

*Taxodium mucronatum*



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

---

---

ESCUELA DE BIOLOGÍA

“PROPAGACIÓN ASEXUAL DE PLANTAS SUPERIORES, MEDIANTE LA  
TÉCNICA DE “ACODO AÉREO” EN RAMAS JOVENES DE *Taxodium*  
*mucronatum* Ten”

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:

BRENDA JAZMÍN MARÍN LEANA

DIRECTOR DE TESIS:

QFB. GUILLERMO RUEDA LUNA

PUEBLA, PUEBLA.

NOVIEMBRE DE 2015

## **AGRADECIMIENTOS:**

- A Dios por darme la fuerza, inteligencia y paciencia para concluir esta etapa de mi vida.
- A mis padres: † Carlos Valentín Marín García y Plácida Leana Domínguez por el esfuerzo realizado para lograr esta meta.
- A mis tíos Andrés y † Lupita por el apoyo brindado durante algún tiempo.
- A Polo quien a pesar de todo, siempre estuvo conmigo apoyándome para concluir esta etapa de mi vida.
- A mis amigas Moni y Karen con quienes compartí muchos momentos como universitarias.
- A mi asesor de tesis, QFB. Guillermo Rueda Luna por sus enseñanzas durante mi trabajo de tesis, por los consejos brindados, paciencia y sobre todo por creer en mí... Gracias Profe.
- A mis compañeros: Julia, Angel, Luis y Moni por acompañarme durante algunas salidas de campo y una que otra aventura que pasamos o peor aún quedarnos sin transporte y regresarse de a ray jajaja. Gracias chicos.
- Y por último a todas aquellas personas que creyeron en mí, familia y amigos, TARDE, PERO SEGURO.....

“No es la más fuerte de las especies la que sobrevive y tampoco la más inteligente. Sobrevive aquella que más se adapta al cambio.”... CHARLES DARWIN

# ÍNDICE

Presentación.....	1
Resumen.....	6
1. Introducción.....	7
1.1 Generalidades de <i>Taxodium mucronatum</i> Ten.....	9
1.2 Tabla: taxonomía de <i>Taxodium mucronatum</i> Ten.....	10
1.3 Descripción botánica de <i>Taxodium mucronatum</i> Ten.....	11
1.4 Distribución y hábitat.....	14
1.5 Floración y fructificación.....	14
1.6 Usos de <i>Taxodium mucronatum</i> Ten.....	15
1.7 Métodos de propagación vegetal.....	15
1.8 Ventajas de la propagación vegetativa asexual.....	16
1.9 Propagación asexual de <i>Taxodium mucronatum</i> Ten por acodo aéreo.....	17
1.10 Formación de raíces adventicias de <i>Taxodium mucronatum</i> Ten por acodo aéreo.....	19
2. Antecedentes.....	21
2.1 Aplicación de reguladores de crecimiento vegetal y propagación asexual.....	21
2.2 Uso de enraizadores en plantas.....	24
2.3 Descripción del enraizador aplicado: RAÍZ SINERplus.....	24
2.4 Importancia de los hongos.....	26
2.5 Uso de micorrizas vesículo arbusculares (MVA).....	27
2.6 Concepto de endomicorriza.....	31
2.7 Descripción de micorriza comercial aplicada: GLUMIX.....	33
2.8 Microscopía electrónica de barrido (meb).....	35
2.9 Microscopía óptica compuesta (moc).....	36
2.10 Microtomía de rotación.....	36
3. Justificación.....	37
4. Hipótesis.....	38
5. Objetivos.....	38
6. Diagrama de trabajo.....	39
7. Materiales y métodos.....	40
7.1 Localización del sitio experimental.....	40
7.2 Características principales que describen a Huehuetlán el Grande, Puebla.....	42
7.3 Trabajo en campo.....	44
7.4 Selección de árboles.....	45
7.5 Técnica de acodo aéreo.....	45
7.6 Corte y trasplante.....	48
7.7 Técnica histológica por microtomía de rotación.....	49

7.8 Microtomía electrónica de barrido y óptica compuesta.....	52
8. Resultados.....	53
8.1 Observación por microtomía electrónica de barrido y microscopía óptica compuesta.....	61
9. Discusión.....	66
10. Conclusiones.....	72
11. Literatura citada.....	75
12. Recomendaciones.....	82
13. Anexo fotográfico.....	83

## RESUMEN

Actualmente se han considerado diferentes formas de propagación asexual vegetativa que resulten más factibles para la obtención de plantas en el menor tiempo posible. Aplicando agentes químicos o agentes reguladores de crecimiento (RCV), (hormonas vegetales) y agentes biológicos: hongos micorrízicos, que estimulen los enraizamientos por simbiosis permitiendo a la nueva planta su futura adaptación y desarrollo final. En el presente trabajo, como área de estudio se seleccionó el centro recreativo: "Atotonilco" ubicado en el municipio de Huehuetlán el Grande, Puebla, México. Se seleccionaron dieciocho (18) especímenes de *Taxodium mucronatum* al azar. En cada uno de ellos se eligieron dos ramas aplicando la técnica de acodo aéreo. Se diseñaron dos grupos; el grupo 1: GRUPO CONTROL con 18 acodos y el grupo 2: GRUPO EXPERIMENTAL también con 18 acodos donde se realizaron los tratamientos, dando un total de 36 acodos aéreos. Se aplicó el enraizador comercial "RAÍZ SENERplus" únicamente al grupo 2, por un periodo de tiempo de 16 semanas. En las semanas 3 y 4 se observó la formación de nódulos y a partir de estos la presencia de raíces. A partir de la semana 5 se observó la presencia de las primeras raíces. En ambos grupos se realizaron observaciones y riegos constantes por un lapso de tiempo total de 16 semanas. En el grupo 1 se obtuvieron un total de 11 acodos "vivos", mientras que para el grupo 2 se obtuvieron 14. Sin embargo en acodos de ambos grupos no se obtuvieron resultados positivos, aun bajo las mismas condiciones experimentales, resultando 7 acodos "muertos" del grupo 1 y 4 del grupo 2. Al término de las 16 semanas se realizó el corte de ramas considerando a éstas plantas "nuevas". Posteriormente se inocularon con micorriza comercial GLUMIX únicamente al grupo 2. Observándose durante un mes una mejor coloración así como un mayor brote de hojas, respecto del grupo 1. También se realizaron cortes histológicos por microtomía de nódulos y raíces tanto del grupo control como del grupo experimental. Finalmente, las muestras de nódulos y raíz de 10  $\mu\text{m}$  de espesor se observaron por microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía óptica compuesta (MOC). Por último se conservan 2 plantas "nuevas" del grupo 1 y 2 del grupo 2.

## 1. INTRODUCCIÓN

México es una de las naciones con mayor número de especies animales y vegetales, figurando en el cuarto lugar entre los 17 países denominados megadiversos, que conjuntamente albergan cerca del 70% de las especies conocidas del planeta. Sin embargo actualmente estas cifras han ido disminuyendo drásticamente debido principalmente a la inadecuada actividad humana como la deforestación, prácticas agropecuarias en exceso, el sobrepastoreo, la topografía, la densidad poblacional y la sobreexplotación de los recursos naturales como es el caso de la tala de árboles (SEMARNAT, 2007-2009).

Entre las diversas especies vegetales presentes en México se encuentra *Taxodium mucronatum* Ten, comúnmente conocido como “Ahuehuate”, donde desde tiempos prehispánicos a estos especímenes se les han atribuido cualidades sagradas, formando parte de leyendas de diversas poblaciones y lugares. Por su gran capacidad de adaptación se localiza en prácticamente todos los estados del país, es árbol típico de zonas bajas y semicálidas; se establece bien en la orilla de los arroyos y otras zonas húmedas; se aclimata fácilmente en lugares templados. Su hábitat se localiza entre los 300 y 3000 m.s.n.m. (Quintanar, 2015).

*Taxodium mucronatum* es una especie de gran importancia ornamental, religiosa, ecológica y principalmente medicinal. En la herbolaria mexicana se usa su corteza, resina y hojas para tratar varias enfermedades, principalmente la corteza quemada es utilizada como astringente y cicatrizante y para sanar quemaduras y úlceras (Niembro, 1989).

Esta especie, ante la actual problemática presente en la pérdida de vegetación que se vive no solo en México sino también en el mundo entero a causa de la deforestación, contaminación, calentamiento global e incendios forestales por mencionar algunas; se contempla como una necesidad la producción de nuevas plantas con el fin de contribuir en la restauración y reforestación vegetal a futuro en el menor tiempo posible, esto se puede lograr gracias a los diferentes mecanismos y técnicas de propagación asexual vegetativa que se conocen actualmente; entre estas técnicas se encuentra el “acodo aéreo” donde es posible

la obtención de raíces de las plantas en menor tiempo posible, además a costos bajos y muy accesibles, facilitando también el trabajo principalmente a viveristas dedicados a la propagación vegetal a diferencia de la propagación de plantas de manera sexual, es decir, desde la germinación de la semilla donde el tiempo de espera para la obtención de plantas nuevas es mayor (Hartman *et al.*, 1984).

Además de las técnicas de propagación vegetativa asexual, existen otras alternativas que favorecen el desarrollo de las plantas; la aplicación de agentes químicos, reguladores de crecimiento vegetal (RCV), hormonas vegetales y agentes biológicos como los hongos micorrízicos: micorrizas vesículo arbusculares (MVA) favorecen a la planta en la estimulación de enraizamientos, así como desarrollar simbiosis con los agentes biológicos con el fin de permitir a las nuevas plantas su futura adaptación y desarrollo final (Hocker, 1984).

Se trabaja ya desde hace algunas décadas en la introducción de alternativas biológicas para favorecer el desarrollo de plantas. La micorrización es una de estas técnicas empleadas por los diversos beneficios que aporta a la planta; entre ellos podemos mencionar que permiten una aplicación exitosa mediante el recubrimiento de las semillas, incrementa el crecimiento y el establecimiento temprano de la planta, desarrollan una calidad biológica superior, en cuanto a mayor altura, vigor y número de brotes y se incrementan los rendimientos, así también protege las raíces contra ciertos hongos patógenos, solo por mencionar algunos; del mismo modo, la aplicación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV) presentando la misma importancia (Fernández, 2008).

Se aplicó la técnica de acodo aéreo en ramas jóvenes de *Taxodium mucronatum* para el desarrollo de raíces y así la obtención de nuevas plantas; con el fin de acelerar su desarrollo se optó por la aplicación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV) utilizando un enraizador comercial (RAÍZ SENERplus) y posteriormente se aplicó un producto de micorriza comercial (GLUMIX).

Por tal motivo el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto que tiene el enraizador en el desarrollo de la raíces de *Taxodium mucronatum* a través de acodos aéreos; y posteriormente, la aplicación de micorriza comercial con el fin

que las “nuevas plantas” puedan desarrollar una mejor adaptación para su posterior desarrollo.

## 1.1 Generalidades de *Taxodium mucronatum* Ten

*Taxodium mucronatum* es conocido comúnmente como “Ahuehuete”, “*Ahuéhuetl*”, “Sabino”, “Árbol viejo de agua”, “Ciprés Moctezuma” o “Ciprés mexicano”. Los ahuehuetes son una especie originaria de México. Su nombre proviene del náhuatl “*Ahuéhuetl*” que significa “árbol que nunca envejece” o “árbol viejo de agua”. El Ahuehuete es el árbol nacional de México, condecoración que recibió en 1921 para celebrar el Centenario de la Independencia Mexicana, gracias a su esplendor, belleza, longevidad, dimensiones colosales, tradición y que se encuentra en prácticamente cualquier lugar de la República, casi desde a nivel del mar (300 msnm en Montemorelos, Nuevo León), hasta más de 2 500 msnm en el Estado de México. Sin embargo, esta distinción es merecida por mucho más que su amplia distribución geográfica: el ahuehuete es un elemento de la naturaleza indisolublemente ligado a la cultura nacional, desde la época prehispánica hasta nuestros días. La historia de este árbol se remonta a muchos millones de años, más precisamente hasta la era mesozoica, hace entre 100 y 200 millones de años, cuando el grupo de las coníferas, al que pertenece esta especie, dominaba las tierras emergidas, formando impresionantes extensiones de bosques primitivos. *Taxodium* proviene del vocablo *taxus*, que es el antiguo nombre de un árbol cuyas hojas son parecidas a las del ahuehuete: el tejo; mientras *mucronatum* hace referencia al cono productor de semillas, que posee unas proyecciones cortas y agudas, semejantes a espinas anchas y cortas. La palabra “ahuehuete” proviene del náhuatl a, derivado de *atl*, “agua”, y *huehuetl*, “viejo”, por lo que la composición resulta en “viejo del agua”, lo cual nos habla de su extraordinaria longevidad y de sus hábitos de crecimiento. Dada su amplia distribución en la República, el Ahuehuete recibe numerosos nombres locales, como “yagaguichiciña”, que en zapoteco significa “cedro de larga vida”, o “penhamu”, en tarasco; de hecho, los nombres de “Pénjamo” (Guanajuato) y “Penjamillo” (Michoacán) significan “lugar de ahuehuetes”; asimismo, hay muchas otras comunidades como “Ahuehuetitlán”

(Oaxaca), “Ahuehuetzingo” (Puebla, Morelos) y “Ahuehuetitla” (Hidalgo) que toman su nombre de nuestro legendario árbol. Esta especie se encuentra entre las más longevas del mundo, ya que un ejemplar de 100 años es apenas un joven alcanzando a vivir más de 500 años; por mencionar un ejemplo se encuentra el árbol del Tule, en Santa María del Tule, Oaxaca, se le calculan más de 2,000 años de edad. Un acontecimiento que hace hincapié a esta especie vegetal es la historia del árbol de la noche triste, a cuyo pie, Hernán Cortés se sentó a llorar por la trágica derrota de sus tropas a manos de los mexicas el 1 de julio de 1520 (Quintanar, 2015).

**1.2. Tabla: Taxonomía de *Taxodium mucronatum* Ten. (Tomado de: UNIBIO: Colecciones biológicas).**

REINO	<i>Plantae</i>
DIVISIÓN	<i>Pinophyta</i>
CLASE	<i>Pinatae</i>
ORDEN	<i>Pinidae</i>
FAMILIA	<i>Taxodiaceae</i>
EPÍTETO ESPECIFICO	<i>mucronatum</i>
GENERO	<i>Taxodium</i>
NOMBRE CIENTÍFICO	<i>Taxodium mucronatum</i> Ten.
NOMBRE COMÚN	“Ahuehuete”, “Ahuéhuetl”, “Sabino”, “Árbol viejo de agua”, “Ciprés Moctezuma”, “Ciprés mexicano”.

### **1.3. Descripción botánica de *Taxodium mucronatum* Ten.**

Árbol de 20 a 30 m de altura, tronco grueso, a menudo lobulado y frecuentemente dividido desde muy abajo en 2 a 3 troncos que dan la impresión de ser varios árboles unidos por su base, corteza de color café-rojizo que se desgarran en tiras longitudinales más o menos entrelazadas, ramas formando una copa amplia y regular, ramillas colgantes de 10 a 15 cm de largo, hojas lineares rectas o levemente falcadas, convexas en el haz, de 10 a 22 mm de largo por 1 mm de ancho, ápice agudo y hialino, margen entero, base abrazando la ramilla, nervio central formando un canal en el haz y una cresta en el envés, conos ovales o globosos, casi sésiles, de 2 cm de largo por 1.5 cm de ancho, duros y aromáticos, de color verdoso, a veces con tinte azulado, erizados de cortas puntas aplanadas, formados por unas 20 a 28 escamas trapezoides, rugosas, provistas de vejigas resiníferas, cada una protegiendo a una o dos semillas (Fig. 1). Con un número aproximado de 22 a 20, irregulares, angulosas, de 9 mm de largo por 5 mm de ancho. El fruto es oval globoso, aromático de color verdoso, de 20 mm de largo por 17 mm de ancho y contiene glándulas resiníferas en su interior. La madera es suave y ligera, tiene una alta durabilidad natural, es fácil de trabajar, preservar y secar. En las flores los estróbilos maduros se presentan principalmente en los meses de julio y agosto, aunque es posible observarlos desde febrero hasta noviembre. Los estróbilos masculinos maduros se observan de febrero a abril, los jóvenes desde julio hasta enero. Esta especie poliniza desde finales de febrero hasta el final de marzo. Los megaestróbilos maduran durante el mismo año para la diseminación de los óvulos maduros que es en otoño. Los frutos se presentan en agosto y septiembre, aunque los mantiene durante todo el año; las semillas son más abundantes entre los meses de agosto a noviembre (Arreguin *et al.*, 1981).

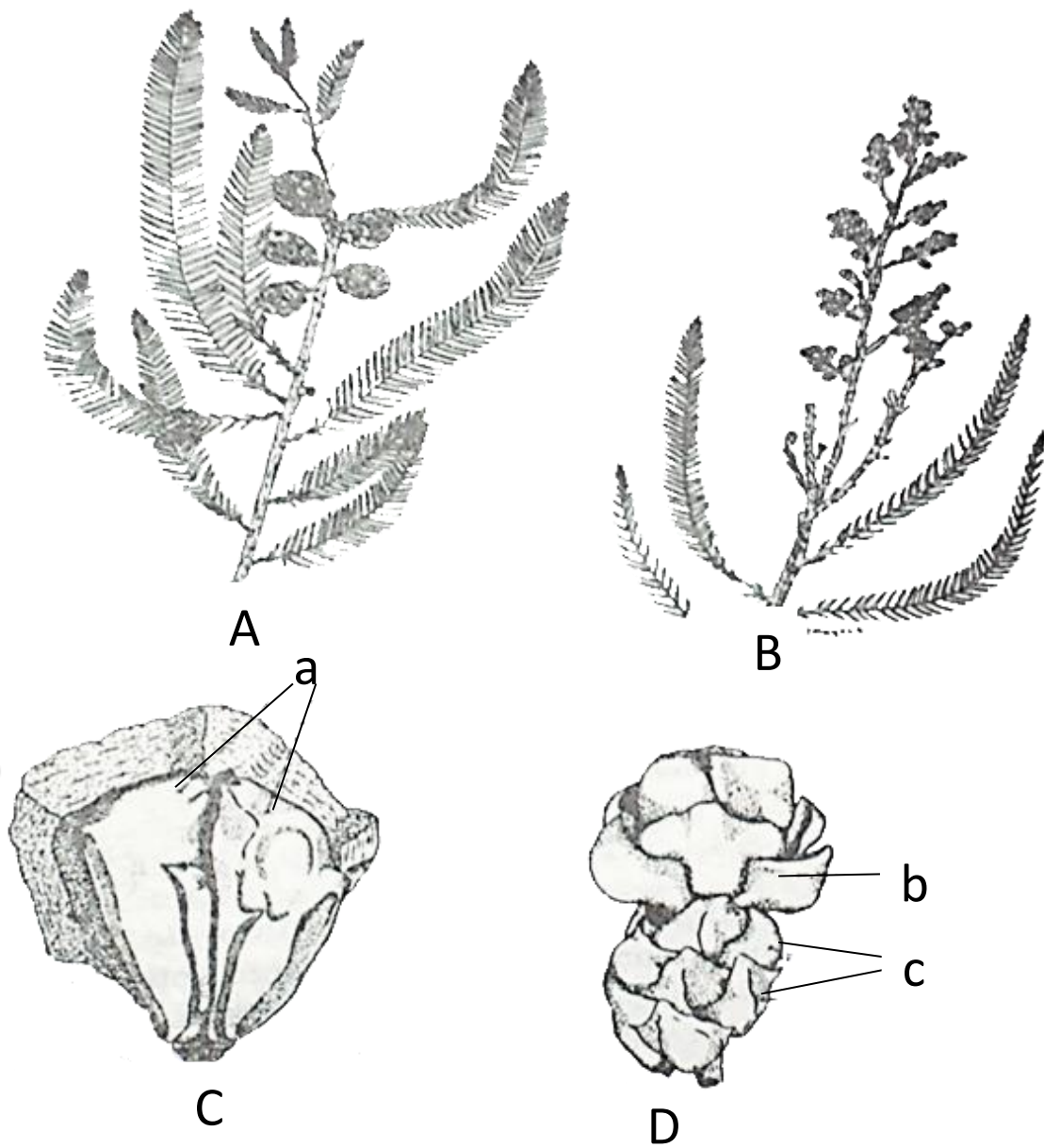


Figura 1. *Taxodium mucronatum* Ten. A. rama provista de conos femeninos, B. rama provista de conos masculinos, C. escama de cono femenino maduro, a. semillas, D. cono masculino, b. escama, c. bracteas protectoras (Arreguin *et al.*, 1981).

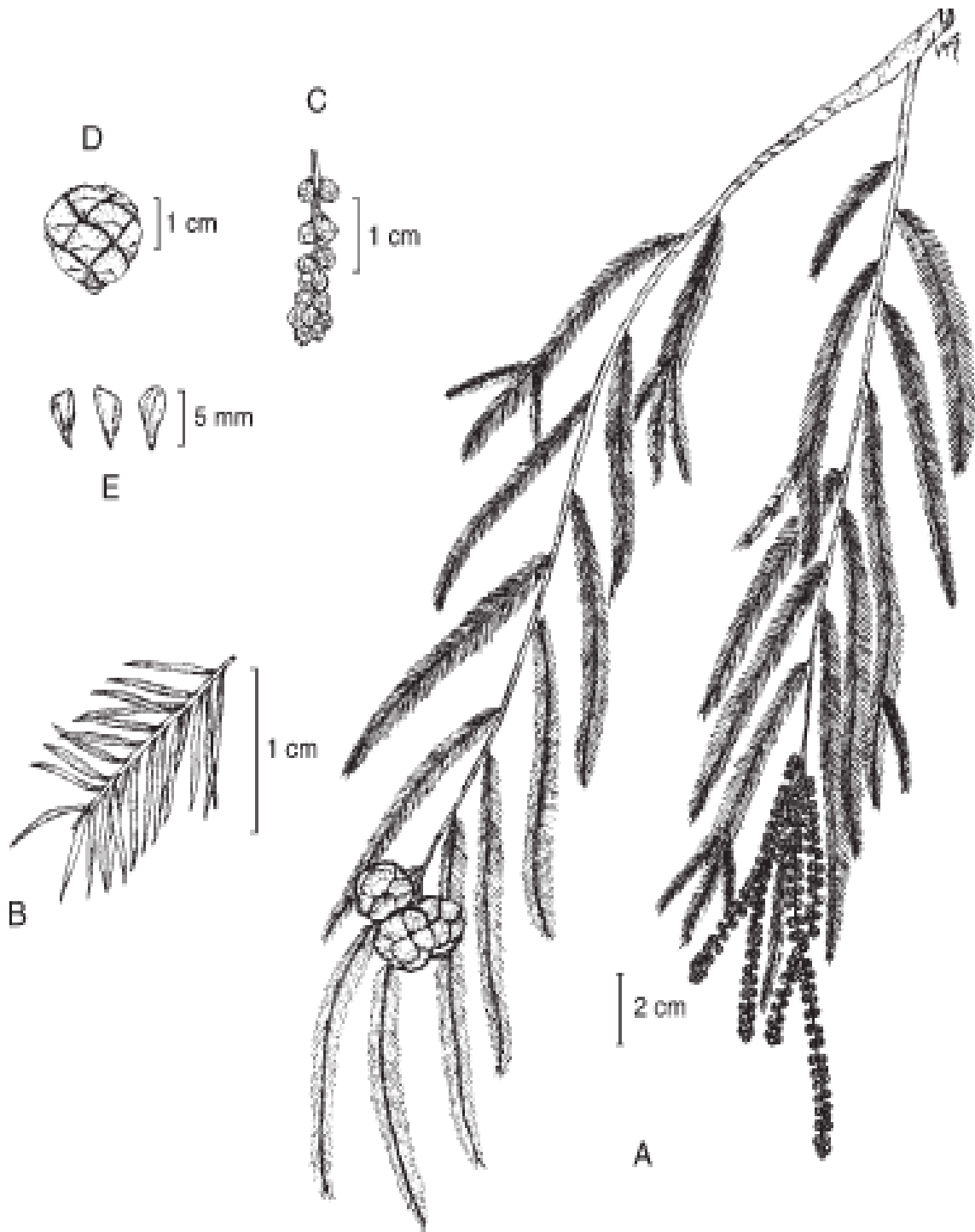


Figura 2. *Taxodium mucronatum* Ten : A) Rama ; B) Detalle de ramilla; C) Inflorescencia masculina; D) Fruto ; E) Semilla (Arreguin *et al.*, 1981).

#### **1.4 Distribución y hábitat.**

Se distribuye naturalmente desde el sur de Texas y México hasta Guatemala en América Central. Su distribución altitudinal varía de 300 a 3000 msnm, con precipitaciones de 900 a 500 mm y con temperatura de 18 a 26 °C. Es un árbol propio de lugares bajos y semicálidos, crece a orillas de los arroyos y ríos con las raíces parcial o totalmente sumergidas en el agua; se adapta a lugares templados y con alto nivel freático (Niembro, 1989).

Este tipo de vegetación habita naturalmente en “bosques de galería” que son agrupaciones arbóreas que se desarrollan a lo largo de corrientes de agua más o menos permanentes. Desde el punto de vista fisonómico y estructural se trata de un conjunto muy heterogéneo, pues su altura varía de 4 a más de 40 metros y comprende árboles de hoja perenne, decidua o parcialmente decidua (Rzedowski y Calderon, 1981).

#### **1.5 Floración y fructificación.**

Para el caso de la floración; la polinización, fertilización y dispersión de los frutos ocurre durante el transcurso de un año. La floración se produce entre los meses de marzo y abril en Estados Unidos de América y de febrero a marzo en México. La fructificación de los frutos maduros en los meses de septiembre a diciembre en Estados Unidos de América y de agosto a octubre en México. La dispersión de los frutos es hidrocórica. Las semillas tienen forma angulosa de 8 a 9 mm de largo; la testa es de color castaño, lisa, coriácea, de 0.5 a 0.7 mm de grosor; el embrión es recto a ligeramente curvo, cilíndrico, color crema y colocado longitudinalmente en el centro de la semilla. Tiene dos cotiledones, la radícula es superior y dirigida al micrópilo. Presenta abundante endosperma carnosos, haploide y opaco (Niembro, 1989).

## **1.6 Usos de *Taxodium mucronatum*.**

La madera extraída de los árboles adultos es utilizada principalmente en construcciones rurales, fabricación de vigas, postes, canoas y muebles rústicos. También es plantado como árbol de sombra y ornato en parques y jardines. En cuestión medicinal, se utiliza la corteza de los árboles en una preparación de infusión y se bebe como diurético, sus resinas se usan para curar heridas, úlceras, enfermedades cutáneas y gracias a las sustancias anestésicas que posee contra el dolor de dientes y el reumatismo; se asegura que los conos y las semillas, en infusión pueden curar problemas renales (Niembro, 1989).

## **1.7 Métodos de propagación vegetal.**

**1.7.1: SEXUAL:** La propagación sexual de las plantas ocurre a través de la semilla, siendo producto de la unión de los gametos femenino y masculino. La división celular, a través de la meiosis, producida por las células sexuales conlleva a la división reductora de los cromosomas, ya que su número se reduce a la mitad. El número original de cromosomas se restablece durante la fertilización, dando como resultado nuevos individuos que contienen los cromosomas de ambos progenitores. La descendencia puede asemejarse a alguno, ninguno o a ambos progenitores, dependiendo de las similitudes genéticas (Hartmann *et al.*, 1984).

**1.7.2: ASEXUAL:** La propagación asexual o vegetativa, es la capacidad que tienen algunos órganos vegetativos de regenerar parte de la planta y formar un nuevo individuo independiente, a través de la mitosis, ya que la planta posee los genes necesarios para su crecimiento y desarrollo. Aunque las especies que se propagan de esta manera se encuentran limitadas al medio ambiente en el que están adaptadas (Hocker, 1984).

Este proceso es básico para el crecimiento vegetativo normal de la regeneración y cicatrización de heridas mediante la formación de nódulos, que hacen posible la

propagación vegetativa a través de la multiplicación por estaca, injerto, acodo, separación y división. Esos métodos son importantes porque permiten la multiplicación en gran escala de una planta individual, en tantas plantas separadas como la cantidad de material paterno (Hartmann *et al.*, 1984).

Mediante el desarrollo y aplicación de técnicas de multiplicación vegetativa artificial, las características propias de cada especie se conservan en las plantas descendientes y pueden conservar intacto el genotipo de la planta madre (Hartmann *et al.*, 1984). Otra ventaja que favorece a estos métodos, es la obtención a corto plazo de nuevas plantas, en comparación si se obtienen a través de la propagación sexual.

La reproducción asexual, esto es, la reproducción empleando partes vegetativas de la planta original, es posible porque cada célula de la planta contiene la información genética necesaria para generar la planta entera. La reproducción puede ocurrir mediante la formación de raíces y tallos adventicios o por medio de la unión de partes vegetativas por injerto (Hartmann *et al.*, 1984).

### **1.8 Ventajas de emplear la propagación vegetativa asexual.**

Mantenimiento de clones. La propagación vegetativa asexual en cuanto a que involucra divisiones mitóticas de las células, ya que duplican el genotipo de la planta; a esta duplicación genética se designa como clonación y la población de plantas descendientes se llama clones. Para la horticultura, la clonación adquiere una gran importancia debido a que la mayoría de los cultivares principalmente de plantas frutales y ornamentales tienen un genotipo altamente heterocigoto y las características únicas de dichas plantas se pierden de inmediato al propagarlas por semilla (Shull, 1912).

Evitación de periodos juveniles prolongados. Las plantas que son cultivadas a partir de semillas pasan por un periodo juvenil prolongado en el cual no ocurre floración. Algunas plantas leñosas y ciertas herbáceas perennes (orquídeas,

especies de bulbo) pueden necesitar un tiempo de 5 a 10 años para que se inicie su floración. Una vez que han llegado al estado florífero, florecen con regularidad. La propagación vegetativa asexual retiene esa capacidad de floración y con ella se incrementa la fase juvenil (Hartmann *et al.*, 1984).

Control de la forma de crecimiento. Durante su periodo juvenil las plantas que son originadas por semilla no sólo no producen flores y frutos sino que a menudo muestran características morfológicas diferentes. Algunas de ellas son caracteres muy inconvenientes que se pueden evitar propagando la forma adulta por métodos vegetativos. Por ejemplo, la selección de material por estacas en la fase juvenil facilita la propagación de especies difíciles de enraizar ya que las estacas tomadas de material juvenil enraízan con mayor facilidad que las de material adulto (Hartmann *et al.*, 1984).

Combinación de clones. Un aspecto importante de la propagación vegetativa asexual es la posibilidad de combinar en una sola planta dos o más clones por ejemplo por injerto (Webber, 1903).

Razones económicas. En general, la propagación por medios vegetativos es más económica que la propagación por semilla, además su empleo tiene una mayor superioridad y uniformidad de clones específicos. La principal economía de la propagación vegetativa proviene de la eliminación de la fase juvenil y del acortamiento del tiempo necesario para llegar a la madurez reproductiva (Hartmann *et al.*, 1984).

### **1.9 Propagación asexual de *Taxodium mucronatum* por la técnica de acodo aéreo.**

Este acodado también recibe los nombres: “*acodo chino*”, “*acodo de maceta*”, “*acodo en tiesto*”, “*circumposición*”, “*marcottage*” y “*gootee*”. Se emplea para propagar árboles y arbustos tropicales y subtropicales, en especial plantas ornamentales por ejemplo las azaleas (*Rhododendron* spp.), magnolias (*Magnolia*

spp.), higuera (*Ficus carica*) y acebos (*Ilex* spp.). Los acodos aéreos se hacen en primavera a fines del verano en ramas parcialmente endurecidas. El acodo aéreo es una técnica de reproducción vegetal asexual de las plantas que consiste en formar nuevos ejemplares a partir de una rama de la planta madre, no separada todavía de la misma, a la cual se le hacen brotar raíces adventicias. Una vez producidas las raíces, la rama se separa de la planta madre. Mediante esta forma de multiplicación se producen nuevas plantas que son genéticamente iguales a la planta de la cual se obtuvo la rama; es decir, un clon (Botanical-online, 1999-2015).

El clonado hace posible el aprovechamiento de una sola planta con un genotipo único. Tales plantas pueden seleccionarse de una población variable de plantas de semilla, de un solo árbol o de una sola rama, diferente en un grupo de plantas propagadas vegetativamente. Además que al tener el mismo genotipo básico, la población de plantas tiende a ser fenotípicamente muy uniforme. Por lo general, todos los miembros de un clon tienen el mismo aspecto, tamaño, época de floración, época de maduración, etc., haciendo con ello posible la estandarización de la producción (Hartmann *et al.*, 1984).

Esta técnica se ha empleado en otros trabajos experimentales, los cuales han obtenido buenos resultados en el enraizamiento de las especies propagadas. Aunque en la mayoría de los casos se ha aplicado principalmente a especies con mayor capacidad de enraizamiento y en consecuencia la propagación vegetativa es más exitosa. El acodo aéreo es una alternativa de conservación para la multiplicación vegetativa; ya que dicho método puede efectuarse en el mismo lugar donde se encuentra la planta madre hasta el momento de la separación. También se aplican reguladores de crecimiento para mejorar el enraizamiento de los acodos (Weaver, 1976). Además es un método factible, sencillo y accesible tanto a productores como a viveristas, que permite producir en corto tiempo ejemplares grandes y en buenas condiciones (Ramírez-Villalobos *et al.*, 2004).

De las diferentes técnicas asexuales para la propagación de plantas, el estacado y acodado han sido las más utilizadas hasta ahora, principalmente en especies

ornamentales y frutales, ya que es posible obtener un mayor número de plantas regeneradas, a bajo costo y uniformidad; además que el uso de reguladores de crecimiento favorece aún más el éxito de estas técnicas. Esto fue evaluado al medir la capacidad de enraizamiento de *Murraya paniculata* (L.Jack), mejor conocida como azahar de la India, aplicando cuatro concentraciones de auxina AIB (0, 3000, 4000 y 5000  $\mu$  g·g<sup>-1</sup>) en la propagación mediante acodado, teniendo como resultado un 100% de enraizamiento en todos los tratamientos, observándose que con la concentración de 4000  $\mu$  g·g<sup>-1</sup> hubo mayor masa, número y longitud total de raíces; así mismo demostrando que la técnica de acodo aéreo fue efectiva (Castillo *et al*, 2005).

La formación de raíces puede ser estimulada por varios tratamientos aplicados al tallo tales como heridas, estrangulamiento o eliminación de un anillo de corteza en la rama, éstas técnicas ocasionan la interrupción de la translocación hacia abajo de materiales orgánicos, carbohidratos, auxinas y otros factores de crecimiento, condición que favorece el enraizamiento de la rama aún unida a la planta. Existen otros aspectos que favorecen el proceso, entre ellos: la ausencia de luz en la zona donde se formarán las raíces, la aplicación de reguladores del crecimiento tipo auxínico y la utilización de un sustrato que permita una humedad continua y temperatura moderada (Hartmann *et al.*, 1984).

#### **1.10 Formación de raíces adventicias de *Taxodium mucronatum* por acodo aéreo.**

En la propagación vegetal asexual por acodo aéreo es necesaria la formación de un nuevo sistema de raíces adventicias. Esta capacidad para regenerar estructuras enteras de una planta se debe a las propiedades que poseen esencialmente todas las células vegetales vivientes. Dicha capacidad depende de dos características fundamentales de las células vegetales. Una es la totipotencia donde cada célula vegetal viviente contiene la información genética necesaria para reconstruir todas las partes de la planta y sus funciones; la segunda es la

desdiferenciación que es la capacidad de células maduras de volver a una condición meristemática y desarrollar un punto de crecimiento nuevo (Vasil *et al.*, 1965).

Las raíces adventicias formadas son del tipo: raíces de lesiones que se desarrollan solo después que se ha realizado la técnica de acodo aéreo como respuesta al efecto de lesión de la misma. Las células vivientes que están en las superficies cortadas son lesionadas, quedando expuestas las células muertas y conductoras de xilema. El proceso subsecuente de cicatrización y regeneración ocurre en tres pasos: Primero, al morir las células externas lesionadas, se forma una placa necrótica que sella la herida con un material suberoso llamado suberina y tapa el xilema con goma. Esta placa protege las superficies cortadas contra la desecación. Segundo, después de unos cuantos días, las células que están detrás de esa placa empiezan a dividirse y se puede formar una capa de células de parénquima llamada callo o nódulo. El callo es una masa irregular de células de parénquima en varios estados de lignificación, prolifera de células jóvenes que se encuentran en la base del acodo aéreo en la región del cambium vascular, aunque también pueden contribuir células de corteza y de la medula. Con frecuencia las primeras raíces aparecen a través de él, por lo cual se considera esencial para el enraizamiento. Finalmente, en ciertas células próximas al cambium vascular y al floema se empiezan a iniciar en raíces adventicias (Hartmann *et al.*, 1984).

Durante este proceso de formación de raíces adventicias iniciales, en la rama acodada se pueden observar cuatro cambios principales:

1. Ocurre la desdiferenciación de las células maduras específicas.
2. Formación de iniciales de raíz en ciertas células cercanas a los haces vasculares, las cuales se han vuelto meristemáticas por desdiferenciación.
3. Desarrollo subsecuente de estas iniciales de raíces en primordios de raíces organizados.
4. Desarrollo y emergencia de estos primordios radicales hacia afuera a través del tejido de la rama y la formación de conexiones vasculares entre los primordios radicales y los tejidos conductores del propio acodo.

La propagación de las plantas implica el control del desarrollo de su ciclo biológico sexual y asexual (en este caso siendo asexual) a través de la mitosis. La conservación de las características propias de una planta depende de la transmisión de una generación a la siguiente de una combinación específica de genes presentes en los cromosomas de las células. El conjunto de esos genes constituye el genotipo de la planta. El genotipo, en combinación con el medio, produce una planta de una apariencia externa determinada el fenotipo. En las plantas, la mitosis se efectúa en puntos o áreas específicas para producir crecimiento, el ápice del tallo, el ápice de la raíz, el cambium y los meristemos intercalares. También ocurre mitosis cuando se forma callo en alguna parte lesionada de una planta y cuando se inicia crecimiento nuevo en porciones de raíz o tallo. El callo del parénquima está formado por nuevas células que proliferan de tejidos cortados en respuesta a la lesión. Cuando en una estructura vegetativa se inician nuevos puntos de crecimiento, como una raíz, tallo u hoja, se les llama raíces o tallos adventicios (Hartmann *et al.*, 1984).

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Aplicación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV) y propagación vegetativa asexual.**

Las plantas cumplen una secuencia de eventos para lograr su desarrollo mostrando una gran plasticidad, lo cual se traduce en una amplia variedad de formas y hábitos de crecimiento. El desarrollo de las plantas comprende un conjunto de eventos que contribuyen a la progresiva elaboración del cuerpo de la planta y a su capacitación para la obtención de alimento, reproducción y adaptación a su ambiente. Este desarrollo comprende dos procesos básicos: crecimiento y diferenciación. El crecimiento denota los cambios cuantitativos que tienen lugar durante el desarrollo, mientras que la diferenciación se refiere a los cambios cualitativos (Segura, 2000).

Debido a que el desarrollo de las plantas pasa por un proceso largo, actualmente se ha utilizado como medio alternativo la aplicación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV), con el fin de estimular y favorecer a la planta, actuando benéficamente desde su inicio. El crecimiento de las plantas es un proceso dinámico, complejo y rigurosamente controlado, en donde los reguladores de crecimiento vegetal (RCV) juegan un papel principal en el control del crecimiento, no solo dentro de las plantas como universo, sino también a nivel de órgano, tejido y célula (Wareing *et al.*, 1973), pues actualmente se reconoce que la mayor parte de la actividad fisiológica de las plantas está mediada por los reguladores del crecimiento (RCV); los cuales son sustancias mensajeras, la mayoría de las veces activadas en muy pequeñas cantidades, en las que los lugares de síntesis y acción generalmente son distintos, por lo que en general presentan un área y espectro de acción muy amplio y diverso (Devlin, 1980).

Chávez *et al.*, (2012) publican que los reguladores de crecimiento vegetal como el ácido abscísico (ABA), el etileno, el ácido jasmónico (AJ) y el ácido salicílico (AS) son hormonas vegetales que controlan los procesos que van desde el crecimiento y desarrollo de la planta, hasta su respuesta al estrés biótico y abiótico, siendo estos esenciales en las respuestas de las plantas.

Godoy *et al.*, (2005) realizaron un estudio para determinar los requerimientos hormonales para la multiplicación *in vitro* de *Mentha citrata* y *Mentha piperita*, para la multiplicación acelerada y obtención de material de propagación de especies de este género ya que los cultivos de menta presentan importancia comercial por poseer propiedades medicinales y ser utilizadas en la fabricación de licores. Realizando cinco tratamientos con diferentes concentraciones de ácido indolacético y 6-bencilaminopurina y utilizando como control el medio de Murashige y Skoog sin reguladores de crecimiento; observaron que el empleo de 6-BAP (1.0 mg.L<sup>-1</sup>) provocó un incremento significativo para *Mentha piperita* y la producción de brotes y raíces para *M. citrata* fue independiente de la combinación hormonal empleada.

Salazar *et al.*, (2004) reportaron un trabajo para determinar el tiempo requerido y la capacidad de enraizamiento en aguacate *Persea americana* Mill. y *Persea schiedeana* Nees mediante acodos por extracción de anillado de la corteza del tallo y acodo basal, aplicando reguladores de crecimiento vegetal utilizando soluciones de ácido indol-3-butírico (2000 mg L<sup>-1</sup>) más ácido  $\alpha$ -naftalenacético (1000 mg L<sup>-1</sup>). Concluyendo que la capacidad de enraizamiento fue variable de 10 a 100 %, aunque el promedio global de enraizamiento fue de 66% para todas las plantas anilladas y presentando estas un sistema radical entre los 30 y 45 días después del acodado.

Hernández *et al.*, (2012) publican un trabajo donde evalúan la propagación asexual por acodos aéreos en las especies de mangle *Rhizophora mangle*, *Laguncularia racemosa* y *Avicennia germinans*, acodando 120 ramas de árboles adultos por especie de mangle utilizando ácido indolbutírico (Raizoneplus, con 6% de ácido indol-3-butírico) para favorecer su enraizado. Observando que *L. racemosa* produjo raíces en 96 acodos después de 195 días, mientras que para *R. mangle* se desarrollaron raíces en 37 acodos y *A. germinans* en 31, estas dos últimas especies después de un año de acodadas. También encontraron diferencias significativas entre el número de raíces producidas por especie, su longitud y grosor.

Ramos *et al.*, (2006) desarrollaron un método para propagar vegetativamente a *Chlorophora tinctoria* L. empleando las hormonas de enraizamiento ANA y AIB, utilizando como material vegetal ramas axilares en las que aplicaron y evaluaron las hormonas en cuatro concentraciones de auxinas (1000 mgkg<sup>-1</sup> de ANA + 1000 mgkg<sup>-1</sup> de AIB, 2000 mgkg<sup>-1</sup> de ANA + 2000 mgkg<sup>-1</sup> de AIB, 3000 mgkg<sup>-1</sup> de ANA + 3000 mgkg<sup>-1</sup> de AIB, 4000 mgkg<sup>-1</sup> de ANA + 4000 mgkg<sup>-1</sup> de AIB) reportando los mejores resultados de enraizamiento en la combinación “2000 mgkg<sup>-1</sup> de ANA + 2000 mgkg<sup>-1</sup> de AIB”.

Resulta favorable para el enraizamiento de *Taxodium mucronatum* la aplicación de reguladores del crecimiento durante la técnica del acodado aéreo, en este caso

aplicando un enraizador comercial nombrado en el mercado RAÍZ SINER*plus* para estimular, aceleran e incrementar el desarrollo de las raíces.

## **2.2 Uso de enraizadores en plantas.**

Los enraizadores son productos a base de hormonas vegetales naturales que estimulan el crecimiento de raíces en estacas, esquejes, acodos, brotes o gajos que han sido tratados con él. Es un complemento importante que asegura el crecimiento radicular en todo tipo de vegetales (Segura, 2000).

El uso de estos productos es de gran importancia para la estimulación en el desarrollo de raíces en plantas ya que su aplicación facilita y mejora el enraizado de las mismas y al mismo tiempo, aportando vitaminas, ácidos húmicos y fúlvicos que se encuentran activados en el producto. En el presente trabajo se utilizó el enraizador comercial RAÍZ SINER*plus* con presentación polvo soluble.

## **2.3 Descripción del enraizador aplicado: RAÍZ SINER*plus*.**

Es un estimulante enraizador sinérgico cuya función principal es el aporte exógeno de los promotores del enraizamiento, así como facilitar la acción de las hormonas endógenas responsables de la formación de raíces y del desarrollo inicial de la planta. RAÍZ SINER*plus* incrementa el desarrollo inicial de las plántulas después de la aparición del primer par de hojas verdaderas; esto se traduce en: una rápida difusión de los ingredientes activos en los primordios que serán convertidos en raíces; una rápida compensación de las deficiencias hormonales, fisiológicas y metabólicas a nivel de los procesos que generan la información, desarrollo y crecimiento de las raíces; un engrosamiento de los tallos; un mayor diámetro de los haces vasculares (xilema); un abundante sistema radicular, un mayor tamaño de las hojas, una mayor síntesis y concentración de clorofila. RAÍZ SINER*plus* induce estos 7 efectos en las plántulas por que aporta mayor cantidad de las sustancias requeridas (auxinas, vitaminas y fósforo) para

generar plasticidad en los primordios de raíces, hojas y haces vasculares con el fin de inducir un crecimiento y desarrollo con mayor equilibrio, así como la acumulación del agua en el tejido, la cual es el principal componente de la planta en esta etapa. Este producto presenta una composición completa y enriquecida para proporcionar a la planta una buena estimulación en cuanto a su desarrollo, la presentación se encuentra en polvo soluble representada en la tabla 2.

Tabla 2. Composición química del enraizador RAÍZ SINER $plus$  (Disponible en: <http://elsurco.com.sv/us.php?id=100&s=1>).

	<b>Porcentaje en peso</b>
Nitrógeno total(N) .....	13.44
Fósforo(P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> ) .....	18.70
Ácidos húmicos .....	07.23
Ácidos fúlvicos .....	06.26
Auxinas .....	02.70
Vitaminas y activadores.....	00.40
Acondicionadores.....	<u>51.27</u>
<b>TOTAL</b>	<b>100.00</b>

Ya han sido mencionadas las funciones que cumplen los reguladores de crecimiento vegetal (RCV) en las plantas, sin embargo, no son considerados como la única alternativa en aportar beneficios, también se encuentran otros grupos de organismos que favorecen a las plantas como es el caso de los hongos, específicamente las micorrizas vesículo arbusculares (MVA), asociadas con la raíz de las plantas realizan simbiosis para contribuir en el desarrollo y adaptación de las plantas.

## **2.4 Importancia de los hongos.**

El reino de los hongos es considerado uno de los más diversos entre los seres vivos. Presentando una gran diversidad y distribución, pueden habitar desde los polos hasta los desiertos más inhóspitos. Generalmente se les asocia a enfermedades o plagas. Sin embargo, sus conocidos beneficios son utilizados por las industrias textil, farmacéutica y alimenticia. En ambientes naturales son importantes bioindicadores del grado de perturbación del ecosistema y sirven de alimento tanto a pequeños invertebrados fungívoros, como a grandes vertebrados omnívoros. Además, contribuyen a la descomposición de restos vegetales, desempeñando una importante labor en el reciclaje de elementos como el carbono, esencial para todo ser vivo. Su acción como controladores biológicos y fertilizantes, es célebre entre especialistas que se vinculan al tema de los entomopatógenos y los biofertilizantes. Tantos son los beneficios que contribuyen al medio ambiente, que este grupo de organismos por pequeños y ocultos, no dejan de maravillarnos con la grandeza de sus potencialidades. Dentro de la clasificación de los hongos se encuentran las micorrizas, las cuales son denominadas así por la simbiosis que realizan estos hongos con las raíces de las plantas, por lo general no son visibles a simple vista, pero poseen estructuras similares a las que se encuentran en la mayoría de los representantes de su reino, como son: hifas o micelios endófitos y ectófitos (redes de hifas), vesículas, esporas y cuerpos fructíferos agregados o libres. Todas ellas, con capacidad de formar nuevos individuos, dado el carácter asexual de su reproducción. Es considerada la simbiosis más amplia y diversa que existe entre los seres vivos (Fernández, 2008).

Los hongos micorrizógenos arbusculares han co-evolucionado junto a las plantas terrestres desde el período Ordovícico (desde hace 460 millones de años), esta simbiosis se presenta en más del 70% de las familias de plantas vasculares. Su amplia distribución permite hallarlos tanto en bosques boreales, como en desiertos; desde las altas montañas, hasta en llanuras inundables, así como en dunas costeras y humedales. Estos organismos presentan una importante y

estrecha relación entre el suelo-hongo-planta, lo cual les permite llevar a cabo múltiples actividades que benefician a su huésped debido a las ventajas por la colonización que realizan para las plantas, el suelo y los ecosistemas en general. Así por ejemplo, resumiendo; para el caso de las plantas, los exudados del micelio externo a la raíz estimulan el incremento de las poblaciones de bacterias promotoras del crecimiento vegetal permitiendo un mayor aprovechamiento de los nutrientes en el suelo, al explorar zonas que la raíz no alcanza aporta mayor resistencia a sequía y salinidad del suelo, atenúa el ataque de patógenos de la raíz y finalmente en los ecosistemas contribuyendo al mantenimiento de la diversidad estructural y funcional, así como a la sucesión en diferentes formaciones vegetales por mencionar algunas funciones (Fernández, 2008).

## **2.5 Uso de micorrizas vesículo arbusculares (MVA).**

Micorriza (del griego *mykes*: hongo y *rhiza*: raíz) es una asociación íntima (simbiosis) entre ciertos hongos nativos del suelo y las raíces de las plantas. La palabra fue acuñada por primera vez por Frank en 1885 para describir la unión de dos seres (hongo-planta), que forman una nueva estructura funcional altamente evolucionada, en donde la planta recibe nutrientes minerales y agua, proporcionados por el hongo, mientras que este último obtiene los nutrientes; producto de la fotosíntesis. Es decir, las micorrizas constituyen el enlace entre los organismos fotosintetizadores y los que se nutren por absorción (Márquez *et al.*, 2002).

El término micorriza describe la asociación que se presenta entre plantas y hongos. Los hongos pueden ser tanto microscópicos como macroscópicos y se establecen en las raíces. Las asociaciones micorrízicas son cosmopolitas y generalistas por que se encuentran en la mayoría de los hábitats naturales y están presentes en la mayoría de los grupos de plantas; en general la relación es facultativa para la planta y obligada para el hongo. Los hongos micorrizogénos juegan un papel multifuncional dentro del ecosistema, ya que incrementan la

habilidad de las plantas para la toma de nutrimentos y mejoran su nutrición al esparcirse por el suelo e indirectamente las protege del ataque por patógenos; además intervienen en las relaciones hídricas de las plantas explotando el suelo y proporcionándoles agua. Se sabe también que contribuyen de manera importante en los procesos de formación y estabilización del suelo, lo que mantiene su fertilidad, ya que participan en la formación de agregados por la acción mecánica y química, debido a que la red micelial atrapa y compacta partículas primarias del suelo a través del efecto de la sustancia llamada glomalina (Álvarez *et al.*, 2008).

Estos organismos son característicos por su forma de crecimiento, desarrollándose principalmente sobre la superficie de las raíces, formando una especie de envoltura desde la cual se desarrolla un gran número de filamentos que crecen desde la raíz hacia el suelo para explorarlo. De esta manera se forma una red con estos filamentos, en donde se lleva a cabo una de las formas de intercambio entre dos seres vivos asociados; además que son consideradas probablemente como uno de los tipos de simbiosis más abundantes y distribuidos en la superficie terrestre, ya que se estima que su inicio fue hace aproximadamente 500 millones de años y abarcando el 95% presentes en las plantas (Márquez *et al.*, 2002).

Los hongos micorrizogénos son considerados como una herramienta biológica, debido a que tienen la capacidad de aumentar la velocidad de crecimiento y madurez de las especies vegetales, así como su probabilidad de establecimiento y supervivencia, teniendo la capacidad de aceleración en la recuperación de sistemas ecológicos perturbados (Guadarrama *et al.*, 2004).

Los hongos involucrados tanto micro como macroscópicos incluyen los Basidiomicetes (*Amanita sp.*, *Rhizoctonia*), Ascomicetes (*Cenococcum sp.*, *Tuber*), Zigomicetes (*Endogone*) y Glomeromicetes (*Glomerales*); (Guadarrama *et al.*, 2004)

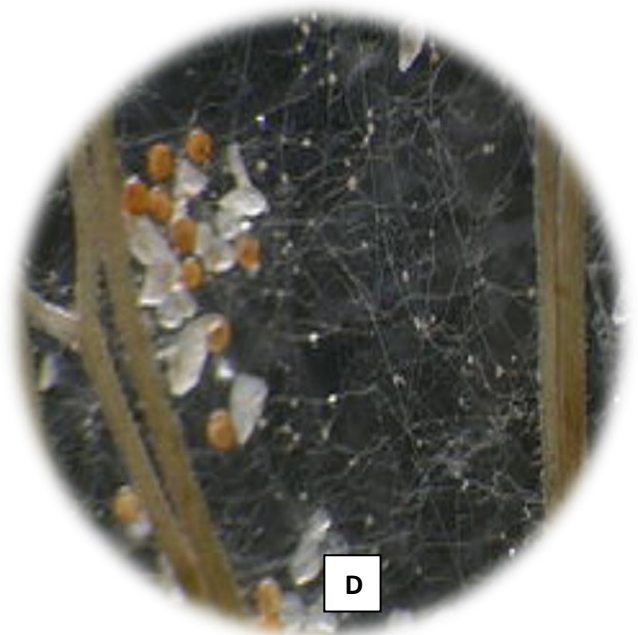


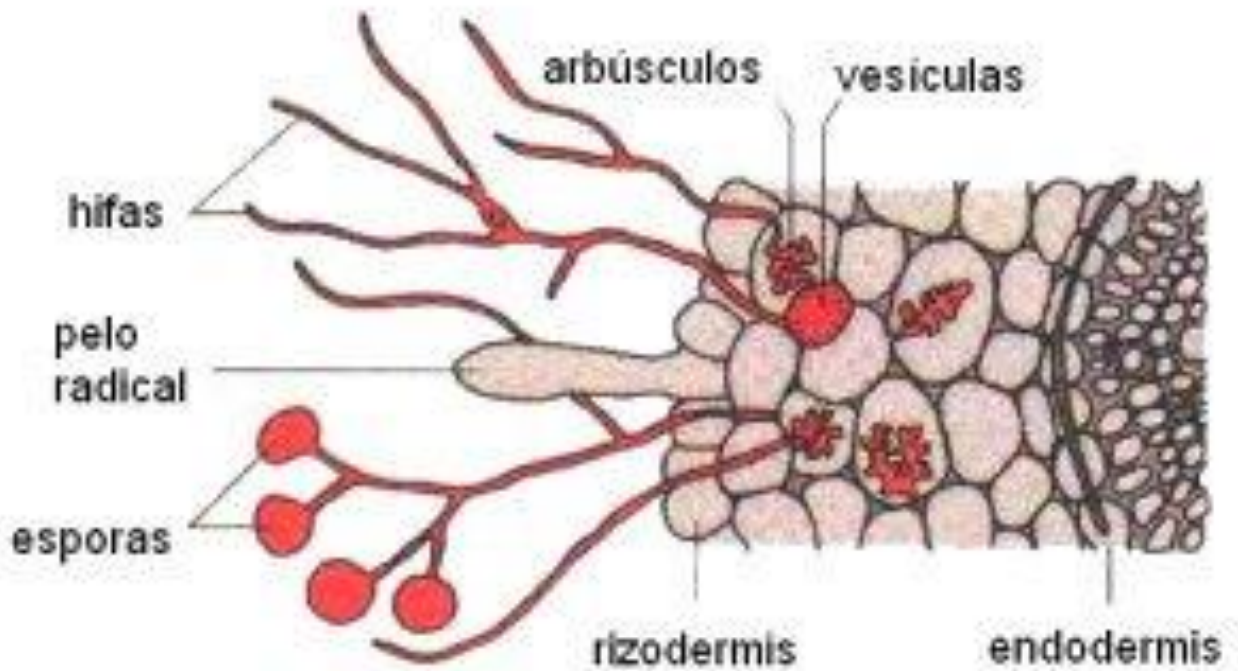
Figura 3. Ejemplos de hongos formadores de micorrizas: A) Basidiomicetes (*Pholiota aurivella*); B) Ascomicetes (*Helvella crispa*); C) Zigomicetes y D) Glomeromicetes (*Gigaspora margarita*).

DENOMINACIÓN CLASICA	DENOMINACIÓN ACTUAL	CARACTERISTICAS	PLANTA HUESPED	HONGOS QUE LA FORMAN
<b>Ectotróficas o Ectomicorrizas</b>	Formadoras de manto (sheating)	-Forman manto que cubre la raíz. -Hifas solo intercelulares que forman la Red Hartig. -Hongo de micelio septado.	<i>Betulaceae</i> <i>Fagaceae</i> <i>Pinaceae</i> <i>Eucaliptus</i>	<i>Agaricaceae</i> <i>Boletaceae</i> y otros.
<b>Endotróficas ó Endomicorrizas</b>	Vesículo-arbusculares (MVA)  Ericáceas : A) Ericoides  B) Arbutoides	-Desarrollo mayoritario del hongo dentro de la raíz. -Hifas externas no formadoras de manto. -Micelio no septado, salvo hifas viejas. -Hifas inter e intracelulares  -Rudimento de manto. -Hifas inter e intracelulares: las intracelulares forman masas compactas lisadas o digeridas. -No se forman vesículas ni arbusculos.  - Forman manto. -Hifas intra e intercelulares. Las intercelulares no forman red Hartig.	Se encuentran en la mayoría de las plantas.  <i>Ericaceae</i> <i>Epacridaceae</i> <i>Empetraceae</i>  <i>Ericaceae</i> <i>Pyrolaceae</i> <i>Monotropaceae</i>	Ficomietos microscópicos pertenecientes a la familia <i>Endogonaceae</i>  Ascomietos  <i>Arbutus</i> : <i>Arctostaphylos</i> <i>boletus</i>
<b>Ectendotróficas ó Ectendomicorrizas</b>	Orquidáceas	-Planta huésped tiene periodo de su ciclo de vida heterótrofo durante el cual, para sobrevivir necesita ser infectado por un hongo micorrízico.  -La infección del huésped por el hongo puede evolucionar a micorriza o parasitismo.	<i>Orchidaceae</i>	Basidiomicetos

Tabla 3: Clasificación de las micorrizas (Rodríguez, 1989).

## 2.6 Concépto de endomicorriza.

Los hongos encargados de producir las endomicorrizas se caracterizan por colonizar intracelularmente el córtex radical, por lo tanto no hay manto externo que pueda verse a simple vista. Las hifas se introducen inicialmente entre las células de la raíz, para luego penetrar en el interior de estas, formando así vesículas alimenticias y arbusculos (Figura 4). Por ello a este grupo se les conoce también como micorrizas vesículo arbusculares (MVA) (Rodríguez, 1989).



*Figura 4.* Endomicorriza: el micelio fúngico penetra en las células del córtex de la raíz, siendo el contacto más estrecho. Tomado de Franco (2007).

Los hongos que forman endomicorrizas son *Zigomicetos* de la familia Endogenaceae, géneros *Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis* y *Scutellospora*, se caracterizan por la producción de hifas, vesículas y arbusculos en el parénquima radical y *Glomus* puede formarlas intra o extrarradicalmente (Azcón *et al.*, 1980; Guzman-Plazola *et al.*,1990).

Estos hongos además de estar reportados como grandes exploradores del suelo, solubilizan fosfatos, estos se encuentran asociados a un gran número de plantas formando simbiosis micorrizica la cual aumenta de forma marcada la absorción de nutrimentos como el nitrógeno, potasio, calcio, zinc, magnesio y especialmente fósforo, mejora el transporte y absorción del agua en el vegetal así como la resistencia de la planta huésped a la sequía (Barea *et al.*, 1983; Guzman-Plazola *et al.*, 1990).

Dentro de los hongos de la familia endogenaceas, la cual contiene varios géneros entre ellos los más estudiados ***Glomus***, se caracteriza por la producción de hifas, vesículas y arbusculos en el parénquima radical y los forma intra y extrarradicalmente. De este modo permite a muchas plantas que crecen en suelos infértiles absorber fósforo y otros nutrimentos poco móviles en forma más eficiente creciendo mejor y así producir más biomasa (Guzman-Plazola *et al.*, 1990; Pacovsky, 1989).

Se han realizado varios experimentos de co-inoculación con microorganismos fijadores de nitrógeno como *Klebsiella*, *Acetobacter*, *Azotobacter spp* y Hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en diferentes cultivos como: avena, cebolla, maíz, papaya, sorgo, tomate, trigo se han observado una interacción sinérgica de crecimiento e incremento en los parámetros como: peso fresco y seco de brotes y raíces; peso total de la planta, y mazorcas; con una floración más temprana; plantas más altas e incrementos en el tamaño de hojas y tasas de germinación más altas, contenido de nitrógeno y fósforo (Alarcón *et al.*, 2002; Baldani *et al.*, 1983; Romero *et al.*,2001).

Las ectomicorrizas al igual que las endomicorrizas son consideradas de gran importancia; sin embargo, de todas las micorrizas conocidas, las más estudiadas y comercializadas son sin duda, las endomicorrizas y particularmente las micorrizas arbusculares. Estas pertenecen a la División Glomeromycota y amparan hasta la fecha, algo más de 180 especies identificadas (Fernández, 2008).

## **2.7 Descripción de micorriza comercial aplicada: GLUMIX**

Además de la importancia que tienen los reguladores de crecimiento vegetal (RCV) para estimular el desarrollo de la raíz, los hongos formadores de micorrizas como ya se ha descrito anteriormente, desempeñan de igual manera un papel fundamental para el desarrollo de la planta; por tal motivo se aplicó micorriza comercial GLUMIX (Micorrizas Vesículo Arbusculares ) con el fin de contribuir en el desarrollo de las plántulas nuevas obtenidas de *Taxodium mucronatum* a partir la técnica de acodo aéreo; este producto es un consorcio de hongos micorrízicos formadores de raíces (Tabla 4) que favorecen la asimilación del fósforo. La combinación de micorrizas vesículo arbusculares (MVA) tiene una alta capacidad de colonización de las raíces para una mayor absorción de agua y nutrientes. La simbiosis hongo-planta que se establece produce un sistema radicular extenso que contribuye a obtener un mayor porcentaje de germinación, aumento de peso de la raíz y follaje e incremento en la altura de la planta.

Tabla 4. Composición de micorrizas GLUMIX.

(Disponible en: <http://www.biokrone.com>)

<b>Composición Porcentual</b>	<b>% en peso</b>
Esporas de hongos endomicorrizicos (VAM)	
<i>Glomus fasciculatum</i>	
<i>Glomus constrictum</i>	
<i>Glomus tortuosum</i>	
<i>Glomus geosporum</i>	
<i>Glomus intraradices</i>	
No menos de .....	0.050
(Equivalente a 20000 esporas viables/kg)	
Inertes.....	99.95

Tabla 5. Clasificación taxonómica de *Glomus*, tomado de Morton *et al.*, (2001).

<b>CLASE</b>	<b>Zygomycetos</b>
<b>ORDEN</b>	Glomales
<b>SUBORDEN</b>	Glomineae
<b>FAMILIA</b>	Glomaceae
<b>GENERO</b>	<i>Glomus</i>

## **2.8 Microscopía electrónica de barrido (meb).**

El principio básico de la microscopía electrónica de barrido ó meb consiste en crear imágenes tridimensionales que se construyen punto a punto y línea a línea desde los electrones secundarios. Donde el proceso permite la formación de imágenes por un escaneado de la superficie del espécimen. Las ventajas de meb son que en primer lugar se pueden obtener imágenes con efecto 3D, permite observar especímenes grandes, posee un diseño sencillo de la columna y nos permite realizar fotografías con amplios aumentos que van desde 3x hasta 150.000x. Sin embargo, a pesar de presentar todas estas facilidades, la meb tiene unas limitaciones por que el espécimen es sometido a un vacío y debe ser metalizado con oro, sólo permite observar la superficie del espécimen y tiene menos resolución que otras técnicas de microscopía electrónica por ejemplo, a diferencia con el microscopio electrónico de transmisión, que se utiliza para observar los especímenes a lo largo de su espesor (Albaladejo, 2007).

El microscopio electrónico de barrido posee un cátodo que al calentarse emite una fuente de electrones primarios, los cuales van desplazándose guiados por las lentes situadas en los laterales del tubo del microscopio que los mantienen en una trayectoria rectilínea hasta alcanzar el espécimen. Una vez que llegan a éste, atraviesan la capa de oro que se ha depositado previamente sobre su superficie para facilitar la conducción de los electrones. Penetran en la materia del espécimen excitando los electrones secundarios que van a ser los que darán la imagen, pues los electrones primarios se desechan, mientras que los secundarios son recogidos por un detector de electrones que convertirá cada electrón en un fotón que tendrá un color dentro de la tonalidad comprendida entre el negro y el blanco, dependiendo del peso molecular del átomo de la materia de la que procede. Cada fotón dará un punto, y la suma de todos formará la imagen (Albaladejo, 2007).

## **2.9 Microscopía óptica compuesta (moc).**

Los microscopios ópticos compuesto son caracterizados por poseer más de una lente objetiva. Estos microscopios son utilizados especialmente para examinar objetos transparentes o que han sido cortados en láminas tan finas que se transparentan. Son empleados para aumentar o ampliar las imágenes de objetos y organismos no visibles a simple vista. El microscopio óptico común está conformado por tres sistemas básicos: el sistema mecánico que está constituido por una palanca que sirve para sostener, elevar y detener los instrumentos a observar; el sistema de iluminación formando un conjunto de instrumentos dispuestos de tal manera que producen las ranuras de luz y finalmente formado por un sistema óptico el cual constituye las partes del microscopio que permiten un aumento de los objetos que se pretenden observar mediante filtros llamados de antigel subsecuente (Albaladejo, 2007).

## **2.10 Microtomía de rotación.**

Las técnicas histológicas son el conjunto de recursos prácticos utilizados para evidenciar las estructuras microscópicas de los elementos anatómicos, histológicos y citológicos de los seres vivos (Aguilar *et al.*, 1996).

La técnica “Microtomía” de rotación, permite seccionar (cortar) tejidos ya incluidos o que presentan la suficiente dureza para que al ser cortados conserven los suficientes detalles para su identificación y estudio estructural al microscopio (Aguilar *et al.*, 1996).

### 3. JUSTIFICACIÓN.

Los recursos naturales han sido hasta el presente un patrimonio subestimado, el cual hemos afectado y cuya pérdida, de continuar así pone en peligro la viabilidad del medio ambiente, confirmando que en los últimos tiempos la pérdida de vegetación y áreas naturales ha aumentado drásticamente debido a muchos factores, entre ellos, principalmente los causados por el hombre; la deforestación es una de las causas principales que pone en riesgo la pérdida de áreas naturales, por ejemplo los bosques, con lo cual diversas especies tanto vegetales como animales se encuentran cada vez en mayor peligro de desaparecer a futuro; entre estas especies vegetales se halla *Taxodium mucronatum*, comúnmente conocido como “Ahuehuete” el cual por su esplendor, belleza, longevidad y propiedades curativas ha sido catalogada como una de las especies más representativas de México. Por tal razón se busca implementar nuevas técnicas de propagación vegetal tipo asexual, que faciliten el trabajo al productor, dando como resultado nuevas plantas de mejor calidad; una de estas técnicas aplicadas es el “acodo aéreo”; técnica sencilla, práctica, económica y con resultados en menor tiempo en comparación con la propagación vegetal tipo sexual en plantas, Del mismo modo, actualmente se han considerado otras alternativas que resulten más factibles para la estimulación temprana y desarrollo de raíces de plantas mediante la aplicación de hormonas vegetales, reguladores de crecimiento vegetal (RCV) y agentes biológicos como las micorrizas vesículo arbusculares (MVA) que permitan a las plantas un mejor desarrollo, adaptación y supervivencia. Sin embargo, también para lograr observaciones más detalladas sobre el desarrollo que presentan las raíces de las plantas a partir de células que originan sus diferentes estructuras durante su desarrollo, así como la posible presencia de MVA debido a la aplicación de agentes biológicos, se considera apropiado la observación mediante técnicas de microscopía de suma importancia, particularmente por microscopía electrónica de barrido (meb) y microscopía óptica compuesta (moc) ya que nos permiten la visualización de microorganismos o estructuras no visibles a simple vista.

## 4. HIPÓTESIS.

**H<sub>0</sub>**= La aplicación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV) por medio de la técnica de “acodo aéreo” favorece el desarrollo de la raíz en *Taxodium mucronatum*.

**H<sub>1</sub>**= La aplicación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV) por medio de la técnica de “acodo aéreo” no favorece el desarrollo de la raíz en *Taxodium mucronatum*.

## 5. OBJETIVOS.

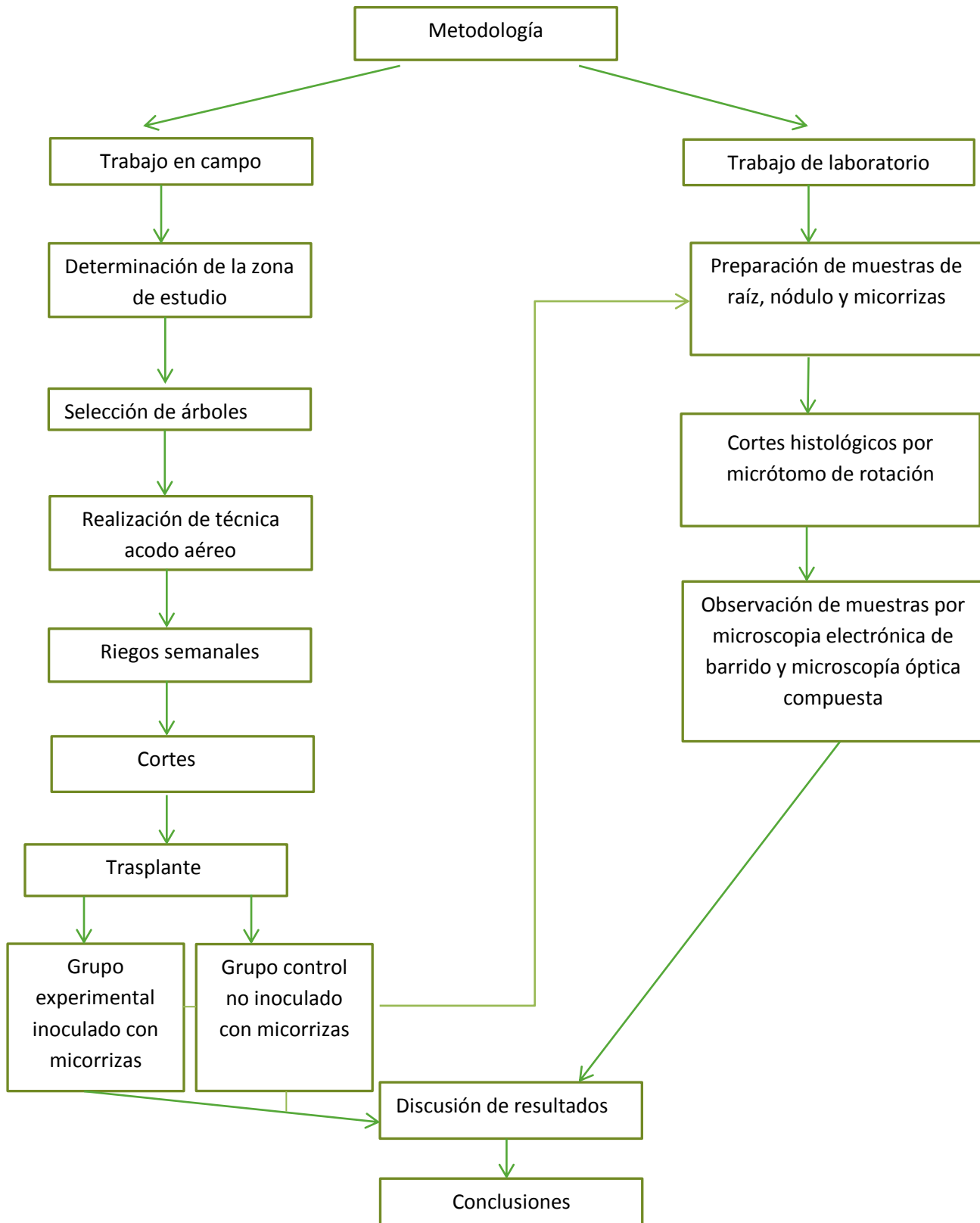
### 5.1 Objetivo general

Analizar la capacidad de enraizamiento en acodos aéreos en *Taxodium mucronatum* aplicando un enraizador comercial (RAÍZ SINERplus).

### 5.2 Objetivos particulares

- 1) Uso de la técnica: “acodo aéreo” en plantas de *Taxodium mucronatum*.
- 2) Inocular micorriza comercial (GLUMIX) en raíz de *Taxodium mucronatum* después del corte de acodos aéreos.
- 3) Preparación de cortes histológicos de nódulo y raíz control y experimental de *Taxodium mucronatum* por microtomía.
- 4) Observar muestras de nódulo y raíz por microscopía electrónica de barrido (meb).
- 5) Observar muestras de nódulo y raíz por microscopía óptica compuesta (moc).

## 6. DIAGRAMA DE TRABAJO



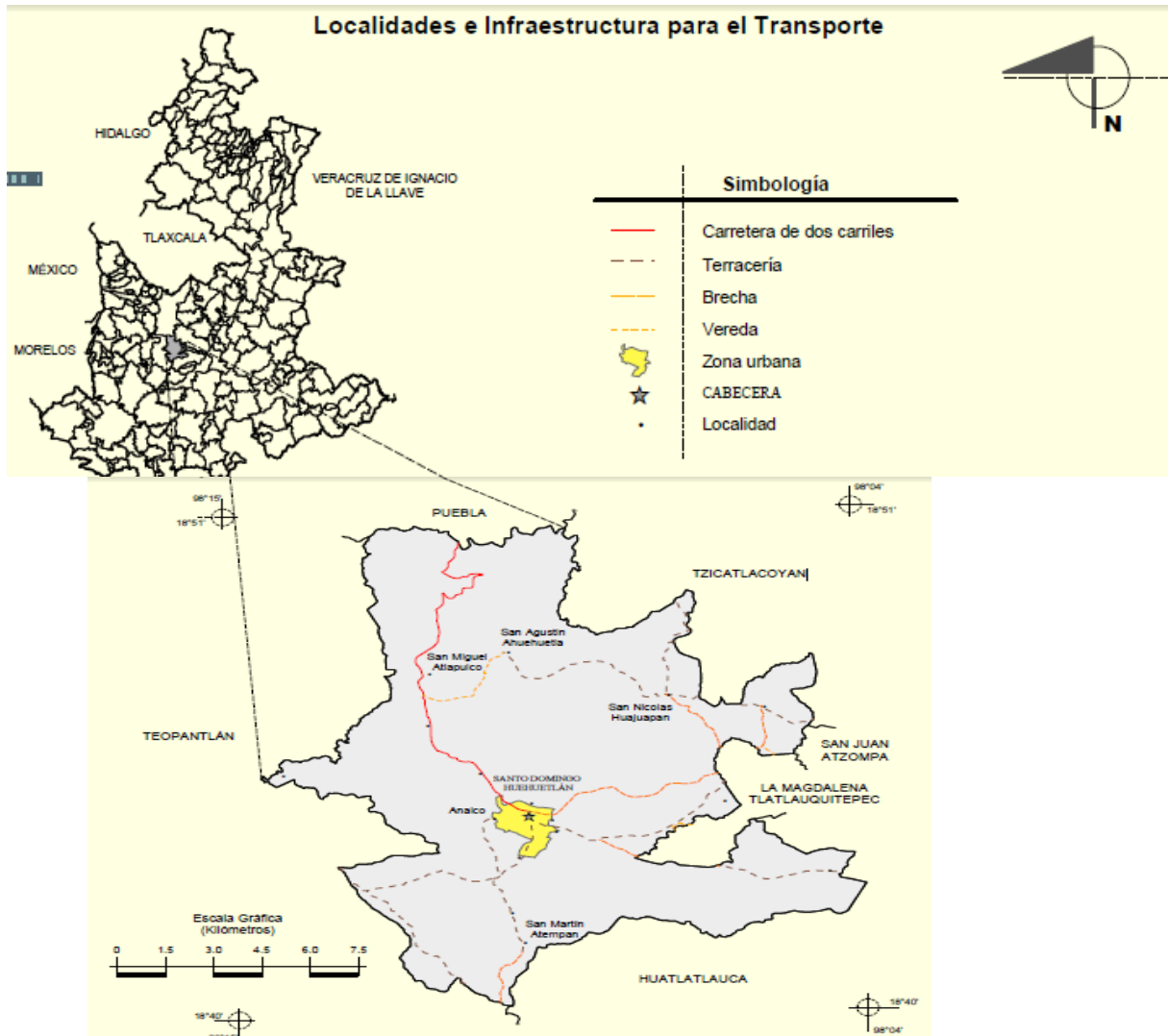
## **7. MATERIALES Y MÉTODOS.**

### **7.1 Localización del sitio experimental.**

Antes de iniciar el trabajo, se solicitó un permiso al presidente municipal de Huehuetlán el Grande, Puebla, el C. José Santamaría Zavala al cual se explico el desarrollo del proyecto realizado, siendo otorgado el mismo.

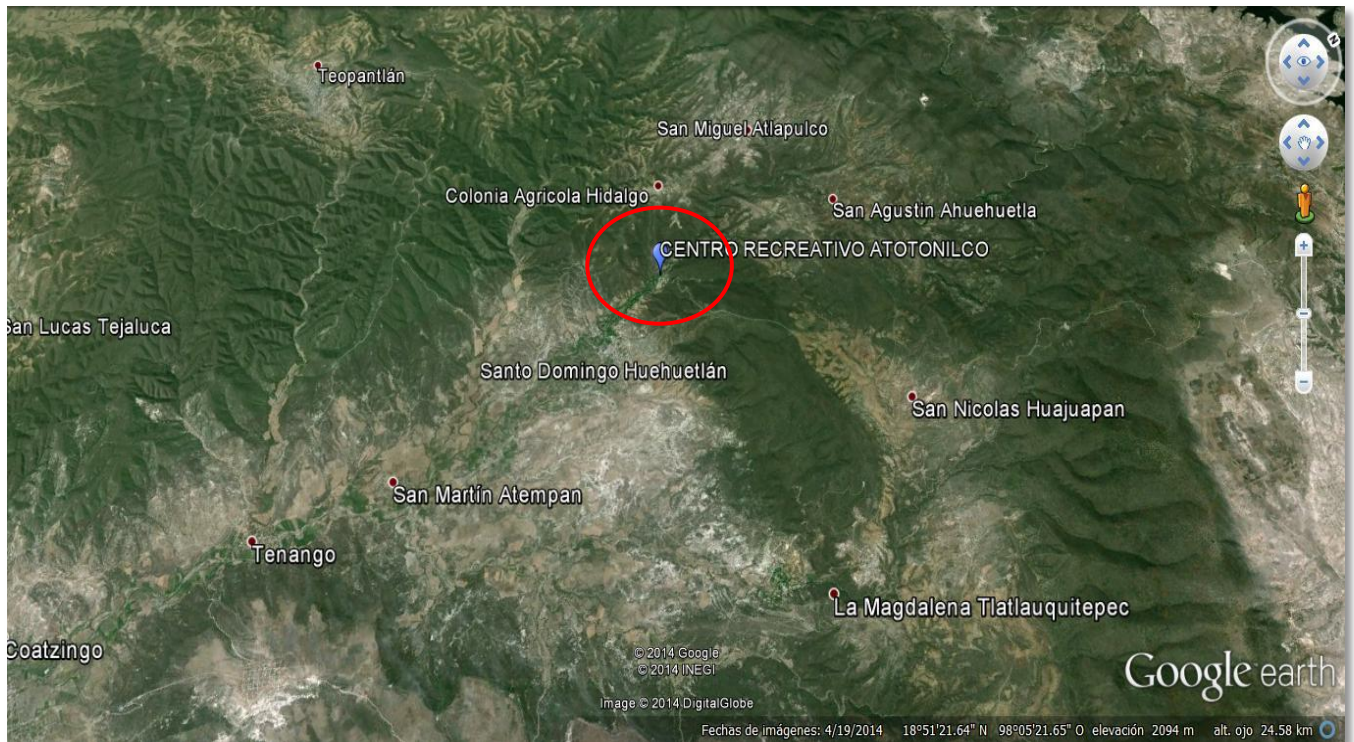
El trabajo de campo se realizó en el municipio de Huehuetlán el Grande, Puebla; en el centro recreativo Atotonilco (balneario de aguas termales; perteneciente a la cabecera municipal de Huehuetlán el Grande); localizado sobre la carretera de Huehuetlán-Puebla. El trabajo se realizó durante el periodo de tiempo del mes de mayo a septiembre de 2014.

El municipio Huehuetlán el Grande se encuentra situado entre los paralelos 18° 40' y 18° 51' de latitud norte; los meridianos 98° 04' y 98° 15' de longitud oeste; altitud entre 1 200 msnm y 2 200 msnm. Colinda al norte con los municipios de Teopantlán, Puebla y Tzicatlacoyan; al este con los municipios de Tzicatlacoyan, San Juan Atzompa, La Magdalena Tlatlauquitepec y Huatlatlauca; al sur con los municipios de Huatlatlauca y Teopantlán; al oeste con el municipio de Teopantlán (Fig. 5), ocupando aproximadamente el 0.53% de la superficie del estado con 180,914 km<sup>2</sup> y 17 localidades (INEGI, 2010).



Fuente: INEGI. Marco Geoestadístico Municipal, versión 3.1.  
 INEGI. Información Topográfica Digital Escala 1:250000 serie III.

Figura 5. Localización del municipio Huehuetlán el Grande, Puebla. (Original)



*Figura 6.* Vista satelital. Ubicación del centro recreativo Atotonilco y comunidades cercanas. (Descargada con el programa Google Earth, 2013).

## **7.2 Características principales que describen el municipio de Huehuetlán el Grande, Puebla.**

### ***Toponimia:***

Huehuetlán proviene de las dicciones nahuas con su significado "huehue": viejo, anciano y "tlán": cerca, junto; dando a entender "cerca del templo de Huehuetotl, Dios antiguo", otro significado empleado es "cerca del Dios del fuego" o "Lugar viejo, pueblo antiguo". Huehuetlán, "donde habita el Dios Antiguo", morada de la deidad del fuego, ubicada en la entraña de la Tierra (Fernández, 2012).

***Hidrografía:***

El municipio pertenece a la cuenca del río Atoyac; es bañado por numerosas corrientes intermitentes originadas en la sierra del Tentzo al norte; recorren el municipio de norte a sur, formando algunas barrancas importantes como La Barranca Grande y Barranca Tepeyole; terminan concentrándose en el río Huehuetlán, que es el único de carácter permanente y que más al sur se une al Atoyac (INAFED, 2014).

***Clima:***

En el municipio se pueden identificar tres tipos de climas: cálido, semicálido y templado. Se localiza al norte, en la sierra del Tentzo, clima semicálido subhúmedo con lluvias en verano. Es el clima característico del centro del municipio. El municipio muestra la transición entre los climas cálidos del sur del estado y los templados del norte (INAFED, 2014).

***Principales ecosistemas:***

El norte del municipio que comprende parte de la sierra del Tentzo, está cubierto por bosques de encino asociados con vegetación secundaria arbustiva; coincide con las zonas montañosas, suelos de rendzina y clima templado; en estas zonas han empezado a introducir áreas de agricultura de temporal. Al centro, la vegetación predominante es la selva baja caducifolia, asociada en ocasiones con vegetación secundaria arbustiva o arbórea, coincidiendo con el curso del río Huehuetlán, se presenta un área con agricultura de riego tanto de cultivos anuales como semipermanentes. Existe una considerable extensión al sur dedicada a la agricultura temporalera. Por último se tienen pequeñas áreas dispersas de pastizal inducido. En cuanto a fauna se pueden encontrar: venado, conejo, liebre, tejón, mapache y algunas clases de víboras (INAFED, 2014).

***Recursos naturales:***

Minería: En lo que se refiere a esta actividad se tienen yacimientos de barita, lo cual aún no ha sido explotado (INAFED, 2014).

### 7.3 Trabajo en campo.

Se visitó el municipio de Huehuetlán el Grande, Puebla donde fue seleccionada la zona de estudio. El trabajo se realizó en el centro recreativo Atotonilco mediante permiso previo otorgado por el presidente municipal de la localidad. Se hizo un recorrido dentro del lugar utilizando un GPS marca GARMIN (GPSmap 62s). Se tomaron las coordenadas geográficas para marcar el área seleccionada de muestreo. Los datos obtenidos fueron descargados con ayuda del programa Google Earth (2013) para la obtención de las imágenes satelitales.



*Figura 7. Vista satelital.*

Ubicación de la zona de muestreo en el centro recreativo Atotonilco.

Las coordenadas geográficas representadas por los vértices A - K.

VÉRTICE	LATITUD	LONGITUD
A	18°45'22.13"N	98°10'29.03"O
B	18°45'22.36"N	98°10'31.92"O
C	18°45'23.74"N	98°10'32.35"O
D	18°45'25.98"N	98°10'32.61"O
E	18°45'25.98"N	98°10'32.61"O
F	18°45'27.44"N	98°10'32.60"O
G	18°45'28.59"N	98°10'32.65"O
H	18°45'29.42"N	98°10'32.11"O
I	18°45'27.83"N	98°10'31.32"O
J	18°45'25.60"N	98°10'30.76"O
K	18°45'24.17"N	98°10'30.09"O

#### **7.4 Selección de árboles.**

Durante el recorrido en el centro recreativo Atotonilco se seleccionaron al azar un total de 18 árboles de *Taxodium mucronatum*, se eligieron ejemplares que se encontraran en buenas condiciones, aparentemente árboles sanos sin presencia de algún tipo de plaga para la realización de la técnica de acodo aéreo. Cada árbol fue marcado y numerado del 1 al 18 según su orden de selección utilizando una cinta.

En cada uno de los 18 árboles marcados se eligieron dos ramas que fueron divididas en dos grupos de trabajo: una rama fue para el grupo 1 (grupo control) identificada con listón verde olivo; y la segunda rama para el grupo 2 (grupo experimental) marcado con listón verde fuerte. Una vez seleccionados y marcados los 18 árboles, se obtuvo un total de 36 ramas en las que se realizaron los acodos aéreos.

Una vez realizados los acodos aéreos a las 36 ramas, el grupo 1 (control) fue regado con agua corriente y el grupo 2 (experimental) fue regado con una solución de enraizador comercial RAÍZ SINER $plus$  con dosis de 1.5g/litro de agua corriente; estos riegos fueron para ambos grupos durante todo el periodo de tiempo hasta el desarrollo de raíz de los acodos aéreos y el corte de ramas. Los riegos se realizaron con jeringas desechables con capacidad de 20 ml una vez por semana durante el transcurso de la mañana.

#### **7.5 Técnica acodo aéreo.**

El acodado es un método de multiplicación asexual vegetativa, el cual estimula la formación de raíces adventicias en tallos o ramas inferiores que aún se encuentran adheridos a la planta madre. Cuando el tallo acodado ha enraizado, se separa de la planta madre para convertirse en una planta idéntica e independiente (un clon). Dicho método es comúnmente empleado en plantas que desarrollan con dificultad raíces o que no las producen (Hartmann *et al.*, 1984). Se considera

la primavera como mejor época del año para realizar los acodados, ya que debido a las condiciones climáticas, favorece el enraizamiento de las ramas.

La técnica de acodo aéreo se inició el día martes 20 de mayo de 2014, a cada una de las ramas seleccionadas en los 18 árboles de *Taxodium mucronatum* (36 ramas en total); se realizó el anillado en las ramas (extracción de un anillo de corteza), se hizo con ayuda de un bisturí haciendo dos cortes paralelos separados 3 centímetros aproximadamente, se retiró la corteza obtenida quedando el anillo expuesto. En la zona anillada se aplicó con ayuda de un pincel enraizador RAIZ SNER<sub>plus</sub>, tomando una pequeña cantidad de aproximadamente 5 gr. del polvo soluble sobre la zona expuesta; esto solo se realizó en las 18 ramas seleccionadas dentro del grupo 2 experimental; a las 18 ramas restantes no se aplicó ningún tratamiento en la zona anillada siendo estas el grupo 1 control. Posteriormente se cubrieron las ramas ya anilladas con polietileno negro de 20 cm de ancho x 30 cm de largo y se rellenaron con el mismo sustrato: arena de río (sustrato que presentan los árboles del lugar de estudio). Finalmente se envolvieron las ramas con polietileno y se atan ambos costados con rafia, “teniendo apariencia de un dulce” (Figura 8), este aislamiento evita la evaporación del agua y la entrada directa de luz, lo cual ayuda a conservar una mayor humedad. Una vez que se realizaron todos los acodos aéreos se continúa con el riego utilizando jeringas desechables de 20 ml de capacidad, esto con el fin de mantener la humedad en el sustrato y favorecer así el desarrollo de las primeras raíces adventicias obtenidas.

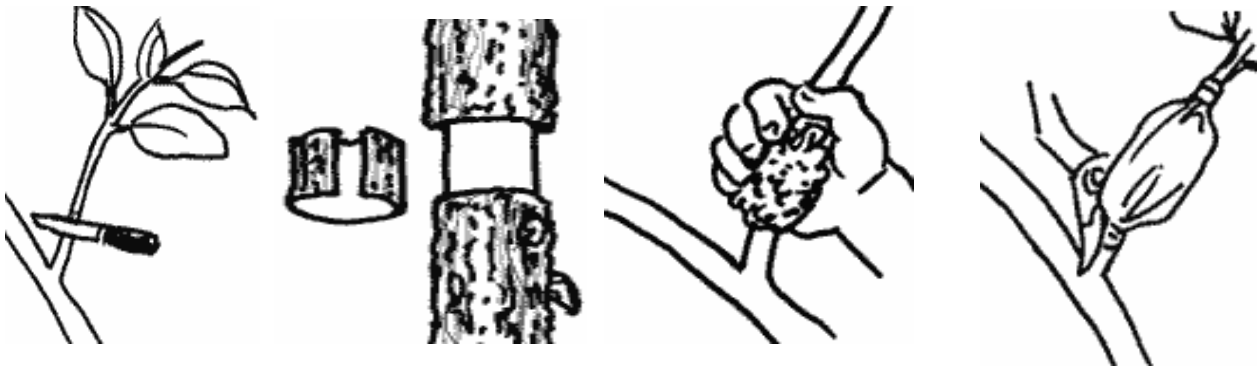


Figura 8. Acodo aéreo. (Fuente: <http://articulos.infojardin.com/arboles/acodo-acodos-aereo-arboles.htm>)

Una vez finalizados los acodos aéreos en las 36 ramas se continuó con los riegos eligiendo un día de la semana durante el transcurso de la mañana. El periodo de riegos fue de 16 semanas desde el inicio del acodado hasta el corte de ramas. Los riegos se realizaron aproximadamente a las 9:00 am; considerando como día único de riego el jueves, iniciando el día 29 de mayo de 2014 y finalizando el 11 de septiembre de 2014, cumpliendo un total 16 semanas (Tabla 5). El periodo de riego se realizó en ambos grupos (control y experimental).

Tabla 5. Calendario de riegos: Grupo Control y Grupo Experimental.

NUMERO DE RIEGO	DIA	FECHA
1	Jueves	29 de Mayo de 2014
2	Jueves	05 de Junio de 2014
3	Jueves	12 de Junio de 2014
4	Jueves	19 de Junio de 2014
5	Jueves	26 de Junio de 2014
6	Jueves	03 de Julio de 2014
7	Jueves	10 de Julio de 2014
8	Jueves	17 de Julio de 2014
9	Jueves	24 de Julio de 2014
10	Jueves	31 de Julio de 2014
11	Jueves	07 de Agosto de 2014
12	Jueves	14 de Agosto de 2014
13	Jueves	21 de Agosto de 2014
14	Jueves	28 de Agosto de 2014
15	Jueves	04 de Septiembre de 2014
16	Jueves	11 de Septiembre de 2014

A partir de la semana 1 hasta la semana 16; los 36 acodos aéreos fueron descubiertos cada semana para su observación y medición desde la aparición de la primera raíz obtenida; utilizando hilo, cinta métrica y bitácora. Las raíces se midieron tomando un trozo de hilo colocándolo sobre la raíz desde su inicio hasta la punta. Posteriormente por comparación se colocó el hilo sobre la cinta métrica para medir en centímetros; esto se hizo solo en la primera raíz que emergió en cada acodo aéreo. Las mediciones observadas semanalmente se registraron y representaron mediante gráficas 1 y 2

## 7.6 Corte y Trasplante.

Una vez concluido el periodo de riegos se continuó con el corte de los acodos aéreos ya enraizados utilizando un cortarramas; realizando la separación de los acodos de la planta madre para su “posterior trasplante” como una nueva planta independiente; esto se realizó el día 14 de septiembre de 2014. Posteriormente se realizó la inoculación con micorriza comercial GLUMIX al grupo 2 (experimental) esparciéndose la micorriza sobre las raíces de tal modo que fueran cubiertas en su totalidad y después llenar las bolsas de polietileno con sustrato. El grupo 1 (grupo control) no fue inoculado.

Los acodos aéreos cortados de ambos grupos se trasplantaron en bolsas de polietileno negro de 30 cm de largo por 20 cm de ancho, se llenaron con sustrato mezclando tierra de monte (obtenida de un cerro del mismo sitio de trabajo) y arena de rio en proporción al 50% cada una y se etiquetaron de cada grupo.

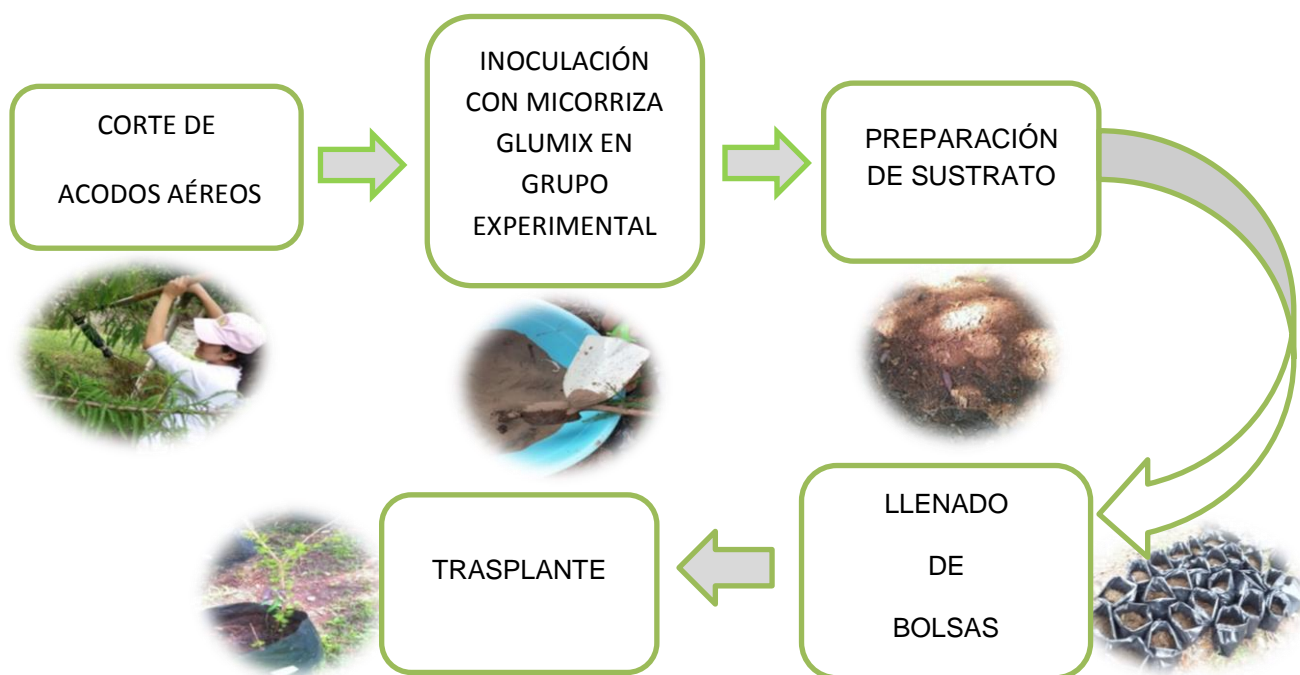


Figura 9. Esquema de trabajo posterior al corte de ramas.

## 7.7 Técnica histológica por microtomía de rotación.

Las muestras de nódulo y raíz fueron incluidas en parafina y procesadas por la técnica de microtomía de rotación para observación al microscopio electrónico de barrido (meb) y microscopio óptico compuesto (moc) del Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología (CUV y TT) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Se tomaron muestras de nódulo y raíz de *Taxodium mucronatum* del grupo control y experimental (inoculada con micorriza comercial Glumix), ambas obtenidas a partir de los acodos aéreo; posteriormente se prepararon las muestras para la obtención de cortes.

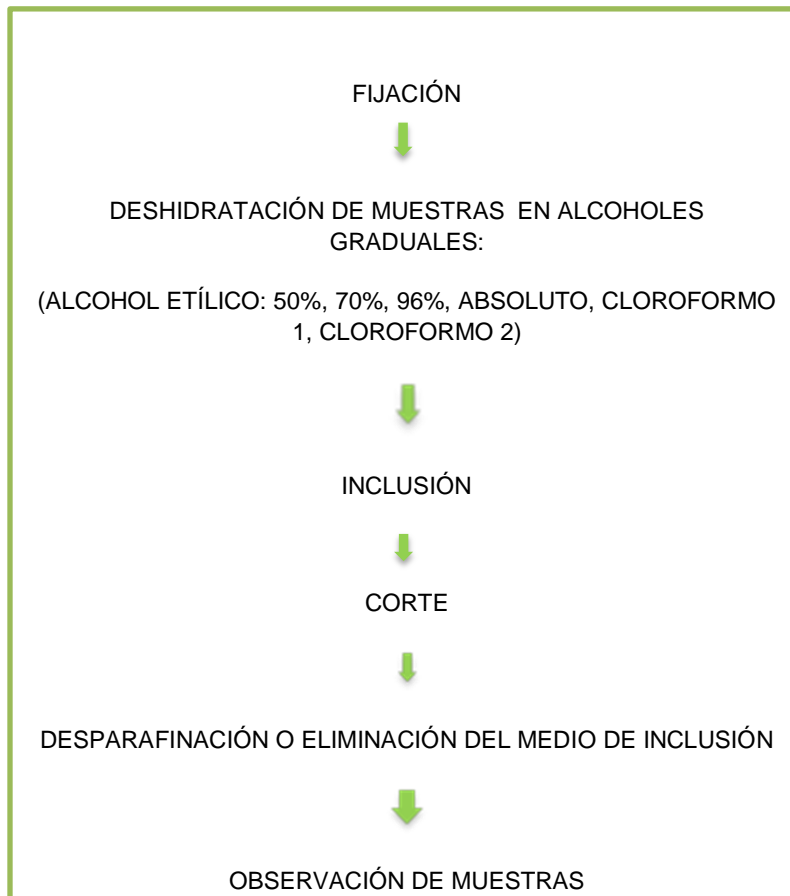


Figura 10. Esquema de trabajo para preparación de muestras por técnica histológica.

## **Procesamiento de raíces.**

### FIJACIÓN

Las muestras de nódulo y raíz fueron fijadas en solución de Formaldehído- Ácido Acético (F.A.A.) por 24 horas. Después se retiraron los excesos del fijador con un lavado con agua destilada.

### DESHIDRATACIÓN

Las muestras de raíz (inoculada y sin inocular con micorrizas *Glumix*) y nódulo se sometieron al proceso de deshidratación. Las muestras fueron colocadas en un cassette de inclusión y se trataron con una serie de soluciones de alcohol etílico con un aumento progresivo en su concentración y cloroformo como agentes deshidratantes. La deshidratación se inicia sumergiendo las muestras a baños graduales de alcohol etílico con concentraciones de: 50%, 70%, 96% y alcohol absoluto, así como cloroformo 1 y cloroformo 2 respectivamente con dos cambios en cada solución. El lapso de tiempo entre cada cambio fue de 24 horas (Sandoval, 2005).

### INCLUSIÓN

Este método permite embeber los tejidos de las muestras ya que penetra hasta lo más interno de las estructuras celulares, de modo que se obtienen bloques fáciles de manejar dentro de los cuales se encuentran las raíces y nódulo previamente deshidratadas, lo que nos permite orientarlas de una manera adecuada para realizar los cortes necesarios.

Una vez incluidas, las muestras adquieren una resistencia necesaria para realizar los cortes en láminas delgadas sin que estas puedan modificar la forma de sus tejidos debido a que la inclusión les proporciona una consistencia.

Para este procedimiento, se utilizó como medio de inclusión parafina, con dos cambios: parafina 1 y parafina 2.

Se utilizó parafina marca Paraplast ® Leica, se adquirió en placas color blanquecino. Para su preparación, se colocó en vasos de precipitado de capacidad de 500ml para cada cambio y se colocaron en una estufa a temperatura de 60°C para su fusión. Una vez fusionadas ambas parafinas, las muestras se colocaron en parafina 1 durante 24 horas para su impregnación total, finalizando el baño; las muestras se sometieron al segundo cambio en parafina 2 por 4 horas. Una vez terminado este procedimiento se hizo la inclusión definitiva formando bloques, utilizando parafina fundida; se colocaron las muestras en moldes para inclusión, enseguida se llena el molde con la parafina y se coloca un anillo que le sirve de soporte, de igual manera se llena el espacio restante con la parafina y finalmente se etiqueta (Sandoval, 2005). Este procedimiento se realiza rápidamente, ya que la parafina tiende a solidificarse fácilmente si no se mantiene la temperatura adecuada. Una vez concluido este procedimiento los moldes se dejaron reposar por 48 horas para su completa solidificación y corte.

### CORTE

Los cortes se realizaron con un micrótopo de rotación marca Leica RM 2125RT del laboratorio Integral de Biología Vegetal y Micología de la Escuela de Biología, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. El micrótopo posee una cuchilla inmóvil horizontal, mientras que la muestra incluida es fijada en una planta móvil vertical, la cual queda en posición perpendicular a la cuchilla de tal manera que se mueve de arriba hacia abajo pasando por el borde de ella haciendo los cortes con grosor de 10 µm. Se prepararon portabjetos para la fijación de las muestras, estos se llenaron con adhesivo Haupt en la parte donde se colocaron los tejidos y se colocan sobre una plancha de estiramiento a temperatura de 35°C para su secado. Los cortes obtenidos se colocaron en baño de flotación con temperatura de 35 °C extendiendo la parafina con ayuda de un pincel; después se montaron sobre el portaobjetos con adhesivo Haupt para evitar que los tejidos se desprendan, finalmente los portaobjetos ya montados con las muestras se dejaron secar entre hojas de papel filtro en posición vertical durante 24 horas (Sandoval, 2005).

## DESPARAFINACIÓN

Para retirar los excesos de parafina de las muestras, los portaobjetos se colocaron en una rejilla de cristal y se lavaron en 3 baños seriados con xilol (xilol 1, xilol 2, xilol 3) durante un lapso de tiempo de 9 minutos para cada cambio respectivamente. Al finalizar el lavado con xilol 3, los portaobjetos se colocaron verticalmente sobre hojas de papel filtro para eliminar excesos del solvente y secar (Sandoval, 2005).

### **7.8 Observación de muestras por microscopía electrónica de barrido (meb) y microscopía óptica compuesta (moc).**

Las muestras de nódulo y raíz de *Taxodium mucronatum* obtenidas de la técnica de acodo aéreo, del grupo 1 (control) así como del grupo 2 (experimental: inoculadas con micorriza GLUMIX) después de finalizar el procedimiento por microtomía, fueron observadas por microscopía electrónica de barrido (meb) y microscopía óptica compuesta (moc) del Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología ( CUV y TT) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla .

Para la observación por meb, el primer paso se realizó con el recubrimiento de las muestras con oro de alta pureza, las láminas se colocaron sobre un evaporador (marca: DENTON, modelo: DESK V) al vacío durante 4 minutos, finalizado el vacío comienza el recubrimiento, el oro es esparcido uniformemente sobre las muestras hasta cubrirlas en su totalidad por 1 minuto; finalmente, las muestras fueron colocadas en el microscopio electrónico de barrido (marca: JEOL, modelo: JSM-6610LV) para su observación y obtención de imágenes de las estructuras de nódulo y raíz.

Para el caso de microscopía óptica compuesta, las muestras fueron observadas con un microscopio óptico (Carl Zeiss, modelo Axio Scope) y la obtención de imágenes se realizó con ayuda del software de captura Axio Vision.

## 8. RESULTADOS

De los 36 acodos aéreos obtenidos de *Taxodium mucronatum* mediante la técnica de propagación asexual vegetativa (acodo aéreo) en el municipio de Huehuetlan el Grande, Puebla; del centro recreativo Atotonilco; se pudo observar un mejor desarrollo de raíz presente en el grupo 2 o experimental donde se aplicó un tratamiento de estimulación temprana utilizando reguladores de crecimiento vegetal (RCV) usando el enraizador comercial RAÍZ SINERplus, observándose que de las 18 ramas seleccionadas acodadas, se obtuvo un total de 14 acodos aéreos con desarrollo favorable en la raíz y solo 4 acodos muertos; sin embargo para el grupo 1 ó control, de igual manera para las 18 ramas acodadas solo 11 presentaron un desarrollo en la raíz, sin embargo este fue mas lento y menor en cuanto a su crecimiento; esto en comparacion con el grupo 2, ademas que en el grupo 1 presentó 7 acodos muertos, numero mayor al grupo 2.

Tambien se observó que en el grupo 2 se presentó un mejor crecimiento de raíz en cuanto al grupo 1, confirmandose a través de las mediciones hechas en raíz, concluyendo durante un lapso de tiempo de 16 semanas. Las mediciones hechas a las raices obtenidas de los acodos aéreos se muestran en las gráficas 1 y 2.

De igual manera, para el caso del grupo 2 (experimental) tambien inoculados con micorriza comercial GLUMIX, pudo observarse un mejor desarrollo en cuanto al sistema foliar de las “nuevas plantas” obtenidas a partir de los acodos aéreos, hojas con coloración mas verde y tambien se observaron plantas mas altas en comparacion con el grupo 1 (control) observandose plantas mas pequeñas y hojas con coloración amarillenta. Sin embargo, a pesar de las diferencias evidentes entre ambos grupos de trabajo (1 y 2), no se realizó ningun análisis de comparación, ya que la inoculación unicamente se hizo con el fin de favorecer a las plantas en su desarrollo y adaptación posterior. Se muestran imágenes donde se observa el desarrollo de raíz de *Taxodium mucronatum* a partir de la técnica de acodo aéreo durante el periodo de tiempo de 16 semanas, mostrando la capacidad de enraizamiento y desarrollo que estos presentaron.

De acuerdo al tiempo de inicio de la técnica de acodo aéreo hasta el momento del corte de las ramas, se observó que durante la semana 1 y 2 no se presentaron cambios considerables en la zona anillada, sin embargo, a partir de la lesión hecha a la corteza (zona anillada) se da inicio al proceso de formación de una placa necrótica que selló la herida con material suberoso para su protección. Para las semanas 3 y 4 las células comenzaron su división formando una masa irregular de células de parénquima presentando una coloración amarillo-blanquecino a marrón las cuales proliferaron desarrollando callos o nódulos. Posteriormente a partir de la semana 5 se observó el desarrollo subsecuente de iniciales de raíz en primordios de raíces donde estas continuaron su desarrollo y emergencia por la formación de conexiones vasculares entre los primordios radicales y los tejidos conductores pudiéndose observar el desarrollo de las raíces adventicias hasta la semana 16 donde se realizó el corte de ramas (Anexo 4).

El desarrollo de raíz se presenta en las gráficas 1 y 2, donde se muestra el crecimiento que presentaron las raíces adventicias de *Taxodium mucronatum* mediante la técnica de acodo aéreo, los datos que se muestran fueron a partir de las mediciones tomadas a la primera raíz que emergió en cada acodo aéreo, esto se observó y midió a partir de la semana 5, tiempo donde emergieron las primeras raíces.

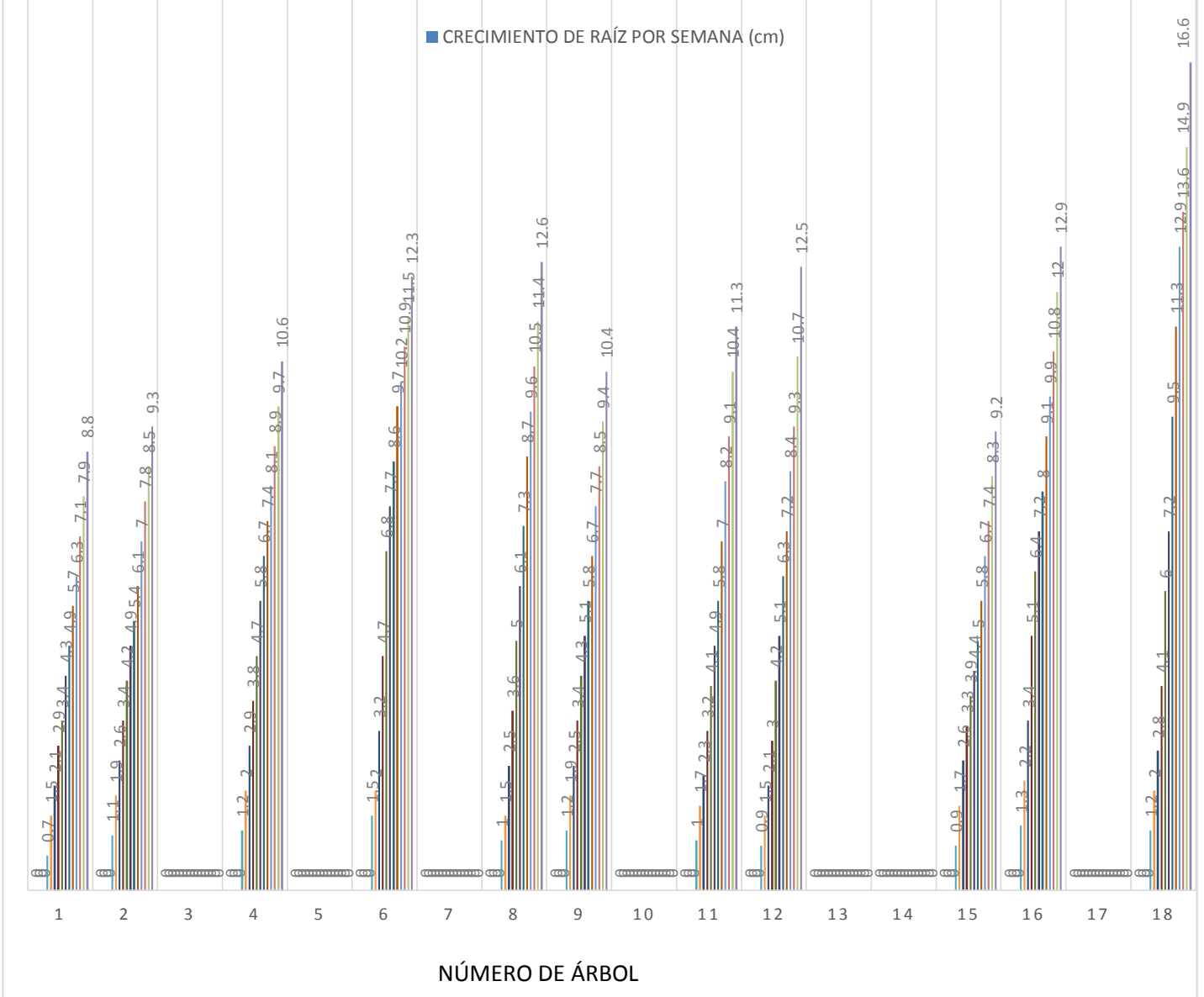
Se obtuvo para el grupo 1 (control) un total de 11 acodos aéreos vivos, ya que la raíz logró desarrollarse y presentó un crecimiento constante; estos pertenecieron a los árboles numerados de la siguiente manera: 1, 2, 4, 6, 8, 9, 11, 12, 15, 16, 18. Para el caso de los acodos muertos pertenecían a los árboles con el siguiente orden: 3, 5, 7, 10, 13, 14, 17. Este grupo está representado en la gráfica 1.

Para el grupo 2 (experimental) se obtuvieron un total de 14 acodos aéreos vivos, observándose el desarrollo de raíz constante con mayor crecimiento en comparación del grupo 1, donde sí se pudo observar el crecimiento de la raíz pero en menor medida; esto se debió a la aplicación del enraizador comercial RAÍZ SINERplus que logró una estimulación óptima. Los 14 acodos obtenidos pertenecieron a los árboles numerados de la siguiente manera: 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8,

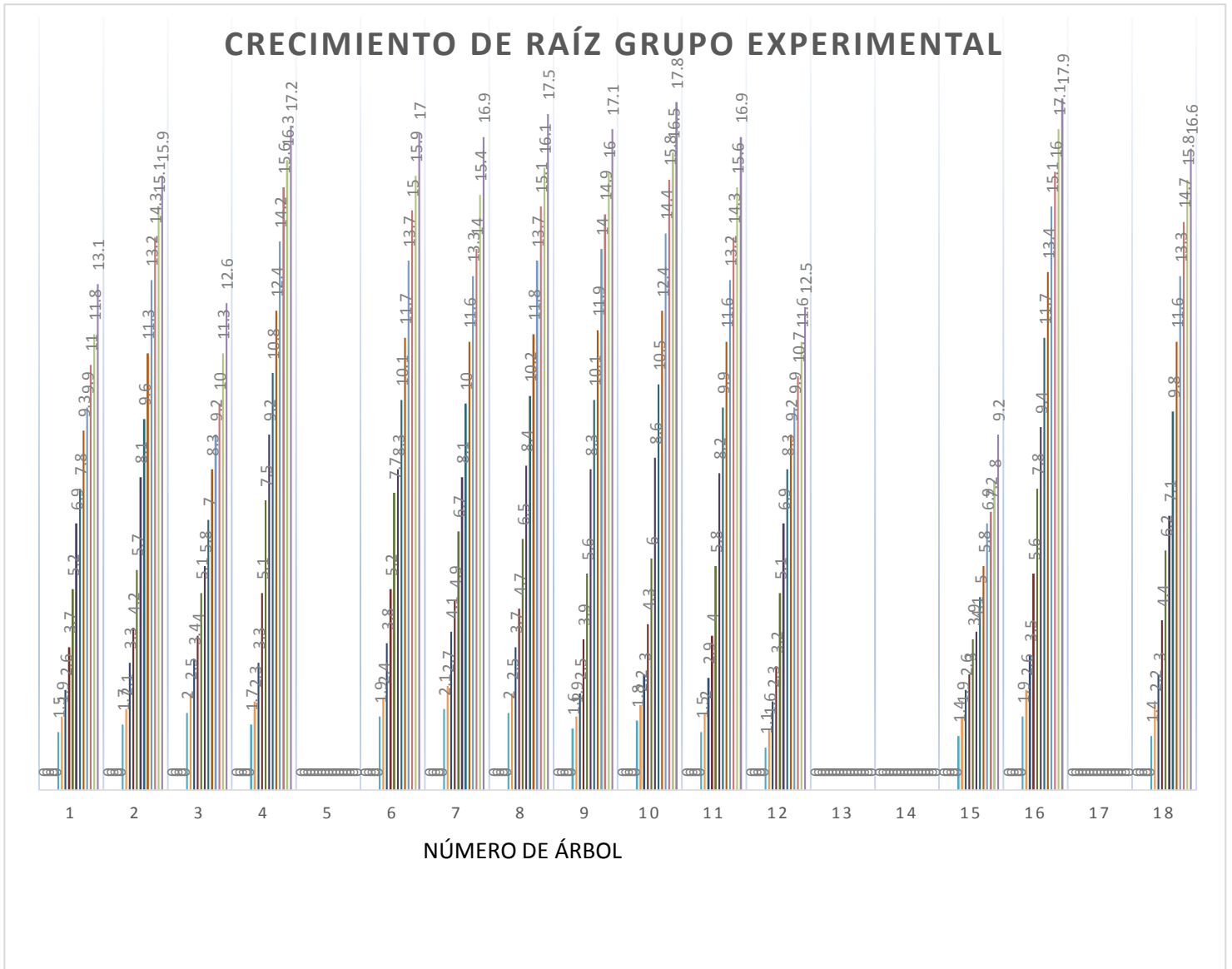
9, 10, 11, 12, 15, 16, 18. Para el caso de los acodos aéreos muertos pertenecían a los árboles con el siguiente orden: 5, 13, 14, 17. De igual manera que en el grupo 1, las medidas de la raíz se muestran en la gráfica para los 18 árboles y los acodos muertos son representados por el número 0, el tiempo de duración de la técnica fue el mismo para ambos grupos y es representado de la misma manera. Este grupo se muestra en la gráfica 2.

En todos los acodos aéreos hechos (36) se midió la raíz semanalmente para observar el crecimiento que estos iban presentando. Las medidas de la raíz se muestran en las gráficas para los 18 árboles acodados; en el caso de los acodos muertos, estos son representados en la gráfica con valor de 0. El tiempo de duración de la técnica que fue de 16 semanas y está representado por las líneas de colores, donde el azul claro marca la semana 1 hasta la línea gris que finaliza con la semana 16 respectivamente.

## CRECIMIENTO DE RAÍZ GRUPO CONTROL



**Gráfica 1.** Grupo control : Se muestra el crecimiento de raíz adventicia de *Taxodium mucronatum* a partir de la técnica de acodo aéreo, en la parte superior de cada barra se muestra la medida de raíz en cm durante el periodo de 16 semanas, el árbol número 3, 5, 7, 10, 13, 14 y 17 son acodos muertos representados por 0. Las medidas fueron tomadas a partir de la semana 5; por lo tanto, de la semana 1 a la 4 no se presentan medidas y gráficamente están representadas con valor de 0.



**Gráfica 2.** Grupo experimental: Se muestra el crecimiento de raíz adventicia de *Taxodium mucronatum* a partir de la técnica de acodo aéreo, en la parte superior de cada barra se muestra la medida de raíz en cm durante el periodo de 16 semanas, el árbol número 5, 13, 14 y 17 son acodos muertos representados por 0. Las mediciones fueron hechas a partir de la semana 5; por lo tanto las semanas 1 a 4 gráficamente están representadas con valor de 0.

Se hizo el análisis estadístico con el programa Statistica versión 8, aplicando la prueba t-student para la comparación entre ambos grupos (control = grupo 1 y experimental con aplicación de enraizador = grupo 2) el cual presentaron diferencias.

N 18	semanas	Media	Mediana	Moda	Mínimo	Máximo	D.E.	E.E.
Control	16	2.847917	2.597222	0.000000	0.00	7.30556	2.506435	0.626609
Enraizador	16	4.820221	3.952941	0.000000	0.00	11.85882	4.320218	1.080055

### **Análisis estadístico prueba t-student**

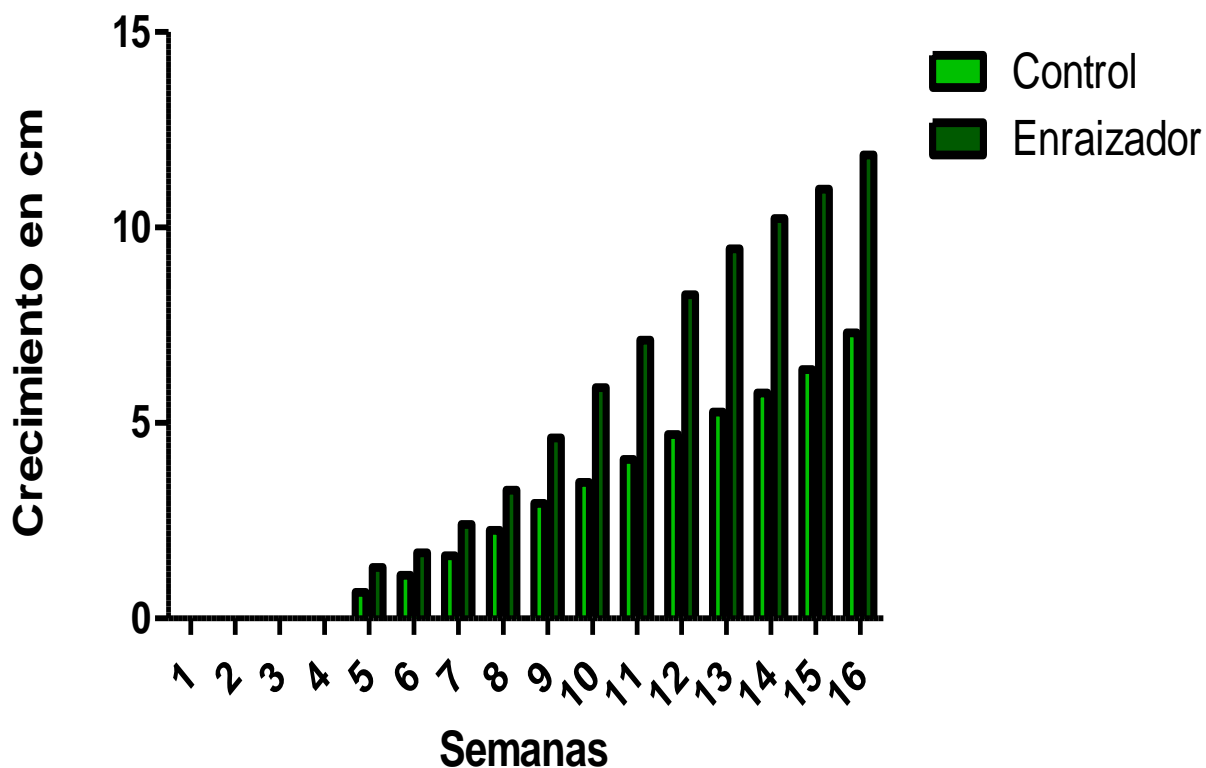
Prueba de T  $P < 0.05$

T- tes  $P = 0.042708$

La normalidad se midió aplicando la prueba de Shapiro, donde se obtuvo  **$P > 0.05$**

Normalidad	Control	Enraizador
Shapiro	$P = .13067$	$P = .06150$

## Desarrollo de Raíz



Gráfica 3. Comparación del desarrollo de raíz de *Taxodium mucronatum* entre el grupo 1 (control) y grupo 2 (experimental). Se observa al grupo experimental con aplicación de enraizador presentando un mayor desarrollo en cuanto al crecimiento de la raíz medidos en centímetros a diferencia con el grupo control, observándose de la semana 5 momento a partir del cual emergieron las raíces hasta la semana 16 que finalizó con el corte de ramas; en el caso de las semana 1 a la 4, se presentó apenas el desarrollo de nódulos, por lo tanto no se tomaron mediciones siendo representadas gráficamente con valor de 0.



*Figura 11.* Planta inoculada con micorriza GLUMIX.



*Figura 12.* Planta sin inocular.

Se muestra la diferencia entre ambas plantas pertenecientes al grupo 1 sin inoculación y el grupo 2 inoculadas con micorriza GLUMIX. En la figura 12 se observa una deficiencia significativa en cuanto a tamaño, brotes de hojas y coloración; comparada con la planta del grupo 2 inoculada con micorriza, observándose con mejor apariencia y coloración (Figura 11). La inoculación solo se realizó con el fin de favorecer el desarrollo de la planta, por tal motivo, no se realizó ningún análisis de comparación pero si se logró observar mejoramiento en las plantas del grupo 2 después de un mes de aplicación de micorrizas; por lo tanto se considera un posible beneficio a las plantas tratadas con micorriza.

### 8.1 Observaciones por microscopía electrónica de barrido (meb) y microscopía óptica compuesta (moc).

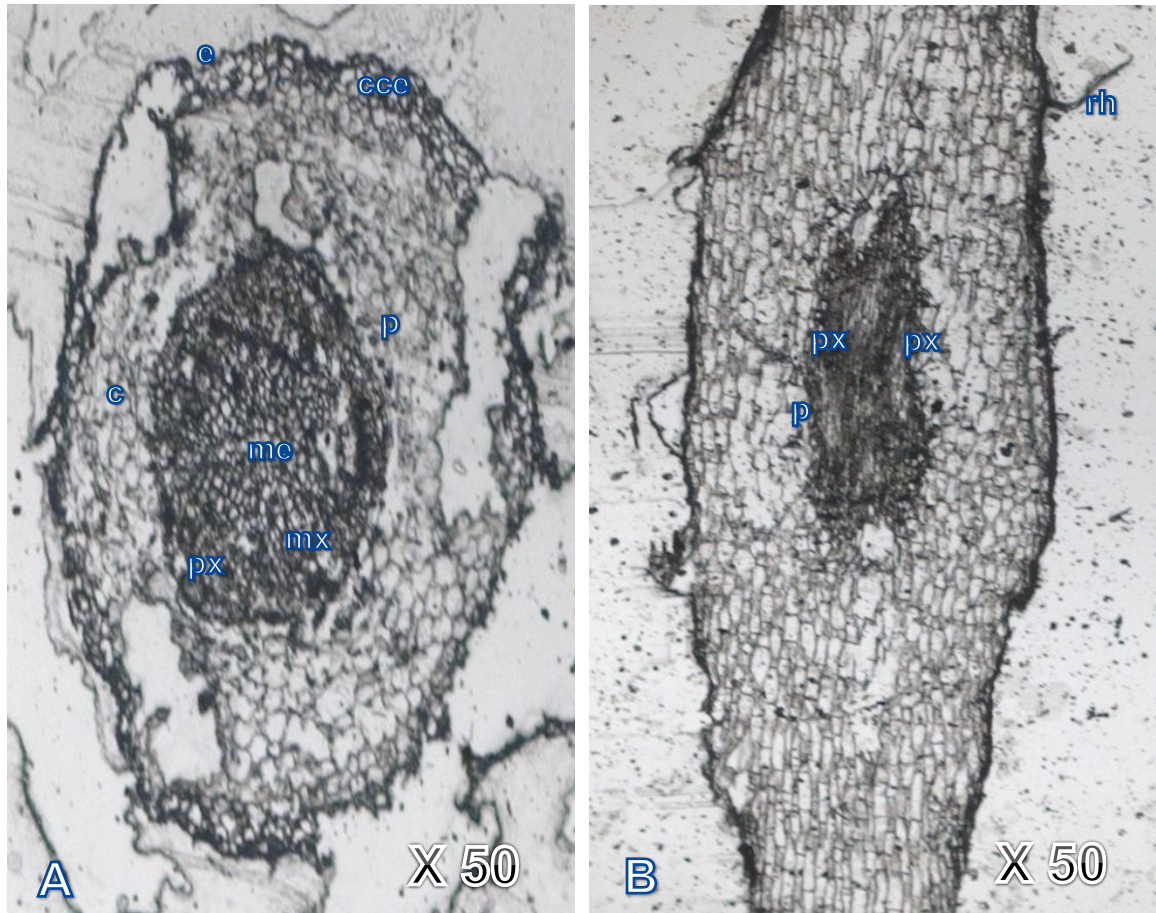


Figura 13. Micrografías por microscopía óptica compuesta, cortes vista general de raíz de *Taxodium mucronatum* 50x. A) sección transversal: c, córtex central; cce, cilindro del córtex externo; p, periciclo; e, epidermis; me, médula; mx, metaxilema; px, protoxilema. B): p, periciclo; px, protoxilema; rh, pelos radicales.

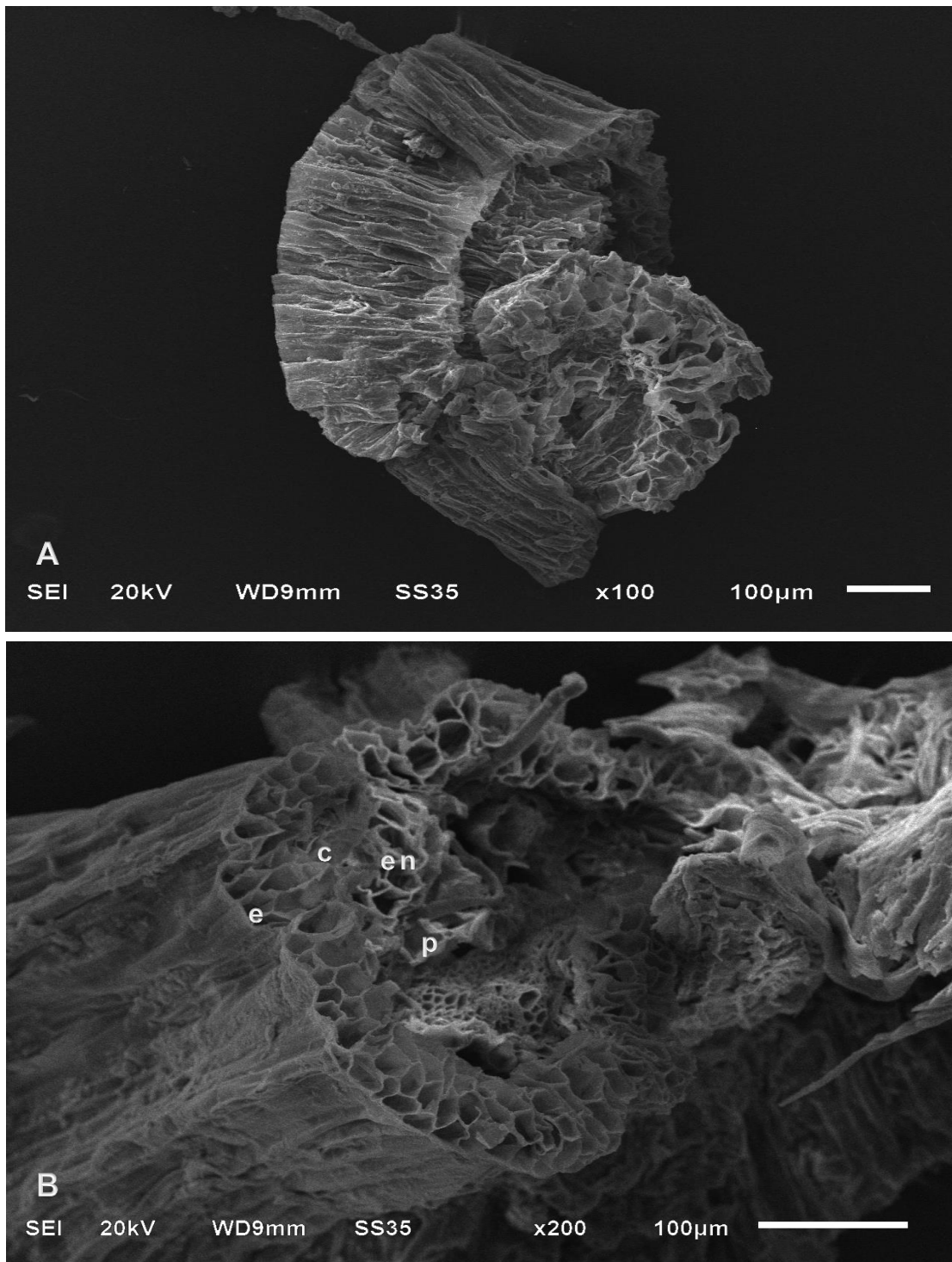


Figura 14. Cortes de nódulo de *Taxodium mucronatum* vistos por microscopía electrónica de barrido (meh). A) sección longitudinal panorama general de nódulo; B) sección transversal donde se observa la continua formación por división de células parenquimatosas que darán origen a las diferentes estructuras de raíz en su primera etapa de desarrollo: e, epidermis; c, córtex; en, endodermis; p, periciclo.

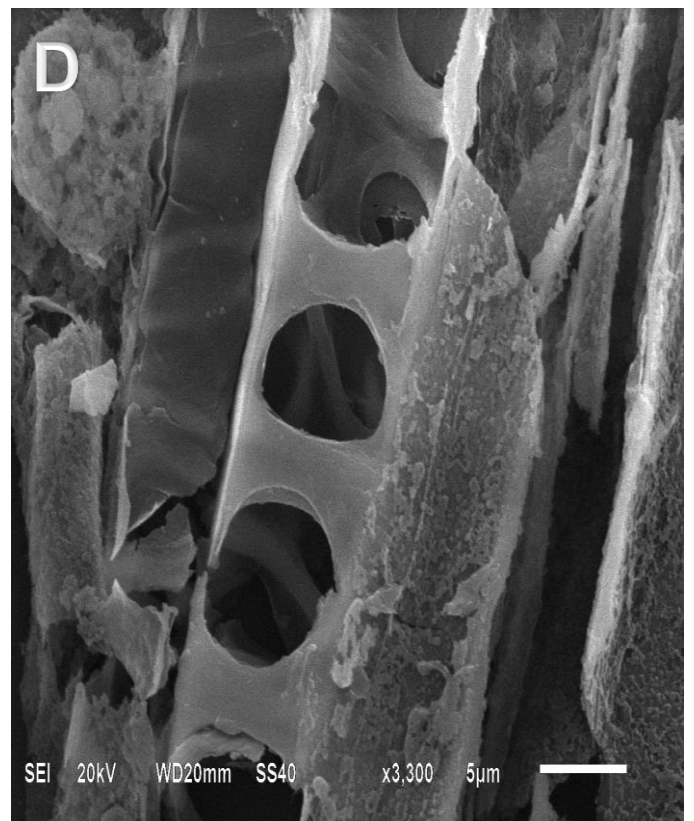
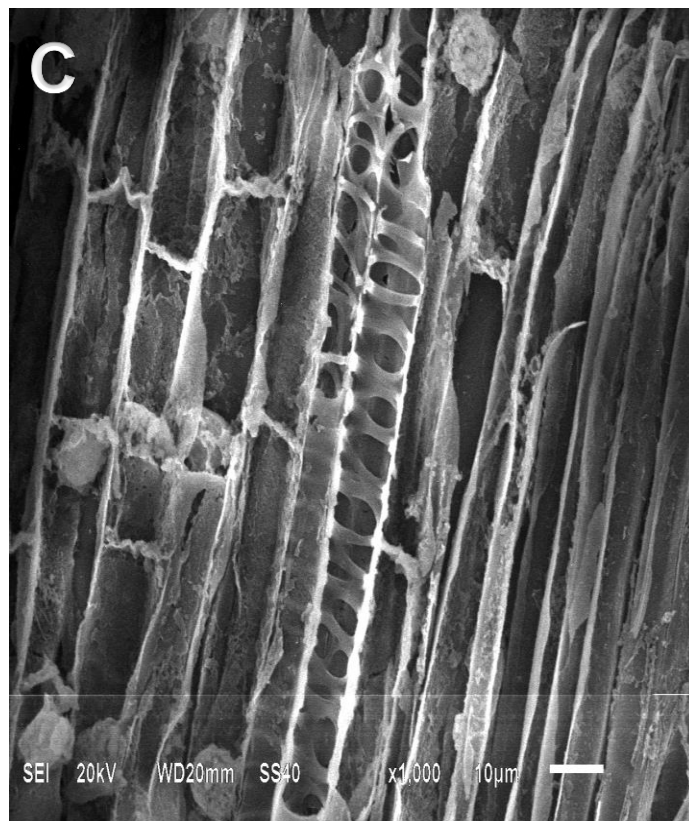
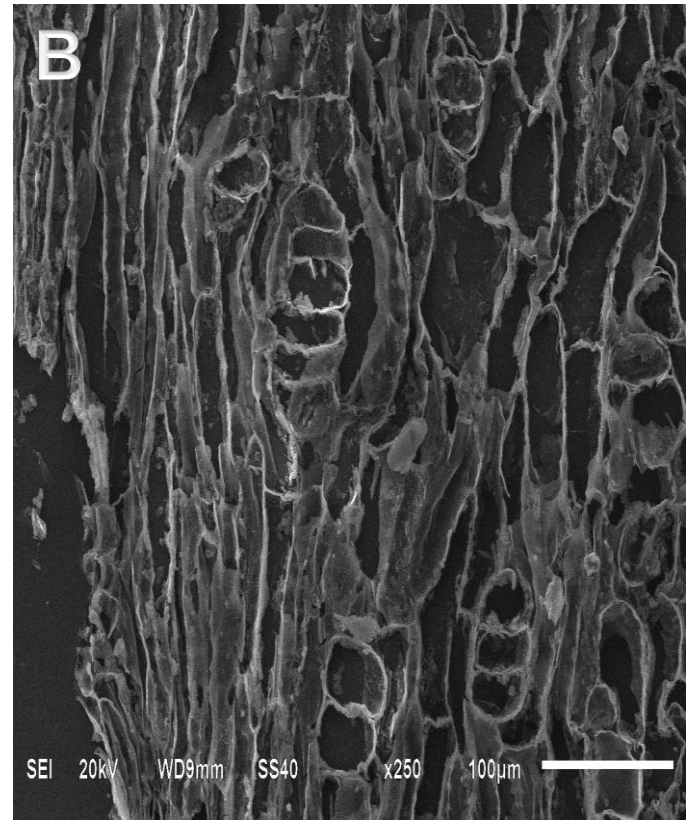
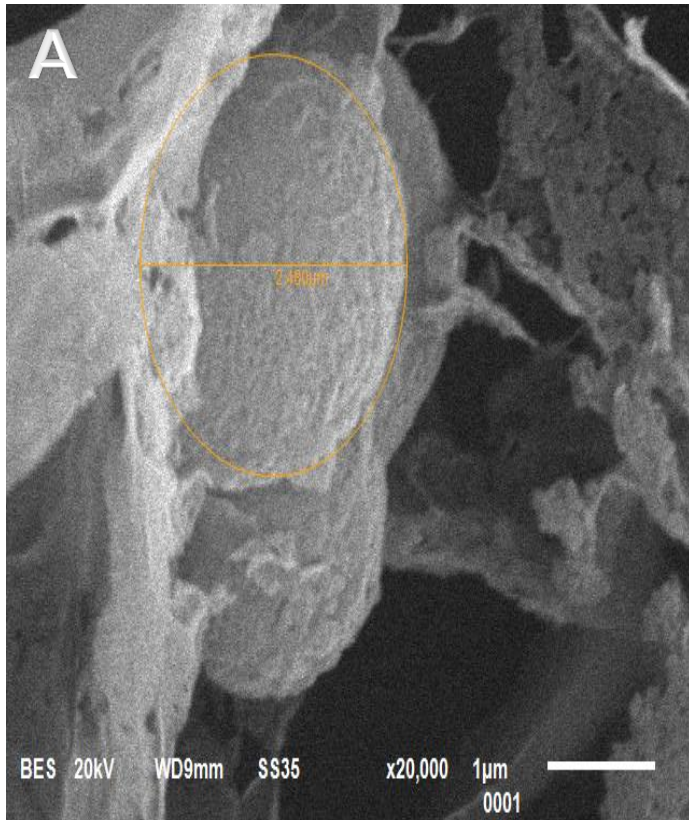
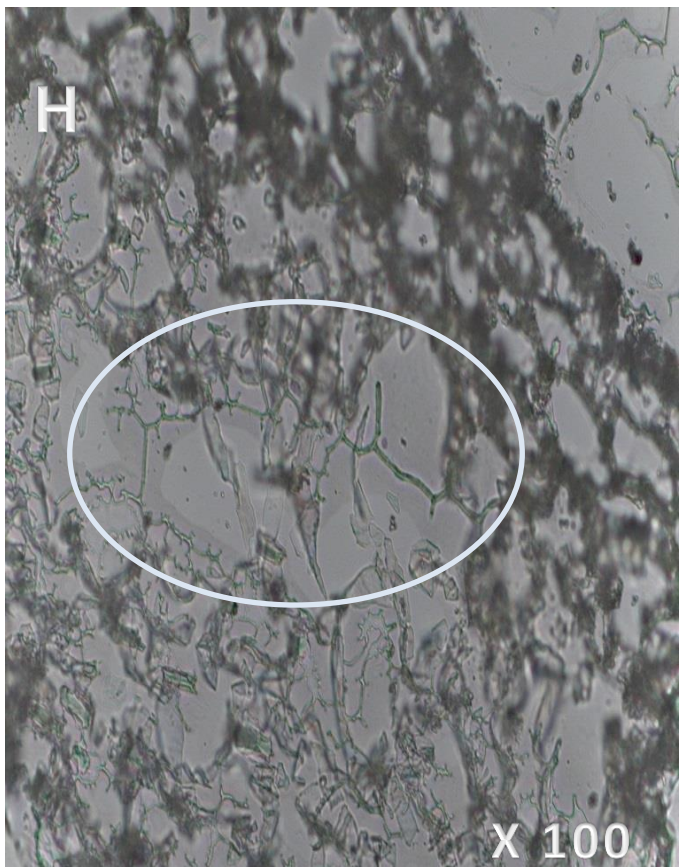
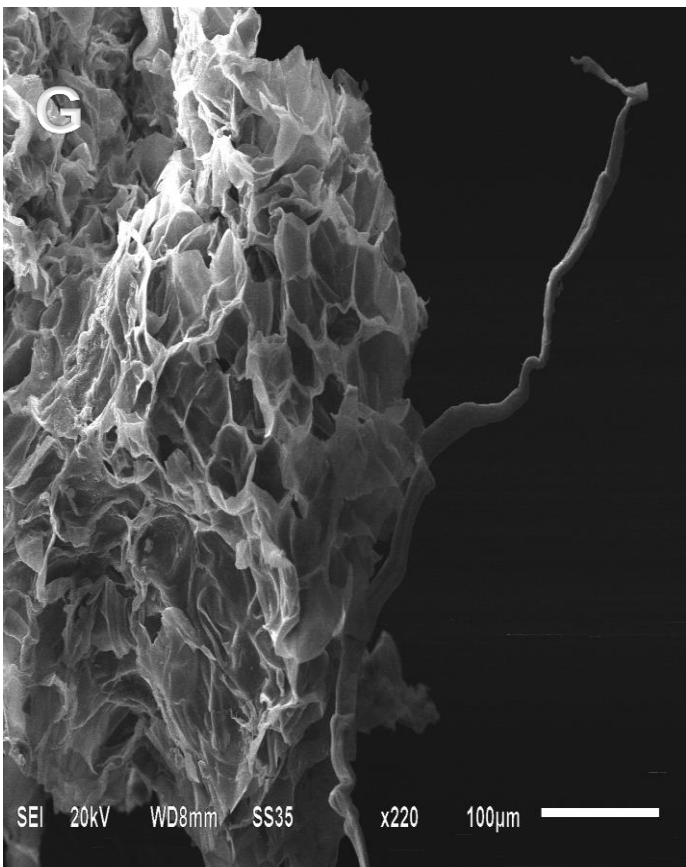
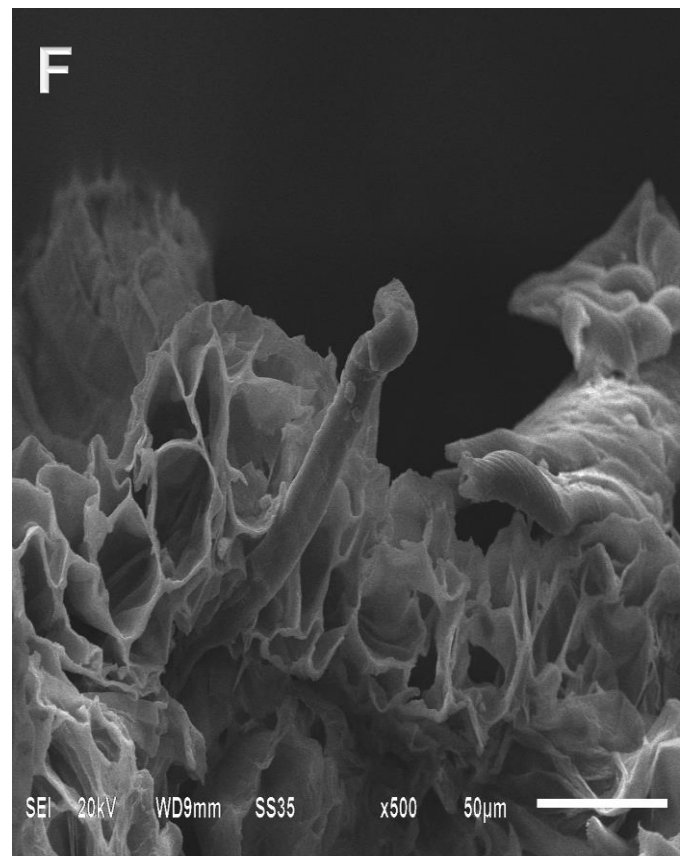
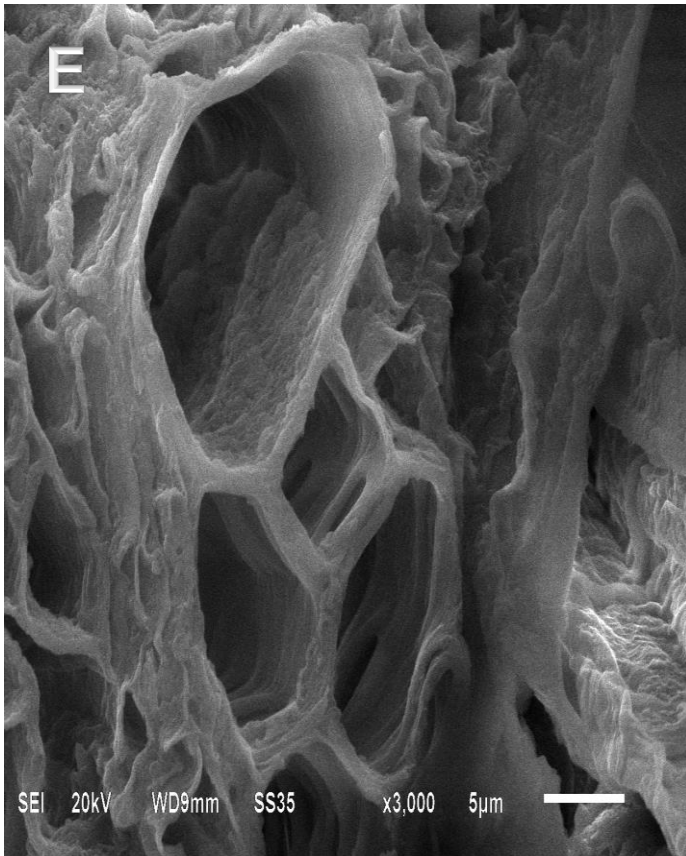


Figura 15. Imágenes por microscopía electrónica de barrido. A: Nódulo radical; B: Tejido parenquimatoso, radios y fibras; C: Pared celular de elementos traqueales; D: Elementos traqueales.



*Figura 16.* Imágenes por microscopía electrónica de barrido. E: Elementos de vaso; F y G: Tejido parenquimático; H: Hifas intracelulares (microscopía óptica compuesta).

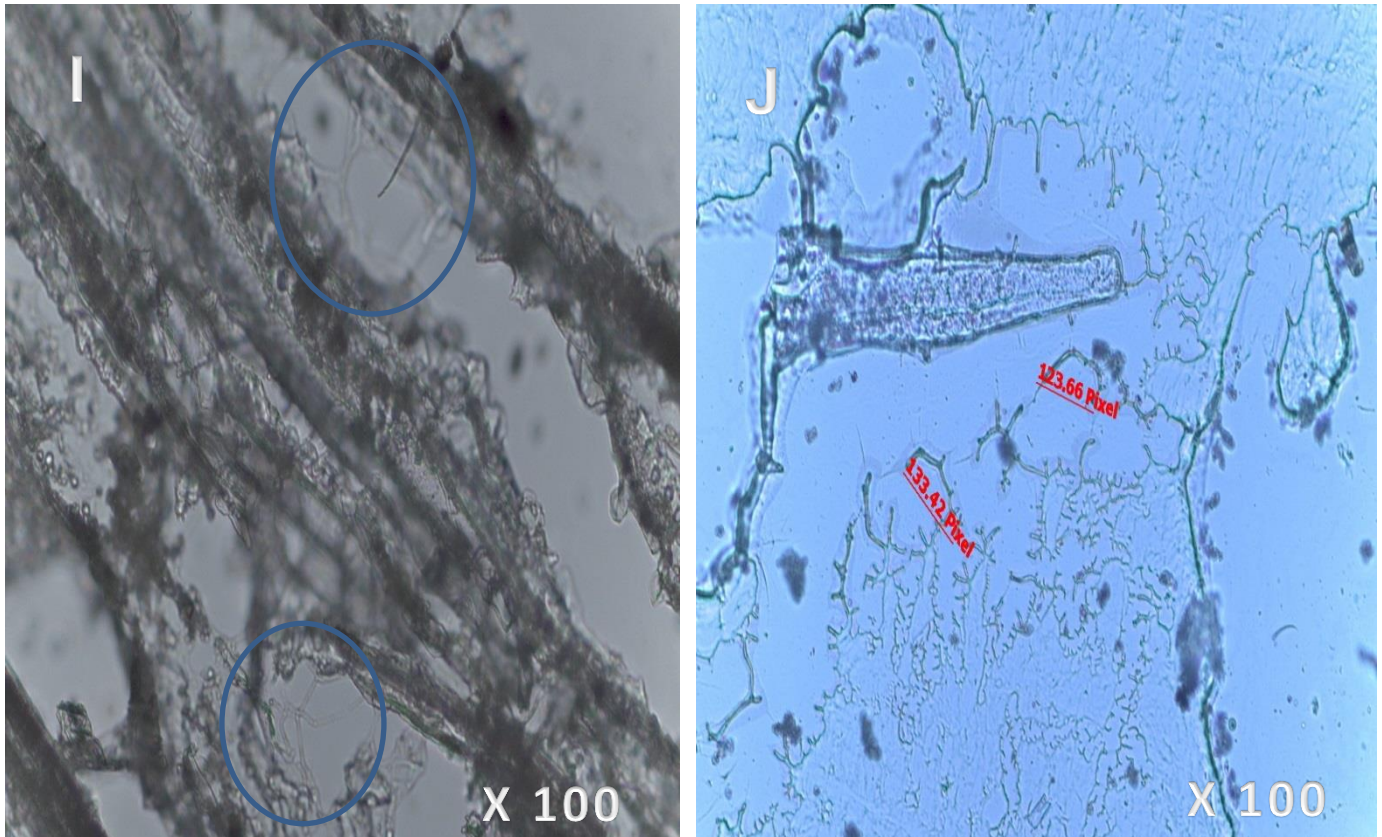


Figura 17. Imágenes por Microscopía Óptica Compuesta I, J: Obsérvese presencia de hifas intracelulares.

La tabla 6, las figuras 14, 15, 16 y 17; las imágenes (A – J) fueron obtenidas mediante cortes histológicos por microtomía de rotación a partir de acodos aéreos en *Taxodium mucronatum*: A = nódulos radicales (mcb.); B = sección longitudinal de raíz con tejido parenquimatoso, radios y fibras (mcb.); C= sección longitudinal de raíz donde se observa un engrosamiento helicoidal de la pared celular de los elementos traqueales del xilema (mcb.); D = sección longitudinal de raíz con mayor acercamiento en la pared de elementos traqueales (mcb.); E = sección transversal de raíz donde se observan elementos de vaso del xilema (mcb.); F,G = secciones transversales de raíz mostrando tejido parenquimático organizado en masas continuas de células parenquimáticas provistas de paredes delgadas y forma poliédrica (mcb.); H, I y J secciones transversales de raíz con presencia de hifas intracelulares presentando ramificaciones (obtenidas de muestras del grupo 2) (moc).

(moc) = microscopía óptica compuesta; (mcb) = microscopía electrónica de barrido.

## 9. DISCUSIÓN

En este trabajo se maneja principalmente la importancia que tiene la propagación de especies vegetales a través de la reproducción asexual; particularmente en este proyecto se trabajó con la especie *Taxodium Mucronatum* comúnmente conocida como “Ahuehuete”, “Sabino”, “Ciprés de río” entre otros nombres, en el cual se realizó la técnica de propagación vegetativa asexual por acodo aéreo con la aplicación de un regulador de crecimiento vegetal (RCV) que fue un enraizador comercial y posteriormente al corte de ramas la inoculación con micorriza comercial al grupo 2 (experimental), para la aplicación de enraizador obteniendo resultados favorables en el enraizamiento de los acodos; el desarrollo de raíz se presentó en ambos grupos 1 y 2, aunque en el grupo 2 fue mayor debido a la aplicación del tratamiento obteniendo un total de 14 acodos vivos y 4 muertos (Grafica 2), y para el grupo 1 siendo el control se obtuvo solo 11 acodos vivos y 7 muertos (Grafica 1). Sin embargo, a pesar de haber obtenido un total de 25 acodos aéreos vivos, posteriormente al corte de ramas y trasplante de los mismos como plantas independientes solo lograron sobrevivir 2 “plantas nuevas” pertenecientes al grupo 1 y 2 del grupo 2; considerándose como principal causa el traslado del material biológico a la ciudad de Puebla, así también el no haber tenido un lugar fijo de trasplante y ubicación definitiva después del corte de ramas o factores abióticos.

Para el análisis estadístico aplicando la prueba de Shapiro la normalidad obtenida fue de  $P > 0.05$  (grupo control  $P > .13067$  y grupo con tratamiento  $P > .06150$ ).

México ha sido considerado como uno de los países con mayor número de especies animales y vegetales (SEMARNAT, 2007-2009), sin embargo en la actualidad muchas especies se hallan en clara regresión y peligro de desaparecer. Tal retroceso se debe a causas muy diversas, las principales: a) talas indiscriminadas y abusivas, sobre todo de plantas leñosas; b) recolección excesiva de especies de interés práctico- farmacéutico, industrial, cosmético o alimentario; c) incendios provocados o accidentales; d) expansión de las ciudades o nuevos asentamientos humanos; e) prácticas silvícolas mal realizadas, como

exceso de rozas o aclareos indiscriminados; f) carga excesiva de ganado herbívoro silvestre o de pastoreo; y g) propagación difícil que impide una regeneración normal, es por ello que se deberían buscar alternativas que contribuyan en mejorar estas situaciones, en el caso de las especies vegetales, la propagación asexual conlleva ventajas para prevenir de cierta manera esta pérdida en el menor tiempo posible .

La reproducción asexual es realizada cuando se emplean partes vegetativas obtenidas de la planta original es posible gracias a que cada célula de la planta contiene información genética necesaria para la generación de otra planta nueva entera. Las estacas de callo y los acodos tienen la capacidad de formar raíces adventicias y las estacas de raíz pueden regenerar un nuevo sistema de brote, mientras que las hojas pueden regenerar tanto nuevas raíces como nuevos tallos (Hartmann *et al.*, 1984).

Gracias a la propiedad de totipotencia y desdiferenciación que presentan las células vegetativas vivientes en la planta de contener toda la información genética necesaria es posible la regeneración una nueva planta (Steward *et al.*, 1978).

Rubio y Rumayor; realizaron trabajos con la propagación de mezquite (*Prosopis laevigata*) mencionan que la propagación de plantas en menor tiempo posible ha sido considerada como una innovación tecnológica actualmente, haciendo referencia a una técnica llamada acodo aéreo, que consiste en la propagación vegetativa para obtener plantas con homogeneidad genética, con un diámetro del tallo, follaje y altura superior a las producidas por semilla (INIFAP, 2014).

En el trabajo que se realizó en campo, además de que a través de la técnica de acodo aéreo se obtuvieron nuevas plantas independientes e idénticas, es decir clones (Shull, 1912), las técnicas de propagación asexual también mayormente son utilizadas para plantas ornamentales, forestales y en especies frutales teniendo como ventaja una mayor cantidad de plantas regeneradas con mayor uniformidad y sobre todo con bajos costos (Castillo *et al.*, 2005).

Castillo *et al.*, (2005) reportaron que *Murraya paniculata* es una planta ampliamente cultivada como ornamental mencionando que su propagación a nivel comercial se realiza mediante semilla botánica, pero en tal caso las plantas presentan crecimiento muy lento; por tal motivo consideran que la aplicación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV) contribuye en la capacidad e intensidad del enraizamiento aplicando cuatro concentraciones de AIB (0, 3000, 4000 y 5000  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) en la propagación mediante acodado, obteniendo así resultados del 100% de enraizamiento en todos los tratamientos después de 60 días observándose que con la concentración de 4000  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  hubo mayor masa, número y longitud total de raíces, de la misma manera se afirma que mediante la aplicación de RCV el enraizamiento es efectivo.

Nilca *et al.*, 2004 demostraron el efecto que tienen los reguladores de crecimiento vegetal (RCV) sobre el porcentaje de acodos aéreos en guayabos cultivados mediante la aplicación de tratamientos con ácido naftalenacético (ANA) y ácido indolbutírico (AIB) en dos ensayos con diferentes concentraciones; para el primer ensayo aplicaron ANA y AIB a 5000  $\text{mg kg}^{-1}$  cada uno y una combinación entre ambos de 2000 y 1000  $\text{mg kg}^{-1}$  respectivamente, en el segundo ensayo aplicaron 5000  $\text{mg kg}^{-1}$  de ANA y evaluaron dos sustratos: abono de río y mezcla de abono de río más espuma fenólica concluyendo que entre RCV 5000  $\text{mg kg}^{-1}$  de ANA indujo los mayores porcentajes de acodos enraizados (96.43 %) siendo este el mejor estimulante para la formación de raíces.

Villalobos *et al.*, 2008 realizaron un trabajo para la evaluación del efecto que tiene de la técnica de acodo en *Dracaena marginata* sobre la calidad de sus raíces utilizaron la hormona de enraizamiento AIB comparando el efecto del tiempo transcurrido desde su dilución, la forma de conservación de la hormona AIB y su relación con la forma de trabajo de cuatro acodadores sobre la exportabilidad y la calidad de las raíces de acodos en cañas de *Dracaena marginata* de 4" y 6". Utilizaron un diseño irrestricto aleatorio con un arreglo factorial 4x3, y como unidad experimental cuatro minutos de trabajo. Evaluaron tres variables en cada acodo: exportabilidad, ausencia de doble fila de raíces y largo de éstas, para lo cual se

utilizaron modelos de regresión logística, encontrando interacciones entre el trabajo del acodador y el efecto de envejecimiento de la hormona para las tres variables modeladas, las cuales indicaron que uniformar el procedimiento con el que se realiza el acodo puede llevar a una mayor calidad y a aumentar la probabilidad de que cada caña sea exportable.

Flores, 2006; menciona que la especie *Magnolia grandiflora* L. al igual que de muchas otras especies se encuentra amenazada debido a que las actividades antropogénicas causan grave deterioro de su hábitat. Además que su germinación por medio de semilla presenta letargo interno que dificulta su germinación, debido a esta condición justifica el uso de técnicas de multiplicación vegetativa, como el acodo aéreo debido a la rápida obtención de plantas; empleando la técnica con el fin de promover la formación de raíces adventicias en ramas de magnolia, mediante el uso de diferentes tratamientos auxínicos usando musgo como medio de enraizamiento. Los tratamientos auxínicos que aplicaron fueron por el testigo, Radix®10000, Radix®3000, Radix®1500, Raizone®-Plus y agua de coco, obteniendo el 93.6% de enraizamiento de acodos a los 252 días, logrando el mayor número de raíces adventicias con las concentraciones auxínicas más elevadas, presentes en Raizone®-Plus y Radix®10000. Después del envasado obtuvieron el 77.4% de supervivencia de acodos, concluyendo así que el método de propagación por acodo aéreo es una alternativa de conservación para la especie ya que se obtuvieron resultados satisfactorios en el enraizamiento de los acodos y en su posterior establecimiento como plantas independientes.

En el presente trabajo con la propagación vegetativa asexual “acodo aéreo” así como la aplicación de regulador de crecimiento vegetal (RCV) se observó que los acodos pertenecientes al grupo 2 (experimental) desarrollaron raíces con mayor crecimiento en comparación con el grupo 1(control), demostrándose que los RCV, específicamente el uso de enraizador favorece el enraizamiento de los acodos ya que estimulan la formación de raíces adventicias así como un enraizamiento más exitoso; además que se obtienen nuevas plantas en un menor costo y tiempo posible; dichos datos se relacionan con lo reportado por Lema., 2011, quien

trabajó comparando la eficacia en la aplicación de enraizadores por esqueje de cultivares de *Hypericum*, utilizando 6 enraizadores: Hormonagro, Tecno verde radicular, Root most, Bioplus, Raiz 500 y Ankor flex inicio, con cada enraizador se obtuvieron los siguientes porcentajes: 63.66%, 56.25%, 51.62%, 49.54%, 46.76% y 31.71% respectivamente, concluyendo así que el enraizador Hormonagro presentó mayor enraizamiento por esqueje y así mismo la eficacia en su aplicación.

Se han mencionado ya algunas de las ventajas obtenidas a través de las técnicas de propagación vegetativa asexual, en este trabajo el acodo aéreo, así como la aplicación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV) un enraizador comercial, sin embargo, existen otras alternativas biológicas como es la inoculación con hongos micorrízicos que de igual manera favorecen a la planta para su mejor desarrollo y adaptación.

La inoculación del suelo con bacterias y hongos ha constituido una práctica agrícola por varias décadas. Sus propósitos han sido entre otros, proporcionar nutrimentos a los cultivos y plantas, controlar algunos fitopatógenos, estimular el crecimiento vegetal a través de la producción de fitohormonas y hongos micorrízicos arbusculares, mejorar la estructura del suelo y más recientemente la destrucción de contaminantes orgánicos (Eckert *et al.*, 2001; Mascarua *et al.*, 1988).

Se ha dicho que las micorrizas colonizan a más del 90% de las plantas que existen. El fenómeno de la micorrización y su significado para la nutrición de plantas ha cobrado creciente interés y atención de parte de los especialistas en los últimos años. Esta forma de simbiosis permite a muchas plantas que crecen en suelos infértiles absorber fósforo y otros nutrimentos poco móviles en forma más eficiente que en la condición no micorrizada. Como consecuencia del mejoramiento en la absorción bajo esas condiciones, pueden crecer mejor y producir más biomasa (Santoyo *et al.*, 1996).

Aunque las respuestas de crecimiento de plantas al aplicar hongos micorrízicos no son inmediatas, resulta de gran importancia la inducción de programas de inoculación (inducir artificialmente la asociación del hongo con la planta) para tener mejores resultados en plantas, pero dándole un mayor énfasis a aquellas que tienen un interés económico; por ejemplo aquellas plantas que son producidas en viveros o directamente en campo, representando mínimos gastos al productor y en cambio proporcionando un gran beneficio, principalmente frente a programas de reforestación donde muchas veces las plantas mueren poco tiempo después de haber sido transplantadas por no tener una buena asociación con los hongos; confirmando así una vez más, la importancia y ventajas que brindan las micorrizas a la planta (Márquez *et al.*,2002).

A pesar de las ventajas de las técnicas de propagación vegetativa asexual como de la aplicación de productos que conlleven a un mejoramiento en las plantas, existe también la posibilidad de no obtener un éxito total en cuanto a la propagación, en el presente trabajo se presentó esta problemática, ya que se obtuvieron un total de 11 acodos muertos, esto pudo ser debido a ciertos factores que afectan la regeneración de las plantas impidiendo las condiciones óptimas para el enraizamiento, dichos factores son: a) selección del material: condición fisiológica de la planta madre, factor de juvenilidad, tipo de madera, presencia de virus, época del año; b) tratamiento aplicado: reguladores de crecimiento, nutrientes minerales, fungicidas, lesiones; c) condiciones ambientales durante el enraizamiento: relación con el agua, temperatura, luz, medio de enraizado según lo reportado por Hartmann *et al.*,1984.

## 10. CONCLUSIONES

- La propagación vegetativa asexual es de gran interés, ya que permite la regeneración de partes de la planta para la formación de nuevos individuos independientes.
- Este tipo de propagación resulta ser más factible mediante la aplicación de reguladores de crecimiento vegetal (RCV) ya que estimulan y aceleran el enraizamiento de la planta.
- La técnica de “acodo aéreo” permite la conservación de las características propias en las plantas conservando el genotipo de la planta madre, además que los costos para la realización de la técnica son accesibles y los acodos se obtienen en el menor tiempo posible en comparación con la propagación de manera sexual.
- A través de la realización de la técnica de acodo aéreo con la especie *Taxodium mucronatum* se logró obtener el enraizado de acodos.
- *Taxodium mucronatum* además de ser una especie originaria de México y participar en la condecoración del centenario de la independencia mexicana se le atribuye gran importancia haciendo referencia a lo ornamental, cultural, religioso, ecológico y medicinal.
- De los 36 acodos aéreos realizados con la especie *Taxodium mucronatum*, en ambos grupos de trabajo (1 y 2), se obtuvo un total de 25 acodos vivos y 11 muertos; ambos grupos presentaron desarrollo de raíz, sin embargo, en el grupo 2 se logró observar un mejor enraizamiento en cuanto al crecimiento de raíz. Sin embargo, después del corte de ramas como plantas independientes ya trasplantadas se logró obtener únicamente 2 “plantas nuevas” del grupo 1 y 2 para el grupo 2, observándose la pérdida de las plantas aproximadamente un mes después de su trasplante.

- La aplicación del enraizador comercial RAÍZ SINERplus al grupo 2 resultó favorable, de tal manera que se produjo una estimulación mayor en el enraizamiento de los acodos, observándose esto en la medida de raíces a través de su crecimiento continuo así como un mejor enraizamiento general.
- Para los acodos aéreos que no lograron el enraizamiento esperado (muertos) siendo 11 en total, se atribuye que las posibles causas pudieron deberse esto pudo deberse por factores como la condición fisiológica de la planta madre, la humedad, luz y temperatura no adecuadas.
- En cuanto a la inoculación con micorriza comercial GLUMIX, al grupo 2 después del corte de ramas y posteriormente realizado el trasplante; pudo observarse en este grupo de acodos un mejor desarrollo de las nuevas plantas obtenidas, ya que estas presentaron mayor altura, mejor coloración y mayor número de brotes de hojas. En el grupo 1 (sin inocular) las plantas tomaron una coloración amarilla. La inoculación con micorriza únicamente se realizó con el objetivo de contribuir en un mejor desarrollo y adaptación posterior de las plantas, por tal motivo, no se hicieron análisis de comparación.
- Las plantas asociadas con hongos micorrízicos presentan ventajas notables por la relación simbiótica (planta-hongo) que realizan, contribuyendo de manera positiva incrementando su eficiencia en la toma de nutrimentos y agua del suelo, favoreciendo el incremento de biomasa y al mismo tiempo brindando mayor protección contra el ataque de patógenos y efectos tóxicos de algunos metales.
- Las micorrizas son de gran importancia debido a todos los beneficios que aportan no solo en el establecimiento de las plantas, sino también en la

restauración del ecosistema, además de mantener la diversidad vegetal y el funcionamiento del ecosistema.

- La microscopía en general es una técnica de suma importancia ya que permite la visualización de microorganismos o estructuras que no pueden ser apreciadas a simple vista, entre los tipos de microscopía de importancia para una obtención de mejores imágenes se encuentran: microscopio electrónico de barrido (meb) y microscopio óptico compuesto (moc). Ambos tipos de microscopía permiten la creación de imágenes de alta resolución permitiendo la observación a mayor detalle, lo cual enriqueció de manera favorable el trabajo permitiendo observaciones más específicas de las estructuras presentes en la raíz.
- Los cortes histológicos de nódulo y raíz hechos mediante la técnica de microtomía de rotación, fueron observados por meb y moc para la obtención de imágenes de interés requeridas en el estudio.
- Las imágenes de muestras de nódulo y raíz obtenidas por meb y moc fueron descritas para la observación de las diferentes estructuras que conforman la raíz así como la posible presencia de endomicorrizas.

## 11. LITERATURA CITADA

1. Aguilar M, Coutiño B, Salinas R, 1996. Manual general de técnicas histológicas y citoquímicas. Facultad de Ciencias, UNAM; Pág. 130.
2. Alarcón A, Davies F, Egilia J, Fox T, Estrada L, Ferrera C, 2002. Short term effects of *Glomus claroideum* and *Azospirillum brasilense* on growth and root acid phosphatase activity of cariaca papaya L. under phosphorus stress. Rev. Lat. MicrobiolM; 44(1): 31-37.
3. Albaladejo A, 2007. Métodos de preparación del specimen para evaluar la micromorfología de la interfase adhesiva resina-dentina con un microscopio electrónico de barrido. Avances en Odontoestomatología. 23(4):197-206.
4. Álvarez S, Monroy A, 2008. La simbiosis micorrizica y sus aplicaciones en la restauración ecológica en México, Universidad Nacional Autónoma de México, México; Pág. 3-8.
5. Álvarez S, Monroy A, 2008. Técnicas de estudio de las asociaciones micorrízicas y sus implicaciones en la restauración, Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, UNAM; Pág. 59-68.
6. Arreguin S, Beaman H, Brizuela V, Calderón de R, Denton F, Dunn B, Espinosa de G, Rzedowski J, Schubert G, 1981. Generalidades, Gymnospermae, Dicotyledoneae. Flora Fanerogamica del Valle de México, México. CIA. Editorial Continental; Pág. 70-72.
7. Azcón G, De Aguilar C, Barea J, 1980. Micorrizas. Investigación y Ciencia. Scientific American; 47: 8-16.
8. Barea J, Aguilar A, 1983. Mycorrhizas and their significance in nodulating-fixing. Plant; 36:1-24.

9. Baldani V, Baldana J, Dobereiner I, 1983. Effects of *Azospirillum* spp., inoculation on root infection and nitrogen incorporation in wheat. *Can J. Microbiol*; 29: 924-929.
10. Castillo M, De Fréitez Y, Hernández de Bernal N, 2005. Efecto de la auxina AIB en la propagación de azahar de la India (*murraya paniculata* (L. Jack)) por acodo aéreo. *Bioagro, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Venezuela*; 17:123-126.
11. Chávez L, Álvarez A, Ramírez R, 2012. Apuntes sobre algunos reguladores de crecimiento vegetal que participan en la respuesta de las plantas frente al estrés abiótico. *Cultivos tropicales, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba*; 33(3): 47-56.
12. Devlin R, 1980. *Fisiología vegetal*. Ed. Omega, Barcelona, España.
13. Ecker B, Baller W, Kirchhof G, Halbritter A, Stoffels M, Hatrmann A, 2001. *Azospirillum dobereineriae* sp. a nitrogen fixing bacterium associated with the C-grass *Miscanthus*. *Int J. of Syst. And Evol. Microbiol*; 51: 17-26.
14. Fernández A, 2012. *Diccionario ritual de voces nahuas*. Panorama Editorial. México.
15. Fernández R, 2008. LAS MICORRIZAS: Desenterrando un tesoro, *Agricultura Orgánica*. O.B. ACTAF, Instituto de Ecología y Sistemática; 1:22-25.
16. Flores R, 2006. Propagación por acodo aéreo de *Magnolia grandiflora* L., Trabajo de tesis, Universidad Autónoma Chapingo. Pág. 1-59.
17. Franco J, 2007. Efectos beneficiosos de las micorrizas sobre las plantas. Universidad de Sevilla; Pág. 1-27.

18. Godoy L, Héctor E, Díaz B, Chea A, Torres A, 2005. Efecto de los reguladores de crecimiento en la multiplicación In Vitro de *Mentha piperita* y *Mentha citrata*. Cultivos tropicales, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba; 26(1): 73-75.
19. Guadarrama C, Sánchez G, 2004. Hongos y plantas: beneficios a diferentes escalas en micorrizas arbusculares, Revista ciencias. Facultad de Ciencias, UNAM; 73: 39-45.
20. Guzman-Plazola R, Ferrea C, 1990. La endomicorriza Vesículo-arbuscular en las leguminosas. Sección de microbiología centro de investigación Colegio de Posgraduados Montecillo, México; Pág. 9-87.
21. Hartmann H, Kester D, 1984. Propagación de plantas. Principios y Prácticas. Editorial Continental. México; Págs. 760.
22. Hernández S, Carmona G, Ávila C, Mendoza G, 2012. Propagación vegetativa de tres especies de mangle por acodos aéreos en el manglar de Sontecomapan, Catemaco, Veracruz, México. Polibotánica, Departamento de Botánica, Distrito Federal, México; 33: 193-205.
23. Hocker H, 1984. Introducción a la Biología Forestal. D. F. A. G. T. Editor. México; Pág. 39-57.
24. Lema G, 2011. Evaluación de la eficacia de enraizadores por esqueje de tres cultivares de *Hypericum*. Trabajo de tesis, Escuela de Ingeniería Agronómica. Riobamba, Ecuador. Pág. 1-101.
25. Márquez A, Pereda V, Jiménez D, Valdés M, 2002. Micorrizas: la faceta menos conocida de los hongos. *Conversus*; 10: 12-17.

26. Mascarua E, Villa G, Caballero M, 1988. Acetylene reduction and indoleacetic acid production by *Azospirillum* isolates from cactaceus plants. *Plant and Soil*; 106: 91-95.
27. Morton J, Redecker D, 2001. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93(1): 181-195.
28. Niembro R, 1989. Semillas de plantas leñosas. Morfología comparada. Editorial Limusa. México, DF. Pág. 224.
29. Nilca R, Albany V, Jorge A, Vilchez P, Zeneida J, Castro C, Gadea J, 2004. Propagación asexual del guayabo mediante la técnica de acodo aéreo. *Agronomía Trop*; 54(1): 63-73.
30. Nuñez C, Álvarez S, Guadarrama C, Sánchez G, 2008. El uso de los hongos micorrizógenos arbusculares en prácticas de restauración. Departamento de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias, UNAM; Pág. 201-211.
31. Pacovsky R, 1989. Metabolic differences in Zea- *Glomus* *Azospirillum* symbioses. *Soil. Biol, Biochem*; 21(7): 953-960.
32. Ramírez-Villalobos M, Urdaneta F, 2004. Efecto del ácido naftalenacético y de diferentes sustratos sobre el enraizamiento de acodos aéreos del guayabo (*Psidium guajava* L.), *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)*; 21 (1): 28-34.
33. Ramos L, Cruz N, Morante J, Villacís O, 2006. Empleo de hormonas (ANA y AIB) estimuladoras del enraizamiento para la propagación vegetativa de *Chlorophora tinctoria* (L) Gaud (moral fino) en el litoral ecuatoriano. *Foresta Veracruzana, Recursos Genéticos Forestales, México, Xalapa*; 8(1): 9-12.

34. Rivera B, Calantzis C, Turnau K, Pierre C, Belimov A, Gianinazzi S, Strasser J, Gianinazzi C, 2002. Cadmium accumulation and buffering of cadmium-induced stress by arbuscular mycorrhiza in three *Pisum sativum* L. genotypes. *Journal of Experimental Botany*; 53(371): 1177-1185.
35. Romero M, Romero C, 2001. *Microbios*, UNAM; Pág. 1-12.
36. Rodríguez B, 1989. Importancia de la micorrización artificial de diversas especies forestales españolas. *Bol. San. Veg. Plagas*; 15: 33-41.
37. Rubio A, Rumayor R. *Bovino Doble Propósito: La técnica de acodo aéreo para propagar plantas de Mezquite.*, INIFAP, SAGARPA. Ficha técnica.
38. Rzedowski J, Calderon de R, 1981. *Flora Fanerogamica del Valle de México*, México: CIA. Editorial Continental, Pág.983.
39. Salazar S, Velasco J, Medina R, Gómez J, 2004. Selecciones de aguacate con potencial de uso como portainjertos. II. Respuesta al enraizamiento mediante acodos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, Sociedad Mexicana de Fitogenética, Chapingo, México; 27(2): 183-190.
40. Sandoval E, 2005. *Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal*. Universidad Autónoma de México. Instituto de Biología, Universidad Autónoma de México, México, DF. 117 pp.
41. Santoyo C, Díaz C, Rodríguez, P, 1996. *Sistema Agroindustrial Café en México; diagnostico, problemática y alternativas*. CIESTAAM; Pág.1-48.
42. Segura J, 2000. *Introducción al desarrollo. Concepto de hormona vegetal*. En: Azcón B, Talón M. Eds. *Fundamentos de fisiología vegetal*. Edicions universitat de Barcelona. McGRAW-HILL-INTERAMERICANA, España. Pág. 285-303.

43. SEMARNAT, 2007-2009. Programas y acciones de reforestación, conservación y restauración de suelos, incendios forestales y sanidad forestal. Comisión Nacional Forestal, México.
44. Shull C, 1912. Phenotype and clone. *Science N. S*; 35: 182-183.
45. Steward F, Krikorian A, 1978. Problems and potentialities of culture plant cells in retrospect. In *Plant cell and tissue culture: Principles and applications*, Ohio State Univ. Press; Pág. 221-262.
46. Vasil V, Hildebrandt A, 1965. Differentiation of tobacco plants from single isolated cells in microcultures. *Science*;150: 889-892.
47. Villalobos R, González L, Acedo M, 2008. Efecto de la técnica de acodo en *Dracaena marginata*, sobre la calidad de raíces. *Agronomía Mesoamericana*, Universidad de Costa Rica; 19(2): 209-219.
48. Wareing R, Phillips I, 1973. The control of growth and differentiations in plants. Pergamon Press, L.T.D. Gran Bretaña.
49. Weaver R, 1976. Reguladores del crecimiento de las plantas en la Agricultura. México, D. F. Trillas. Pág. 622.
50. Webber H, 1903. New horticultural and agricultural terms. *Science N. S*; 18: 501-502.
51. Zhang H, Forde G, 2000. Regulation of Arabidopsis root development by nitrate availability. *Journal of Experimental Botany*, MP Special Issue; 51(342): 51-59.

## Rerefencias Electronicas

1. ANÓNIMO. (*Taxodium mucronatum* Ten 1853). 2008. Instituto de Biología. IBUNAM: MEXU: PA100746. UNIBIO: Colecciones Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. (Consulta: febrero 5, 2015).
  - <http://unibio.unam.mx/collections/specimens/urn/IBUNAM:MEXU:PA100746>
2. Botanical-online. 1999-2015. Como multiplicar árboles frutales. Reproducción mediante acodo. (Consulta: octubre 28, 2014).
  - <http://www.botanical-online.com/acodo.htm>
3. INAFED (Instituto Nacional para el Federalismo y Desarrollo Municipal). 2014. Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México, estado de Puebla. (Consulta: noviembre 10, 2014).
  - <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM21puebla/municipios/21150a.html>
4. INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2010. Información topográfica digital. (Consulta: noviembre 14, 2014).
  - <http://mapserver.inegi.org.org.mx/mgn2k/>
5. INIFAP (Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias). 2014. Fichas tecnológicas sistema producto, la técnica del acodo aéreo para propagar plantas de mezquite. (Consulta: noviembre 2, 2014).
  - <http://utep.inifap.gob.mx/tecnologias/3.%20Bovinos%20Doble%20Prop%C3%B3sito/5.%20Forrajes%20y%20pastizales/LA%20T%C3%89CNICA%20DEL%20ACODO%20A%C3%89REO%20PARA%20PROPAGAR%20PLANTAS%20DE%20MEZQUITE%20.pdf>
6. Quintanar Beatriz (México desconocido). 2015. Ahuehuetes, los viejos del agua. (Consulta: febrero 05, 2015).
  - <http://www.mexicodesconocido.com.mx/ahuehutes-los-viejos-del-agua.html>

## **12. RECOMENDACIONES**

1. Se recomienda el desarrollo y aplicación de otras técnicas de reproducción vegetativa asexual a través de la multiplicación por estaca, esqueje, brotes o injerto, pudiendo considerarse como principal interés especies vegetales de importancia medicinal y forestal.
2. Uso de los diferentes reguladores de crecimiento vegetal (RCV), fitohormonas, agentes químicos y biológicos u otros compuestos orgánicos que permitan la estimulación temprana en las raíces de plantas así como un mejor desarrollo.
3. Se sugieren programas de inducción, así como prácticas de inoculación artificial con micorrizas en las plantas con el fin de mejorar su desarrollo.
4. Se recomienda que a través del desarrollo de prácticas de inoculación con micorrizas, se logre una posible restauración y recuperación de sistemas ecológicos perturbados.
5. Es necesario el monitoreo continuo así como la ubicación fija en que se establecerán las nuevas plantas obtenidas de las técnicas de propagación vegetativa asexual para evitar daños o pérdida de las mismas después de realizar el trasplante.

# 13. ANEXO FOTOGRÁFICO

## 1. TRABAJO EN CAMPO.



Permiso otorgado para trabajo en campo.



Centro recreativo "Atotonilco".



Extracción de anillo de corteza en ramas de *Taxodium mucronatum*.



Corte de acodos aéreos.



Inoculación con micorrizas GLUMIX  
(grupo experimental)



Enraizado de acodos aéreos



Llenado de bolsas para trasplante de acodos.



Trasplante de acodos aéreos.

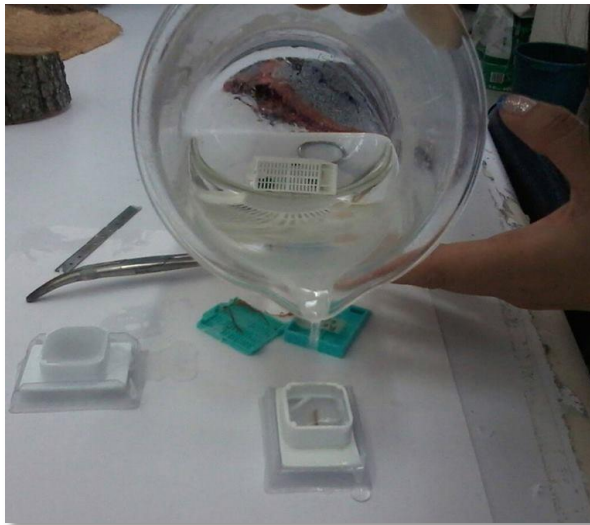
## 2. TRABAJO DE LABORATORIO (PROCESAMIENTO DE MUESTRAS PARA LA OBTENCIÓN DE CORTES POR MICRÓTOMIA DE ROTACIÓN).



Deshidratación de muestras.



Material utilizado para la inclusión.



Inclusión



Plancha de estiramiento



Cortes con micrótopmo de rotación (Leica RM 2125rt)



Baño de flotación y montaje de muestras

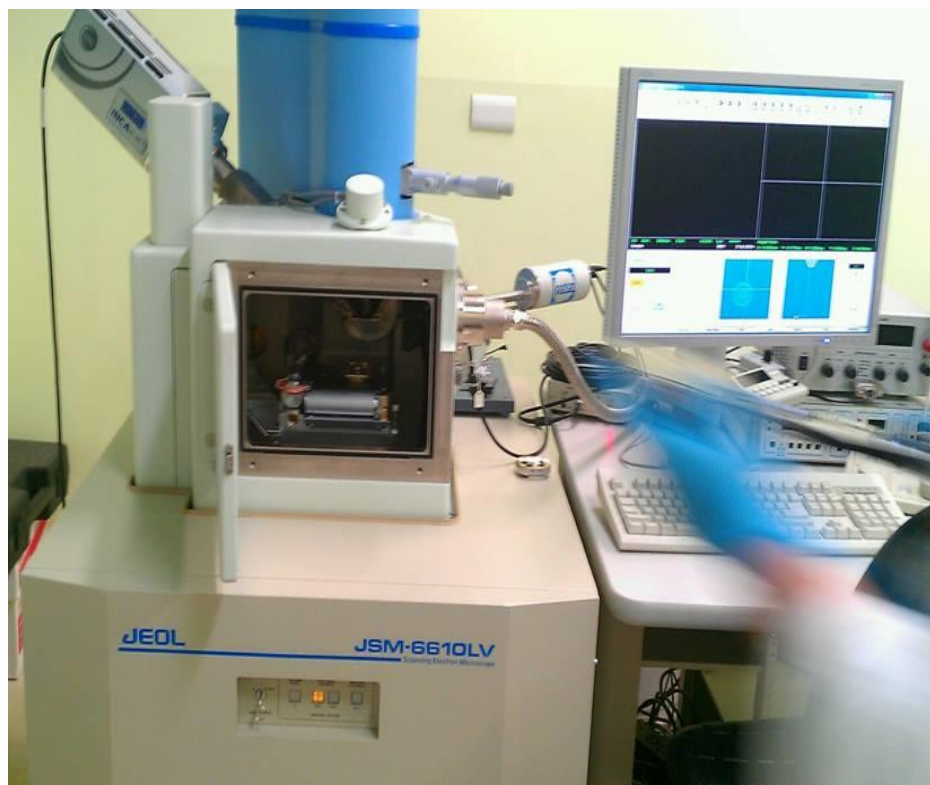


Desparafinación

### 3. OBSERVACIONES POR MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO.



Evaporador para recubrimiento de muestras (CUV y TT) BUAP.



Microscopio electrónico de barrido (CUV y TT) BUAP.

4. DESARROLLO DE RAÍZ DE *Taxodium mucronatum* A PARTIR DE LA TÉCNICA DE ACODO AÉREO DURANTE PERIODO DE TIEMPO DE 16 SEMANAS.



## **AGRADECIMIENTOS**

1. Al Centro Universitario de Vinculación y Transferencia de Tecnología (CUV y TT) de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, al M.C. Eric Reyes Cervantes y M. C. Carla de la Cerna Hernández, responsables del laboratorio de microscopía electrónica de barrido y microscopía óptica compuesta.
2. A la Dra. Agustina Rosa Andrés Hernández por su apoyo con el material y equipo necesario para la preparación de muestras y obtención de cortes histológicos.
3. Al ciudadano José Santamaría Zavala, presidente municipal de Huehuetlán el Grande, Puebla, por el permiso otorgado para la realización del proyecto de tesis en el centro recreativo Atotonilco.
4. A la comisión cooperativa representante del centro recreativo Atotonilco por las facilidades durante el trabajo en campo.