

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



“Avances en la micropropagación de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (Bignoniaceae) y
Cordia elaeagnoides A. DC. (Boraginaceae)”

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

CARLOS FERNANDO REGLA MÁRQUEZ

LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JALISCO, DICIEMBRE DEL 2007



Universidad de Guadalajara

**Centro Universitario de Ciencias Biológicas y
Agropecuarias**

**Coordinación de Carrera de Licenciado en Biología
986/ C. C. BIOLOGÍA**

**M en C. PORTILLO MARTÍNEZ LIBERATO - SINODAL TITULAR
ING. RAYMUNDO RAMÍREZ DELGADILLO- SINODAL TITULAR
M en C. RAFAEL SOLTERO QUINTANA- SINODAL TITULAR
M en C. JESÚS JACQUELINE REYNOSO DUEÑAS- SINODAL SUPLENTE
P R E S E N T E.**

Por medio de la presente comunicamos a usted que ha sido designado como sinodal para el proyecto: "Avances en la micropropagación de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (Bignoniaceae) y *Cordia laeagnoides* A. DC. (Boraginaceae)" elaborado por el alumno: C. CARLOS FERNANDO REGLA MÁRQUEZ con la MODALIDAD: Tesis e Informes OPCIÓN: Tesis

El Director del Trabajo es el: DR. FERNANDO SANTACRUZ RUVALCABA y el asesor/a es el/la: M en C. ANTONIO MORA SANTACRUZ.

Le reiteramos que como sinodal, le corresponde evaluar la viabilidad (si/no) de este proyecto y, en su caso de aprobarlo. Se requiere que su respuesta no exceda el plazo de una semana a partir de la fecha en que lo reciba.

Sin más por el momento, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

**ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"**

Las Agujas, Zapopan., 9 de Febrero del 2007.

**DR. CARLOS ÁLVAREZ MOYA
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

**M en C. ISELA LETICIA ÁLVAREZ BARAJAS
SECRETARIO DEL COMITÉ DE TITULACIÓN**

DR. FCO. MARTÍN HUERTA MARTÍNEZ.
PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACIÓN.
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA.
CUCBA.
PRESENTE

TESIS/CUCBA

Nos permitimos informar a usted que habiendo revisado el trabajo de titulación, modalidad Tesis e Informes, opción Tesis con el título: "Avances en la micropropagación de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (Bignoniaceae) y *Cordia elaeagnoides* A. DC. (Boraginaceae)" que realizó el pasante CARLOS FERNANDO REGLA MÁRQUEZ con número de código 398536884 consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorizar su impresión.

Sin otro particular quedamos de usted con un cordial saludo.

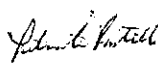

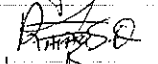
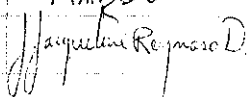
ATENTAMENTE
Las Agujas, Zapopan, Jal., Octubre 19 del 2007



DIRECTOR
DR. FERNANDO SANTACRUZ
RUVALCABA



ASESOR
MC. ANTONIO MORA SANTACRUZ

Nombre completo de los Sinodales asignados por el Comité de Titulación	Firma de aprobado	Fecha de aprobación
DR. PORTILLO MARTÍNEZ LIBERATO		19 octubre 2007
ING. RAMÍREZ DELGADILLO RAYMUNDO		24/oct./2007
MC. RAFAEL SOLTERO QUINTANA		7/nov/2007
SUPL. MC. JESÚS JACQUELINE REYNOSO DUEÑAS		24/oct./2007

AGRADECIMIENTOS

A Dios por su amor, protección y por dame una familia que siempre esta a mi lado.

A mis padres Higinio Regla Vázquez y María Teresa Márquez Amezcua que siempre me han brindado su amor, apoyo y me han impulsado a terminar mis estudios.

A mis hermanos Higinio y María Teresa por su apoyo y ejemplo.

Al Dr. Fernando Santacruz Ruvalcaba por su paciencia, asesoría y ayuda en la realización de mi trabajo de tesis.

Al M. en C. Antonio Mora Santacruz por su asesoría.

A la Lic. Ana María Gaspar Peralta por sus ideas para mi trabajo de tesis y apoyo.

ÍNDICE

	Página
ÍNDICE	i
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE CUADROS	iv
RESUMEN	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	3
2.1.1. <i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) DC. (Bignoniaceae)	3
2.1.2. <i>Cordia elaeagnoides</i> A. DC. (Boraginaceae)	5
2.2. DISTRIBUCIÓN EN MÉXICO	7
2.2.1. Distribución de <i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) DC. (Bignoniaceae)	7
2.2.2. Distribución de <i>Cordia elaeagnoides</i> A. DC. (Boraginaceae)	8
2.3. USOS	9
2.3.1. Usos de <i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) DC. (Bignoniaceae)	9
2.3.2. Usos de <i>Cordia elaeagnoides</i> A. DC. (Boraginaceae)	9
2.4. PROPAGACIÓN EN VEGETALES	10
2.5. CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES	11
2.5.1. Micropropagación <i>in vitro</i> de especies forestales	12
2.6. PLANTACIONES FORESTALES	14
2.6.1. Plantaciones forestales en el mundo	14
2.6.2. Plantaciones forestales en América del Norte y Central	14
2.6.3. Plantaciones forestales en México	14
2.6.4. Plantaciones comerciales establecidas por el Fideicomiso para la Administración del Programa de Desarrollo Forestal de Jalisco (FIPRODEFO)	15
2.7. REFORESTACIÓN CLONAL	17
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	20

4.1. HIPÓTESIS	20
4.2. OBJETIVOS	20
5. MATERIALES Y MÉTODOS	21
5.1. OBTENCIÓN DE MATERIAL	21
5.1.1. Material vegetal de <i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) DC. (Bignoniaceae)	21
5.1.2. Material vegetal de <i>Cordia elaeagnoides</i> A. DC. (Boraginaceae)	21
5.2. EXPERIMENTOS	22
5.2.1. Proliferación de yemas axilares en brotes de <i>Tabebuia rosea</i>	22
5.2.2. El efecto del uso de MS con calcio doble y carbón activado en la proliferación de yemas axilares en brotes de <i>Tabebuia rosea</i>	22
5.2.3. Proliferación de yemas axilares en nudos de <i>Tabebuia rosea</i>	23
5.2.4. Aislamiento de yemas axilares de <i>Tabebuia rosea</i>	23
5.2.5. Establecimiento <i>in vitro</i> de semillas de <i>Cordia elaeagnoides</i>	24
5.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	25
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
6.1. PROLIFERACIÓN DE YEMAS AXILARES EN BROTES DE <i>Tabebuia rosea</i>	26
6.2. EL EFECTO DEL USO DE MS CON CALCIO DOBLE Y CARBÓN ACTIVADO EN LA PROLIFERACIÓN DE YEMAS AXILARES EN BROTOS DE <i>Tabebuia rosea</i>	28
6.3. PROLIFERACIÓN DE YEMAS AXILARES EN NUDOS DE <i>Tabebuia</i> <i>rosea</i>	30
6.4. AISLAMIENTO DE YEMAS AXILARES DE <i>Tabebuia rosea</i>	31
6.5. ESTABLECIMIENTO <i>IN VITRO</i> DE SEMILLAS DE <i>Cordia</i> <i>elaeagnoides</i>	33
7. CONCLUSIONES	36
8. LITERATURA CITADA	37

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Distribución de <i>Tabebuia rosea</i> en México (Pennington y Sarukhán, 2005).	7
Figura 2. Distribución de <i>Cordia elaeagnoides</i> en México (Pennington y Sarukhán, 2005).	8
Figura 3. Procesos de desinfección de semillas de <i>Cordia elaeagnoides</i> .	25
Figura 4. Número de yemas de <i>T. rosea</i> estimuladas por repetición con diferentes dosis de 2iP (mg/L) a los 45 d.	27
Figura 5. Brotes de <i>Tabebuia rosea</i> con yemas axilares estimuladas. A) Yema axilar.	28
Figura 6. Nudos de <i>Tabebuia rosea</i> con yemas axilares estimuladas a los 30 d A) Nudos B) Yemas axilares estimuladas.	31

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Áreas potenciales para el desarrollo de plantaciones forestales comerciales de once especies promisorias en Jalisco (PRODEFO, 2005).	16
Cuadro 2. Análisis de varianza de los tratamientos para número de yemas axilares estimuladas de <i>Tabebuia rosea</i> por brote a los 45 d.	26
Cuadro 3. Comparación múltiple de medias para el número de yemas de <i>Tabebuia rosea</i> estimuladas por repetición con diferentes dosis de 2iP (mg/L) a los 45 d. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).	27
Cuadro 4. Análisis de varianza de los tratamientos para número de yemas axilares estimuladas por brote de <i>Tabebuia rosea</i> , medio con MS completo, utilizando como factores 2iP y AIA, a los 45 d.	29
Cuadro 5. Análisis de varianza de los tratamientos para número de yemas axilares estimuladas por brote de <i>Tabebuia rosea</i> , medio con MS con calcio doble, utilizando como factores 2iP y AIA, a los 45 d.	29
Cuadro 6. Análisis de varianza de número de yemas axilares estimuladas de nudos aislados de <i>Tabebuia rosea</i> en cuatro medios de cultivo a los 30 d.	30
Cuadro 7. Comparación múltiple de medias para el número de yemas axilares estimuladas de <i>Tabebuia rosea</i> para cuatro medios de cultivo. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).	30
Cuadro 8. Análisis de varianza de número de yemas axilares aisladas estimuladas de <i>Tabebuia rosea</i> en cuatro medios de cultivo.	31
Cuadro 9. Análisis de varianza para número de yemas estimuladas de <i>Tabebuia rosea</i> a los 30 d, utilizando como factores número de yemas axilares en nudos y número de yemas axilares aisladas.	32
Cuadro 10. Comparación múltiple de medias para número de yemas axilares estimuladas de <i>Tabebuia rosea</i> para el tipo de medio, a los 30 d. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).	33

Cuadro 11.	Análisis de varianza de semillas de <i>Cordia elaeagnoides</i> infectadas colocadas <i>in vitro</i> con los factores tratamiento temperatura, tiempo de desinfección en hipoclorito de sodio al 1.8% en agua destilada esterilizada y remojadas 24 h en 420 mg/100mL de ácido giberélico.	33
Cuadro 12.	Comparación múltiple de medias para número de semillas de <i>Cordia elaeagnoides</i> infectadas para el factor tratamiento con temperatura para desinfección. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).	34
Cuadro 13.	Comparación múltiple de medias para semillas de <i>Cordia elaeagnoides</i> infectadas para el factor tiempo de desinfección en hipoclorito de sodio al 1.8% en agua destilada esterilizada. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).	34
Cuadro 14.	Comparación múltiple de medias para semillas de <i>Cordia elaeagnoides</i> infectadas para el factor remojadas en 420 mg de ácido giberélico en 100 mL de agua. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).	35

RESUMEN

Las especies maderables tropicales son muy apreciadas por la hermosura y resistencia de su madera entre ellas se encuentran *Tabebuia rosea* y *Cordia elaeagnoides*. En el presente trabajo se evaluaron diferentes dosis de ácido indolacético (AIA), de 0.15 mg/L a 0.3 mg/L, y 2-isopentiladenina (2iP), de 1.5 mg/L a 9 mg/L, para la estimulación de yemas axilares de brotes de *Tabebuia rosea* establecidos *in vitro*, así como el empleo de carbón activado y calcio como antioxidantes y el establecimiento *in vitro* de semillas de *C. elaeagnoides*. Se encontró que el regulador 2iP en 1.5, 3 y 4.5 mg/L tiene mejores resultados en la estimulación de yemas axilares de *T. rosea* y que el uso de calcio doble en el medio de cultivo y carbón activado no ayudó en el problema de oxidación de brotes de *T. rosea*. En el establecimiento *in vitro* de semillas de *C. elaeagnoides* se encontró que un tratamiento en agua a 70°C por 7 minutos ayuda en la desinfección. En el uso de hipoclorito de sodio al 1.8 % en agua destilada estéril se encontró que el mejor tiempo fue 7.5 minutos. En lo que respecta a la germinación de semillas al remojarlas en ácido giberélico por 24 h no mejoró dicha condición ya que ninguna de ellas germinó y se encontró que al remojarlas incrementaba la incidencia de hongos.

1. INTRODUCCIÓN

Los bosques tropicales de México se pueden clasificar en tres tipos: bosque tropical perennifolio, bosque tropical subcaducifolio y bosque tropical caducifolio (Rzedowski, 1981).

El bosque tropical perennifolio es el tipo de vegetación más exuberante de todos los que existen en el mundo, pues le corresponde un clima en el cual ni la falta de agua ni la de calor constituyen factores limitantes del desarrollo de las plantas a lo largo de todo el año.

En el bosque tropical subcaducifolio al menos la mitad de los árboles dejan caer sus hojas durante la temporada de estío, pero hay muchos componentes siempre verdes y otros que sólo se defolían por un período corto a veces de unas cuantas semanas. En consecuencia esta comunidad presenta cierto verdor aún en las etapas más secas del año.

El bosque tropical caducifolio es un conjunto de bosques propios de regiones de clima cálido y dominado por especies arborescentes que pierden sus hojas en la época seca del año durante un lapso variable; pero que por lo general, oscila alrededor de seis meses.

Los bosques de México están siendo destruidos rápidamente, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) anunció una pérdida anual de 678,000 ha de cobertura forestal de 1980-1990 y de 631,000 ha por año entre 1990 y 2000, aunque otros autores señalan una pérdida de 615,000 ha, de las cuales alrededor de 470,000 ha son de bosque tropical (Villavicencio y Valdéz, 2003). El proceso comienza por la extracción de algunas especies maderables, seguido por la tala completa de la selva para el cultivo de maíz u otras especies durante unos cuantos años, para terminar con el establecimiento de pastizales en una explotación ganadera de muy baja eficiencia que no produce el suficiente ingreso económico a los dueños de la tierra (Pennington y Sarukhán, 1998). Altamirano (1897) citado en Flores y Linding-Cisneros (2005), ya señalaba un gran deterioro de los bosques mexicanos y abordó la necesidad de repoblarlos. En los últimos años, ha aumentado el interés en el establecimiento de proyectos de

reforestación con especies nativas, como medio para suplir mercados de maderas tropicales existentes y como un camino para detener la sobreexplotación de los recursos naturales (Piotto *et al.*, 2004); *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (Bignoniaceae) y *Cordia elaeagnoides* A. DC. (Boraginaceae) son especies con potencial para usarse con éxito en plantaciones comerciales con fines maderables ya que: son nativas, por la calidad de su madera y su adaptabilidad a suelos que otras especies no podrían resistir.

Metodologías de propagación asexual se perfilan como adecuadas para manejar estas especies en plantaciones comerciales, ya que presenta la ventaja de duplicar el genotipo de la planta madre (clonación) sin perder las características seleccionadas como deseables. Se han empleado métodos de reproducción asexual en *Tabebuia rosea* por estacas (Jarma *et al.*, 2006) y se reportan dos trabajos en su micropropagación *in vitro* (Schuler *et al.*, 2005; Suarez *et al.*, 2006)

La micropropagación es una forma de cultivo de tejidos usada para regenerar nuevas plantas desde pequeños explantes, pudiendo seleccionar arboles elite que estén mejor adaptados al sitio, esperando obtener a partir de ellos la cantidad de clones deseada de forma rápida, con las características de la planta madre, en cualquier época del año y si es necesario almacenar material vegetativo por periodos largos.

2. ANTECEDENTES

2.1 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

2.1.1 *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (Bignoniaceae)

Nombres comunes:

México: *Campeche:* rosa morada; *Chiapas:* macuelis de bajo (Zona Lacandona), palo blanco, macuilís, maculís, maculishuate, tural, yaxté (Tojolobaj); *Guerrero:* roble, roble blanco, satanicua; *Jalisco:* amapa, rosa morada; *Nayarit:* amapa, amapola rosa; *Oaxaca:* li-ma-ña (Chimanteco), macuil (Costa), roble, roble blanco, roble prieto (Norte); *Puebla:* palo de rosa (Norte); *Quintana Roo:* rosa morada; *San Luis Potosí:* cachahua, cul (Huasteco), ícotl (Sureste), nocoque, palo de rosa, roble, roble blanco, roble de San Luis; *Sinaloa:* amapola, palo yugo, primavera; *Tabasco:* macuilís, maculís; *Tamaulipas:* palo de rosa; *Veracruz:* palo de rosa (Norte); *Yucatán:* hok'ab, kok'ab (Maya) (Pennington y Sarukhán, 1998; PRODEFO, 2001).

Otros países: *Colombia:* flor morado, guayacán morado, ipe, ocobo, roble de sabana, roble morado, roble rosado; *Ecuador:* roble de Guayaquil; *Nicaragua:* roble macuelizo; *República Dominicana:* roble blanco; *Venezuela:* apamate (PRODEFO, 2001)

Forma: Árbol de hasta 25 m y un diámetro a la altura del pecho (d.a.p) de hasta 70 cm, tronco erecto, a veces ligeramente acanalado, con pocas ramas gruesas y horizontales y ramificación simpódica, con la copa estratificada.

Corteza: Fisurada y suberificada con algunas de las costillas escamosas, pardo grisácea a amarillenta, interna de color claro a crema rosado, en ocasiones con expansiones de parénquima, fibrosa, amargo o agridulce. Grosor total de la corteza de 16 mm-30 mm.

Madera: Albura de color crema amarillento, con algunos vasos grandes y bandas conspicuas y abundantes de parénquima paratraqueal (Pennington y Sarukhán, 1998).

Características macroscópicas de la madera:

Vasos: solitarios en su mayoría, abundantes, de tamaño mediano; **parénquima:** abundante. Aliforme a aliforme confluyente, formando bandas que en consecuencia presenta un veteado pronunciado; **radios:** finos y abundantes, tiene estratificación en la cara tangencial de la madera. **Veteado:** pronunciado debido a líneas de parénquima en arco superpuestos (tangencial). Presenta estructura estratificada. **Color:** albura de color inicialmente rosa pálido tornándose pardo grisácea conforme se ocurre la transición gradual al duramen, el cual es de color pardo, pardo dorado o nogal oscuro. **Olor:** ningún olor o sabor distinto. **Grano:** de recto a entrecruzado. **Textura:** de mediana a burda. **Brillo:** mediano. (Bravo y Fuentes, 1993)

Hojas: Yemas de 5 mm de largo, anchas, desnudas, con abundantes escamas pequeñas y algunos pelos ferruginosos simples. Estípulas ausentes. Hojas decusadas, digitado-compuestas, de 10-35 cm de largo incluyendo el pecíolo; cinco folíolos, los inferiores más pequeños, lanceolados o elípticos, con el margen entero, ápice agudo o acuminado, base cuneada, redondeada o truncada; haz verde oscuro, envés verde amarillento con abundantes escamas visibles con la lupa en ambas superficies.

Flores: Panículas cortas con las ramas cimosas, en las axilas de hojas abortivas o terminales, de hasta 15 cm de largo; flores zigomorfas; cáliz blanco verdoso o pardo; corola de 7-10 cm de largo, tubular en la parte inferior, expandida en la parte superior en un limbo bilabiado; labio superior con tres grandes lóbulos obovados, obtusos; labio inferior con dos lóbulos; tubo de la corola blanco; lóbulos de color lila rosado.

Frutos: Silicuas estrechas de hasta 35 cm de largo, lisas, con dos suturas laterales, péndulas, pardo oscuras, cubiertas con numerosas escamas visibles con lupa, con el cáliz persistente, contiene numerosas semillas aladas y delgadas, blanquecinas, de 2 a 3 cm de largo (Pennington y Sarukhán, 1998).

2.1.2 *Cordia elaeagnoides* A. DC. (Boraginaceae)

Nombres comunes:

Colima: barcino; *Chiapas*: gretaña, grisifño; *Guerrero*: cueramo, bocate, bocote, bogote, güeramo; *Jalisco*: cueramo, barcino, bocote, güeramo; *Michoacán*: cueramo, bocote, bojote, güeramo; *Oaxaca*: anacahuite de Tehuantepec, bocote, bojote, cueramo, grisifña de ocote, guiri siña, guire-xira (Zapoteco), ocotillo, ocotillo meco, quiri-xina (León, 1985; Pennington y Sarukhán, 1998).

Forma: Árbol de hasta 20 m de altura y de hasta 30 cm de d.a.p, tronco derecho, con las ramas gruesas y horizontales y la copa dispersa.

Corteza: Externamente fisurada con las costillas escamosas y suberificadas, pardo grisácea. Interna de color crema amarillento, que cambia a pardo, laminada, amarga. Grosor total de cerca de 13 mm.

Madera: Albura de color crema parduzco, con vasos grandes, parénquima vasicéntrico y bandas de parénquima apotraqueal y rayos conspicuos. Madera dura (Pennington y Sarukhán, 1998).

Características macroscópicas de la madera:

Vasos: principalmente solitarios y en grupos de dos, escasos de tres a cinco, semianulares. **Parénquima:** es apotraqueal, vasicéntrico y aliforme confluyente, más o menos abundante. **Radios:** poco numerosos y heterogéneos, multiseriados de cuatro a cinco series. **Color:** un color de albura amarillento con un duramen pardo oscuro, donde se notan líneas o bandas irregulares de color aún más oscuro alternadas al azar. **Olor:** seca no presenta olor, sin embargo, ligeramente característico cuando húmeda. **Textura:** mediana fina. **Vetado:** muy pronunciado. **Brillo:** poco lustrosa. **Anillos de crecimiento:** son visibles a simple vista, sin embargo, pueden confundirse con las líneas más pigmentadas e irregulares. **Grano:** irregular (Bravo y Fuentes, 1993).

Hojas: Yemas de 4-10 mm de largo, ovoides, desnudas, grises con pubescencia adpresa. Estípulas ausentes. Hojas dispuestas en espiral, simples; láminas de 6.5 × 3 a 14 × 6.5 cm, ovadas o elípticas, con el margen entero, ápice acuminado, verde oscuro en el haz, grisácea en el envés, éste último seríceo con abundantes pelos adpresos, nervadura prominente en el envés; abundantes puntos

glandulosos transparentes; pecíolos de 2-4 cm de largo. Las hojas son caducas los meses de abril-junio.

Flores: Amplias panículas axilares o terminales de 10-20 cm de largo; pedicelos de 2-5 mm de largo; flores actinomorfas de 2-2.5 cm de diámetro; cáliz campanulado de 5-6 mm de largo; corola blanca, tubular en la parte inferior, expandida en la parte superior en cinco lóbulos oblongos. Florece de septiembre a diciembre.

Frutos: Nuececilla con todas las partes florales persistentes; los pétalos convertidos en alas papiráceas morenas, de hasta 2.8 cm de diámetro; contiene hasta cuatro semillas cercanas a 3 mm de largo, alargadas. Maduran de noviembre a febrero (Pennington y Sarukhán, 1998).

2.2 DISTRIBUCIÓN EN MÉXICO

2.2.1 Distribución de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (Bignoniaceae)

T. rosea tiene una amplia distribución, se conoce desde Sudamérica hasta México (Rzedowski, 1981). En México se encuentra en la vertiente del Golfo, desde el sur de Tamaulipas y el norte de Puebla y Veracruz, hasta el norte de Chiapas y sur de Quintana Roo y en la vertiente del Pacífico desde Nayarit hasta Chiapas (Figura 1); preferentemente en comunidades secundarias, también forma parte del bosque tropical perennifolio y bosque tropical subcaducifolio (Pennington y Sarukhán, 1998).



Figura 1. Distribución de *Tabebuia rosea* en México (Pennington y Sarukhán, 2005).

2.2.2 Distribución de *Cordia elaeagnoides* A. DC. (Boraginaceae)

C. elaeagnoides se distribuye exclusivamente en la vertiente del Pacífico desde Sinaloa y Jalisco hasta Oaxaca (en otros trabajos no se había registrado en Sinaloa y se anunciaba en Chiapas (Figura 2) (Pennington y Sarukhán, 1998) incluyendo la cuenca del Río Balsas. Es un componente insignia del bosque tropical subcaducifolio y bosque tropical caducifolio y se encuentra como especie dominante en la parte expuesta de las laderas y en cimas de pequeñas lomas (Pennington y Sarukhán, 2005).

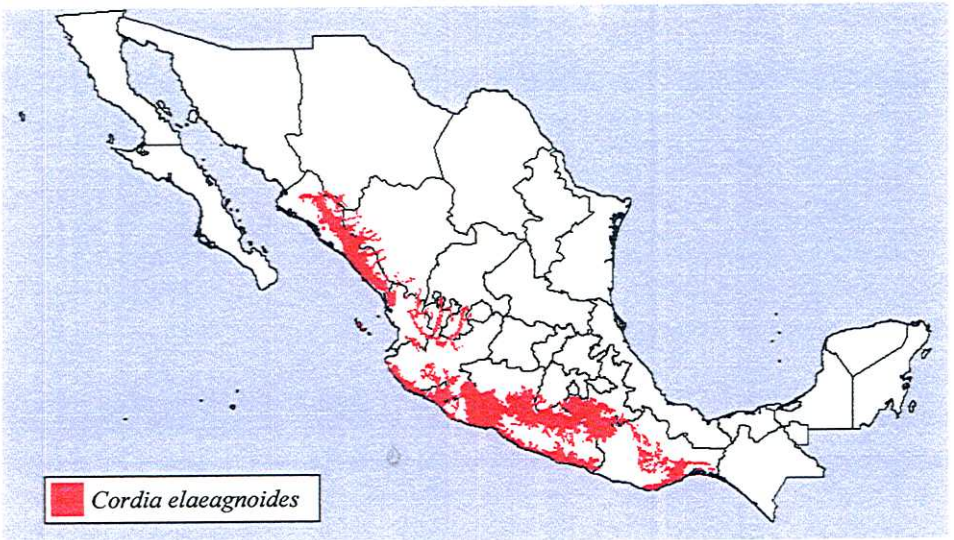


Figura 2. Distribución de *Cordia elaeagnoides* en México (Pennington y Sarukhán, 2005).

2.3 USOS

2.3.1 Usos de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (Bignoniaceae)

Dada la excelencia de su calidad de madera, se usa para fabricar muebles, artesanías, decoración de interiores y exteriores, puertas, ventanas, marcos, remos, chapa, lambrín, triplay, parquet, culatas para armas de fuego y mangos para implementos agrícolas (PRODEFO, 2001).

Pennington y Sarukhán (1998) mencionaron que es usada para la fabricación de chapa, para madera terciada en las caras de vista, para fabricar muebles, pisos, construcción de botes, ebanistería, ruedas para carretas, artesanías, cajas y embalajes.

Fuentes *et al.* (2006) mencionaron que se usa para muebles finos decorativos, revestimientos de interiores, lambrines, ebanistería, pisos decorativos, chapas desenrolladas y rebanadas, culatas para armas de fuego, artesanías (instrumentos musicales) y como usos potenciales menciona carpintería de obra, productos moldurados, tableros enlistonados, parquet prefabricado, marcos de ventana y puertas (laminados).

El árbol como tal y por el bello colorido rosado de flores, se utiliza para sombra y ornato a la orilla de caminos, avenidas, en parques y jardines. La infusión de sus hojas se usa como medicina casera como febrífugo (PRODEFO, 2001).

Se reporta que en comunidades rurales, la decocción de sus flores, hojas y raíces se utiliza como antídoto de las mordeduras de serpientes (Núñez *et al.*, 2004).

2.3.2 Usos de *Cordia elaeagnoides* A. DC. (Boraginaceae)

C. elaeagnoides tiene colores contrastantes de albura y duramen dándole un veteado elegante a esta especie. Usada en la fabricación de muebles, mangos de cepillos, artículos de tornería (León, 1985) y artesanías. Por su extrema durabilidad, fácil trabajo y el buen pulimiento que toma. Es frecuentemente protegida por sus bellas flores (Pennington y Sarukhán, 2005).

Pocos estudios se han hecho sobre las propiedades de la madera de *C. elaeagnoides*, Manners en 1983 citado por Ercolini *et al.* (2002) aisló el extracto

etéreo de las ramas, encontrando nueve compuestos, cuatro de estos ya habían sido aislados en *Cordia alliodora*, señaló que faltan estudios sobre las propiedades de los cinco extractos. Lomeli (1991) determinó su resistencia natural al ataque de los hongos.

2.4 PROPAGACIÓN EN VEGETALES

En las plantas existen dos métodos de reproducción: sexual y asexual o vegetativa. En la reproducción sexual, los gametos, con sólo una dotación haploide de cromosomas resultado de la división meiótica, se combinan y se unen para reconstruir la dotación diploide de las células de los progenitores, asegurando la variación genética (Klug y Cummings, 1999). Tal proceso, no ocurre en la reproducción vegetativa, ya que ésta utiliza múltiples y continuas divisiones celulares nucleares, proceso denominado división mitótica. A partir de un solo individuo o de partes vegetativas de éste, los descendientes resultantes forman un clon, por lo que también se le conoce a este fenómeno como propagación clonal (Sonsire, 1994). Sin embargo, en la micropropagación también existe variación, variación somaclonal, la cual es la variación genética originada en plantas que han sido sometidas a cultivo de tejidos. Dentro de la variación somaclonal existen casos de poliploidia, aneuploidia y a nivel celular puede existir rompimiento y re-arreglo cromosómico, así como mutación (George, 1993).

En la naturaleza, la variación de las semillas provee la oportunidad de seleccionar a genotipos que están adaptados a nichos específicos. Mientras que en los cultivos, la variación de las semillas provee la oportunidad a las plantas nacidas a desarrollar nuevos tipos de plantas que tienen rasgos útiles para los humanos, pero que su genotipo debe ser conservado por técnicas especiales de producción de semillas. La propagación clonal fundamentalmente difiere de la propagación por semillas en que todos los miembros de la población tienen un origen por propagación vegetativa a partir de una sola planta y se espera que tengan el mismo genotipo. Esto es posible gracias a las ramas y raíces adventicias (Hartmann *et al.*, 2002).

Ramas y raíces adventicias se desarrollan espontáneamente de células particulares dentro de la planta y producen nuevas ramas y/o tallos en la propagación

por corte. La propagación por cortes utiliza una porción de tallo, rama u hoja que es cortada de la planta madre o planta cepa e introducida a la formación de raíces y ramas por medio de químicos, mecánicamente y/o manipulación de su ambiente. (Hartmann *et al.*, 2002).

Como desventaja encontramos que algunos árboles forestales no responden satisfactoriamente, debido a que tienen un lento y escaso desarrollo radicular (Sonsire, 1994)

2.5 CULTIVO DE TEJIDOS VEGETALES

Una de las áreas más interesantes de la Biotecnología es el cultivo de tejidos y la micropropagación. Cultivo de tejidos es la habilidad para establecer y mantener órganos de plantas (embriones, ramas, raíces y flores) y tejidos de plantas (células, callos y protoplastos) en cultivo aséptico donde el ambiente, los nutrientes y niveles de reguladores de crecimiento están altamente controlados. Micropropagación es una forma de cultivo de tejidos usada para regenerar nuevas plantas, incluye aquellos procedimientos de cultivo de tejidos vegetales usados para la propagación de plantas. En la micropropagación se usa un alto grado de control sobre cada aspecto de regeneración. Cada paso del proceso puede ser manipulado (o programado) por control del ambiente del cultivo de tejidos.

Ventajas de la micropropagación:

- Inicio de cultivos de pequeños explantes.
- Se requieren pequeños espacios.
- Propagación en condiciones asépticas por lo tanto libres de patógenos.
- Metodologías disponibles para obtener plantas libres de virus.
- Bajo condiciones controladas.
- Tasas de propagación altas.
- Propagación asexual de plantas elite, difíciles de propagar.
- Propagación en cualquier época del año.
- El material vegetativo puede ser almacenado por periodos largos.

Podemos describir cinco etapas de la micropropagación:

Etapa 0 Selección y preparación de la planta madre.

Etapa 1 Iniciación del cultivo.

Etapa 2 Incremento de propágulos (multiplicación).

Etapa 3 Preparación para transferencia a suelo.

Etapa 4 Transferencia al ambiente natural (*ex vitro*)

Las metodologías empleadas para la micropropagación son: multiplicación por proliferación de yemas axilares, formación de brotes adventicios y/o embriones somáticos adventicios.

La proliferación de yemas axilares es el método más usado en la propagación masiva comercial, ya que es el método con menor probabilidad de variación genética esta técnica se limita por la dormancia apical y ésta se elimina *in vitro* por medio de reguladores de crecimiento o físicamente con la remoción del ápice. Dentro de la proliferación de yemas axilares se encuentran dos metodologías: yema y brote largo, el inicio de cultivo es por medio de un explante formado de yemas axilares intactas, en el cual, la multiplicación de brotes se dará de forma repetitiva a partir de ramificaciones axilares. Brote largo presenta la ventaja de mejor sobrevivencia en condiciones *in vitro*, rápido crecimiento y contiene mayor número de yemas, desafortunadamente usualmente la dominancia apical causa ramas dominantes que crecen más rápidamente que el resto (George, 1993).

En general, la propagación vegetativa es más costosa (por unidad de propágulos) que la propagación sexual, sin embargo, para muchas especies la superioridad de los cultivos producidos clonalmente justifica el alto costo (Hartmann *et al.*, 2002).

2.5.1 Micropagación *in vitro* de especies forestales

En la silvicultura mundial, la aplicación de técnicas de micropropagación en especies forestales de uso maderable, ha constituido una alternativa muy útil para aumentar el número de plantas requeridas para el establecimiento de plantaciones en los programas de propagación masiva, protección y aprovechamiento (Schuler *et*

al., 2005). Asimismo, para aquellas con comportamiento recalcitrante, el desarrollo de sistemas de propagación vegetativa mediante micropropagación y embriogénesis somática *in vitro* permite la obtención masiva de clones de genotipos seleccionados. (Hartmann *et al.*, 2002).

Schuler *et al.* (2005) trabajaron en la micropropagación de *T. rosea* y para *C. alliodora*. El material vegetal se obtuvo de germinación de semillas de tres árboles plus de *C. alliodora* y de semillas de cinco árboles plus de *T. rosea*. Yemas apicales de plantas núcleo de 60 d de germinación y con dos láminas foliares, fueron introducidas *in vitro* en mitad de medio basal Murashige y Skoog (1962) (MS) (MS/2), suplementado con ácido ascórbico y cítrico. Después de 30 d de introducción *in vitro* de los explantes, se seleccionaron y transfirieron en medio de cultivo MS al 50% con 0.47 μM de ácido giberélico (GA_3) y 6.04 μM de cinetina (KIN). Se calculó tasa de pérdida (TP), y la tasa de velocidad de multiplicación (TVM) en tres ciclos de propagación. Se obtuvo un árbol de *T. rosea* con las más bajas TP y resultados superiores a los otros árboles en términos de TVM. Lo anterior lo propone como candidato para los programas de conservación y clonación masiva dada su alta capacidad morfogenética. Por lo contrario, *C. alliodora* mostró ser una de las especies recalcitrantes para el cultivo *in vitro* debido a su baja TVM y alta TP.

Suarez *et al.* (2006) desarrollaron un avance en la investigación de un protocolo de micropropagación para *T. rosea*. Para la desinfección superficial de brotes axilares de 2-3 cm de longitud se probaron tres concentraciones de hipoclorito de sodio (1, 2 y 3%) con tres tiempos de inmersión (5, 10 y 15 min) después se establecieron en medio MS/2 con (en mg L^{-1}) mioinositol (100), sacarosa (30,000), tiamina HCl (0.4) y TC agar (8,000). Cinco tratamientos (0.00, 2.22, 4.44, 8.88, 17.76 μM BAP). Fueron utilizados para determinar las condiciones para la multiplicación y usando el mismo medio se evaluó el efecto de seis tratamientos (0.00, 1.35, 2.69, 4.03 y 5.37 μM ANA) fueron analizados para evaluar el enraizamiento *in vitro* de los brotes micropagados. Hipoclorito de sodio al 3% durante 10 min fue el mejor tratamiento de desinfección. La mejor tasa de multiplicación se obtuvo con 17.76 μM BAP mientras que el mayor enraizamiento ocurrió en presencia de 5.37 μM ANA. El

enraizamiento *in vitro* fue necesario para la recuperación de plantas *ex vitro* donde se debe seguir trabajando para aumentar los porcentajes de recuperación mostrados.

2.6 PLANTACIONES FORESTALES

2.6.1 Plantaciones forestales en el mundo

Según evaluaciones de la FAO la tasa de plantaciones forestales es de 4.5 millones de ha anuales, de los 187 millones de ha plantadas, el 48% corresponde a plantaciones con fines comerciales, de las cuales el 11% se localizan en Sudamérica y 19% en Centro y Norteamérica (PRODEFO, 2005).

2.6.2 Plantaciones forestales en América del Norte y Central.

Los Estados Unidos de Norteamérica abarcan prácticamente todas las plantaciones forestales de América del Norte y Central, con una superficie total de 18.4 millones ha. Entre los países restantes de esta región, Cuba cuenta con 0.4 millones ha, México 0.2 millones ha y Costa Rica 0.1 millones ha. En México, los pinos constituyen la mayor parte del área de plantaciones forestales de coníferas. También pueden encontrarse gran variedad de especies de *Eucaliptus*, *Acacia* y *Casuarina* en las plantaciones de frondosas.

Casi todas las plantaciones forestales de los EE.UU. y Costa Rica están clasificadas como plantaciones forestales industriales. Por el contrario, más del 40% de las plantaciones forestales presentes en Cuba y más del 60% en México pertenecen a la categoría de las plantaciones no industriales (PRODEFO, 2005).

2.6.3 Plantaciones forestales en México

México es un país que se ubica en el decimocuarto lugar entre los países del mundo con mayor territorio, 55.3 millones de ha son de bosques y selvas, de las cuales 80% es propiedad ejidal y comunal, el 15% propiedad privada y el 5% propiedad de la nación. Según el Inventario Forestal Nacional, de la superficie total de bosques con las que cuenta nuestro país, 21.6 millones ha tienen potencial

comercial, pero desafortunadamente, sólo se aprovechan actualmente 8.6 millones ha. Si se lograra incorporar toda la superficie potencial al manejo, se calcula que se produciría alrededor de 30 millones m³ de madera, de los cuales el 38% podría provenir de coníferas, el 32% de especies tropicales y el 30% de encinos y otros árboles latifoliados. A partir de la información del Inventario Nacional Forestal Periódico y con base en la zonificación forestal, se identificaron 10.7 millones ha en el país con características de clima, suelo y accesibilidad para el establecimiento de plantaciones forestales comerciales (PRODEFO, 2005).

2.6.4 Plantaciones comerciales establecidas por el Fideicomiso para la Administración del Programa de Desarrollo Forestal de Jalisco (FIPRODEFO).

Jalisco cuenta con el 5.33% de la superficie arbolada del país y 5.78% de las áreas perturbadas, tiene una superficie total de 8'013,700 ha, de las cuales 4'838,620 son de uso forestal. Dentro de dicha superficie se incluyen 1'285,093 ha de áreas perturbadas y 574,956 ha de bosques y selvas fragmentadas. En estos terrenos que representan el 23.2% de la superficie total del estado y el 38.4% de los terrenos de uso forestal, compete la actividad cuyo uso actual es agropecuario, a menudo bajo agricultura o ganadería de subsistencia, en los que se puede ampliar significativamente el establecimiento de plantaciones forestales comerciales.

En 1999, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), por encargo de FIPRODEFO, desarrolló un estudio para ubicar condiciones favorables para el establecimiento de plantaciones forestales comerciales con once especies promisorias. Los resultados se muestran en el cuadro 1 (PRODEFO, 2005).

Entre las especies promisorias que se tomaron en cuenta en este trabajo se encuentra *T. rosea* siendo una de las especies tropicales con mayor superficie de potencial óptimo.

Las semillas de *T. rosea* tienen una viabilidad corta estimada de 6 meses a 2 años, no tiene problemas de latencia y de germinación, se ha reportado de 79-90% de germinación en semillas recién colectadas (CONAFOR, 2006).

Cuadro 1. Áreas potenciales para el desarrollo de plantaciones forestales comerciales de once especies promisoras en Jalisco (PRODEFO, 2005).

Especie	Potencial óptimo, ha	Potencial normal, ha
<i>Pinus douglasiana</i>	170,529	3'578,384
<i>P. pseudostrobus</i>	27,660	3'875,846
<i>P. devoniana</i>	316,263	4'351,138
<i>P. montezumae</i>	55,767	4'906,819
<i>P. tenuifolia</i>	45,117	373,005
<i>Cedrela odorata</i>	18,711	213,678
<i>Roseodendron donell-smithii</i>	12,150	160,704
<i>Tabebuia rosea</i>	31,752	191,970
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	19,521	192,699
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	566,714	6'118,716
<i>E. globulus</i>	56,538	359,154

SIRE: CONABIO-PRONARE (2000) reporta para semillas de *C. elaeagnoides* una viabilidad de 50% por 14 meses, PRONARE SEMARNAP (2000) reporta un alto porcentaje de semillas vanas y corta longevidad. En el vivero Secretaria de Desarrollo Rural (SEDER) ubicado en Tomatlán, Jalisco, se han realizado pruebas de germinación de *C. elaeagnoides* en charolas germinativas y se ha reportado una baja viabilidad (Ernesto Aréchiga Guzmán, com. pers.).

Tabebuia rosea y *Cordia elaeagnoides* son especies de suma importancia desde el punto de vista maderable, actualmente en Jalisco, los volúmenes de madera se obtienen de bosques naturales, no existen plantaciones comerciales de *C. elaeagnoides* y para *T. rosea* son incipientes, incrementando poco a poco el interés de las plantaciones comerciales en la región Costa de Jalisco, siendo *T. rosea* una de las especies promisoras con mucho futuro. *C. elaeagnoides* presenta limitaciones en la viabilidad de semillas por lo que es recomendable buscar técnicas alternativas de propagación como lo es la micropropagación, tomando en cuenta metodologías de propagación más eficientes y en un futuro trabajar con el mejoramiento genético de estas especies.

2.7 REFORESTACIÓN CLONAL

La reforestación clonal parte de una selección *a priori* de la especie a utilizar, tratando de identificar a nivel genético aquellas variedades que mejor se adapten al sitio y al seleccionar el material y propagarlo vegetativamente se obtiene ganancia genética instantánea que resulta en un mejor crecimiento y homogenización de la plantación. Lo cual, conforme se va plantando, permite identificar la variedad que se adapta mejor y por consiguiente permitiría llegar a la cruce de los mejores clones para producir individuos superiores. Todo esto sin la necesidad de costosos laboratorios, en un plazo menor al que tomaría un programa de mejora genética tradicional, con mejoras intermedias, y a un bajo costo de implementación.

Si bien, los resultados obtenidos con la reforestación clonal son impresionantes, las expectativas son aún mayores. Se espera que los programas de investigación forestal también se vean beneficiados al utilizar clones, esto por cuanto es posible separar el efecto de los tratamientos del efecto de la variación genética, haciendo que el tamaño de los ensayos disminuya considerablemente, abaratando y facilitando la investigación. Además, se está en proceso de la implementación de herramientas como la detección temprana de atributos genéticos indeseables o deseables, por cuanto están asociados a variables ambientales o a la susceptibilidad a enfermedades. Asimismo, la reforestación basada en clones permitirá la utilización de especies con limitaciones en su biología reproductiva para garantizar la cantidad de semilla necesaria para un proyecto de reforestación; como por ejemplo, especies de fructificación irregular o especies dioicas (Obando, 2005).

La reforestación clonal en zonas tropicales a escala comercial comenzó con plantaciones de Eucaliptos en los años 70, en proyectos desarrollados en el Congo y Brasil. La empresa brasileña Aracruz Florestal logró aumentar un promedio de 33 m³/ha/año a poco más de 70 m³/ha/año, influyendo en la concepción de una nueva silvicultura comercial. Con el tiempo varias compañías brasileñas y compañías asentadas en América Latina, lograron ingresar al pequeño grupo de organizaciones que incorporan la reforestación clonal a escala comercial. Debido al auge que tomó la reforestación clonal, surgieron inquietudes sobre posibles criterios técnicos y regulaciones mínimas. A partir de 1973 fueron realizados varios congresos

internacionales sobre propagación vegetativa de especies forestales y sus aplicaciones. No fue hasta 1993 que un grupo de expertos logró publicar el primer libro especializado en la materia con el nombre de Clonal Forestry I y II editado por Ahuja y Libby, donde se compiló un gran bagaje de experiencia y estado de conocimiento en este campo (Murillo *et al.*, 2001).

La reforestación clonal impone un cambio en toda la concepción del modelo de plantación, dado que cada individuo ha sido seleccionado y presentará un buen rendimiento comercial, nace la posibilidad de aprovechar mejor el sitio, así como de aprovechar el producto del primer raleo. La tecnología clonal exige sin embargo, una mejor preparación del terreno, los clones tienden a ser más sensibles por lo que su buen desempeño no necesariamente se mantendrá a lo largo de una región geográfica. Por razones de riesgo de una excesiva reducción de la variabilidad genética, se ha instaurado como norma internacional el uso mínimo de 15 a 20 clones y bloques monoclonales no mayores a 20 ha, en un programa clonal comercial. Por lo tanto, la reforestación clonal como parte de un programa de mejoramiento genético y silvicultura, es la combinación necesaria para alcanzar el éxito reportado en otros países. Sólo el trabajo continuo y sistemático puede lograr la conjugación de estos factores (Murillo *et al.*, 2001).

Se han empleado métodos de reproducción asexual en *Tabebuia rosea*, Jarma *et al.* (2006) utilizaron miniestacas semi leñosas de partes intermedias de ramas de plántulas de aproximadamente 3 años de edad, se sembraron en dos tipos de sustrato proporciones 1:1:1 arena:aluvión:cascarilla de arroz (sustrato S1) y arena:aluvión:estiércol de bovino (sustrato S2), se evaluaron los reguladores de crecimiento ácido naftalenacético (ANA) y bencilaminopurina (BAP), se evaluaron en tres concentraciones, con un testigo. Se obtuvieron los siguientes resultados: La estimulación de las miniestacas en formación de raíces primarias fue mucho más evidente cuando se utilizó BAP que cuando se utilizó ANA. Existe una correlación positiva entre la formación de raíces y desarrollo de la parte aérea. En todos los casos se observó una mejor respuesta de las miniestacas cuando éstas fueron plantadas en el sustrato que contenía materia orgánica.

3. JUSTIFICACIÓN

La propagación *in vitro* es una opción que presenta ventajas como son: los pequeños espacios para cultivar grandes cantidades de plantas; se puede realizar en cualquier época del año y en cualquier tipo de clima; se obtienen plantas libres de microorganismos. Es posible hacer una búsqueda y selección de árboles plus (sobresalientes) en campo o en plantaciones comerciales, y posteriormente clonarlos, evaluarlos en diferentes ambientes y así obtener plantas con los fenotipos deseados. De esta forma se podrían satisfacer las necesidades de plantas para el establecimiento de plantaciones comerciales.

4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

4.1 HIPÓTESIS

- 1) Es factible desarrollar un protocolo de micropropagación de *T. rosea* por medio de la estimulación de yemas axilares, con los reguladores de crecimiento ácido indolacético (AIA) y 2-isopentiladenina (2iP).
- 2) Es posible el establecimiento *in vitro* de *C. elaeagnoides*.

4.2 OBJETIVOS

- Desarrollar un protocolo de micropropagación de *T. rosea* por medio de la estimulación de yemas axilares.
- Desarrollar experimentos usando diferentes cantidades de ácido indolacético (AIA) y 2-isopentiladenina (2iP) con el fin de obtener el mayor estímulo de yemas axilares de *T. rosea*.
- Evaluar el empleo de carbón activado y antioxidantes para eliminar oxidación en brotes de *T. rosea*.
- Establecer *in vitro* semillas de *C. elaeagnoides*.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 OBTENCIÓN DE MATERIAL

5.1.1 Material vegetal de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (Bignoniaceae)

Se utilizaron semillas de *T. rosea*, donadas por el Departamento de Producción Forestal del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara (UDG), colectadas en el municipio de Tomatlán, Jalisco, secadas a la sombra en sacos de malla sombra y almacenadas en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del CUCBA de la UDG, a temperatura constante de 27°C en frascos de plástico. Para el establecimiento y germinación *in vitro* se les retiró la cubierta seminal (Niembro, 1989), y se establecieron en medio de cultivo basal Murashige y Skoog (1962) (MS) al 50%, gelificado con 8 g/L de agar, esterilizado en autoclave a 1.2 kg/cm² y 120°C por 15 min, en frascos de alimento infantil con 25 mL. Se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 5.5 min, realizando dos enjuagues en agua destilada estéril de 1 min cada uno, se incubaron a una temperatura de 27± 2 °C con un fotoperíodo de 16 h de luz fluorescente (25µm/s/m²).

5.1.2 Material vegetal de *Cordia elaeagnoides* A. DC. (Boraginaceae)

Las semillas de *C. elaeagnoides* fueron donadas por el Departamento de Producción Forestal del CUCBA, UDG, colectadas en el municipio de Tomatlán, Jalisco, se almacenaron en sacos de yute. Para el experimento se les retiró las partes florales frotándolas contra una malla metálica dejando la nuececilla limpia. Posteriormente, fueron separadas por medio de peso mediante un separador neumático para tener una mayor cantidad de semillas llenas, eliminando gran parte de semillas vanas.

5.2 EXPERIMENTOS

5.2.1 Proliferación de yemas axilares en brotes de *Tabebuia rosea*

Una vez germinadas las plantas y obtenido brotes suficientes se desarrolló un experimento para inducir la proliferación de yemas axilares con los reguladores de crecimiento ácido indolacético (AIA) y 2-isopentiladenina (2iP), en un experimento bifactorial con 3 niveles de AIA (0, 0.15, 0.3 mg/L) y 5 niveles de 2iP (0, 1.5, 3, 4.5, 6 mg/L). Cada tratamiento contó con seis repeticiones, la unidad experimental consistió en un frasco de vidrio de alimento infantil adicionando 25 mL de medio, donde se estableció un brote de 3 cm con tres nudos. El medio basal que se empleó fue el MS suplementado con las vitaminas L2 (Phillips y Collins, 1979), gelificado con 8 g/L de agar. Se evaluaron las yemas axilares estimuladas en 45 d.

5.2.2 El efecto del uso de MS con calcio doble y carbón activado en la proliferación de yemas axilares en brotes de *Tabebuia rosea*

En el siguiente experimento se trató de probar si el aumento de calcio en el medio de cultivo evita la muerte del ápice, ya que el cultivo en frasco, la alta humedad limita la transpiración y por lo tanto el movimiento de iones translocados en el xilema y compuestos, por lo que el calcio no llega al tejido apical; algunas veces la producción de fenoles en la planta afecta el crecimiento de ésta, una solución es la adición de carbón activado (CA) en el medio para que este lo absorba y disipe (George, 1993). Se evaluaron dos medios de cultivo, MS con cantidad de calcio completo (MS completo) y MS con calcio doble (2CaMS), se evaluó la cantidad de brotes perdidos y la proliferación de yemas axilares, en cada medio, con los reguladores de crecimiento ácido indolacético (AIA) y 2-isopentiladenina (2iP), en un experimento bifactorial con tres niveles de AIA (0, 0.10, 0.20 mg/L) y cinco niveles de 2iP (0, 2.25, 4.5, 6.75, 9 mg/L). Cada tratamiento contó con seis repeticiones, cuatro con el brote colocado en forma vertical y dos con el brote colocado en forma horizontal, donde cada unidad experimental consistió en un brote de aproximadamente 3 cm con tres nudos en un frasco de vidrio de alimento infantil

adicionando 25 mL de medio. El medio basal que se empleó fue el MS suplementado con las vitaminas L2, gelificado con 8 g/L de agar y 2 g/L de CA.

5.2.3 Proliferación de yemas axilares en nudos de *Tabebuia rosea*

Existen dos métodos para la propagación de yemas axilares: brote completo y por nudos, el método con mayor sobrevivencia es el de brote completo, en este experimento se trata de probar el método por nudos con el medio de Schuler *et al.* (2005) comparado con otros medios

Se desarrolló un experimento para inducir la proliferación de yemas axilares en nudos, donde se evaluaron los siguientes medios:

- 1.- Todo MS/2: Mitad de MS, 100 mg/L ácido ascórbico, 100 mg/L ácido cítrico, 1.3 mg/L de cinetina y 2 mg/L ácido giberélico (Schuler *et al.*, 2005).
- 2.- CA MS/2: Mitad de MS, 100 mg/L ácido ascórbico, 100 mg/L ácido cítrico, 2 mg/L ácido giberélico y 2 g/L de CA.
- 3.- KIN G: Mitad de MS, 1.3 mg/L de cinetina y 2 mg/L ácido giberélico.

Cada medio contó con ocho repeticiones, donde cada unidad experimental consistió en un frasco de vidrio de alimento infantil adicionando 25 mL de medio, donde se establecerán cinco nudos por frasco. El medio basal que se empleó fue el MS suplementado con las vitaminas L2, gelificado con 8 g/L de agar.

5.2.4 Aislamiento de yemas axilares de *Tabebuia rosea*

Buscando mejorar la propagación de *T. rosea* se desarrolló un experimento para inducir el crecimiento de yemas axilares aisladas y la proliferación de yemas axilares en estas, evaluando los siguientes medios:

- 1.- Todo MS/2: Mitad de MS, 100 mg/L ácido ascórbico, 100 mg/L ácido cítrico, 1.3 mg/L de cinetina y 2 mg/L ácido giberélico.
- 2.- CA MS/2: Mitad de MS, 100 mg/L ácido ascórbico, 100 mg/L ácido cítrico, 2 mg/L ácido giberélico y 2 g/L de CA.
- 3.- KIN G: Mitad de MS, 1.3 mg/L de cinetina y 2 mg/L ácido giberélico.

Cada medio contó con cinco repeticiones, donde cada unidad experimental consistió en un frasco de vidrio de alimento infantil adicionando 25 mL de medio, donde se establecieron cinco nudos por frasco. El medio basal que se empleó fue el MS suplementado con las vitaminas L2, gelificado con 8 g/L de agar.

Para todos los experimentos los medios de cultivo se ajustaron a un pH de 5.8, los tratamientos se incubaron a una temperatura de $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ con un fotoperiodo de 16 h de luz fluorescente ($25 \mu\text{m/s/m}^2$).

5.2.5 Establecimiento *in vitro* de semillas de *Cordia alliodora*

Para el establecimiento *in vitro* de semillas es necesario su desinfección, para esto es usado el hipoclorito de sodio al 3%, pero debe buscarse el tiempo para desinfectar la semilla sin dañar al embrión. En establecimientos anteriores se observó que aun con tiempos altos en 30 mL de hipoclorito de sodio al 1.8% mas agua destilada, no se eliminaban los hongos por lo que se propuso un tratamiento con temperatura alta para eliminarlos (George, 1993). Otra dificultad que se encontró es que *C. alliodora* presenta problemas de germinación, por lo que es necesario tratar las semillas con reguladores de crecimiento como lo es el ácido giberélico. Se tomaron 320 semillas sin partes florales (Figura 3), las cuales se dividieron en dos grupos de 160 semillas, un grupo se remojó por 24 h en 100 mL de agua destilada con 420 mg de ácido giberélico. Los dos grupos de 160 semillas se dividieron en dos de 80 semillas, a un grupo de 80 se les dio un tratamiento de desinfección con temperatura, se colocaron en agua destilada a 70°C por 7 min. Todos los grupos de 80 semillas se dividieron en cuatro grupos, y se les dio un tratamiento de desinfección de 30 mL de hipoclorito de sodio al 1.8% en agua destilada estéril bajo diferentes tiempos 5, 7.5, 10 y 12.5 min, al final se les dio dos enjuagues en agua destilada esterilizada de 1 min. Las semillas se establecieron en frascos de alimento infantil con 250 mL de MS, cinco semillas por frasco. Se tomaron como datos el número de semillas germinadas y frasco con semillas infectadas a los 45 d.

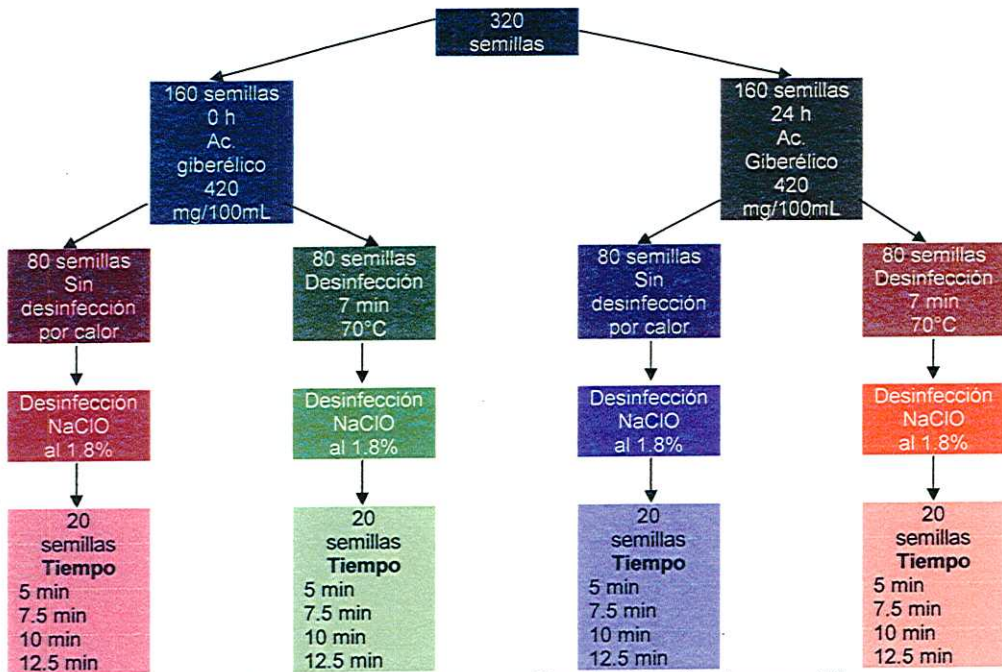


Figura 3. Procesos de desinfección de semillas de *Cordia elaeagnoides*

5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el desarrollo de los ensayos de *Tabebuia rosea* la variable de respuesta se definió como el número de yemas axilares estimuladas y para *Cordia elaeagnoides* número de semillas germinadas y semillas desinfectadas. Se realizaron evaluaciones con base en análisis de varianza para diseños unifactoriales y bifactoriales, según el caso. Para los análisis estadísticos se empleó el paquete de cómputo Statgraphics Plus 4.0 (Statistical Graphics Corp.).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 PROLIFERACIÓN DE YEMAS AXILARES EN BROTES DE *Tabebuia rosea*

Después de 45 d se encontró que las cantidades de regulador AIA usados no fueron significativas ($p=0.1091$), más no fue así para 2iP, con el se observaron diferencias altamente significativas ($p=0.0027$) y en la interacción se encontró alta significancia ($p=0.0052$) (Cuadro 2), coincidiendo con George (1993) que al agregar citocininas al medio de cultivo los brotes disminuyen su dominancia apical y despierta las yemas axilares de su dormancia, ésto frecuentemente acompañado por auxinas.

Cuadro 2. Análisis de varianza de los tratamientos para número de yemas axilares estimuladas de *Tabebuia rosea* por brote a los 45 d.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	PROB>F
2iP	4	49.77	4.66	0.0027**
AIA	2	24.69	2.31	0.1091 ^{ns}
Interacción	8	33.94	3.18	0.0052**
Error	52	10.67		
Total	66			

** Altamente significativo, ^{ns} No significativo

Al realizarse la comparación múltiple de medias mediante la Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas) se encontró que la mayor estimulación de yemas axilares a los 45 d fue con las cantidades 1.5, 3 y 4.5 mg/L de 2iP (Cuadro 3 y Figura 4). Siendo hasta 1.8 veces más eficiente que el control y siendo la menor cantidad usada de 2iP 1.5 mg/L.

Cuadro 3. Comparación múltiple de medias para el número de yemas de *Tabebuia rosea* estimuladas por repetición con diferentes dosis de 2iP (mg/L) a los 45 d. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).

2iP (mg/L)	Media (yemas/brote)	Observaciones	Grupos homogéneos
0	3.93	14	a
6	5.86	16	a b
1.5	7.33	14	b c
4.5	7.57	13	b c
3	9.53	10	c

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes. $\alpha = 0.05$

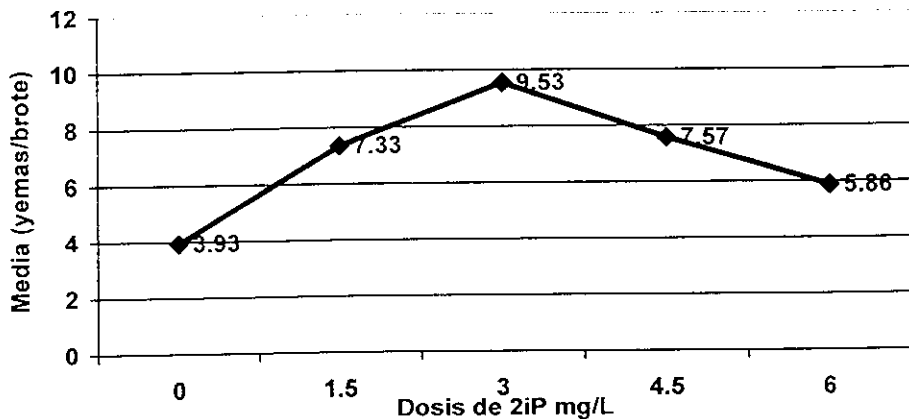


Figura 4. Número de yemas de *T. rosea* estimuladas con diferentes dosis de 2iP (mg/L) a los 45 d.

La mayoría de las yemas axilares sólo crecieron 1.5 mm (Figura 5), las más grandes se encontraban cerca de la superficie del medio de cultivo, llegando a medir 10 mm. Una gran cantidad de brotes produjeron raíz (64 brotes). Algunas hojas que estaban en contacto con el medio de cultivo se oxidaron. En varios brotes se notó un oscurecimiento del meristemo apical muriendo posteriormente (24 brotes); en los brotes sobrevivientes las yemas axilares cercanas al ápice crecieron, llegando a medir 10 mm de largo.

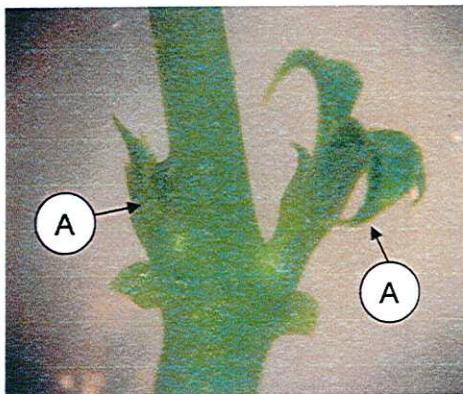


Figura 5. Brotes de *Tabebuia rosea* con yemas axilares estimuladas. A) Yema axilar

La oxidación de las hojas y la necrosis del meristemo apical puede ser causada por la presencia de fenoles. Otra causa reportada es la limitación de la transpiración en el cultivo *in vitro*, causando que el calcio no llegue al tejido apical y éste se necrose (George, 1993).

6.2 EL EFECTO DEL USO DE MS CON CALCIO DOBLE Y CARBÓN ACTIVADO EN LA PROLIFERACIÓN DE YEMAS AXILARES EN BROTES DE *Tabebuia rosea*

Al hacerse la evaluación se encontró que las cantidades de AIA y 2iP no fueron significativas en los dos medios (MS completo y 2CaMS) (Cuadro 4 y 5). En el caso de la evaluación realizada con el medio MS completo se presentó oxidación de 28 brotes, mientras que para el medio 2CaMS 30 brotes. La oxidación se manifestó del ápice hacia abajo y con el tiempo en todo el brote. Se obtuvieron brotes largos de más de 5 mm, para MS completo 14 brotes y para 2CaMS 9 brotes. Con los resultados obtenidos se observa que el uso de CA no ayudó en la reducción de brotes oxidados ni el uso de calcio doble.

Cuadro 4. Análisis de varianza de los tratamientos para número de yemas axilares estimuladas por brote de *Tabebuia rosea*, medio con MS completo, utilizando como factores 2iP y AIA, a los 45 d.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	PROB>F
2iP	4	3.03	0.18	0.9501 ^{ns}
AIA	2	22.25	1.29	0.2850 ^{ns}
Error	54	17.32		
Total	60			

^{ns} No significativo

Cuadro 5. Análisis de varianza de los tratamientos para número de yemas axilares estimuladas por brote de *Tabebuia rosea*, medio con MS con calcio doble, utilizando como factores 2iP y AIA, a los 45 d.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	PROB>F
2iP	4	17.79	1.04	0.3942 ^{ns}
AIA	2	3.44	0.20	0.8181 ^{ns}
Error	54	17.07		
Total	60			

^{ns} No significativo

El CA normalmente es usado para la absorción de compuestos fenólicos y de esta forma disminuir la oxidación de los explantes como lo hicieron Madhusudhanan y Rahiman (2000) (citados en Herman, 2002); quienes encontraron que la oxidación *in vitro* de explantes de *Piper* (tallo, peciolo y hoja), puede disminuirse cultivando los explantes en medio MS con CA dentro de un rango de 50-250 mg/dm³ de CA y que dentro de este rango la mejor cantidad es 200 mg/dm³ de CA. Mientras que Motoike *et al.* (2007) realizó un experimento para probar el CA en la regeneración y maduración de embriones somáticos de *Myrciaria aureana* (Myrtaceae) encontró que el uso de CA fue perjudicial para este proceso. En los experimentos con *T. rosea* no hubo algún cambio significativo usando 2 g/L por lo que se recomienda para trabajos posteriores, hacer experimentos usando diferentes dosis de CA para determinar si el uso de CA activado es perjudicial o si se necesita usar menores cantidades en la micropropagación de *T. rosea*.

6.3 PROLIFERACIÓN DE YEMAS AXILARES EN NUDOS DE *Tabebuia rosea*

A los datos obtenidos por los diferentes medios de cultivo se les realizó un análisis de varianza, se encontró alta significancia estadística entre ellos (Cuadro 6), se hizo una comparación múltiple de medias, arrojando como resultado que el medio Todo MS/2 es el que tuvo mejores resultados (Cuadro 7) al estimular un mayor número de yemas axilares en los nudos (Figura 6), siendo 1.76 veces mayor que el medio que le sigue KIN G, siendo este significativamente igual a los otros medios. El uso de MS a la mitad fue mejor que el uso de MS completo.

Cuadro 6. Análisis de varianza de número de yemas axilares estimuladas de nudos aislados de *Tabebuia rosea* en cuatro medios de cultivo a los 30 d.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	PROB>F
Tratamientos	3	39.52	6.36	0.0054**
Error	15	6.21		
Total	18			

** Altamente significativo

En todos los medios las yemas fueron rápidamente estimuladas, pero en la segunda toma de datos ya existía una diferencia, ya que se marchitaron, en el medio Todo MS/2 murieron pocos.

Cuadro 7. Comparación múltiple de medias para el número de yemas axilares estimuladas de *Tabebuia rosea* para cuatro medios de cultivo. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).

Medios de cultivo	Media (yemas / tratamiento)	Repetición *	Grupos homogéneos
Todo CA MS/2	2.4	5	a
MS	3.4	5	a
KIN G	5.0	4	a
Todo MS/2	8.8	5	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha = 0.05$

* Una repetición consta de 10 yemas

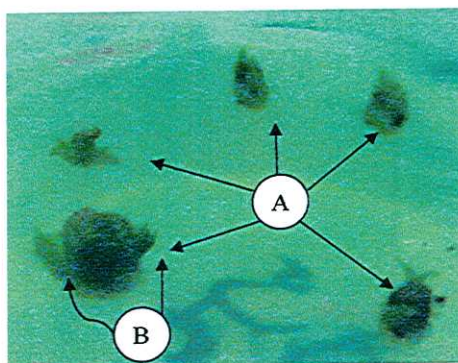


Figura 6. Nudos de *Tabebuia rosea* con yemas axilares estimuladas a los 30 d. A) Nudos B) Yemas axilares estimuladas.

6.4 AISLAMIENTO DE YEMAS AXILARES DE *Tabebuia rosea*

Para buscar mejor desarrollo de las yemas y obtener brotes de mayor tamaño de *T. rosea*, se aislaron yemas axilares. Se establecieron en medios de cultivo similares al anterior experimento.

El análisis de varianza para los diferentes tratamientos indicó que no existe significancia entre ellos (Cuadro 8).

Cuadro 8. Análisis de varianza de número de yemas axilares aisladas estimuladas de *Tabebuia rosea* en cuatro medios de cultivo.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	PROB>F
Tratamientos	3	8.8	0.78	0.5229 ^{ns}
Error	16	11.3		
Total	19			

^{ns} No significativo

Con los resultados obtenidos en los experimentos de proliferación de yemas axilares en nudos y yemas axilares aisladas se realizó un análisis de varianza evaluando dos factores; tipo de medio y tipo de explante, lo que arrojó que el tipo de explante no es significativo ($p = 0.3531$) y para el tipo de medio fue altamente significativo ($p = 0.0076$) (Cuadro 9).

Cuadro 9. Análisis de varianza para número de yemas estimuladas de *Tabebuia rosea* a los 30 d, utilizando como factores número de yemas axilares en nudos y número de yemas axilares aisladas.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	PROB>F
Tipo de medio	3	42.16	4.77	0.0076**
Tipo de explante	1	7.85	0.89	0.3531 ^{ns}
Interacción	3	6.15	0.70	0.5611 ^{ns}
Error	31	8.83		
Total	38			

** Altamente significativo, ^{ns} No significativo

Al realizar la comparación múltiple de medias para tipo de medio se encontró que el mejor medio fue Todo MS/2 (Cuadro 10). El medio Todo MS/2 es el propuesto por Schuler *et al.* (2005), con el cual han tenido muy buenos resultados para la propagación de esta especie, en los resultados de este experimento se obtuvo 1.5 más número de yemas estimuladas que el mayor de los otros tratamientos, siendo estos significativamente iguales.

El MS/2 se reporta en la bibliografía para la propagación de *T. rosea* (Schuler *et al.*, 2005; Suárez *et al.*, 2006) y se ha usado en otras especies de manera efectiva como en *Dendrobium candidum* (Orchidaceae) (Zhao *et al.*, 2007), en la mayoría de trabajos se reporta el MS a la mitad para el enraizamiento de explantes (Nayak *et al.*, 2007; Martín, 2007). El uso de MS/2 resultó ser efectivo por lo que es recomendable su uso para el ahorro en material.

Cuadro 10. Comparación múltiple de medias para número de yemas axilares estimuladas de *Tabebuia rosea* para el tipo de medio, a los 30 d. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).

Medios de cultivo	Media (yemas/medio)	Observaciones	Grupos homogéneos
Todo CA MS/2	3.4	10	a
MS	4.5	10	a
KIN G	5.3	9	a
Todo MS/2	8.2	10	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha = 0.05$

6.5 ESTABLECIMIENTO *IN VITRO* DE SEMILLAS DE *Cordia elaeagnoides*

Para el establecimiento *in vitro* de especies es recomendable comenzar con material joven, una alternativa es emplear material como semilla botánica. Es importante la desinfección de las semillas.

En los resultados del análisis de varianza para la desinfección de las semillas de *C. elaeagnoides*, se encontró que el tratamiento de desinfección con temperatura de 70°C y el remojarlas en 420 mg de ácido giberélico en 100 mL de agua fueron altamente significativos y el tiempo en hipoclorito de sodio significativo (Cuadro 11).

Cuadro 11. Análisis de varianza de semillas de *Cordia elaeagnoides* infectadas colocadas *in vitro* con los factores tratamiento temperatura, tiempo de desinfección en hipoclorito de sodio al 1.8% en agua destilada esterilizada y remojadas 24 h en 420 mg/100mL de ácido giberélico.

Fuente	G.L.	Cuadrado medio	Valor F	PROB>F
Temperatura	1	8.04	90.76	0.0000**
Tiempo	3	0.28	3.23	0.0294*
24h en Ac. Gib.	1	0.83	9.38	0.0034**
Error	54	0.08		
Total	59			

*significativo, **Altamente significativo

Al realizar la comparación múltiple de medias del factor temperatura para desinfección con el tratamiento de temperatura a 70°C, se presentó menos semillas infectadas (Cuadro 12).

Cuadro 12. Comparación múltiple de medias para número de semillas de *Cordia elaeagnoides* infectadas para el factor tratamiento con temperatura para desinfección. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).

Temperatura	Media (semillas infectadas/ tratamiento)	Repeticiones*	Grupos homogéneos
70°C	0.28	32	a
0°C	1.01	28	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha = 0.05$

*Una repetición es igual a 5 semillas.

En la comparación múltiple de medias de los tiempos de desinfección en hipoclorito de sodio se encontró que 7.5 y 10 min son los mejores tiempos, pero el recomendable sería 7.5 min para economizar tiempo (Cuadro 13).

Cuadro 13. Comparación múltiple de medias para semillas de *Cordia elaeagnoides* infectadas para el factor tiempo de desinfección en hipoclorito de sodio al 1.8% en agua destilada esterilizada. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).

Tiempo en minutos	Media (semillas infectadas/ tratamiento)	Repeticiones*	Grupos homogéneos
7.5	0.49	15	a
10	0.56	15	a b
12.5	0.75	16	b
5	0.78	14	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha = 0.05$

*Una repetición es igual a 5 semillas

Por último en el tratamiento de remojar las semillas con ácido giberélico por 24h, se encontró un mayor número de semillas infectadas (Cuadro 14) por lo que es

recomendable el uso del ácido giberélico en el medio y no remojarlas, ya que esto provoca que sea más difícil su desinfección.

Cuadro 14. Comparación múltiple de medias para semillas de *Cordia elaeagnoides* infectadas para el factor remojuadas en 420 mg de ácido giberélico en 100 mL de agua. Prueba LSD (Diferencias Mínimas Significativas).

Ácido Giberélico	Media (semillas infectadas/ tratamiento)	Observaciones	Grupos homogéneos
Sin	0.53	32	a
Con	0.76	28	b

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes, $\alpha = 0.05$

Ninguna semilla de *C. elaeagnoides* germinó, aun con el tratamiento de ácido giberélico como lo obtuvo (Gaspar-Peralta, datos no publicados) en semillas germinadas en vivero; aunado a lo anterior es importante tomar en cuenta los problemas al desinfectar las semillas remojuadas, en donde es factible un incremento de la contaminación, por lo anterior se recomienda hacer estudios usando el ácido giberélico en el medio de cultivo.

Para el establecimiento *in vitro* de explantes y semillas es necesario la desinfección de su superficie. Los mejores desinfectantes son aquellos de bajo costo, no tóxicos para la planta ni para las personas y uno de ellos es el hipoclorito de sodio (George, 1993) el cual se uso de manera efectiva para *C. elaeagnoides*; a excepción cuando las semillas fueron remojuadas en agua, ya que al parecer los hongos y/o bacterias se desarrollan y penetran a la semilla y es muy difícil su desinfección.

7. CONCLUSIONES

El regulador 2iP en 1.5, 3 y 4.5 mg/L tuvo mejores resultados en la estimulación de yemas axilares de *Tabebuia rosea*.

El uso de calcio doble y carbón activado en el medio de cultivo no ayudó en el problema de oxidación de brotes de *T. rosea*.

Para la propagación de *T. rosea* no hay diferencia en el tipo de explante que se emplee.

La proliferación de yemas axilares en nudos de *T. rosea* es efectiva con el medio propuesto por Schuler *et al.* (2005).

Para la micropropagación de *Tabebuia rosea* es recomendable el uso de MS a la mitad.

Para una mejor desinfección de las semillas de *C. elaeagnoides* se recomienda un tratamiento en agua estéril a 70°C por 7 min.

El remojar semillas de *C. elaeagnoides* no favoreció a eliminar los problemas de germinación.

Al remojar las semillas de *C. elaeagnoides* por 24 h aumenta la cantidad de semillas infectadas por hongos.

ISIS/CUCBA

8. LITERATURA CITADA

- Bravo G. L. R. y F. J. Fuentes. 1993. Composición química y propiedades físico-mecánicas de algunas maderas mexicanas. Resúmenes de ponencias. I Congreso mexicano sobre recursos forestales. Saltillo, Coahuila, México. 89 p.
- CONAFOR. 2006. SIRE-Paquetes Tecnológicos, *Tabebuia rosea*. <http://www.conafor.gib.mx/portal/docs/>
- Ercolini B., I. C., F. de Oliveira, L. H. Zanini, E. T. Myiake y T. García. 2002. O género *Cordia* L.: botánica, química e farmacología. Revista Lecta, Bragança Paulista 20(1): 15-34.
- Flores, O. M. H. y R. Lindig-Cisneros. 2005. La lista de nombres vulgares y botánicos de árboles y arbustos propicios para repoblar los bosques de la República de Fernando Altamirano y José Ramírez a más de 110 años de su publicación. Revista Mexicana de Biodiversidad 76: 11-35.
- Fuentes T., F. J. y H. G. Richter. 2006. Rosa Morada (*Tabebuia rosea*). Ficha técnica. Departamento de Madera, Celulosa y Papel. CUCEI, Universidad de Guadalajara.
- George, E. F. 1993. Plant propagation by tissue culture, Part 2. Exegetics Limited. Gran Bretaña.
- Hartmann H., D. Kester, F. Davies Jr. y R. Geneve. 2002. Hartmann and Kester's plant propagation: Principles and Practices. Prentice Hall. Estados Unidos Americanos. 880 p.
- Herman E. B. 2002. Recent Advantages in Plant Tissue Culture VII, Regeneration and Micropropagation: Techniques, Media and Applications 1999-2002. Agritech Consultants, Inc. Estados Unidos de Norte América. 141 p.
- Jarma, A., E. Combatt, J. Polo y J. Beltrán. 2006. Propagación por miniestacas de Roble (*Tabebuia rosea*) en función del sustrato y el regulador de crecimiento. <http://www.una.ac.cr/inis/docs/suelos/propmicol.pdf>
- Klug, W. y M. Cummings. 1999. Conceptos de genética. Prentice Hall Iberia. Madrid, España. 840 p.
- León G., C. 1985. Patrones de variación de las características anatómicas de la madera en *Cordia elaeagnoides* DC. Tesis licenciatura. UNAM. México 113 p.

- Lomelí R. M. G.. 1991. Determinación de la durabilidad natural de las maderas de árboles tropicales (*Hura polyandra* Baill., *Enterolobium cyclocarpum* (Jacq.) Griseb. y *Cordia elaeagnoides* A. DC.) al ataque de hongos xilófagos, *Gutinus lepeideus* Fr. y *Laetiporus sulphureus* (Bull. ex Fr.). Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad de Guadalajara. 56 p.
- Martín, K. P. 2007. Micropropagation of the bamboo orchid (*Arundina graminifolia* (D. Don.) Hochr.) through protocorm-like-bodies using node explants. *Propagation of Ornamental Plants* 7(2): 97-100.
- Motoike S. Y., E. S. Saraiva, M. C. Ventrella, C. V. Silva y L. C. Chamhum Salomao. 2007. Somatic embryogenesis of *Myrciaria aureana* (Brazilian grape tree). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 89 (1): 75-81.
- Murashige, T. y L. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Plant Physiology* 15: 473-497.
- Murillo O, J. L. Rojas y Y. Badilla. 2001. Reforestación clonal. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica. 32 p.
- Nayak, P., P. R. Behera y T. Manikkannan. 2007. High frequency plantlet regeneration cotyledonary node cultures of *Aegle marmelos* (L.) Corr.. In *Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 43(3): 231-236.
- Niembro R., A. 1989. Semillas de plantas leñosas: morfología comparada. Limusa. México. 224 p.
- Núñez, V., R. Otero, J. Barona, M. Saldarriaga, R. G. Osorio, R. Fonnegra, S. L. Jimenez, A. Díaz y J. C. Quintana. 2004. Neutralization of the edema-forming, defibrinating and coagulant effect of *Bothrops asper* venom by extracts of plants used by healers in Colombia. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 37: 969-977.
- Obando G., 2005. Reforestación clonal. Kurú: *Revista Forestal*. 2(6):1.
- Pennington T. D. y J. Sarukhán, 1998. Árboles tropicales de México, Manual para la identificación de las principales especies. UNAM, Fondo de Cultura Económica. México, 521 p.
- Pennington T. D. y J. Sarukhán, 2005. Árboles tropicales de México, Manual para la identificación de las principales especies. UNAM, Fondo de Cultura Económica. México, 523 p.
- Phillips, G. C. y G. B. Collins. 1979. *In vitro* tissue culture of selected legumes and plant regeneration from callus cultures of red clover. *Crop Science* 19: 59-64.

- Piotto D., F. Montagnini, L. Ugalde y M. Kanninen. 2004. Growth and effects of thinning of mixed and pure plantations with native trees in humid tropical Costa Rica. *Forest Ecology and Management* 177: 427-439.
- PRODEFO. 2001. Monografías de especies nativas promisoras para el establecimiento de plantaciones forestales en Jalisco Cedro Rojo y Rosa Morada. PRODEFO Jalisco. Guadalajara, Jalisco, México. Documento técnico 30. 73p.
- PRODEFO. 2005. Plantaciones forestales comerciales. PRODEFO. Guadalajara, Jalisco, México. Documento técnico 42. 132p.
- PRONARE SEMARNAP, 2000. Gaceta de la Red Mexicana de Germoplasma Forestal. PRONARE SEMARNAP. 4: 39-48.
- Rzedowski, 1981. Vegetación de México. Limusa. México, D. F. 432 p.
- Schuler I., S. Baquero, D. Gaona, E. Vega, J. Rodríguez, C. Ramírez, V. Nieto y E. Hodson. 2005. Propagación *in vitro* del material seleccionado de *Tabebuia rosea* (Bertol.) DC. (Ocobo) y *Cordia alliodora* (Ruiz & Pav.) Oken (Nogal cafetero). *Revista Colombiana de Biotecnología* 7(1): 39-50.
- SIRE: CONABIO-PRONARE, 2000. SIRE Paquetes Tecnológicos, *Cordia elaeagnoides*. <http://www.conafor.gob.mx/portal/docs/secciones/bosquedes/Fichas%20Tecnicas/Cordia%20elaeagnoides.pdf>
- Sonsire, B. 1994. Revisión: El enraizamiento adventicio en especies forestales. En: Memorias Seminario Actualización en Propagación Vegetativa y Silvicultura Clonal. Bogotá, Colombia.
- Suárez I., A. Jarma y M. Avila. 2006. Desarrollo de un protocolo para la propagación *in vitro* de Roble (*Tabebuia rosea* (Bertol.) DC.) *Temas Agrarios* 11(2): 52-62.
- Villavicencio, E. L. y J. I. Valdez H. 2003. Análisis de la estructura arbórea del sistema agroforestal rusticano de café en San Miguel, Veracruz, México. *Agrociencia* 37: 413-423.
- Zhao, P., W. Wang, F. S. Feng, F. Wu, Z. Q. Yang, y W. J. Wang. 2007. High-frequency shoot regeneration through transverse thin cell layer culture in *Dendrobium candidum* Wall ex Lindl. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 90(2): 131-139.