla (FDS). La extracción de las semillas se realizó de forma manual y se secaron a temperatura ambiente. Los experimentos se establecieron en un invernadero tipo túnel con cubierta de cristal ubicado en la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México en el Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, en las coordenadas 19° 23′ 30" LN y 99° 42′ 30" LO a una altitud de 2 650 m, donde prevaleció una temperatura máxima y mínima promedio de 35 °C y 8 °C respectivamente.

#### 4.1.2 Diseño y manejo del trabajo

El trabajo consistió de tres experimentos: en E1 las semillas se remojaron en agua caliente (Figura 2); sus efectos se evaluaron en un para diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial (6x3x3) con dos repeticiones de 15 semillas cada una, los tres factores de estudio fueron fuente de semilla, temperatura del agua y tiempo de remojo de las semillas (Cuadro 1) y la combinación de los niveles generó 54 tratamientos. Para la siembra, las semillas se colocaron en el sustrato comercial peat foam® proporcionado por la empresa Tenofen (Figura 2).

Cuadro 1. Factores y niveles del experimento 1 (E1) como tratamientos pregerminativos para *P. sartorianum*.

Factores	Fuente de semilla	Temperatura del agua (°C)	Duración del tiempo de remojo (min)
Niveles	FDS 1	50	3
	FDS 2	65	5
	FDS 3	80	10
	FDS 4		
	FDS 5		
	FDS 6		

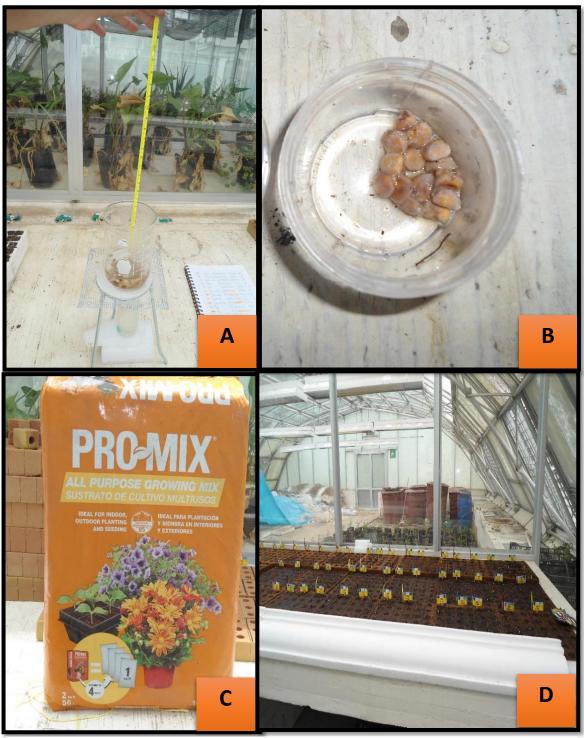


Figura 2. Experimento de remojo en agua caliente. A) semillas en agua caliente, B) Vista de las semillas después del remojo en agua caliente, C) Sustrato, D) Vista al término de la siembra.

En E2 las semillas se remojaron durante 24 horas en ácido giberélico (Figura 3). La evaluación de los tratamientos se hizo en un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial (6x3) con dos repeticiones de 15 semillas cada una; los factores de estudio fueron fuente de semilla y dosis de ácido giberélico (Cuadro 2), cuya combinación generó 18 tratamientos. Las dosis de ácido giberélico de 500, 1 000 y 1 500 mg.L<sup>-1</sup> se prepararon a partir de Gibberellic acid (Sigma-Aldrich®). Finalmente las semillas se colocaron en charolas de polietileno de 200 cavidades empleando el sustrato comercial promix ® (Figura 3).

Cuadro 2. Factores y niveles establecidos en el experimento 2 (E2) como tratamientos pregerminativos para *P. Sartorianum*.

Factores	Fuente de semilla	Dosis de ácido giberélico (mg.L <sup>-1</sup> )
Niveles	FDS 1	500
	FDS 2	1 000
	FDS 3	1 500
	FDS 4	
	FDS 5	
	FDS 6	



Figura 3. Experimento de remojo en ácido giberélico. A) Remojo en ácido giberélico, B) Semillas después del remojo y D) Siembra.

En el tercer experimento (E3) hubo tres tipos de lijado (Figura 4) y su evaluación se hizo en un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial (6x3) con dos repeticiones de 15 semillas cada una. La combinación de la fuente de semilla y tipos de lijado (Cuadro 3) produjo 18 tratamientos. El lijado manual (LM) consistió en colocar 8 semillas sobre una lija para madera número 60, éstas se taparon con un trozo de la misma y fueron frotadas durante 5 min. El lijado mecánico (LME) consistió en meter 30 semillas en un cilindro revestido de lija para madera número 60 el cual se agitó manualmente durante 15 min y las semillas se sembraron en charolas de polietileno de 200 cavidades, con el sustrato comercial promix ® (Figura 4).

Cuadro 3. Factores y niveles establecidos en el experimento 3 (E3) como tratamientos pregerminativos para *P. Sartorianum*.

Factores	Fuente de semilla	Lijado
	TT 0 4	
Niveles	FDS 1	Sin lijar (SL)
	FDS 2	manual (LM)
	FDS 3	mecánico (LME)
	FDS 4	
	FDS 5	
	FDS 6	



Figura 4. Experimento de lijado. A) Semillas sin lijar, B) Bote revestido de lija, C) Lijado manual, D) Semillas lijadas manualmente, E) Siembra.

#### 4.1.3 Variables y análisis estadístico

Las variables que se evaluaron en los tres experimentos (E1, E2 y E3) fueron germinación (PG, %), altura de planta (AP) y número de hojas (NH). Las evaluaciones se realizaron a los 30, 60 y 90 días de la germinación (con el 50 % más uno de las semillas germinadas), cuando emergían los cotiledones y el hipocotílo del sustrato. LT se midió desde el cuello hasta el meristemo apical con un vernier digital STAINLESS HARDENED modelo TPM-QL-V4. Los porcentajes de germinación se transformaron a arcosen√x para su posterior análisis.

Los datos se sometieron a un análisis de varianza y a una comparación de medias con la prueba de la Diferencia Mínima Significativa a un nivel de significancia de .5%. Ambas técnicas fueron analizadas con el SAS para Windows versión 6.01

#### 4.2 Propagación por estaca (M2)

#### 4.2.1 Ubicación del experimento

El experimento se llevó a cabo en el invernadero número 4 de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), descrita previamente.

#### 4.2.2 Recolecta de estacas

Éstas se recolectaron el 7 de agosto de 2015, en Almoloya de las Granadas, Municipio de Tejupilco, Estado de México, zona ampliamente reconocida por la producción de calidad de arrayán.

#### 4.2.3 Selección y preparación de las estacas

Para la obtención de éstas se eligieron ramas de 0.5 a 1.0 cm de grosor, vigorosas y aparentemente libres de problemas fitosanitarios; se cortaron estacas con una longitud de 15 cm y en las que se realizó un corte recto en las partes basal y superior (Figura 5).



Figura 5. Proceso de selección y corte de estacas A) Planta madre, B) Ramas seleccionadas, C) Estacas cortadas y D) Hidratación de las estacas.

#### 4.2.4 Preparación de las estacas para el traslado

Una vez seleccionadas y cortadas, las estacas fueron colocadas en una cubeta con agua y después se introdujeron en una hielera que contenía un trapo en la base con agua (a 5 cm de la base de las estacas) para mantenerlas hidratadas durante el transporte al invernadero donde se estableció el experimento.

# 4.2.5 Preparación del sustrato

Se prepararon 20 kg de cada una de las mezclas de sustrato que se presentan en el Cuadro 4 en bolsas de polietileno negro para trasladarlas al Instituto Nacional de Investigaciones Nucleares (ININ) donde fue esterilizado con radiación gamma. Éste sustrato se empleó para llenar bolsas de polietileno de 17 cm x 17 cm. Después se aplicó riego de auxilio para mantener el sustrato a capacidad de campo (Figura 6).

Cuadro 4. Composición de los sustratos utilizados.

# SUSTRATO COMPOSICIÓN DEL SUSTRATO

S1	Turba + Agrolita (3:1)
S2	Tierra de monte + Cosmopeat + agrolita (3:2:1)
<b>S</b> 3	Fibra de coco + Cosmopeat + agrolita (3:2:1)
S4	Aserrín + turba + agrolita (3:2:1)

# 4.2.6 Características de los enraizadores

Se utilizaron Proroot (fagro®), Radix 10 000 líquido (Intercontinental Import Export SA de CV), *Bacillus subtilis* (Laboratorio de Bioquímica Ecológica del CINVESTAV IPN, Unidad Irapuato) y Raizal 400. En el cuadro 5 se indican sus características y la forma de aplicación.

Cuadro 5. Características de los enraizadores.

ENRAIZADOR	COMPOSICIÓN	APLICACIÓN
Proroot	Nitrógeno total (N) 11.00 %	Espolvoreado (se sumergía la
	• Fósforo aprovechable (PO <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) 55.00 %	base de la estaca en un recipiente
	<ul> <li>Ácido Naftalenacético (ANA) 2800</li> </ul>	para que se impregnara del
	ppm	enraizador).
	Ácido Indolbutírico (AIB) 200 ppm	
	<ul> <li>Ácidos Fúlvicos 2.00 %</li> </ul>	
	Acondicionadores y materiales inertes	
	31.70 %	
Raizal 400	<ul> <li>Nitrógeno total 9.00 %</li> </ul>	
	• Fósforo disponible (PO <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) 45.00 %	Se aplicó con la técnica de
	• Potasio (K <sub>2</sub> O) 11.00 %	espolvoreado (se sumergía la
	• Magnesio (Mg) 0.60 %	base de la estaca en un recipiente
	• Azufre (S) 0.80 %	para que se impregnara del
	• Complejo auxinico 400 ppm	enraizador).

Ingredientes inertes hasta complementar

**Radix 10 000** 

Líquido

Ácido indol-3-butírico

Se sumergieron las estacas

• (4-C1 H-indol-3-y1) butyric acid)-1.0 %

durante cinco min en la Radix

• Ingredientes inertes 99.0 %

10 000

Bacillus subtilis

suspensión con  $1 \times 10^7$  ufc/ml de *B*.

subtilis BEB-lSbs (BS-13) (absorbancia 0,1 a 535 nm)

Se sumergieron las estacas durante cinco min en *Bacillus* subtilis (10 mL L<sup>-1</sup>)

#### 4.2.7 Establecimiento del estacado

La cavidad sobre el sustrato para colocar las estacas se hizo con una herramienta de madera para evitar daños a las estacas y perdida de enraizador. Los enraizadores que se aplicaron como talco (Proroot y Raizal 400) se colocaron en latas de aluminio. El Radix 10 000 se colocó en una cubeta

de plástico cuidando aplicar la cantidad necesaria para cubrir 3 cm de la base de las estacas, mientras que para *Bacillus subtilis* se preparó un litro de solución (10 mL *Bacillus subtilis* en un litro de agua) en una cubeta plástica. La aplicación de cada enraizador se llevó a cabo conforme lo indicado en el Cuadro 5. Después se colocó cada estaca en la bolsa que le correspondía y se presionaron suavemente con la yema de los dedos para proporcionar mayor firmeza. Las bolsas se colocaron en una cama del invernadero bajo malla sombra (Figura 7).



Figura 6. Preparación de las estacas. A) Con Prorrot, B) Con Radix 10 000 líquido, C) Presionado de las estacas y D) Experimento establecido.

### 4.2.8 Diseño experimental

Se usó un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial (4x4) con tres repeticiones (6 estacas por repetición); los factores de estudio fueron Proroot (fagro®), Radix 10 000 líquido (Intercontinental Import Export SA de CV), *Bacillus subtilis* (Laboratorio de

Bioquímica Ecológica del CINVESTAV IPN, Unidad Irapuato) y Raizal 400 (Cuadro 5) y cuatro sustratos elaborados con turba, tierra de monte, agrolita, aserrín y fibra de coco (Cuadro 4).

## 4.2.9 Variables y análisis estadístico

Las variables que se pretendían registrar eran porcentaje de estacas vivas (PEV) y porcentaje de estacas enraizadas (PEE) por tratamiento.

#### 4.2.10 Análisis estadístico:

Se había planeado realizar un análisis de varianza, utilizando el programa SAS versión 6.01 para Windows y una comparación de medias (DMS) a un nivel de significancia del 0.5 %.

### 4.3 Propagación por Cultivo in vitro (M3)

### 4.3.1 Ubicación del experimento

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), descrita con anterioridad.

**Material genético:** Se utilizaron plantas de *P. sartorianum* de un año de edad provenientes de semilla, las cuales se mantuvieron desde su germinación en un invernadero de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la UAEMmex. (Figura 8).





Figura 7. Figura Selección de las planta madre de *P. sartorianum*. A) Plantas en invernadero y B) Plantas seleccionadas.

### 4.3.2 Manejo del trabajo

**Acondicionamiento del área de cultivo:** se realizó una desinfección previa de la campana de flujo laminar con etanol al 90 %.

La siembra de los explantes al medio de cultivo se realizó en la cabina de flujo laminar horizontal. La limpieza del material de laboratorio, pinzas, bisturís y cajas petri utilizadas dentro de la cabina fueron previamente esterilizadas en autoclave durante 20 min a 15 libras y 120 °C.

#### 4.3.3 Colecta de explantes

Se colectaron las ramas más jóvenes de 8 a 10 cm, las cuales se colocaron en ácido cítrico (0.15 g  $L^{-1}$ ) más ácido ascórbico (0.2 g  $L^{-1}$ ) para su traslado al laboratorio, esta solución reduce la oxidación causada por fenoles.

**Tiempos de desinfección de los explantes:** los explantes se colocaron en una solución de tween 80 (2 gotas en 500 mL de agua destilada) durante 5 min, después fueron colocados en alcohol al 70 % durante 20 segundos y se aplicó agua destilada antes de colocarlos en una solución de clorox® diluido al 30 %. Esta desinfestación se hizo en el área de desinfestación del laboratorio, posteriormente en la cabina de flujo laminar se realizaron tres enjuagues con agua destilada-

esterilizada y se colocaron en ácido cítrico (0.15 g L<sup>-1</sup>) más ácido ascórbico (0.2 g L<sup>-1</sup>) donde permanecieron hasta el corte del explante y su colocación en el medio.

**Siembra de explantes:** los explantes de cada tratamiento se manejaron de individualmente eliminando las láminas foliares de cada entre nudo, dejando al descubierto las yemas y el tallo. El corte del explante fue de un tallo con dos yemas axilares opuestas de 0.5 mm, el cual se colocó en un tubo de ensayo que contenía 25 mL de medio solido constituido por el medio basal MS (Murashige y Skoog) adicionado con 30 g de sacarosa, 1 mL L<sup>-1</sup> de vitaminas más la dosis de BAP y AIA correspondiente a cada tratamiento (Cuadro 6), más ácidos cítrico (0.15 g L<sup>-1</sup>) y ácido ascórbico (0.2 g L<sup>-1</sup>).

Cuadro 6. Tratamientos evaluados para el cultivo in vitro de P. sartorianum

TRATAMIENTO	DOSIS (mg L <sup>-1</sup> )
<b>(T)</b>	BAP + AIA
T <sub>1</sub>	0+0
$T_2$	0.5 + 0.5
$T_3$	0.5 + 1
$\mathrm{T}_4$	1.5 + 1.5
$T_5$	0.5 + 0

#### 4.3.4 Diseño experimental

Se usó un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones (25 tubos de ensaye con 1 explante por repetición).

### 4.3.5 Variables evaluadas

Se realizaron observaciones cada ocho días durante un mes para evaluar:

- 1. Porcentaje de supervivencia.
- 2. Porcentaje de contaminación.

A los 45 días de la siembra de los explantes se evaluó:

- 1. Número de yemas activadas (NYA).
- 2. Número de hojas por yema activada (NHY).
- 3. Porcentaje de oxidación (OXI).

### 4.3.6 Análisis estadístico

Los datos se sometieron a un análisis de varianza y a una comparación de medias con la prueba de la Diferencia Mínima Significativa a un nivel de significancia de .5%. Ambas técnicas fueron analizadas con el SAS para Windows versión 6.01.

#### V. RESULTADOS

### 5.1.1 Resultados de la propagación por semillas (M1)

Imprimir

https://mx-mg5.mail.yahoo.com/neo/launch?.rand=1ie1l29oab6p1#61...

Asunto:

Submission Confirmation for PROPAGACIÓN POR SEMILLA DE ARRAYAN Psidium sartorianum (O.

erg) Nied

De:

RCHSH (em@editorialmanager.com)

Para:

m\_rubi65@yahoo.com.mx;

Fecha:

Jueves, 26 de mayo, 2016 17:33:02

Dear Dr. Rubí-Arriaga,

Your submission entitled "PROPAGACIÓN POR SEMILLA DE ARRAYAN Psidium sartorianum (O. Berg) Nied." has been received by Revista Chapingo Serie Horticultura.

You will be able to check on the evaluation progress of your paper by logging on to Editorial Manager as an author (Author Login). The URL is http://rchsh.edmgr.com/.

Your manuscript will be given a reference number once the technical check has been approved.

Kind regards,

Revista Chapingo Serie Horticultura

Estimado(a) Dr. Rubí-Arriaga,

La contribución titulada "PROPAGACIÓN POR SEMILLA DE ARRAYAN Psidium sartorianum (O. Berg) Nied." ha sido recibida por la Revista Chapingo Serie Horticultura.

Se podrá seguir el proceso de evaluación de éste al ingresar a Editorial Manager en la URL: http://rchsh.edmgr.com/ como autor (Author Login).

A su escrito se le asignará un número de referencia, una vez que la revisión técnica haya sido aprobada.

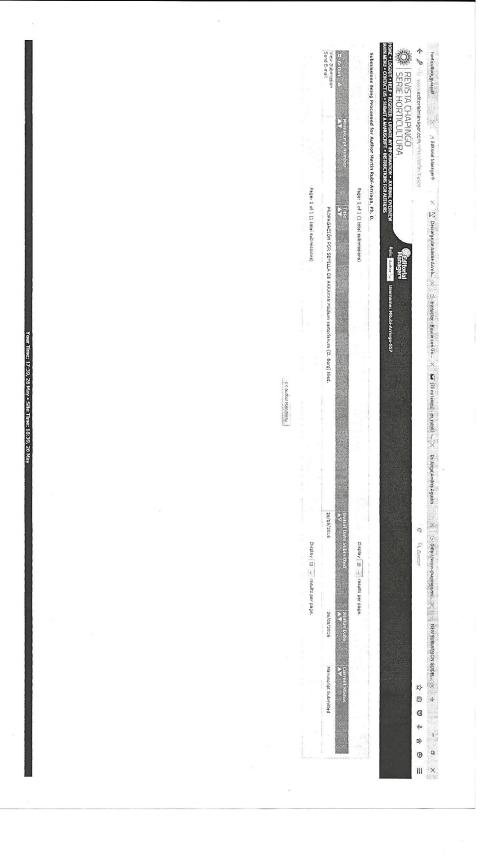
Si tiene alguna duda con el uso de Editorial Manager, enviar un correo a rchsh.editor@gmail.com o comuniquese al teléfono +52 (595) 9521500 extensión 5912 con el Ing. Oscar Martínez.

Saludos Cordiales,

Revista Chapingo Serie Horticultura

1 de 1

26/05/2016 05:42 p. m.



# PROPAGACIÓN POR SEMILLA DE ARRAYAN Psidium sartorianum (O. Berg) Nied.

Magali Issasi-Serrano<sup>1</sup>, Andrés González-Huerta<sup>2</sup>, Delfina de Jesús Pérez- López<sup>2</sup>, Ana María Castillo-González<sup>3</sup>, Samuel Rebollar-Rebollar<sup>4</sup>, Georgina Vargas-Simón<sup>5</sup> y Martín Rubí-Arriaga<sup>2\*</sup>

- <sup>1</sup> Alumna del Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. El Cerrillo Piedras Blancas, Municipio de Toluca. Estado de México, Km 15.5 Carretera Toluca-Ixtlahuaca. C.P. 50200.
- <sup>2</sup> Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. El Cerrillo Piedras Blancas, Municipio de Toluca. Estado de México, Km 15.5 Carretera Toluca-Ixtlahuaca. C.P. 50200. Correo-e: m\_rubi65@yahoo.com.mx (\*Autor para correspondencia).
- <sup>3</sup> Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. km 38.5 Carretera México-Texcoco. C.P. 56230. Chapingo, Texcoco, Estado de México, México.
- <sup>4</sup> Centro Universitario UAEM Temascaltepec. Universidad Autónoma del Estado de México. Km. 67.5, carretera Toluca-Tejupilco. Col. Barrio de Santiago, S/N. C.P. 51300. Temascaltepec, Estado de México.
- <sup>5</sup> Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. División Académica de Ciencias Biológicas. Km 0.5 Carretera Villahermosa–Cárdenas, C.P. 86150. Villahermosa, Tabasco, México.

#### Resumen

Psidium sartorianum prospera en áreas tropicales y subtropicales del mundo, principalmente en América; éste fruto aporta vitaminas, minerales y antioxidantes, además posee versatilidad de usos (alimenticio, medicinal y ornamental, entre otros). Sin embargo, la información disponible sobre métodos de propagación es escasa. Con el objetivo de evaluar diferentes tratamientos pregerminativos en semillas de esta especie, se establecieron tres experimentos bajo un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial con diferente número de niveles. En el E1 las semillas se remojaron en agua caliente; E2, aplicación de ácido giberélico y E3 escarificación. En los tres experimentos se valoró la fuente de semilla (FDS) (origen geográfico), además en E1 se evaluó la temperatura del agua (TEM; 50, 65 y 80 °C) y el tiempo de remojo (TRE; 3, 5 y 10 min), en E2 tres dosis de ácido giberélico (500, 1 000 y 1 500 mg.L-¹) y en E3 dos métodos de lijado (manual y mecánico). Se registraron las variables porcentaje de

germinación (PG), altura de planta (AP) y número de hojas por planta (NH). El análisis de varianza se hizo con el programa SAS. Los tratamientos que fueron significancativos se sometieron a la prueba de la Diferencia Mínima Significativa (P=.05). En los tres experimentos hubo diferencias significativas ( $p \le .05$ ) entre factores y en sus interacciones. La mayor germinación (64.45%) se obtuvo con FDS5 + TEM 50 °C + TRE de 10 min.

## Contenido sobresaliente (HIghlights)

Propagation of *Psidium sartorianum* (O. Berg)

Germinative seed treatments of myrtle

Gibberellic acid and seed germination

Palabras clave: germinación; escarificación; tratamientos pregerminativos

#### Introducción

México se considera uno de los cinco países megadiversos del mundo por su alta riqueza florística (Villaseñor & Ortiz, 2014), que representa un almacén de genes potencialmente útiles, y donde las plantas con frutos comestibles cobran particular relevancia (Martínez-De La Cruz, Rubí-Arriaga, González-Huerta, Pérez-López, Franco-Mora, & Castañeda-Vildózola, 2015).

Para la República Mexicana Borys y Leszczyńska-Borys (2001) reportan 712 especies frutales, de las cuales 633 son frutales cultivados en los huertos familiares y otros son de recolección, Particularmente, en el estado de México los frutales se cultivan en 29 873 ha, equivalentes a un 3.44% de la superficie agrícola, que representa un bajo impacto de esta actividad, pero sólo se reporta el aprovechamiento de 33 especies y de éstas sólo cuatro ocupan el 93.16% de la superficie frutícola estatal: tuna (56.8%), aguacate (24.8%), durazno (8.5%) y guayaba (2.9%) (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2014). Esto refleja un desaprovechamiento de la riqueza biológica presente dentro de la geografía estatal, ya que Martínez-De La Cruz et al. (2015) reportan 91 especies de frutos nativos que son aprovechados por la versatilidad de usos, aparte de consumirse en fresco, se elaboran alimentos procesados como almíbar, licor, vinagre, mermeladas, jaleas, atole y helados; además por su empleo en la medicina y su uso

ornamental destacan: Ardisia compressa (capulincillo), Byrsonima crassifolia (L.) (nanche) y Psidium sartorianum (arrayan), los cuales aunque en pequeña escala contribuyen a la economía de las familias rurales a través de la remuneración por su venta.

Dentro de los huertos familiares y como frutal de recolección, se distingue el arrayán, *Psidium sartorianum* (O Berg) Nied., es un árbol de 10 a 15 m de altura con un diámetro normal de 30-60 cm; corteza externa de color pardo-amarillenta, con manchas grisáceas, desprendiéndose en placas delgadas y corteza interna rosada, sus hojas son simples, tienen una longitud de 1.5 a 6.5 cm y de 0.7-2.3 cm de ancho, son lanceoladas o elípticas; sus frutos son bayas globosas, de 2 a 2.5 cm de diámetro de color amarillento con sabor a guayaba; contiene alrededor de cinco semillas angulosas, de 5 a 7 mm de largo (Pennington y Sarukhán, 2005).

En su forma silvestre es parte de los bosques tropicales perennifolios y caducifolios, encinares y pastizales (Lascurain, Avendaño, Del amo, & Niembro (2010). En América, *P. sartorianum* ha sido registrado en México, Centroamérica, el Caribe, Colombia, Venezuela, Ecuador, Perú y Bolivia. Se distribuye en los estados de las vertientes del Golfo de México (desde Tamaulipas hasta Yucatán), del Pacífico (desde Chihuahua hasta Chiapas) y en el Estado de México (Delgado-Vargas, Díaz-Camacho, Salazar-Zamora, Uribe-Beltrán, & Vega-Aviña, 2005; Lascurain et al., 2010; Rebollar, Rubí & González, 2013), donde ostenta importancia alimenticia, económica, social y ecológica.

Los frutos de arrayán poseen un elevado valor nutritivo respaldado por la concentración de vitamina C, es fuente importante de calcio y potasio, además de contener fierro, magnesio, zinc y antioxidantes (Delgado-Vargas et al., 2005). Pueden consumirse en fresco o procesados (agua, almíbar, atole, helados, jugo, licor, mermelada, néctar, tamales y vinagre) (Martínez-De La Cruz et al., 2015; Rebollar et al., 2013).

Además de aportar ingresos económicos por sus usos alimenticios, es un árbol maderable y medicinal por su actividad antifúngica y antibacteriana (Camacho-Hernández, Cisneros-Rodríguez, Uribe-Beltrán, Ríos-Morgan & Delgado-Vargas 2004; Pio-León et al., 2013). Ecológicamente, esta especie evita la erosión del suelo, es fuente de alimento para la fauna silvestre, sirve como cortina rompevientos y es un excelente

árbol de sombra (Rebollar et al., 2013). Además se utiliza para la elaboración de composta donde se ocupan los frutos, hojas y ramas.

A pesar de que se aprovecha en diferentes estados de la República, sólo Nayarit reporta 90 ha de plantaciones comerciales (SIAP, 2014). La información disponible sobre su propagación es escasa, resaltan los trabajos de Delgado-Vargas et al., (2005) y Rebollar et al. (2013), quienes mencionan que se propaga principalmente a partir de semilla, pero presenta bajos porcentajes de germinación por su cubierta seminal dura, como la presentan algunas Myrtaceae (Rivero-Maldonado et al. 2012). Cordero y Boshier (2003), recomiendan para *P. friedrichsthalianum* remojos de la semilla en agua corriente por 24 y 36 h, escarificación mecánica o inmersión en agua caliente a 50 °C por un minuto. En *P. guajava*, se ha utilizado agua hirviendo durante 5 min. En este contexto es necesario generar conocimientos sobre métodos eficientes de germinación. Por lo anterior, el objetivo principal del presente trabajo fue evaluar diferentes tratamientos pregerminativos aplicados a semillas de *P. sartorianum* ya que existen pocos trabajos al respecto y los resultados servirán para mejorar la producción de esta especie.

## Materiales y métodos

#### Obtención de la semilla.

Los frutos de arrayán se recolectaron en seis sitios diferentes del Estado de México, México: Tejupilco, San Simón de Guerrero, Temascaltepec y Valle de Bravo, lo que correspondió a las fuentes de semilla (FDS). La extracción de las semillas se realizó de forma manual y se secaron a temperatura ambiente. Los experimentos se establecieron en un invernadero tipo túnel con cubierta de cristal ubicado en la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México en el Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Estado de México, en las coordenadas 19° 23´ 30" LN y 99° 42´ 30" LO a una altitud de 2 650 m, donde prevaleció una temperatura máxima y mínima promedio de 35 °C y 8 °C respectivamente.

En el experimento uno (E1) las semillas se remojaron en agua caliente. Los tratamientos fueron aleatorizados con un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial (6x3x3) con dos repeticiones de 15 semillas cada una. Los factores de estudio fueron fuente de semilla (FDS 1, FDS 2, FDS 3, FDS 4, FDS 5 y FDS 6), temperatura del agua (TEM; 50, 65 y 80 °C) y tiempo de remojo (TRE; 3, 5 y 10 minutos).

En el experimento dos (E2) las semillas se remojaron 24 horas en ácido giberélico, se utilizó un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial (6x3), con dos repeticiones de 15 semillas cada una. Los factores de estudio fueron fuente de semilla (FDS1 a FDS6) y dosis de ácido giberélico (500, 1 000 y 1 500 mg L<sup>-1</sup>) (Sigma-Aldrich®). En el experimento tres (E3) las semillas se sometieron a lijado manual (LM), mecánico (LME) y sin lijar (SL). Se empleó un diseño experimental completamente al azar en arreglo factorial (6X3), con dos repeticiones de 15 semillas cada una. Los factores de estudio fueron fuente de semilla (FDS 1 a FDS 6) con y sin lijado. En (LM) las semillas se frotaron sobre una lija para madera número 60 durante 5 minutos; en (LME) las semillas se colocaron en un cilindro revestido con lija, el cual se agitó constantemente de manera manual durante 15 minutos y el tratamiento control, sin lijar (SL). Para los tres experimentos se utilizaron charolas de germinación de 200 cavidades de 22 mL con el sustrato comercial Promix®.

### Variables registradas y análisis estadístico

Se registraron germinación (PG, %), altura de planta (AP) y número de hojas (NH). Las evaluaciones se realizaron a los 30, 60 y 90 días de la germinación (con el 50% más uno de las semillas germinadas), cuando emergían los cotiledones y el hipocotílo del sustrato. AP se midió desde el cuello hasta el meristemo apical con un vernier digital STAINLESS HARDENED modelo TPM-QL-V4. Los porcentajes de germinación se transformaron a arcosen√x para su posterior análisis.

Los datos se sometieron a un análisis de varianza y a una comparación de medias con la prueba de la Diferencia Mínima Significativa a un nivel de significancia de .5%. Ambas técnicas fueron analizadas con el SAS para Windows versión 6.01.

# **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La germinación de *las semillas de arrayán* fue del tipo fanerocotilar epígea con cotiledones foliáceos, similar a *Psidium cattleyanum* (Santos, Ferreira, & Áquila (2004); Gomes, Oliveira, França, Dacoregio & Bortoluzzi (2015). Los limbos de los cotiledones son lanceolados, de margen entero, base atenuada y ápice agudo. Las características morfológicas de los eófilos (siguientes hojas producidas) fueron similares a las embrionarias y a las hojas adultas (Pennington & Sarukhan, 2005). Se observa una coloración rojiza en el ápice del tallo, abarcando los pecíolos superiores, las hojas se disponen en una filotaxia decusada (Figura 1).

**Germinación (DDG).** Ésta inició 30 días después del establecimiento de los tres experimentos. El análisis de varianza mostró diferencias significativas *P*=0.05 para PG, AP y NH (Gráfica 1). La prueba de comparación de medias sugirió que a los 60 y 90 días no hubo diferencia estadística para PG, pero de 30 a 60 días se incrementó 22.05% en el E1, 30.35% en el E2 y 31.70% en el E3. Lo anterior es importante para diseñar un programa de propagación en vivero, donde 60 días es un periodo óptimo de germinación para las semillas de esta especie. En otras especies, cuyas semillas presentan dificultades para germinar, se ha observado una tendencia similar (porcentajes bajos y heterogéneos), atribuido principalmente a la latencia en las semillas como mecanismo de supervivencia y adaptación que responde a causas físicas, fisiológicas o ambas (Guzmán & Miranda, 2013; Pece, Sobrero, Acosta, & Rossi, 2014; Rodríguez-Roque et al., 2012).

Si se comparan los tres Experimentos y los tratamientos aplicados, se observa que el tratamiento de remojo con ácido giberélico fue el mejor; una parte importante de este resultado es el hecho de que las semillas de Myrtaceae tienen polifenoles que actúan como inhibidores de la germinación, pero con una lixiviación adecuada, estos compuestos son eliminados. Por ejemplo, en *Eugenia spitata* (Myrtaceae), se requirió de 10 días para obtener un porcentaje del 100% (Mendes, & Mendonça,

2012). Por otra parte, *P. cattleyanum*, requirió de luz para germinar adecuadamente (94%), en contraposición de un 13% en condiciones de oscuridad, se ha demostrado que el ácido giberélico es un sustituto para semillas fotoblásticas (Hartmann & Kester, 1992), por lo que estudios posteriores serán necesarios en este contexto para *P. sartorianum*.

dado que en este estudio se promovió una buena respuesta en comparación con los otros tratamientos pregerminativos.

Las semillas de Myrtaceae, se consideran que tienen una cubierta seminal dura (Rivero-Maldonado et al., 2012); pero no se tienen suficientes estudios anatómicos que demuestren el tipo de tejido que tiene *P. sartorianum* para afirmar que pudiera tener una dormancia física por su cubierta seminal; se demostró que la semilla puede imbibir agua después de 24 h, prueba preliminar para dilucidar que la semilla no tiene dormancia física desde el punto de vista fisiológico (Santos, Queiróz, Bispo, & Dantas, 2015); Baskin, Thompson, & Baskin, 2006).

AP y NH fueron afectadas significativamente (*P*=.05) después de la germinación (DDG) (Gráficas 2 y 3); hubo incremento en AP del 43% en E1, 36% en E2 y 44% en E3, y en NH éste fue de 59, 56 y 60%, respectivamente. Estos resultados pueden ser atribuidos al proceso natural de crecimiento de las plantas que se caracteriza por aumento en tamaño (masa o volumen); en calidad de plántula destacó el E2 con 22.70 mm de AP y 3.55 NH, lo cual puede deberse al efecto que originan las giberelinas sobre el crecimiento y desarrollo, estimulando la división y elongación celular (Azcón-Bieto & Talón, 2008; Jankiewicz, 2003, Miransari & Smith, 2014).

**Fuentes de semilla (FDS).** La significancia estadística (*P*=.05) que se observa en el análisis de varianza para PG, NH y AP se vio influenciada por la fuente de semilla (FDS) (Cuadros 1, 2 y 3). Al analizar las medias (Cuadro 4) en el E1 se encontró que la FDS 3 logró el máximo porcentaje de germinación (35.30%) superando en casi 56% a las de menor valor (FDS 6, FDS 2 y FDS 1); las plántulas alcanzaron una altura de 17.72 mm y tuvieron 2.95 NH. En el E2 la FDS 4 tuvo más geminación (39.51%) y superó en 29% a las fuentes de menor valor (FDS 1 y FDS 2), y destacó en NH 3.17 (Cuadro 5).

En el E3 las FDS 3 y FDS 5 tuvieron los máximos porcentajes de germinación (39.41 y 37.31%, respectivamente) y ambas superaron casi en 70% a la de menor valor (FDS 1). Las mayores longitudes de tallo variaron de 17.16 a 21 mm, y en NH el rango fue de 2.52 a 3.17 (Cuadro 6). Las diferencias observadas en plántulas pueden atribuirse a la variabilidad genética que se origina con polinización libre (Hartmann & Kester, 1992), pero es importante seleccionar árboles donadores de semilla que reúnan características

agronómicas deseables para su propagación (sanidad, vigor, altura, porte, calidad de fruto, producción de semillas) ya que de esto, depende su éxito en las plantaciones (García, Ramos, & Becerra, 2011). Así FDS 3 respondió positivamente en los tres experimentos.

**Tratamientos pregerminativos.** En el E1 la temperatura del agua (TEM) y el tiempo de remojo (TRE) afectaron significativamente (*P*=.05) el porcentaje de germinación (PG), la altura de planta (AP) y número de hojas (NH) (Cuadro 1). En la prueba de comparación de medias se observó que a 65 °C se logra un PG de 32.61%, pero a 80 °C disminuyó hasta 6.83%; las plántulas tuvieron una altura de 19.79 mm y 3.05 hojas (Cuadro 7). Con un tiempo de remojo de cinco min se incrementó la germinación hasta 28.93%, la altura de la plántula fue de 17.31 mm y hubo 2.70 hojas; estas variables disminuyeron sus valores con 3 y 10 min de remojo (Cuadro 8).

Las diferentes temperaturas y tiempos de inmersión han originado incrementos en el porcentaje de germinación en: *Peltophorum pterocarpum, Samanea saman, Leucaena leucocephala, Euterpe precatoria y Prosopis laevigata* (Atencio, Colmenares, Ramírez-Villalobos, & Marcano, 2003; Gómez, Olivera & Botello, 2009; León & Saldaña, 2011; Sánchez-Paz & Ramírez-Villalobos, 2006; Sobrevilla–Solís, López–Herrera, López–Escamilla, & Romero–Bautista, 2013), quizás debido a los efectos que se provocan en la semilla al ser sumergida en agua caliente como: modificación de la cubierta dura, remoción de inhibidores y la reducción del tiempo de germinación (Sánchez-Paz & Ramírez-Villalobos, 2006).

En el cuadro 1 también se puede observar que la interacción temperatura del agua \* el tiempo de remojo afecto significativamente (P=.05) el PG el cual alcanzó el valor más alto 36.96% con una TEM de 65 °C + TRE de 10 min, además de lograr una AP de 20.56 mm y un total de hojas de 3.25. En otras especies difíciles de germinar como *Prosopis laevigata* se ha obtenido un PG del 20% con la inmersión en agua a 65 °C durante 4 min (Sobrevilla-Solís et al., 2013).

La interacción significativa (*P*=.05) Fuentes de semilla \* Tiempos de remojo incrementó la germinación hasta un 46.90% cuando la FDS3 se sometió a un remojo en agua caliente durante 5 min. Como las FDS representaron 20.34% de la variación total y el TRE sólo

7.7%; debe reflexionarse sobre la importancia de conocer la procedencia de la semilla, sus características y propiedades de calidad (Genuidad, pureza, limpieza, sanidad, viabilidad y vigor) como parámetros que garanticen una buena germinación (Hartmann & Kester,1992; Doria, 2010).

La interacción significativa (*P*=.05) Fuentes de semilla \* temperatura del agua \* tiempo de remojo (Cuadro 1) para PG (64.45%) y AP (27.63 mm) se debió a FDS 5 + TEM 50 °C + TRE de 10 min (Figura 2). Lo anterior refleja que la calidad de la semilla es un factor importante en el proceso de germinación.

En E2 se puede observar que las dosis de ácido giberélico (DAG) tuvieron un efecto significativo (P=.05) en PG y NH, pero no en (AP) (Cuadro 2). Al revisar la comparación de medias se observó que el PG más alto (46.24%) se obtuvo con 1 500 mg.L<sup>-1</sup> (incremento del 42.11% con respecto 500 mg.L<sup>-1</sup>) (Cuadro 9). En estudios similares la aplicación de ácido giberélico de 500 a 2 000 mg.L<sup>-1</sup> ha incrementado la germinación de Chrysophyllum cainito L., Prunus mahaleb L., Annona purpurea, Penstemon digitalis (Álvarez, Quintero, Manzano, & González, 2009; Ghayyad, Kurbysa, & Napolsy, 2010; Gomez-Catañeda, Ramírez, Benavides-Mendoza, & Encina-Rodríguez, 2003; Machado, Augusto, Blankenship, & Paparozzi, 2009). Estos resultados podrían atribuirse a las diversas funciones que realizan las giberelinas durante el proceso de germinación, como la inducción de la síntesis de la enzima α-amilasa que transforma el almidón en azúcares simples (Cano-Vázquez et al., 2015; Ghayyad et al., 2010; Mandujano, Golubov, & Rojas-Arechiga, 2007) y estimula la elongación celular, de manera que la radícula pueda emerger a través del endospermo, la cubierta de la semilla o del fruto los cuales restringen su crecimiento, y también estimulan el crecimiento de las plantas (Miransaria & Smith, 2014).

La interacción fuente de semilla\*dosis de ácido giberélico también fue significativa (Cuadro 2); En FDS 3 + 1 500 mg.L<sup>-1</sup>, FDS 1+ 1 500 mg.L<sup>-1</sup> y FDS 2 + 1 500 mg.L<sup>-1</sup> se registraron los mayores porcentajes de germinación (59.34, 54.45 y 53.48%, respectivamente); el porcentaje de germinación aumenta conforme se incrementa la dosis de ácido giberelico, excepto en FDS 6. Resultados similares se han obtenido en

Annona purpurea cuando se aplicó AG<sub>3</sub>, hasta lograr 68% de germinación con1 000 mg.L<sup>-1</sup> (Gómez-Castañeda et al., 2003).

En el E3 los tipos de lijado ejercieron un efecto significativo (*P*=.05) en PG, NH y AP (Cuadro 3); con lijado manual (LMA) se alcanzó el máximo PG (29.28%) y éste superó en casi 21% al de semillas sin lijar (SL) y lijado mecánico (LME), además se incrementó la altura de plántula en 31% y del número de hojas en 29%. El uso de este método a diferentes niveles de desgaste de la cubierta de semillas difíciles de germinar ha permitido romper los periodos de latencia en *Peltophorum pterocarpun*, *Acacia* shaffneri, *Ipomoea murucoides*, *Mimosa aculeaticarpa*, *Euterpe precatoria*, *Hymenaea courbaril* L. y *Prosopis laevigata* (Atencio et al., 2003; León & Saldaña, 2011; López, Hernández, Rodríguez, Orantes, & Garrido, 2010; Martinez, Orozco, & Martorell, 2006; Sobrevilla-Solís et al., 2013). Esto puede atribuirse a los efectos que se provocan en la semilla como: rayado, ruptura o alteración de la cubierta, lo cual causa un incremento en la entrada de agua y gases necesarios para iniciar el proceso de germinación, además existe una hidrolisis de las reservas de la semilla que se ponen a disposición del embrión, suministrándole energía para su crecimiento y desarrollo (Atencio et al., 2003; León & Saldaña, 2011).

La interacción fuente de semilla \* tipo de lijado afectó significativamente (*P*=.05) PG, AP y NH (Cuadro 3). Con FDS 3 y lijado manual (LM) se obtuvo el valor más alto en germinación (46.90%); éste superó en 100% a FDS1 Sin lijar, y produjo plántulas con mayor altura (24.66 mm) y más hojas (3.61). Lo anterior sugiere que la calidad y procedencia de la semilla es un factor importante para la propagación sexual del arrayan, así como el tipo de lijado empleado ya que éste proporciona un grado de desgaste de la cubierta que facilita el proceso de germinación. Es importante mencionar que la aplicación de este método en otros estudios, con un mayor desgaste de la cubierta (hasta ver el embrión) incrementó la germinación hasta un 87% en *Acacia shaffneri*, 97% en *Ipomoea murucoides*, 96% en *Mimosa aculeaticarpa* y 100% en *Hymenaea courbaril* L. (Martínez-Pérez et al., 2006).

#### CONCLUSIONES

Las semillas de *P. sartorianum* son díficiles de germinar. El periodo óptimo de germinación es un factor importante para el propagador y para esta especie éste es de 60 días. En el contexto general la aplicación de los diferentes tratamientos pregerminativos incrementó el porcentaje de germinación pero el más eficaz fue la inmersión de las semillas en ácido giberélico por 24 horas a una concentración de 1 500 mg.L<sup>-1</sup>. La fuente de semilla (FDS3) (San Simón de Guerrero) tuvo el mejor desempeño, por lo que se puede considerar adecuada como árbol donador de semillas para futuros trabajos de propagación de arrayán. La semilla de esta especie aparentemente no tiene dormancia física por cubierta seminal dura.

#### LITERATURA CITADA

Álvarez, R., Quintero, I., Manzano, J., & González, D. (2009). Emergencia y características de plántulas de *Chrysophyllum cainito* L. (Sapotacea) bajo diferentes tratamientos pregerminativos y posición de siembra de la semilla. *Revista UDO Agrícola*, 9(2), 333-342. Obtenido de http://www.bioline.org.br/pdf?cg09043

Atencio, L., Colmenares, R., Ramírez-Villalobos, M., & Marcano, D. (2003). Tratamientos pregerminativos en acacia San Francisco (*Peltophorum pterocarpum*) Fabaceae. . *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Zulia,* 20, 63-71. Obtenido de http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?pid=S0717-

92002010000300008&script=sci\_arttext

Azcón-Bieto, J., & Talón, M. (2008). *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. España: McGraw-Hill –Interamericana de España.

Baskin, C. C., Thompson, K., & Baskin, J. M. (2006). Mistakes in germination ecology and how to avoid them. *Seed Science Research*, 16, 165–168. doi: 10.1079/SSR2006247

Borys, M. W., & Leszczyńska- Borys, H. (2001). *El potencia genético frutícola de la república mexicana*. México: Fundación Salvador Sánchez Colín Cictamex, S. C.

Camacho-Hernández, I. L., Cisneros-Rodríguez, C., Uribe-Beltrán, M. J., Rios-Morgan, A., & Delgado-Vargas, F. (2004). Antifungal activity of fruit pulp extract from *Psidium sartorianum*. *Fitoterapia*, 75, 401- 404. doi:10.1016/j.fitote.2004.01.004

Cano-Vázquez, A., López-Peralta, M. C., Zavaleta-Mancera, H, A., Cruz-Huerta, N., Rámirez-Ramirez, I., Gardea-Bejar, A., & Gonzalez-Hernandez, V. A. (2015). Variación en grados de latencia en semillas entre colectas de chile piquín (*Capsicum annuum* Var. Glabriusculum). *Botanical Sciences*, 93 (1), 175-184. doi: 10.17129/botsci.138

Cordero, J. y Boshier, D.H. (2003). Árboles de Centroamérica. CD. Turrialba: Oxford Forestry Institute, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza.

Delgado-Vargas, F., Díaz-Camacho S. P., Salazar-Zamora, Z. G., Uribe-Beltran, M. J., & Vega-Aviña, R. (2005) *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied., An Indigenous Plant to Mexico, from Biology to Biological Activity. *Recent Progress in Medicinal Plants*, 13: 81-114. Obtenido de http://www.uasnet.mx/uisp/includes/pdf\_capitulos de\_libro/50%20Psidium%20sartorianum%20(O.%20Berg)%20Nied.pdf

Doria, J. (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. *Cultivos Tropicales*, 31(1) ,74 - 85. Obtenido de http://scielo.sld.cu/pdf/ctr/v31n1/ctr11110.pdf

García, Y., Ramos, J. M., & Becerra, J. (2011). Semillas Forestales para la restauración ecológica. *Biodiversistas*, 94, 12-15. Obtenido de http://www.biodiversidad.gob.mx/Biodiversitas/Articulos/biodiv94art3.pdf

Ghayyad, M., Kurbysa, M., & Napolsy G. (2010). Effect of Endocarp Removal, Gibberelline, Stratification and Sulfuric Acid on Germination of Mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) Seeds. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 9 (2), 163-168. Obtenido de <a href="http://www.idosi.org/aejaes/jaes9(2)/10.pdf">http://www.idosi.org/aejaes/jaes9(2)/10.pdf</a>

Gomes, J. P., Oliveira, L. M., França, C. S. S., Dacoregio, H. M., & Bortoluzzi, R. L. C. (2015). Caracterização morfológica de plântulas durante a germinação de sementes de *Psidium cattleianum* E *Acca sellowiana* (Myrtaceae). *Ciência Florestal*, *25*(4), 1035-1041. https://dx.doi.org/10.5902/1980509820665

Gomez-Catañeda, J. A., Ramirez, H., Benavides-Mendoza, A., & Encina-Rodriguez, I. (2003). Germinación y crecimiento de plántula en chincuya (*Annona purpurea* Moc y Sessé) y su relacion con los niveles de giberelinas y ácido abscísico. *Revista Chapingo* Serie Horticultura, 9 (2), 243-253. doi: dx.doi.org/1111

Gómez, I., Olivera, Y., & Botello, A. (2009). Efecto de diferentes métodos de escarificación en la emergencia de semillas frescas de *Samanea saman* (algarrobo). *Pastos y Forrajes,* 32(4), 1-8. Obtenido de: http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269119692004

Guzmán, A. M., Cruz, E., Miranda, C. A. (2013). Germinación de semillas de *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*. 4 (20), 82-89. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v4n20/v4n20a8.pdf

Hartmann, H.T., & Kester D.E. (1992). *Propagación de Plantas; principios y prácticas.* (2da edición). CECSA: México, D. F.

Jankiewicz, L. S. (2003). *Reguladores de crecimiento, desarrollo y resistencia de plantas*. Ediciones Mundi-Prensa: México.

Lascurain, M., Avendaño, S., Del amo S., & Niembro A. (2010). *Guía de frutos silvestres comestibles en Veracruz*. (1ra ed.). México: Fondo sectorial para la investigación, el desarrollo y la innovación tecnológica forestal, Conafor- Conacyt.

León, J., & Saldaña, J. S. (2011). Tratamientos pregerminativos de las semillas de Euterpe precatoria Mart. En Santo Tomas, Loreto-Perú. *Pittieria*, 35,63-70. Obtenido de http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/34356/1/04.pdf

López, D., Hernández, J. A., Rodríguez, P. B., Orantes, C., & Garrido, E. R. (2010). Efecto de la escarificación mecánica e inmersión en agua caliente, sobre el letargo de semillas de guapinol (Hymenaea courbaril L. Fabaceae). *Lacandonia*, 4 (2), 37-51. Obtenido de http://cuid.unicach.mx/revistas/index.php/lacandonia/article/view/72

Machado, A., Augusto, N., Blankenship, E., & Paparozzi, E. (2009). Gibberellic Acid Promotes Seed Germination in Penstemon digitalis cv. Husker Red, *HortScience* 44(3), 870–873. Obtenido de http://hortsci.ashspublications.org/content/44/3/870.abstract

Mandujano, M. C., Golubov, J., & Rojas-Arechiga, M. (2007). Efecto del ácido Giberélico en la germinación de tres especies del género *Opuntia* (Cactaceae) del desierto chihuahuense. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 52:2, 46-52. Obtenido de http://www.ecologia.unam.mx/laboratorios/dinamica\_de\_poblaciones/cacsucmex/cactac eas2007\_2arti\_2.pdf

Martínez-De La Cruz, I., Rubí-Arriaga M., González-Huerta A., Pérez-López, D. J., Franco-Mora O., & Castañeda-Vildózola A. (2015). Frutos y semillas comestibles en el Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6 (2), 331-346. Obtenido de http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=263138086009

Martinez, G., Orozco, A., & Martorell, C. (2006). Efectividad de algunos tratamientos pregerminativos para ocho especies leñosas de la mixteca alta Oxaqueña con caracterizticas relevantes para la restauración. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*.79, 9-20. Obtenido de <a href="http://www.redalyc.org/pdf/577/57707902.pdf">http://www.redalyc.org/pdf/577/57707902.pdf</a>

Martínez-Pérez, G., Orozco-Segovia, A., & Martorell, C. (2006). Efectividad de algunos tratamientos pre-germinativos para ocho especies leñosas de la Mixteca Alta oaxaqueña con características relevantes para la restauración. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 79,9-20. Obtenido de: <a href="http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57707902">http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57707902</a>

Mendes, A. M.S., & Mendonça, M. S. (2012). Tratamentos pré-germinativos em sementes de araçá-boi (*Eugenia stipitata*). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 34(3), 921-929. https://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452012000300035

Miransari, M., Smith, D.L. (2014) Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99, 110–121.

http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.11.005

Pece, M. G., Sobrero, M. T., Acosta, M., & Rossi, F. (2014). Tratamientos pregerminativos en *Geoffroea decorticans* (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart var. decorticans. *Foresta Veracruzana*, 16:(2):31-36. Obtenido de

http://www.redalyc.org/pdf/497/Resumenes/Resumen\_49732560004\_1.pdf

Pennington, T. D., & Sarukhan K, J. (2005). Árboles Tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies. (3a ed.), México, D. F: Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo de Cultura Económica.

Pío-León, J.F., Díaz-Camacho, S. P., López-López, M. A., Uribe-Beltrán M. J., Williams, K., López-Angulo, G., Montes Ávila, J., & Delgado-Vargas, F. (2013). Actividad antibacteriana de extractos de frutos de nanchi (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth), (*Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.) y ayale (*Crescentia alata* Kunth). *Boletín Latinoamericano del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12(4), 356–364.9. Obtenido de http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85628141003

Rebollar, R. S., Rubí, A. M., González, R. F. J. (2013). Producción y comercialización de *Psidium sartorianum* O. Berg Nied en el sur del estado de México. *Revista Mexicana de Agronegocios.* 16 (33), 514-526. Obtenido de <a href="http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14127709012">http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14127709012</a>

Rivero-Maldonado, G., Pacheco, D., Fuenmayor, J., Sánchez-Urdaneta, A., Quirós, M., Ortega, J., Bracho, B., & Taborda, J. (2012). Análisis morfológico de especies de *Psidium* (MYRTACEAE) presentes en Venezuela. Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad del Zulia. 29. 72-103 Obtenido de http://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/viewFile/12545/12532. Rodríguez-Roque, Y., Sotolongo-Sospedra, R., Villafranca-Izquierdo, Y., Miñoso-Bonilla, Fleitas-Camacho, Y., Urrutia-Hernández, I., Rodríguez-Alfaro, B.,& Rodríguez-Y., Valdez, E. (2012). Influencia de tratamientos pregerminativos en semillas de *Psidium* salutare (H.B.K.) en viñales. Revista Forestal Baracoa, 31 (1), 79-84. Obtenido de http://www.actaf.co.cu/revistas/rev\_forestal/Baracoa-2012-1/forestal-2012-1.html Sánchez- Paz, Y., & Ramírez-Villalobos M. (2006). Tratamientos pregerminativos en semillas de Leucana leucocephala (Lam.) de Wit. y Prosopis juliflora (Sw.) DC. Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Zulia, 23, 257-272. Obtenido de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-78182006000300001&script=sci\_arttext

Santos, C.M.R., Ferreira, A.G., Áquila, M.E.A. (2004). Características de frutos e germinação de seis espécies de Myrtaceae nativas do Rio Grande do Sul. *Ciência* 

Florestal, 14(2) ,13-20. Obtenido de http://coral.ufsm.br/cienciaflorestal/artigos/v14n2/A2V14N2.pdf

Santos, M. A. C., Queiróz, M. A., Bispo, J. S., & Dantas, B. F. (2015). Seed germination of Brazilian guava (*Psidium guineense Swartz*.). *Journal of Seed Science*, *37*(4), 214-221. https://dx.doi.org/10.1590/2317-1545v37n4152933

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2014) consultado 19-06-2015 en <a href="http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/">http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/</a>

Sobrevilla – Solís, J. A., López – Herrera, M., López – Escamilla, A. L., & Romero – Bautista, L. (2013). Evaluación de diferentes tratamientos pregerminativos y osmóticos en la germinación de semillas *Prosopis leavigata* (Humb. & Bonpl. Ex Willd) M.C. Johnston. *Estudios científicos en el estado de Hidalgo y zonas aledañas*, 2, 83 – 95. Obtenido

http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1011&context=hidalgo

Villaseñor, J. L. & Ortiz, E. (2014). Biodiversidad de las plantas con flores (División Magnoliophyta) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85,134-142. doi: 10.7550/rmb.31987

CUADRO 1. Análisis de varianza para el experimento 1 (E1).

F.V.	G.L.	(PG, %)	)	(AP, mn	n)	(NH)	
DDG	2	1298.06	**	1596.59	**	90.22	**
FDS	5	4323.41	**	312.09	**	11.45	**
TEM	2	20863.31	**	5771.27	**	126.26	**
TRE	2	4124.33	**	928.26	**	20.69	**
DDG x FDS	10	78.36	ns	14.74	ns	0.64	ns
DDG x TEM	4	134.79	ns	82.14	ns	6.28	*
DDG x TRE	4	9.75	ns	10.93	ns	2.14	ns
FDS x TEM	10	294.34	*	20.46	ns	0.42	ns
FDS x TRE	10	958.69	**	265.90	**	6.73	**
TEM x TRE	4	645.05	**	297.91	*	12.12	**
DDG x FDS x TEM	20	55.89	ns	28.85	ns	0.78	ns
DDG x FDS x TRE	20	21.70	ns	11.03	ns	0.45	ns
DDG x TEM x TRE	8	18.95	ns	29.54	ns	1.38	ns
FDS x TEM x TRE	20	632.91	**	167.29	**	4.78	**
DDG x FDS x TEM x TRE	40	31.00	ns	25.27	ns	0.85	ns
Media		22.72		13.94		2.20	
Error		107.00		49.68		1.37	
C.V.		45.52		50.53		53.11	

DDG= Días después de la germinación, FDS= Fuente de la semilla, TEM= temperatura del agua, TRE= tiempos de remojo.

CUADRO 2. Análisis de varianza para el experimento 2 (E2).

F.V.	G.L.	(PG, %)		(AP, mı	n)	(NH)	
DDG	2	1590.78	**	663.12	**	36.12	*
FDS	5	402.31	**	101.76	ns	2.55	*
DAG	2	4955.10	**	280.69	ns	6.30	*
DDG x FDS	10	12.73	ns	6.59	ns	0.12	ns
DDG x DAG	4	33.44	ns	28.04	ns	0.58	ns
FDS x DAG	10	1203.20	**	218.82	*	4.73	**
DDG x FDS x	20	45.13	ns	16.17	ns	0.24	ns
DAG							
Media		32.72		19.13		2.62	
Error		114.29		54.31		0.82	
C.V.		32.66		38.51		34.52	

DDG= Días después de la germinación, FDS= Fuente de la semilla, DAG= Dosis de ácido giberélico.

CUADRO 3. Análisis de Varianza para el experimento 3 (E3).

F.V.	G.L	(PG, %)		(AP, mm)		(NH)	
DDG	2	1239.10	**	769.37	**	37.76	**
FDS	5	2328.21	**	357.16	**	7.08	**
TDL	2	405.32	*	596.34	**	9.86	**
DDG x FDS	10	64.63	ns	5.46	ns	0.07	ns
DDG x TDL	4	66.87	ns	14.48	ns	0.70	ns
FDS x TDL	10	272.10	*	127.39	*	3.55	*
DDG x FDS x TDL	20	57.84	ns	28.29	ns	0.57	ns
Media		25.44		16.44		2.41	
Error		113.74		49.37		1.13	
C.V.		41.92		42.72		44.15	

DDG= Días después de la germinación, FDS= Fuente de la semilla, TDL= Tipos de lijado.

CUADRO 4. Comparación de medias para FDS en el experimento 1.

(FDS)	(PG, %)	(AP, mm)	(NH)	
1	15.35 d	11.68 c	1.86 b	
2	15.31 d	12.86 c	1.90 b	
3	35.30 a	17.72 a	2.95 a	
4	30.78 b	15.78 ab	2.57 a	
5	24.82 c	13.90 bc	2.08 b	
6	14.75 d	11.72 c	1.82 b	
DMS	3.93	2.67	0.44	
( <i>P</i> =0.05)				

CUADRO 5. Comparación de medias para FDS en el experimento 2.

(FDS)	(PG, %)	(NH)
1	26.68 b	2.09 c
2	28.04 b	2.38 c
3	33.54 ab	2.55 bc
4	39.51 a	3.17 a
5	33.36 ab	2.85 ab
6	35.19 a	2.70 abc
DMS ( <i>P</i> = 0.05)	7.14	0.60

CUADRO 6. Comparación de medias para FDS en el experimento 3.

(FDS)	(PG, %)	(AP, mm)	(NH)
1	10.39 d	10.82 b	1.61 b
2	16.58 cd	11.42 b	1.69 b
3	39.41 a	21.00 a	3.17 a
4	25.82 b	17.16 a	2.71 a
5	37.31 a	20.95 a	2.78 a
6	23.12 bc	17.29 a	2.52 a
DMS ( <i>P</i> =0.05)	7.12	4.69	0.71

CUADRO 7. Comparación de medias para temperatura del agua en el experimento uno (E1).

TEM °C	(PG, %)	(AP, mm)	(NH
50	28.72 B	16.41 b	2.56 b
65	32.61 A	19.70 a	3.05 a
80	6.83 C	5.72 c	0.98 c
DMS (P= 0.05)	2.77	1.89	0.31

CUADRO 8. Comparación de medias para tiempo de remojo en el experimento uno (E1).

TRE (min)	(PG, %)	(AP, mm)	(NH)
3	16.57 C	12.21 b	1.95 b
5	28.93 A	17.33 a	2.70 a
10	22.66 B	12.30 b	1.94 b
DMS (P= 0.05)	2.77	1.89	0.31

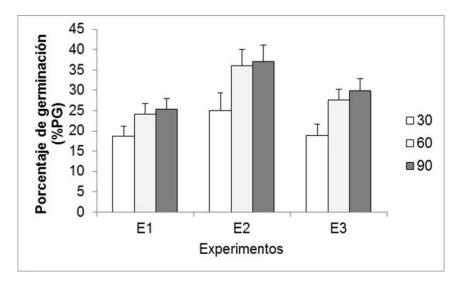
CUADRO 9. Comparación de medias dosis de ácido giberélico en el experimento dos (E2).

DAG (mg.L <sup>-1</sup> )	(PG, %)	(NH)	
5 00	26.77 b	2.65 a	
1 000	25.16 b	2.19 b	
1 500	46.24 a	3.03 a	
DMS (P= 0.05)	5.05	0.42	

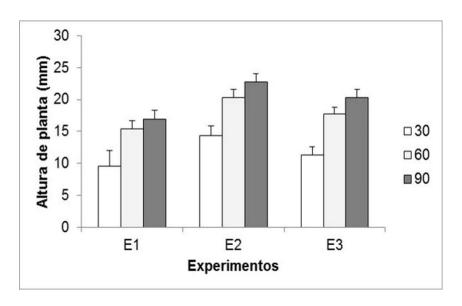
CUADRO 10. Comparación de medias para tipos de lijado en el experimento tres (E3).

Tipos de lijado	(PG, %)		(AP)	(NH)	
Sin lijar (SL)	23.94	b	13.77 b	2.09 b	
Lijado manual (LM)	29.28	а	21.13 a	3.01 a	l
Lijado mecánico (LME)	23.09	b	14.43 b	2.13 b	1
DMS (P= 0.05)	5.03		3.32	0.50	

Gráfica 1 Porcentaje de germinación de semillas de *P. sartorianum* en los experimentos establecidos.



Gráfica 2 Altura de las plantas de P. sartorianum en los experimentos establecidos.



Gráfica 3 Número de hojas en las plantas de *P. sartorianum* en los experimentos establecidos.

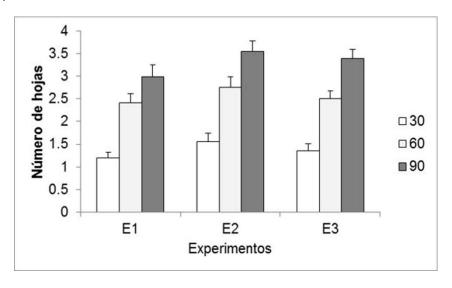


Figura 1 Planta de *P. sartorianum* a los 90 días después de su germinación.



Figura 2 Vista de la germinación de plantas del tratamiento FDS 5 + TEM 50 °C + TRE de 10 min a los 60 días.



### 5.1.2 Resultados de propagación por estacas (M2)

A los 90 días de establecido el experimento se realizó la evaluación del porcentaje de enraizamiento de las estacas el cual desafortunadamente fue de 0 %.

Considerando que existen múltiples factores que afectan el enraizamiento de estacas y que no se localizaron estudios para esta especie *P. sartorianum* se sugiere tomar en cuenta para estudios posteriores estrategias que podrían facilitar el éxito en el enraizamiento como:

Evaluar diferentes tipos de lignificación ya que este factor es singular de cada especie, por ejemplo en *Bursera morelensis* un bajo grado de lignificación presenta un mayor número de estacas enraizadas, pero un alto grado de lignificación no enraizó, mientras que en *Bursera galeottiana* ocurre lo contrario (Loeza-Corte et al., 2013).

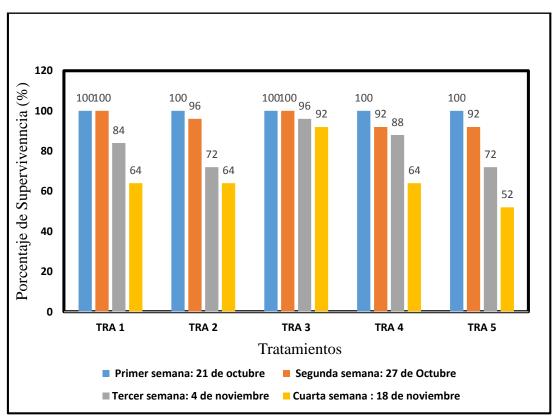
También se podrían estudiar diferentes épocas de recolección debido a que cada especie tiene una época especifica que favorece el enraizamiento como en *Abies religiosa* la formación de raíces es mejor época diciembre, lo cual está estrechamente relacionado con la etapa fenológica (Castillo-Flores et al., 2013).

Además puede resultar eficaz el mantener la humedad relativa alta de manera constante y temperaturas bajas para que las tasas de evaporación sean bajas, y la capacidad de retención de agua del aire (humedad relativa) alta.

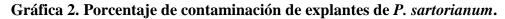
Como el arrayán presenta fenoles que pueden limitar la formación de raíces, se puede hacer uso de tratamientos que permitan la lixiviación de éstos entre los que se encuentran sustancias antioxidantes como ácido cítrico o ascórbico o bien diferentes tipos de planta madre (considerando la edad) que reduzcan los efectos negativos de los fenoles.

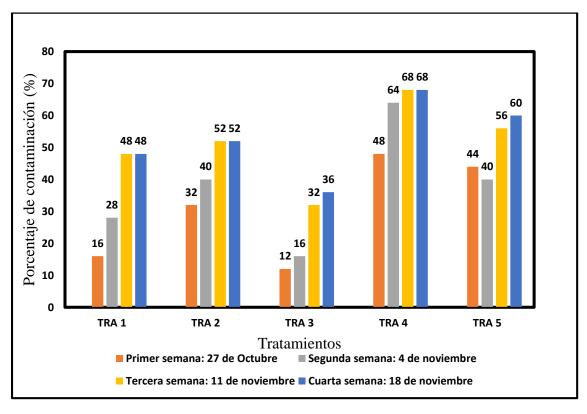
# 5.1.3 Propagación por cultivo in vitro (M3).

En la gráfica 1 puede observarse que el tratamiento 3 (0.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP + 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA) tuvo el mayor porcentaje de sobrevivencia (92 %) con respecto al 5 (0.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP + 0 mg L<sup>-1</sup> de AIA) (52 %), además de obtener el menor porcentaje de contaminación (36 %) (Gráfica 2). Los microrganismos causantes de la contaminación fueron principalmente bacterias y en menor grado hongos. Es preciso destacar que todos los explantes fueron sometidos a un mismo método de desinfestación, sin embargo procedían de diferentes plantas lo cual posiblemente influyó en el nivel de contaminación debido a que los explantes son considerados una de las principales fuentes de contaminación bacteriana además del ambiente de los locales de trabajo, los operadores y las técnicas deficientes de esterilización (Hernández y González, 2010) lo que en conjunto ocasiona pérdidas y dificultades para el cultivo *in vitro* de diversas especies como *Psidium sartorianum*, *Psidium guajava* y *Terminalia amazonia* (Méndez-Álvarez y Abdelnour-Esquivel, 2014; Flores, 2011).



Gráfica 1. Porcentaje de supervivencia de explantes de P. sartorianum





Cuadro 7. Análisis de varianza para porcentaje de oxidación (OXI), número de yemas activadas (NYA) y número de hojas por yema activada (NHY).

F.V.	(OXI)	(NYA)	(NHY)
Tratamientos	1.34 ns	0.54 *	0.38 ns
Error	0.86	0.16	0.17

Cuadro 8. Comparación de medias para número de yemas activadas (NYA).

TRATAMIENTOS (T)	(NYA)	
T1 (0 mg $L^{-1}$ + 0 mg $L^{-1}$ )	0.00	c
$T2 (0.5 \text{ mg L}^{-1} + 0.5 \text{ mg L}^{-1})$	0.00	c
T3 (0.5 mg $L^{-1}$ + 1 mg $L^{-1}$ )	0.44	a
T4 (1.5 mg $L^{-1}$ + 1.5 mg $L^{-1}$ )	0.08	c
T5 (0.5 mg $L^{-1}$ + 0 mg $L^{-1}$ )	0.12	b
DMS (P= 0.05)	0.2842	

De acuerdo con el análisis de varianza (Cuadro 7) se encontraron diferencias significativas para número de yemas activadas (NYA); al aplicar la comparación de medias se observó que 0.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP + 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA originó la activación de yemas de *P. sartorianum* (Cuadro 8). El uso de estos reguladores de crecimiento en especies afines al arrayán, principalmente en guayaba, han permitido la activación de los explantes (Kumar et al., 2009; Flores, 2011; Perales, et al., 2016).

## VI. DISCUSIÓN GENERAL

La propagación sexual de *P. sartorianum* constituye un método complejo debido a la escaza información disponible; el comportamiento de esta especie durante este experimento se caracterizó por porcentajes de germinación bajos, germinación heterogenea y respuesta positiva a los tratamientos pregerminativos; estas características han sido atribuidas en otras especies difíciles de germinar principalmente a la latencia en las semillas como un mecanismo de sobrevivencia y adaptación que responde a causas físicas, fisiológicas o ambas (Guzmán et al., 2013; Pece et al., 2014; Rodríguez-Roque et al., 2012).

Los tratamientos pregerminativos constituyen una herramienta útil para incrementar la germinación, las semillas del arrayán mostraron una respuesta positiva principalmente a la aplicación de ácido giberélico cuyo incremento del 42.11 % en la tasa de germinación con la dosis de 1 500 mg.L<sup>-1</sup> puede ser atribuido a las diversas funciones que realizan las giberelinas durante el proceso de germinación, como la inducción de la síntesis de la enzima alpha amilasa (α- amilasa) que transforma el almidón en azúcares simples que transfiere al embrión para ser usados como alimento (Santacruz et al., 2014; Miransaria y Smith, 2014), sin embargo también el remojo de las semillas en agua caliente incrementó la germinación en un 36.96 % cuando se usó TEM de 65 °C + TRE de 10 min, lo cual puede ser atribuido a los efectos que se provocan en la semilla al ser sumergida en agua caliente como: modificación de la cubierta dura, remoción de inhibidores y reducción del tiempo de germinación (Sánchez-Paz y Ramírez-Villalobos, 2006).

La fuente de semilla constituye un factor importante en la propagación sexual, particularmente para la especie en estudio que presenta problemas de germinación lo que obliga a buscar estrategias que favorezcan este proceso; para el caso que nos ocupa el incremento en el porcentaje de germinación con la combinación FDS 5 + TEM 50 °C + TRE de 10 min, se puede atribuir a una interacción de factores como: la semilla que posee características importantes que influyen en el porcentaje y la velocidad de germinación como: viabilidad (depende de la calidad y cantidad de sustancias químicas contenidas en el embrión), vigor y sanidad (Doria, 2010 y Santacruz et al., 2014); así mismo la temperatura del agua y los tiempos de remojo que permiten el ablandamiento, la permeabilidad y la remoción de inhibidores de la cubierta de la semilla facilitando el proceso de germinación.

La ausencia de resultados en el enraizamiento de estacas confirma lo complicado que resulta la propagación de esta especie lo cual puede ser atribuido a la presencia de fenoles que limitan la formación de raíces ya que en concentraciones altas participan como inductores de la oxidación de auxinas, interfiriendo con la formación de raíces adventicias en estacas de tallo además de que también provocan la muerte celular en el lugar del corte (Latsague y Lara 2003).

La activación de yemas con un medio de MS suplementado con 0.5 mg L<sup>-1</sup> de BAP + 1 mg L<sup>-1</sup> de AIA puede estar relacionada con el efecto que ejercen los reguladores de crecimiento, principalmente las citocininas y auxinas que estimulan la división celular (Perales et al., 2016) además de la diferenciación y el crecimiento (George, 2008).

## VII. CONCLUSIÓNES GENERALES

- 1. La semilla de arrayán presenta limitantes que afectan la germinación, por lo que es necesario el uso de tratamientos pregerminativos como el remojo en agua caliente que combinen temperatura del agua y tiempos de remojo o bien la aplicación de reguladores de crecimiento como el ácido giberélico que estimuló la germinación de una manera ascendente, cuando las dosis se incrementaron, lo cual induce al estudio de nuevas dosis.
- 2. Resulta de vital importancia considerar la fuente de semilla, ya que los resultados demostraron que ejerce un efecto importante en la germinación de semillas de esta especie.
- 3. El enraizamiento de estacas de arrayán resultó un proceso difícil, por lo que es preciso analizar de manera conjunta el efecto de diversos factores como: presencia de fenoles, edad de la planta madre, etapa fenológica en la que se obtiene el material, tipo de material utilizado y humedad relativa, entre otros.
- 4. El cultivo in vitro de arrayán constituye un proceso complejo debido a los problemas de oxidación y contaminación, siendo necesario diseñar una metodología que reduzca sus efectos negativos.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez, R., Quintero, I., Manzano, J., & González, D. (2009). Emergencia y características de plántulas de *Chrysophyllum cainito* L. (Sapotacea) bajo diferentes tratamientos pregerminativos y posición de siembra de la semilla. *Revista UDO Agrícola*, 9(2) ,333-342.

Aparicio-Rentería, A., Juárez-Cerrillo, S. F., & Sánchez-Velásquez, L. R. (2014). Propagación por enraizamiento de estacas y conservación de árboles plus extintos de *Pinus patula* procedentes del norte de Veracruz, México. *Madera y Bosques*, 20(1), 85-96.

Arreguín, M. de la L., Cabrera, L., Fernández, R., Orozco, C., Rodríguez, B., & Yépez, M. (1997). Introducción a la flora del Estado de Querétaro. Querétaro, México: Consejo de Ciencia y Tecnología del Estado de Querétaro.

Atencio, L., Colmenares, R., Ramírez-Villalobos, M., & Marcano, D. (2003). Tratamientos pregerminativos en acacia San Francisco (*Peltophorum pterocarpum*) Fabaceae. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Zulia*, 20, 63-71.

Azcón-Bieto, J., & Talón, M. (2008). Fundamentos de Fisiología Vegetal. España: McGraw-Hill – Interamericana de España.

Brewera, P. B., Koltaib, H., & Beveridgea, C. A. (2013). Diverse Roles of Strigolactones in Plant Development. *Molecular Plant*, 6(1), 18–28.

Borys, M. W., & Leszczyńska- Borys, H. (2001). *El potencial genético frutícola de la República mexicana*. México: Fundación Salvador Sánchez Colín. Cictamex, S. C.

Caspa, R. G., Kuoudiekong, L., Nwegueh, B. A., Tenku njeudeng, S., Lahjou, J. C., & Onana, J. (2009). Effect of different substrates on rooting and shoot development of juvenile stem cuttings

of *Nauclea diderrichii* (De Wild & T. Durand) Merrill. *International Journal of Biological and Chemical Science*, 3(5): 1124-1132.

Camacho, M. F. (1994). *Dormición de semillas, causas y tratamientos*. México, D. F.: Editorial Trillas.

Camacho-Hernández, I. L., Cisneros-Rodríguez, C., Uribe - Beltrán, M. J., Rios-Morgan, A., & Delgado-Vargas, F. (2004). Antifungal activity of fruit pulp extract from *Psidium sartorianum*. *Fitoterapia*, 75, 401- 404.

Castillo-Flores, J. D., López-López, M. A., López-Upton, J., Cetina-Alcalá, V. M., & Hernández-Tejeda, T. (2013). Factores de influencia en el enraizamiento de estacas de *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. et Cham. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 19(1),175-184.

Castrillón, J. C., Carvajal, E., Ligarreto, G., & Magnitskiy, S. (2008). El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes sustratos. *Agronomía Colombiana*, 26(1),16 – 22.

Ceballos, G., List, R., Garduño, G., López, R., Muñozcano, M. J., Collado, E., & San Román, J. E. (2009). *La diversidad biológica del Estado México estudio de Estado*. (1era ed.). México: Biblioteca Mexiquense del Bicentenario.

Chiwocha, S. D. S., Dixon, K. W., Flematti, G. R., Ghisalberti, E. L., Merritt, D. J., Nelson, D. C., Riseborough J. A. M., Smith, S. M., & Stevens, J. C. (2009). Karrikins: A new family of plant growth regulators in smoke. *Plant Science*, 177, 252–256.

Concepción, O., Nápoles, L., Pérez, T. A., Peralta, N., Hernández, M., & Trujillo, R. (2004). Efecto de tres antioxidantes en el cultivo in vitro de ápices de guayaba (*Psidium guajava L.*). Relación entre el origen del explante y el contenido de compuestos fenólicos. *Cultivos tropicales*, 26(1), 33-39.

Cuevas-Cruz, J. C., Jiménez-Casas, M., Jasso-Mata, J., Pérez-Rodríguez, P., López-Uptón, J., & Villegas-Monter, A. (2015). Asexual propagation of *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 21(1), 81–95. doi: 10.5154/r.rchscfa.2014.08.033

Davies, P. J. (2010). Plant Hormones (Third Edition). New York, EUA: Springer.

Delgado-Vargas, F., Díaz-Camacho S. P., Salazar-Zamora, Z. G., Uribe-Beltran, M. J., & Vega-Aviña, R. (2005) *Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied., An Indigenous Plant to Mexico, from Biology to Biological Activity. *Recent Progress in Medicinal Plants*, 13, 81-114.

Diniz da Silva P.R., Rispoli R.G., Minozzo M.M., Jobim L.H., Junges M., & Stefenon V.M. (2014). A regenerative route for *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) through *in vitro* germination and micropropagation. *Annals of forest research*, 57(1), 39-45.

Domínguez, P. L. A. (2011). *Propagación in vitro de selecciones de guayabo (Psidium guajava L.)*. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Texcoco, Edo. de México, México.

Fatemeh, B., & Zaynab, M. (2015). Influence of Rooting Substrate and Cutting Type on Rooting of Cuttings in *Schefflera arboricola* L. Plants. *International Journal of Plant & Soil Science*, 4(3): 281-287.

Flores, E. B. B. (2011). *Propagación in vitro de portainjertos para guayabo: Cass (Psidium friedrichsthalianum) y (Psidium sartorianum)*, Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Edo. de México, México.

Garate, D. M. H. (2010). *Técnicas de propagación por estacas*. Tesis de Licenciatura, Ucayali-Perú, Universidad Nacional de Ucayali, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela Profesional de Agronomía, [en línea] ,20-01-2014.

García, Y., Ramos, J. M., & Becerra, J. (2011). Semillas forestales para la restauración ecológica. *Biodiversistas*, 94, 12-15.

Ghayyad, M., Kurbysa, M., & Napolsy G. (2010). Effect of Endocarp Removal, Gibberelline, Stratification and Sulfuric Acid on Germination of Mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) Seeds. *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 9(2), 163-168.

George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk G. J. (2008). *Plant Propagation by Tissue Culture*. (3rd Edition), Dordrecht, The Netherlands: Springer Verlag.

Giraldo, C. L. A., Ríos, O. H. F., & Polanco, M. F. (2009). Efecto de dos enraizadores en tres especies forestales promisorias para la recuperación de suelos. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 1, 41-47.

Gomez-Catañeda, J. A., Ramirez, H., Benavides-Mendoza, A., & Encina-Rodriguez, I. (2003). Germinación y crecimiento de plántula en chincuya (*Annona purpurea* Moc y Sessé) y su relacion con los niveles de giberelinas y ácido abscísico. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 9(2):243-253.

Gómez, I., Olivera, Y., & Botello, A. (2009). Efecto de diferentes métodos de escarificación en la emergencia de semillas frescas de *Samanea saman* (algarrobo). *Pastos y Forrajes*, 32(4), 1-8.

González, E. C. (1992). "Micropropagación de Guayabillo Psídíum sartoríanum (Berg.) Níedenzu", Tesis Profesional, Universidad de Guadalajara, Facultad de Ciencias Biológicas Guadalajara, Jalisco.

González, R., & Rodríguez, D. S. (2012). Frutos mesoamericanos breve historia de sabores y sinsabores. *Biodiversistas*, 103, 6-11.

González, Y., Reino, J., & Machado, R. (2009). Dormancia y tratamientos pregerminativos en las semillas de *Leucaena* spp. cosechadas en suelo ácido. *Pastos y Forrajes*, 32(4), 1-8.

Guzmán, A. M., Cruz, E., & Miranda, C. A. (2013). Germinación de semillas de *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 4(20), 82-89.

Hartmann, H.T., & Kester D.E. (1992). *Propagación de Plantas; principios y prácticas*. (2da edición). CECSA: México, D. F.

Hernández, S. E., & García-Martínez, I. (2016). Brasinoesteroides en la agricultura. I. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(2), 441-450.

Hernández, Y., & González, M. E. (2010). Efectos de la contaminación microbiana y oxidación fenólica en el establecimiento *in vitro* de frutales perennes. *Cultivos Tropicales*, 31(4), 00-00.

Jankiewicz, L. S. (2003). *Reguladores de crecimiento, desarrollo y resistencia de plantas*. México: Ediciones Mundi-Prensa.

Kumar, R. M., Shanker, J. V., & Jaiswal, U. (2009). Shoot multiplication and plant regeneration of guava (*Psidium guajava* L.) from nodal explants of in vitro raised plantlets. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 17(1), 29-38.

Andrew R. King, R. A., Arnold, A.M., Welsh, F. D., & Watson, T. W. (2011). Substrates, Wounding, and Growth Regulator Concentrations Alter Adventitious Rooting of Baldcypress Cuttings. *Hortscience*, 46(10),1387–1393.

Lascurain, M., Avendaño, S., Del amo S., & Niembro, A. (2010). *Guía de frutos silvestres comestibles en Veracruz*, (Primera Edición), México: Fondo Sectorial para la Investigación, el Desarrollo y la Innovación Tecnológica Forestal, Conafor-Conacyt, México.

Latsague, V. M., Sáez, D. P., & Coronado, A. L. (2010). Tratamientos pregerminativos para *Myrceugenia exsucca* (Myrtaceae). *Bosque*, 31(3), 243-246.

Latsague V. M., & Lara G. J. (2003). Fenoles solubles totales y su relación con la inhibición de la rizogenesis en estacas de *Nothofagus pumilio* (Poepp. et endl.) krasser. *Gayana Botánica*, 60 (2), 90-93.

León, J., & Saldaña, J. S. (2011). Tratamientos pregerminativos de las semillas de *Euterpe* precatoria Mart. En Santo Tomas, Loreto-Perú. *Pittieria*, 35,63-70.

Loeza-Corte. J. M., Díaz-López, E., Campos-Pastelín, J. M., & Orlando-Guerrero, J. I. (2013). Efecto de lignificación de estacas sobre enraizamiento de *Bursera morelensis* Ram. y *Bursera galeottiana* Engl. en la Universidad de la Cañada en Teotitlán de Flores Magón, Oaxaca, México. *Ciencia Ergo Sum*, 20(3), 222-226.

López, D., Hernández, J. A., Rodríguez, P. B., Orantes, C., & Garrido, E. R. (2010). Efecto de la escarificación mecánica e inmersión en agua caliente, sobre el letargo de semillas de guapinol (*Hymenaea courbaril* L. Fabaceae). *Lacandonia*, 4(2), 37-51.

Machado, A., Augusto, N., Blankenship, E., & Paparozzi, E. (2009). Gibberellic Acid Promotes Seed Germination in *Penstemon digitalis* cv. Husker Red, *HortScience* 44(3),870–873.

Mandujano, M. C., Golubov, J., & Rojas-Arechiga, M. (2007). Efecto del ácido giberélico en la germinación de tres especies del género Opuntia (Cactaceae) del desierto chihuahuense. Cactáceas y Suculentas Mexicanas, 52(2), 46-52.

Marquéz, G. J., Collazo, O. M., Martínez, G. M., Orozco, S. A., & Vázquez S. S. (2013). *Biología de angiospermas*. (Primera Edición), México: Universidad Nacional Autónoma de México.

Martinez, G., Orozco, A., & Martorell, C. (2006). Efectividad de algunos tratamientos pregerminativos para ocho especies leñosas de la mixteca alta Oxaqueña con caracterizticas relevantes para la restauracion. *Boletin de la Sociedad Botánica de México*,79,9-20.

Martínez-De La Cruz, I., Rubí-Arriaga M., González-Huerta A., Pérez-López, D. J., Franco-Mora O., & Castañeda-Vildózola A. (2015). Frutos y semillas comestibles en el Estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(2), 331-346.

Méndez-Álvarez, D., & Abdelnour-Esquivel, A. (2014). Establecimiento *in vitro* de *Terminalia amazonia* (Gmel.) Excell. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*,11(27), 2215-2504.

Miransaria, M., & Smith, D.L. (2014) Plant hormones and seed germination. *Environmental and Experimental Botany*, 99, 110–121.

Montalvo G., Quiala E., Matos J., Morffi H., de Feria A., Chávez M., de la O M., Balbón R., & Pérez M. (2010). *In vitro* establishment and acclimatization of two threatened species of the genus *Eugenia* (Myrtaceae), *Acta Horticulturae*, 849, 235-240.

Moreno, B. N.E., Miranda, D., & Martínez, M. F. E. (2013). Germinación de semillas de anón (*Annona squamosa* L.) sometidas a estratificación. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(1), 20-30.

Orantes-García, C., Pérez-Farrera, M. A., Rioja-Paradela, T. P., & Garrido-Ramírez, E. R. (2013). Viabilidad y germinación de semillas de tres especies arbóreas nativas de la selva tropical, Chiapas, México. *Polibotánica*, 36, 117-127.

Otahola G. V. A., & Vidal G. (2010). Efecto de las características de la estaca y la utilización de ANA en la propagación de parchita (*Passiflora edulis* f. flavicarpa Deg.). *Revista Científica UDO Agrícola* 10(1), 29-35.

Plascencia, R.l., Castañón, A., & Raz-Guzmán, A. (2011). La biodiversidad en México su conservación y las colecciones biológicas. *Ciencias*, 101,36-43.

Pece, M. G., Sobrero, M. T., Acosta, M., & Rossi, F. (2014). Tratamientos pregerminativos en *Geoffroea decorticans* (Gillies ex Hook. & Arn.) Burkart var. decorticans. *Foresta Veracruzana*, 16(2), 31-36.

Pennington, T. D., & Sarukhan, J. (1968). Árboles Tropicales de México. México, D.F.: Instituto de Investigaciones Forestales y Organizacion de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

Perales A. L., Silos E. H., Valera M. L. L., Perales S. C., & Flores B. S. (2016). Propagación in vitro de guayaba (*Psidium guajava* L.) a partir de segmentos nodales. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 7(2), 375-386.

Pío-León, J.F., Díaz-Camacho, S. P., López-López, M. A., Uribe-Beltrán M. J., Williams, K., López-Angulo, G., Montes Ávila, J., & Delgado-Vargas, F. (2013). Actividad antibacteriana de extractos de frutos de nanchi (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth), (*Psidium sartorianum* (O. Berg) Nied.) y ayale (*Crescentia alata* Kunth). *Boletín Latinoamericano del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 12(4), 356–364.9

Quintero, S. A. I., Rodríguez T. D. A., Guízar N. E., & Bonilla B. R. (2008). Propagación vegetativa de la vara de perlilla (*Symphoricarpos microphyllus H.B.K.*). *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 14(1), 21-26.

Rai, M. K., Jaiswal V. S., & Jaiswal, U. (2009). Shoot multiplication and plant regeneration of guava (*Psidium guajava* L.) from nodal explants of *in vitro* raised plantlets. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 17(1), 29-38.

Ramirez-Villalobos, M., Urdaneta-Fernandez, A., & Vargas-Simon, G. (2004). Tratamientos con ácido indolbutírico y lesionado sobre el enraizamiento de estacas de icaco (*Chrysobalanus icaco* L.). *Agronomía Tropical*, 54(2), 203-218.

Rebollar, R. S., Rubí, A. M., & González, R. F. J. (2013). Producción y comercialización de *Psidium sartorianum* O. Berg Nied en el sur del estado de México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 16(33), 514-526.

Rodríguez-Roque, Y., Sotolongo-Sospedra, R., Villafranca-Izquierdo, Y., Miñoso-Bonilla, Y., Fleitas-Camacho, Y., Urrutia-Hernández, I., Rodríguez-Alfaro, B., & Rodríguez-Valdez, E. (2012). Influencia de tratamientos pregerminativos en semillas de *Psidium salutare* (H.B.K.) en viñales. *Revista Forestal Baracoa*, 31(1), 79-84.

Rubí-Arriaga M., González-Huerta A., Martínez-De La Cruz I., Franco-Mora O., Ramírez-Dávila J. F., López-Sandoval J. A., & Hernández-Flores G. V. (2014). Inventario de especies frutales y aspectos etnobotánicos en Sultepec, Estado de México, México. *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 83,203-211.

Ruiz-Solsol, H., & Mesén, F. (2010) Efecto del ácido indolbutírico y tipo de estaquilla en el enraizamiento de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Agronomía Costarricense*, 34(2), 259-267.

Salisbury, F. B. & Ross, C. W. (2000). Fisiología de las plantas. España: Thompson Editores.

Salvarrey, M. M. J. (2008). Evaluación de diferentes técnicas de propagación vegetativa en "guayabo del país" (Acca sellowiana (Berg.) Burret.). Tesis de Licenciatura, Universidad de La República, Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay.

Sánchez-Paz, Y., & Ramírez-Villalobos M. (2006). Tratamientos pregerminativos en semillas de *Leucana leucocephala* (Lam.) de Wit. y *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. *Revista de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Zulia*, 23, 257-272.

Sánchez-Vidas, P. E. (1990). *Myrtaceae*. Flora de Veracruz, Fascículo 62. Instituto de Ecología, A. C. Xalapa, Ver.

Santacruz, R. F., Castañeda N. J. J., Gaspar, P. A. M., Núñez, S. N., & Mora, S. A. (2014). Rompimiento de la dormancia en semillas y propagación in vitro de *Cordia elaeagnoides* A. DC. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5(25), 84-97.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2014). Consultado el 19-06-2015 en http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/

Sobrevilla – Solís, J. A., López – Herrera, M., López – Escamilla, A. L., & Romero – Bautista, L. (2013). Evaluación de diferentes tratamientos pregerminativos y osmóticos en la germinación de semillas *Prosopis leavigata* (Humb. & Bonpl. Ex Willd) M.C. Johnston. *Estudios Científicos en el Estado de Hidalgo y Zonas Aledañas*, 2, 83 – 95.

Tariq, S. S., Zamir, R., Ahmad, J., Ali, H., & Lutfullah, G. (2008). *In vitro* regeneration of plantlets from seedlings explants of guava (*Psidium guajava* L.) cv. Safeda. *Pakistan Journal of Botany Impact Factor*, 40(3), 1195-1200.

Thorpe, A. T. (2008). History of Plant Tissue Culture. Plant Cell Culture Protocols, 318, 9-32

Trejo, M. E. (2013). Propagación sexual y asexual de Quercus microphylla Née, de dos procedencias del centro de México. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.

Varela, S. A., & Arana, V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Serie técnica: "Sistemas Forestales Integrados"*, 3,1-10.

Villa-Castorena1, M., Catalán-Valencia, E. A., Inzunza-Ibarra, M. A., González-López, M. de L., & Arreola- Ávila, J. G. (2010). Producción de plántulas de candelilla (*Euphorbia antisyphilitica* Zucc.) mediante estacas. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 16(1), 37-47.

Villaseñor, J. L., & Ortiz, E. (2014). Biodiversidad de las plantas con flores (División Magnoliophyta) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85,134-142, DOI: 10.7550/rmb.31987.

Yépez, F., & Arboleda, M. E. (2009). Promoción de la emergencia en urape (*Bauhinia monandra* Kurz) y retana (*Thevetia peruviana* (Pers) Shun), especies potenciales para la arboricultura urbana. *Bioagro*, 21(1), 15-22.

Yruela, I. (2015). Plant development regulation: Overview and perspectives. *Journal of Plant Physiology*, 182, 62–78.

Zamir, R., Ali, N., Shah, S. T., Muhammad, T., & Shah, S. A. (2007). *In vitro* re-generation of guava (*Psidium guajava* L.) from shoot tips of mature trees. *Nuclear Institute for Food and Agriculture* (*NIFA*), 39(7), 2395-2398.