



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

**RELACIÓN ENTRE ALTURA Y CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS,
MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE
39 SEGREGANTES DE AGUACATERO 'Colín V-33'**

TESIS

Que como requisito parcial

Para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

ELIZABETH MEZA CASTILLO

**CHAPINGO, MÉXICO
JULIO DE 2005**



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES



Instituto de Horticultura

**RELACIÓN ENTRE ALTURA Y CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS,
MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE 39 SEGREGANTES DE
AGUACATERO 'Colón V-33'**

Tesis realizada por Elizabeth Meza Castillo, bajo la dirección del Comité Asesor
indicado, aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado
de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR:



Dr. Alejandro Facundo Barrientos Priego

ASESOR:



Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez

ASESOR:



Dra. Ma. Isabel Reyes Santamaría

Chapingo, Edo. de México, Julio de 2005.

DATOS BIOGRÁFICOS

Elizabeth Meza Castillo, Ingeniero Agrónomo especialista en Fitotecnia, nació en la Ciudad de México el 3 de Abril de 1977. La educación media superior la realizó en el Colegio de Bachilleres plantel No. 07 Iztapalapa, Distrito Federal, en los años 1993 y 1996, ingresó a la Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo a nivel propedéutico, como el primer ciclo anual de estudios profesionales, en el año de 1997 se incorpora al Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo donde cursa los estudios de licenciatura en el período de 1997 a 2001. Durante el año 2001, trabajo en la Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S. C. en Coatepec Harinas, Edo. México, en la cual colaboró en trabajos de propagación y caracterización en el Banco de Germoplasma de Aguacate. Titulándose el 21 de octubre del 2002 con el trabajo “Caracterización histológica de ápices de raíz de genotipos clonales promisorios y sobresalientes como portainjertos de aguacate (*Persea americana* Mill)”, cuyo veredicto fue: “aprobada por unanimidad con felicitación”. La autora ha asesorado una tesis de licenciatura y es responsable de dos investigaciones referentes a portainjertos del genero *Persea* mismas que fueron presentadas en congresos a nivel nacional e internacional respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el valioso apoyo otorgado durante mis estudios.

A mi alma mater, Universidad Autónoma Chapingo, así como al Instituto de Horticultura por brindarme la oportunidad de continuar preparándome y por todas las facilidades para desempeñar las actividades propias del posgrado.

A la Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S. C. por las facilidades otorgadas para la presente investigación.

Al Dr. Alejandro Facundo Barrientos Priego, por brindarme la oportunidad de realizar la presente investigación, por proporcionarme herramientas versátiles para la realización de este trabajo, además por la confianza que me ha puesto en mí, misma que ha sido muy importante para proponer, y poner en práctica mis conocimientos. Y como olvidar su amistad.

Al Dr. Juan Enrique Rodríguez Pérez, por aceptar seguir colaborando conmigo, por la continua transmisión de conocimientos, orientación profesional y atinados consejos tanto técnicos como personales. Y no podría olvidar su apoyo moral en momentos duros a los que me enfrente durante esta etapa de mi vida, sin duda también por su amistad y confianza.

A la Dra. Ma. Isabel Reyes Santamaría por sus valiosas observaciones en la planeación y conclusión de la investigación, por su disponibilidad, así como por su amistad.

Al Dr. Clemente Villanueva Verduzco, coordinador del Programa de Horticultura, por las facilidades otorgadas.

A todos los catedráticos del Posgrado en Horticultura por su vocación.

A la Coordinación General de Posgrado por el apoyo que otorgó así con mi persona.

A todas aquellas personas que de alguna forma contribuyeron a mi buen desempeño en la Universidad.

Sinceramente

Elizabeth.

DEDICATORIA

A Dios por ayudarme a encontrar respuestas

Aquel hombre, que desde que conocí siempre ha estado a mi lado apoyándome para crecer como mujer, como persona y como profesionista; por no permitir que desista de mis sueños, por creer en mí, por ese infinito amor que me brinda, pieza fundamental de mi crecimiento, Abraham Evaristo Uribe García.

A mis padres: Catalina y Alfredo, por brindarme su amor, atención, apoyo, disciplina, educación, confianza y sobre todo la vida, los amo.

Para aquella amiga incondicional, pilar de mi fortaleza, mi madre, quien me inculco innumerables principios que me enorgullecen pero, para mí el más valioso fue el de la honestidad, ya que a través de esta muchas puertas se me han abierto.

A mi querido padre principalmente por luchar y seguir con nosotros, por sus consejos acerca de la vida pero infinitamente te agradezco por enseñarme a poner lo mejor de uno mismo en nuestro trabajo sin tomar en cuenta su grado de importancia.

Para Alfredo, que además de ser mi hermano haz sido un gran amigo, ya que hemos compartido momentos duros que en equipo hemos resuelto, por tus consejos, por tu ayuda incondicional, por tu amor y cariño por seguir juntos, como yo nunca desistas de tus metas y sabes que cuentas conmigo.

A mis abuelos, que siempre los llevo conmigo en mi mente y en mi corazón.

A mis primos Brenda, Carlos, Araceli, Keyla y Oswaldo por el especial cariño que les tengo, fruto del tiempo que hemos compartido.

A toda mi familia, principalmente a niños que son la semilla de la esperanza.

A las familias Uribe y García por su confianza y gran apoyo.

A mis compañeros de Posgrado por brindarme la oportunidad de conocerlos.

A todas aquellas personas que contribuyen de alguna u otra manera con una labor tan noble como lo es la Agricultura.

*Sinceramente:
Elizabeth*

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	viii
RESUMEN GENERAL.....	9
GENERAL ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	11
OBJETIVOS	15
Artículo 1. DETERMINACIÓN DE TAMAÑO DE MUESTRA MEDIANTE REMUESTREO DE CARACTERES DEL XILEMA DE BROTE DE AGUACATERO	
RESUMEN.....	16
ABSTRACT.....	17
INTRODUCCIÓN	18
MATERIALES Y MÉTODOS	22
RESULTADOS Y DISCUSION.....	25
CONCLUSIONES	35
LITERATURA CITADA.....	35
Artículo 2. RELACIÓN ENTRE ALTURA Y CARACTERISTICAS ANATÓMICAS, MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE 39 SEGREGANTES DE AGUACATERO ‘Colín V-33’	
RESUMEN.....	39
ABSTRACT.....	40
INTRODUCCIÓN	41
MATERIALES Y MÉTODOS	44
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
CONCLUSIONES	62
LITERATURA CITADA.....	63
DISCUSIÓN GENERAL.....	68
CONCLUSIONES GENERALES.....	70
LITERATURA CITADA.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Pág.

Artículo 1. DETERMINACIÓN DE TAMAÑO DE MUESTRA MEDIANTE REMUESTREO DE CARACTERES DEL XILEMA DE BROTE DE AGUACATERO

- Figura 1. Medias y desviación estándar de las medias de características de vasos del xilema de tres genotipos segregantes de 'Colín V-33' de 5000 remuestreos con diferente tamaño de muestra (número de campos microscópicos)..... 26
- Figura 2. Cuadrado medio del error (CME) y su desviación estándar de características de vasos del xilema de tres genotipos segregantes de 'Colín V-33' de 5000 remuestreos con diferente tamaño de muestra (campos microscópicos)..... 28
- Figura 3. Cuadrado medio de genotipos (CMG) y su desviación estándar de características de los vasos del xilema de tres genotipos segregantes de 'Colín V-33' de 5000 remuestreos con diferente tamaño de muestra (número de campos microscópicos)..... 29
- Figura 4. F calculada ($FC = CMG/CME$) y su desviación estándar de características de vasos del xilema de tres genotipos segregantes de 'Colín V-33' de 5000 remuestreos con diferente tamaño de muestra (número de campos microscópicos). 31
- Figura 5. Coeficiente de variación (CV) y su desviación estándar de características de vasos del xilema de tres genotipos segregantes de 'Colín V-33' de 5000 remuestreos con diferente tamaño de muestra (campos microscópicos). 32
- Figura 6. Cortes transversales de los brotes, mostrando proporción del xilema, de los genotipos contrastantes en altura de árboles de aguacatero (*Persea americana* Mill) segregantes de 'Colín V-33'. A y B: altura de árbol de 1.79 m; C y D: altura de árbol de 3.99 m; E y F = altura de árbol de 5.75 m. Observados a 100X. Escala, reducción del 40% de la original. 33

Artículo 2. RELACIÓN ENTRE ALTURA Y CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS, MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE 39 SEGREGANTES 'Colín V-33'

- Figura 1. Representación gráfica de las variables discriminantes de cuatro grupos propuestos de acuerdo altura de 39 árboles de aguacatero segregantes de 'Colín V-33'. Altura de árbol de: Grupo 1 (menores de 2.49 m), Grupo 2 (de 2.50 a 3.99 m), Grupo 3 (4.0 a 4.49 m) y Grupo 4 (mayores de 4.50 m)..... 54
- Figura 2 Representación gráfica de las variables discriminantes de cuatro grupos propuestos de acuerdo a altura de 39 árboles de aguacatero segregantes de 'Colín V-33'. Altura de árbol de: Grupo 1 (menores de 2.49 m), Grupo 2 (de 2.50 a 3.99 m), Grupo 3 (4.0 a 4.49 m) y Grupo 4 (mayores de 4.50 m). 55

Figura 3. Medias significativas y error estándar de características que permitieron la caracterización de 4 grupos de porte de genotipos de aguacatero segregantes de 'Colín V-33'. Medias con la misma letra dentro de cada gráfica no difieren significativamente (Tukey $P = 0.05$). Altura de grupos: Grupo 1 (menores de 2.49 m), Grupo 2 (de 2.50 a 3.99 m), Grupo 3 (4.0 a 4.49 m) y Grupo 4 (mayores de 4.50 m).	57
Figura 4. Cortes transversales representando a los grupos propuestos de acuerdo a altura de brotes anuales: A: Grupo 1; B: Grupo 2; C. Grupo 3; D: Grupo 4. de árboles de aguacatero segregantes de 'Colín V-33'. M: Médula, X: Xilema, F: Floema, E: epidermis. Observados a 40X. Escala, reducción del 50 % de la original.	61

ÍNDICE DE CUADROS

Artículo 2. RELACIÓN ENTRE ALTURA Y CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS, MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE 39 SEGREGANTES 'Colín V-33'

	<i>Pág.</i>
Cuadro 1. Vectores propios de tres Componentes Principales (CP) por conjunto de características evaluadas: de hábito de crecimiento, de corte anatómico transversal de brote, vasos del xilema, y de estomas, intercambio de gases.....	51
Cuadro 2. Valores propios de funciones discriminantes de cuatro grupos de aguacatero, de 39 segregantes del cv. Colín V-33, clasificados de acuerdo a su altura.....	52
Cuadro 3. Estructura canónica de variables discriminantes definidas a partir de 4 grupos de genotipos de aguacatero segregantes de 'Colín V-33', contrastantes en altura.....	53
Cuadro 4. Coordenadas en el espacio bidimensional para cada grupo propuesto de segregantes de aguacatero 'Colín V-33'.....	60
Cuadro 5. Distancia estadística generalizada entre centroides de grupos de segregantes de aguacatero 'Colín V-33'.....	60
Cuadro 6. Proporción de genotipos en 4 grupos de aguacatero segregantes de 'Colín V-33' contrastantes en altura. Clasificación de acuerdo con el análisis discriminante.	60

RELACIÓN ENTRE ALTURA Y CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS, MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE 39 SEGREGANTES DE AGUACATERO 'COLÍN V-33'

RESUMEN GENERAL

Con el propósito de identificar posibles indicadores de selección hacia enanismo en aguacate (*Persea americana* Mill.), fueron estudiados 39 árboles segregantes de polinización libre de 'Colín V-33' con altura contrastante, de nueve años de edad, establecidos en Coatepec Harinas, Estado de México. Para ello, entre 2001-2004 fueron registradas algunas características de: hábito de crecimiento, tejidos, brotes anuales (principalmente xilema), estomas y de intercambio gaseoso. En una primera fase de la investigación fueron seleccionados, a partir de 39 árboles tres individuos de diferente altura, con el propósito de determinar el tamaño de muestra para características de cortes anatómicos (frecuencia, área, perímetro y diámetro de los vasos de xilema), mediante una técnica de remuestreo, a partir de la cual se dedujo que el número adecuado de campos de microscopio (aproximadamente de 1 mm^2) para conformar la muestra fue de 20 en los cuatro caracteres. En la segunda fase de la investigación se consideró el total de individuos bajo estudio, clasificados en cuatro grupos de acuerdo con su altura (1: menor que 2.49 m; 2: de 2.50 a 2.99 m; 3: de 3.0 a 4.99 m; y 4: mayor que 5 m), a partir de análisis preliminares de componentes principales y de correlación, de 70 caracteres registrados por genotipo, fueron elegidos 30 para caracterizarlos mediante un análisis multivariado discriminante, al utilizar los grupos descritos como variables categóricas. Las variables responsables de la discriminación de árboles de porte bajo fueron: mayor espesor de floema y diámetro basal en brote anual, así como proporción de corteza en el tronco. Los caracteres: concentración de CO_2 subestomático, índice de alargamiento de vasos del xilema, temperatura de la hoja y espesor de epidermis, participaron en la discriminación de grupos aunque no tuvieron relación directa con la altura del árbol en forma individual.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., indicadores de selección, porte bajo, anatomía, CO_2 subestomático, remuestreo, análisis discriminante.

**RELATIONSHIPS BETWEEN HEIGHT AND ANATOMICAL,
MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGIC CHARACTERISTIC OF 39
AVOCADO SEEDLINGS OF 'COLÍN V-33'**

GENERAL ABSTRACT

With the aim of identifying selection indicators toward dwarfism in avocado (*Persea americana* Mill.), 39 nine year-old 'Colín V-33' trees, which were the result of open pollination and contrasted in height, were studied in an orchard in Coatepec Harinas, State of Mexico, Mexico. In order to do this study, characteristics of growth habits, annual shoot tissues (mainly xylem), leaf stomata and gas exchange in leaves were registered between 2001 and 2004. In the first phase of this research, three individual trees of different height were selected from a group of 39 trees to determine the sample size for characteristics of anatomical features (frequency, area, perimeter and diameter of the xylem vessels), by means of bootstrap. From this information, the appropriate number of microscope fields (approximately 1 mm²) was deduced in order to determine a sample size of 20. In the second phase of this research, the total number of individuals under study was taken into consideration and was classified into four groups according to their height: 1.) smaller than 2.49 m; 2.) 2.50 to 2.99 m; 3.) 3.0 to 4.99 m; and 4.) bigger than 5 m. After doing a preliminary analysis of principal components and correlations, 30 characteristics out of 70 that were registered in each individual tree were chosen to characterize the groups by means of a multivariate discriminative analysis in which the groups described were used as categorical variables. The variables responsible for the discrimination of dwarf tree behavior were: larger phloem thickness in shoots, basal diameter in shoots, and bark proportion in the trunk. Although they did not have a direct relationship with the height of the tree in an individual way, the sub-stomatal CO₂ concentration, the elongation index of xylem vessels, and the temperature of leaf and epidermis thickness were the characteristics that determined the discrimination of groups.

Key words: *Persea americana* Mill., selection indicators, dwarf, xylem vessel anatomy, internal CO₂ concentration, re-sampling, discriminative analysis.

INTRODUCCIÓN GENERAL

A nivel mundial México es el primer productor, consumidor y exportador de aguacate, una forma de incrementar la producción es mediante el uso de cultivares, interinjertos o portainjertos que mantengan un porte de árbol bajo, lo cual permitiría un manejo intensivo de la huerta.

El aguacate es un árbol vigoroso. El gran tamaño que alcanza la mayoría de los cultivares comerciales causa excesiva expansión por el huerto, y aunque es posible encontrar algunos cultivares enanos, estos no han logrado ser comercialmente exitosos ('Wurtz', 'Colín V-33', 'Gwen'), aunque podrían algunos ser usados como portainjertos (Ben-Ya'acov y Michelson, 1995); o bien como el caso de 'Colín V-33' como interinjerto entre el patrón y el injerto final (Barrientos *et al.*, 1987). El uso de esta variedad como portainjerto de 'Hass' ha logrado la reducción de la altura y diámetro de la copa del árbol hasta en un 27% (Barrientos-Villaseñor *et al.*, 1999).

Los estudios que han intentado determinar características ya sea anatómicas, fenológicas o morfológicas asociadas con el porte de árbol, no han sido del todo exitosas, ya que no se ha logrado identificar caracteres que pudieran servir para una selección temprana de genotipos enanizantes en forma relativamente confiable. Algunos caracteres que han mostrado comportamiento asociado al porte de árbol son la densidad estomática de las hojas (Barrientos y Sánchez, 1987) y la proporción de área transversal de corteza del tronco en aguacatero (López y Barrientos, 1987).

Uno de los mecanismos más importantes dentro de la fisiología de la planta es la regulación del intercambio de gases con la atmósfera. Esta regulación, se lleva a cabo a través de estructuras especializadas, que se encuentran en la epidermis de las plantas, llamadas estomas. Los estomas están formados por dos células especializadas, las cuales tienen la capacidad de abrir y cerrar para permitir por un lado la fijación de bióxido de carbono para el proceso de fotosíntesis y por otro permitir la salida de vapor de agua para la transpiración (Barrientos-Priego *et al.*, 2003).

Algunos estudios (López y Barrientos, 1987; Reyes-Santamaría *et al.*, 2002) han provocado la inquietud de relacionar características anatómicas con el tamaño del árbol, con la finalidad de proponer indicadores de enanismo en aguacate. Sin embargo solo existe un estudio sobre la anatomía general del aguacatero (Heismann, 1939).

La naturaleza y arreglo de los tejidos primarios en tallos y brotes del aguacate (Heismann, 1939) es similar a la mayoría de las angiospermas, estos están cubiertos externamente por una epidermis, presentan una médula central rodeada sucesivamente por un anillo de haces vasculares, y una corteza. La médula es generalmente parenquimatosa, su función más común es como tejido de almacén de alimentos. Con frecuencia pierde toda su función y muere o degenera, especialmente en las regiones de los entrenudos, conforme la planta madura. La parte hacia fuera del cambium se denomina corteza desde el punto de vista hortícola, en etapa joven ésta incluye la epidermis, corteza y los floemas primario y secundario. En tallos viejos, estos tejidos por lo general se han perdido y la corteza consta principalmente de floema secundario más otros tejidos que se han formado en él (Cronquist, 1971).

El xilema conduce agua y sales inorgánicas por toda la planta y proporciona también soporte mecánico. Puede contener tres tipos de células alargadas: traqueidas, elementos de vaso y fibras. En la madurez, cuando desempeñan funciones de transporte, todas estas células están muertas. Las traqueidas son células alargadas con paredes gruesas caracterizadas por la presencia de zonas delgadas muy bien definidas llamadas punteaduras. Los elementos de vaso son traqueidas especializadas cuyas paredes terminales están atravesadas por uno o varios poros; una serie vertical de elementos vasculares que forman un tubo continuo se llama vaso. Las fibras son traqueidas especializadas de pared muy engrosada que apenas realizan funciones de transporte y que sirven para aumentar la resistencia mecánica del xilema (Esau, 1985). El floema tejido complejo, que funciona en la conducción de alimentos y otras sustancias disueltas, incluyendo minerales, está comúnmente asociado con el xilema en los órganos de las plantas y juntos constituyen el sistema vascular de una planta. Consta de dos tipos de células conductoras: tubos cribosos, que son los elementos más característicos, y las células acompañantes. Los tubos cribosos son células alargadas con las paredes de los extremos perforadas por numerosos poros diminutos; a través de ellos pueden pasar las sustancias disueltas. Estos elementos están conectados en series verticales. Las células están vivas cuando llegan a la madurez, pero los núcleos se desintegran antes de iniciar la función conductora. Las células acompañantes son más pequeñas, conservan los núcleos durante la madurez y también están vivas; se forman junto a los tubos cribosos y se cree que controlan el proceso de conducción (Esau, 1985).

La epidermis es el tejido más exterior algunas células corticales parenquimatosas debajo de la epidermis, típicamente se hacen meristemáticas y empiezan a funcionar como felógeno, pero en diferentes especies éste puede originarse en cualquiera de los tejidos externos al cambium. En brotes leñosos, la epidermis es reemplazada con frecuencia por otros tejidos. El grosor de la capa epidérmica es típicamente de una sola célula, algunas veces, puede tener, dos o mas tipos de células. La epidermis de los tallos y de las hojas es principalmente un tejido de protección por lo general provee algo de refuerzo mecánico e inhibe la evaporación del agua de los tejidos internos (Cronquist, 1971). En aguacate se observó que cuando la epidermis detiene sus funciones, se forma una nueva capa de peridermis y posteriormente sucede la formación del corcho (Heismann, 1939).

Se han realizado pocos trabajos referentes a la anatomía de aguacatero, sin embargo Gómez *et al.* (1973) halló diferencias en tallos de diferentes razas de aguacatero, principalmente en el espesor de paquetes de fibras del floema. Hasta el momento se conoce que el diámetro y frecuencia de vasos del xilema presenta diferencias anatómicas entre algunas razas y cultivares de aguacatero, y es una característica genéticamente fijada, sin embargo se ha observado que presenta alta variabilidad, por lo que para caracterizarlo se ha necesitado un alto número de observaciones (Reyes-Santamaría *et al.*, 2002). Para solucionar este problema, se pueden utilizar métodos estadísticos de remuestreo (“bootstrap”) que permiten determinar un tamaño de muestra adecuado de forma sencilla, y mediante la caracterización se puede deducir un conjunto de variables que describan a individuos de porte bajo, estas características pueden ser de tipo morfológico, anatómico o fisiológico.

OBJETIVOS

La investigación tuvo dos fases por lo que se plantearon los siguientes objetivos:

Fase 1.

- Determinar un tamaño de muestra que permita mayor precisión en la estimación de parámetros poblacionales, para las características del xilema en brotes anuales, y que sea práctica y económica su obtención.

Fase 2.

- Relacionar la altura de árboles, con algunas características anatómicas, morfológicas y fisiológicas, para identificar caracteres útiles como indicadores de selección hacia porte bajo, en 39 árboles segregantes de 'Colín-V33' de nueve años de edad con altura contrastante.

DETERMINACIÓN DE TAMAÑO DE MUESTRA MEDIANTE REMUESTREO DE CARACTERÍSTICAS DEL XILEMA DE BROTE DE AGUACATERO

E. Meza-Castillo¹; A. F. Barrientos Priego²; J. E. Rodríguez-Pérez²; M. I. Reyes-Santamaría³.

¹Parte de la tesis del primer autor, Programa de Maestría en Ciencias en Horticultura, Instituto de Horticultura, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 56230.

² Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 56230.

³ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias. Tulancingo, Hidalgo.

RESUMEN

Se determinó el tamaño óptimo de muestra con el propósito de estimar de manera precisa, práctica y económica parámetros poblacionales, de características de xilema en brotes anuales por medio del estudio de tres árboles de aguacatero (*Persea americana* Mill) con altura contrastante. Se utilizó la técnica de remuestreo (no paramétrico “bootstrap”) a partir de 60 observaciones de: frecuencia, área, perímetro y diámetro de los vasos del xilema, provenientes de tres árboles derivados de una población segregante de ‘Colín V-33’ de nueve años de edad, establecida en Coatepec Harinas, Estado de México. Para utilizar una prueba que reflejara la magnitud de las diferencias entre los genotipos (tratamientos), fueron estimados el promedio y desviación estándar de la media, coeficiente de variación, cuadrado medio de genotipos, cuadrado medio del error y F calculada para un diseño completamente al azar mediante 5000 remuestreos con reemplazo, con tamaños de muestra de 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40 y 50 repeticiones de campos de microscopio, observados a 100 X (aproximadamente 1 mm²). Los resultados sugieren que en términos generales, a partir de un tamaño de muestra de 15, las desviaciones en los cinco estadísticos es mínima, razón por la cual se propuso un tamaño de muestra de 20 campos microscópicos.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., “bootstrap”, vasos del xilema, análisis de varianza.

SAMPLE SIZE DETERMINATION BY BOOTSTRAP OF CHARACTERISTIC OF AVOCADO SHOOT XYLEM

E. Meza-Castillo¹; A. F. Barrientos-Priego²; J. E. Rodríguez-Pérez²; M. I. Reyes-Santamaría³.

¹Parte de la tesis del primer autor, Programa de Maestría en Ciencias en Horticultura, Instituto de Horticultura; Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 56230.

² Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 56230.

³ Universidad Autónoma de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo.

ABSTRACT

With the aim of determining a sample size that could allow a higher precision in the estimate of the population parameters, and on the other hand that will be practical and economic, in the evaluation of characteristic of xylem in annual shoots of avocado (*Persea americana* Mill.) trees. For this, they were used re-sampling techniques (not parametric bootstrap), starting from 60 observations of: frequency, area, perimeter and diameter of xylem vessels, from three trees of contrasting height of a seedling population of 'Colín V-33' of nine year-old, established in Coatepec Harinas, State of Mexico. To use a test of importance that reflected the magnitude of the differences among the genotypes, they were estimated the average and standard deviation of the mean, variation coefficient, mean square of genotypes, mean square of the error and calculated *F* for totally random experimental design by means of 5000 bootstrap, with sizes of sample of 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40 and 50 microscope fields (approximately 1 mm²). The results suggest that in general terms, starting from a size of sample of 15, the deviations in the five statistical estimates is minimum, reason for which was selected a size of sample of 20 microscopic fields.

Key words: *Persea americana* Mill., re-sampling, xylem vessels, analysis of variance

DETERMINACIÓN DE TAMAÑO DE MUESTRA MEDIANTE REMUESTREO DE CARACTERÍSTICAS DEL XILEMA DE BROTE DE AGUACATERO

INTRODUCCIÓN

Las tendencias filogenéticas en los orígenes y especializaciones de los vasos del xilema son evidentes y fiables que estos merecen la consideración seria en varias líneas de investigación, entre ellas, además de la botánica, la morfología comparativa, la selección, el desarrollo y la fisiología (Bailey, 1954).

El diámetro de los vasos del xilema determina la eficiencia en la conducción del agua en las plantas, tienen diámetros de 40 a 80 μm , o mucho más, hasta 500 μm (Salisbury y Ross, 1991), por lo que son altamente variables en sus dimensiones. En aguacate (*Persea americana* Mill.) existe una alta variación entre genotipos ya que reportan diámetros de 33 a 58 μm en plantas de dos años y en árboles, de diez años, de 95 a 115 μm (Reyes-Santamaría *et al.*, 2002).

A si mismo, se ha detectado alta variabilidad, incluso dentro del mismo individuo, por lo que su estudio ha requerido de un alto número de observaciones, por ejemplo, tal como Reyes-Santamaría *et al.* (2002) utilizaron 75 campos microscópicos por genotipo para estimar la media del diámetro de vasos del xilema, esto hace exhaustivo el estudio de esta estructura. En otros trabajos para evaluar el diámetro y densidad de vasos del xilema se midieron 120 campos microscópicos (Laskowski y Bautista, 1999); en raíces adventicias provenientes de seis estacas leñosas en plantas de *Malpighia emarginata* DC; mientras que para medir el diámetro de los vasos del xilema,

de nueve árboles en *Laguncularia racemosa*, fueron observados 8 campos microscópicos por árbol, para lo cual se utilizaron dos brotes de diferente diámetro (Ewers *et al.*, 2004). Por tal motivo es necesario determinar tamaños de muestra adecuados que permitan una descripción de los vasos del xilema en genotipos de forma confiable, con la menor inversión de trabajo posible y que resulte ser económico.

Los parámetros de poblaciones son descritos por medio de estimadores (Setphen, 1999) estos últimos son reconocidos como variables aleatorias y, por lo tanto están sometidos a fluctuaciones de muestreo, lo cual conduce a la distribución muestral de un estadístico. Debido a la variabilidad que presentan los estimadores es una preocupación obtener una medida de la exactitud con la que las estimaciones describen al parámetro, que a su vez, depende del cálculo del error típico del estadístico. Por otra parte la estadística paramétrica, al basarse en supuestos estrictos sobre las distribuciones teóricas limitan la facilidad de análisis en casos donde, las poblaciones, muestras, y estimadores no son acordes a estas condiciones o se desconoce esta situación (Diaconis y Efron, 1983; Peterson, 1991).

Los intervalos de confianza y las pruebas de hipótesis, requieren supuestos distribucionales que normalmente se emplea con un tamaño de muestra grande, sin embargo, si el tamaño de la muestra es pequeño, por lo regular no satisface estas condiciones sobre los parámetros de las poblaciones (Diaconis y Efron, 1983). Ante este problema se han desarrollado y utilizado técnicas de remuestreo al emplear un gran número de cálculos repetitivos para estimar la forma de la distribución muestral del estadístico, destinados a obtener medidas sobre la precisión de las estimaciones

(Diaconis y Efron, 1983; Setphen, 1999). La idea básica de la técnica conocida como “bootstrap” es tratar a una muestra como una población (pseudopoblación); así de una muestra original se generan más muestras (remuestreos) un alto número de veces. Al considerar que el Teorema Central del Límite establece que la media de cualquier distribución, con un alto número de muestras se distribuyen normalmente; por lo anterior no se requiere que la variable original tengan una distribución normal (Hesterberg *et al.*, 2003), si se desea estimar a la media poblacional.

Con este método es posible: valorar el error muestral de un estadístico calculado a partir de remuestras, en este caso se requieren entre 50 y 200 remuestras (Efron y Tibshirani 1986, 1993) aunque pueden considerarse suficientes 100 (Manly-Bryan, 1998). Sin embargo, para construir un intervalo de confianza para algún parámetro estimado se requiere de al menos 1000 remuestras (Efron y Tibshirani 1986, 1993; Hesterberg *et al.*, 2003).

La ventaja principal de este método es que ante el desconocimiento total sobre la distribución probabilística de los estimadores, o bien sobre cualquier variable aleatoria de la población, es posible, mediante remuestreos sucesivos, partiendo de una muestra específica de la población, obtener aproximaciones a esta. Lo anterior evitaría el basarse en supuestos, poco realistas sobre los estimadores de la población, situación común ante tamaños de muestra pequeños. También puede usarse la misma técnica para que a partir de un tamaño de muestra grande se determine un tamaño de muestra pequeño (Hesterberg *et al.*, 2003).

Los pasos básicos en la estimación “bootstrap” son los siguientes (Efron, 1979; Efron y Tibshirani, 1993):

- 1.- Construir una distribución de probabilidad empírica, $\hat{F}(x)$, a partir de la muestra, asignando una probabilidad de $1/n$ a cada punto, $x_1, x_2, \dots, x_n$. Esta es la función de distribución empírica (FDE) de x , la cual es el estimador no-paramétrico de la función de distribución de la población, $F(x)$. El “bootstrap” pueden trabajar bien para tamaños de la muestra original grandes, pero no puede ser fiable para: 5, 10 o incluso 20 observaciones.
- 2.- A partir de la FDE, $\hat{F}(x)$, se extrae una muestra aleatoria simple de tamaño n con remplazo. Esta es una muestra “bootstrap” o remuestra (B).
- 3.- Se calcula el estadístico de interés, $\hat{\theta}$, a partir de esa remuestra, dando $\hat{\theta}_b$.
- 4.- Se repiten los pasos 2 y 3 B veces, donde B es un número grande. La magnitud de B en la práctica depende de las pruebas que se van a aplicar a los datos.
- 5.- Construir una distribución de probabilidad a partir de los B $\hat{\theta}_b$ asignando una probabilidad de $1/B$ a cada punto, $\hat{\theta}_{*1}, \hat{\theta}_{*2}, \dots, \hat{\theta}_{*B}$. Esta distribución es la estimación “bootstrap” de la distribución muestral de $\hat{\theta}$, $\hat{F}(\hat{\theta})$. Esta distribución puede usarse para hacer inferencias sobre θ . El estimador bootstrap del parámetro θ se define como el promedio de los $\hat{\theta}_b$.

Por otra parte si lo que se pretende es reflejar la diferencia entre dos genotipos, con datos obtenidos mediante remuestreo, se puede registrar simplemente la diferencia entre dos medias (Efron y Tibshirani, 1993). Sin embargo, si lo que se busca es utilizar

una prueba estadística que refleje la magnitud de las diferencias entre genotipos, se puede utilizar la prueba F , la cual se utiliza principalmente para probar la igualdad entre dos varianzas, dicha prueba generalmente se utiliza para probar la igualdad entre tres o más medias y se denominan análisis de varianza (Chao, 1994; Infante y Zárate, 1990), este descansa fundamentalmente en el estudio de la variabilidad de las observaciones y toma en consideración que la población objeto de estudio teóricamente es diferente.

El objetivo del estudio fue determinar un tamaño de muestra con respecto a características de vasos de xilema, que permita una mayor precisión en la estimación de los parámetros poblacionales, que sea práctica y económica su obtención. Lo cual podrá ser empleado en el estudio confiable de estas estructuras con diversos objetivos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Para realizar la presente investigación fueron seleccionados tres genotipos, que contrastaron por su altura, de una población de 39 árboles segregantes de 'Colín V-33', de nueve años de edad derivados de polinización abierta y establecidos en el Campo Experimental "La Cruz" en la Parcela "El Filtro" pertenecientes a la Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX S. C., ubicado en Coatepec Harinas, Estado de México, localizado a 18° 55' de latitud norte y 99° 46' de longitud oeste a 2,240 msnm (García, 1988). Los genotipos seleccionados están identificados con los números 60, 63 y 88 de la parcela en cuestión.

Procesado de muestras

Se colectaron tres brotes de crecimiento del año en cada genotipo y se fijaron en FAA (formaldehído-alcohol-agua) para su estudio histológico. Posteriormente, la sección media del brote se procesó en un cambiador automático de tejidos (Tissuematon Fisher) con cellosolve y xileno, después se transfirieron a parafina (55 °C) permaneciendo 72 horas, dentro de la estufa. Se realizaron 10 cortes transversales de 10 µm de grosor, en la parte media de cada brote, con un micrótopo rotatorio (American Optical modelo 820), los cuales se montaron con adhesivo Haup y formol al 10 % y su tinción fue con safranina y verde fijo (Sass, 1968).

Caracteres Evaluados

Procedimiento

La observación de los vasos del xilema se realizó con microscopio óptico (Leica, Alemania), utilizando el objetivo 10X y el ocular de 10X, sobre el tubo ocular se monto una cámara digital (Moticam 480) conectada en el puerto USB de una computadora, para obtener microfotografías (formato TIF) con el programa de cómputo Motic Images Plus 2001 Versión 2.0; el área de trabajo se calculó con un micrómetro objeto al que también se fotografio. De cada brote se seleccionaron cinco cortes al azar, de diez posibles, en estos se determinaron campos de trabajo cada 45° en el corte, de acuerdo con Sperry y Saliendra (1994). De esta forma fueron evaluados 60 campos (microfotografías) por genotipo.

En los cortes transversales se midieron en los vasos del xilema las siguientes variables: frecuencia, área, perímetro y longitud del eje mayor, obtenidos mediante el analizador de imágenes Image Tool V. 3.0. (Wilcox *et al.*, 2002), previamente fue necesario procesar las microfotografías con el programa Photo Impact 3.01 Special Edition.

Diseño Experimental

La unidad experimental consistió de una microfotografía de xilema, de campo de microscopio (100 X) de aproximadamente 1 mm², sobre un corte transversal de brote del año. El diseño experimental considerado fue completamente al azar; en tanto el número de repeticiones (tamaño de muestra) fue variable: 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40 y 50.

Análisis Estadísticos.

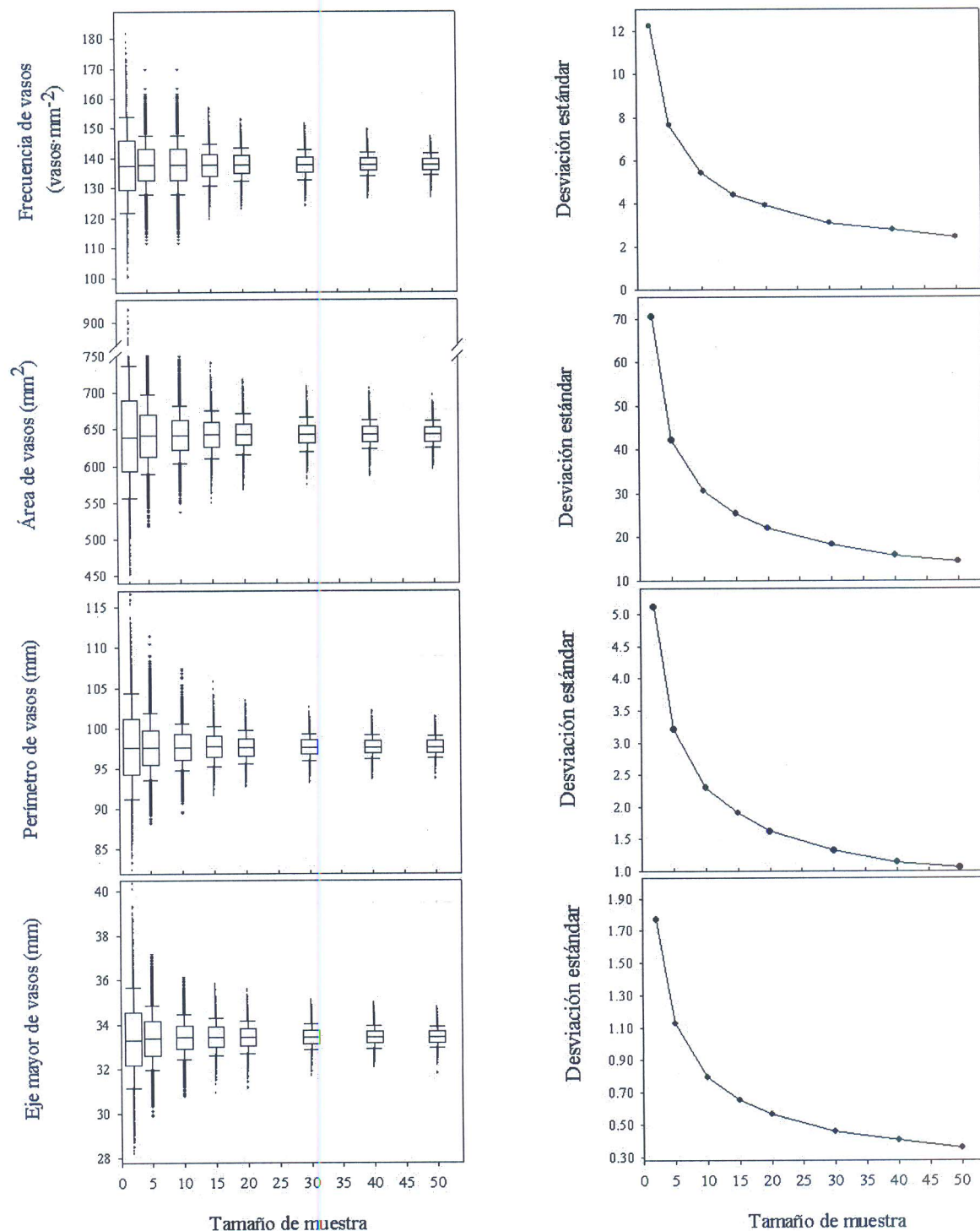
Con el paquete estadístico SAS, versión 8.0, y con el empleo de los módulos IML y STAT, se realizó un algoritmo para efectuar 5000 remuestreos (“bootstrap”) para realizar 5000 análisis de varianza correspondientes. Así, a partir de la muestra de 60 repeticiones (“seudopoblación”), se generaron 5000 remuestras aleatorias con reemplazo, para cada uno de los tamaños de muestra: 2, 5, 10, 15, 20, 30, 40 y 50 repeticiones. Con los cuadrados medios de genotipos, del error, la F calculada, la media y el coeficiente de variación, se obtuvieron gráficas de caja, con el programa Sigma Plot 2000, versión 6.0.

RESULTADOS Y DISCUSION

Debido a que se desconoce la distribución probabilística de las variables respuesta y a que Reyes-Santamaría *et al.* (2002) encontraron que al utilizar 75 observaciones por árbol de caracteres de los vasos de xilema (diámetro y número), del cv. Colín V-33 no tuvieron distribución normal, Diaconis y Efron (1983); Hesterberg *et al.* (2003), señalan que con el método de remuestreo (“bootstrap”) y tomando en consideración los supuestos del Teorema Central del Límite al manejar un tamaño de muestra grande (5000 remuestras), la media muestral se distribuye con tendencia a la normal.

De acuerdo al comportamiento de las medias de cuatro caracteres con varios tamaños de muestra, se observó que a partir del tamaño de muestra 5 (campos microscópicos), el promedio de las medias es prácticamente constante, en tanto que las desviaciones estándar correspondientes disminuyen al aumentar el tamaño de muestra, es decir, la dispersión de datos disminuye de acuerdo con el Teorema Central del Límite. Es posible observar, que la disminución de la desviación estándar a partir del tamaño de muestra 10 (campos microscopicos) es poco apreciable.

Con respecto a los cuadrados medios del error del análisis de varianzas, indicadores de la precisión de un experimento, se observó nuevamente en los cuatro caracteres que en el tamaño de muestra de 10, la media de este estadístico se estabiliza y su desviación estándar disminuye a pesar de no tener una distribución normal, por que se trata de varianzas (Steel y Torrie, 1985).



Descripción: La línea en el centro de la caja indica la media para los 5000 remuestreos; los límites de la caja ($\square$) representan la dispersión del 25% de valores alrededor de la media general; el límite superior e inferior externos de la caja ($T \perp$) representan la dispersión del 75% de valores alrededor de la media; fuera de los límites mencionados (...) se ubica el resto de las observaciones.

Figura 1. Medias y desviación estándar de las medias de características de vasos del xilema de tres genotipos segregantes de 'Colín V-33' de 5000 remuestreos con diferente tamaño de muestra (número de campos microscópicos).

El cuadrado medio del error (CME) es la variación residual que se manifiesta en la variable respuesta, obtenida en las unidades experimentales (o repeticiones) de los tratamientos (es decir la variación, dentro de genotipos), aún después de que el experimentador ha intentado minimizar el efecto de los factores no-pertinentes que ha podido advertir. Si el error experimental es grande, puede impedir la detección de diferencias estadísticas entre tratamientos, aún cuando las medias de estos difieran numéricamente (Steel y Torrie, 1985). Si su valor es bajo, se tendrá más confianza de que las diferencias entre las medias de tratamientos, se pueden deber solo a estos y no a causas de acción aleatoria.

A diferencia del CME, el cuadrado medio de genotipos (CMG) presentó incrementos al aumentar el número de repeticiones. Esto es explicado debido a que en el caso del CME, también se incrementa los grados de libertad correspondientes; en tanto que en el CMG se incrementa la variabilidad al aumentar el número de repeticiones, manteniendo constante sus grados de libertad; en este caso, la desviación estándar también aumenta. Este estimador representa la varianza acumulada debido a genotipos (Infante y Zárate, 1990), lo cual es deseable ya que se requiere detectar la variabilidad entre ellos con fines de caracterización.

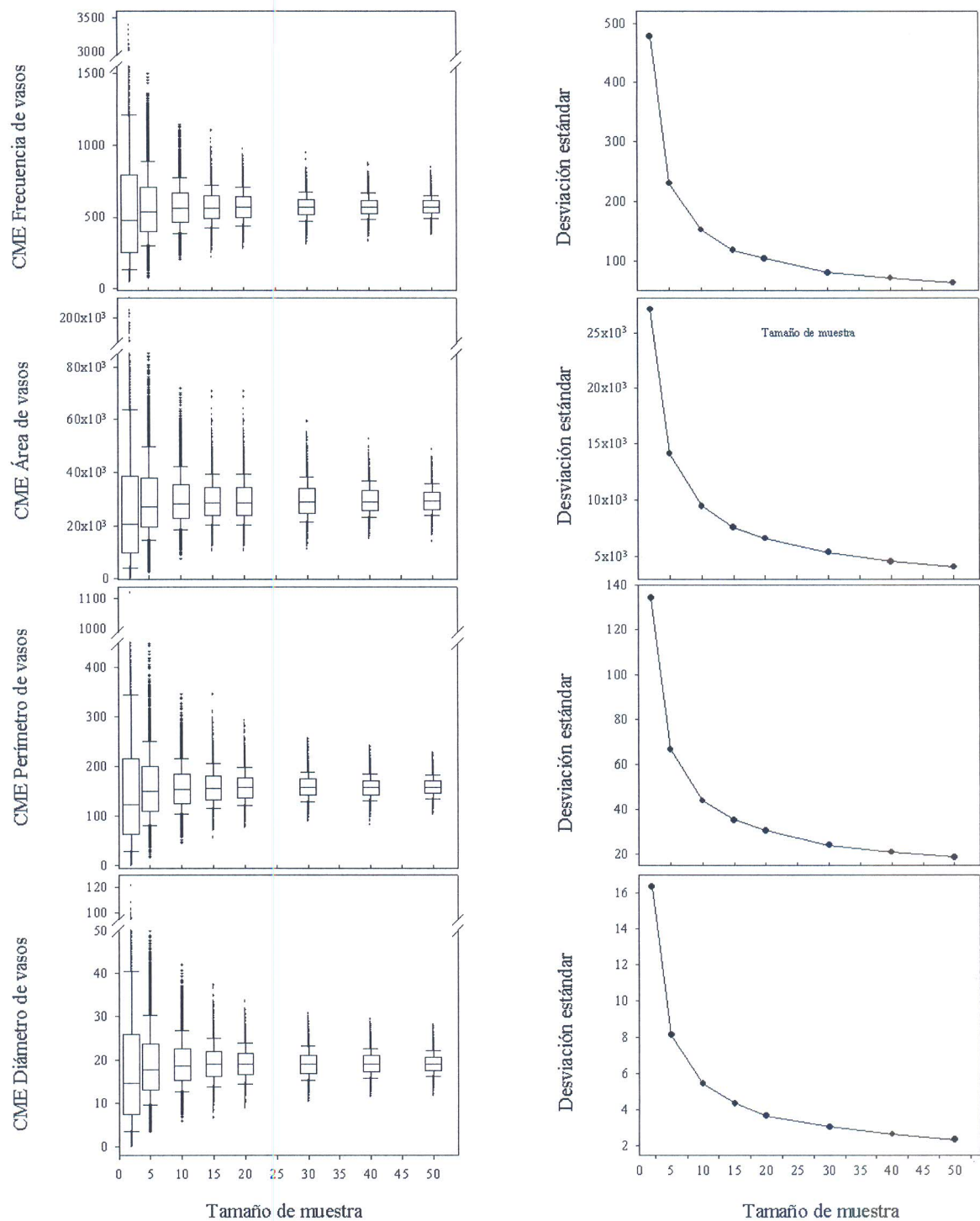
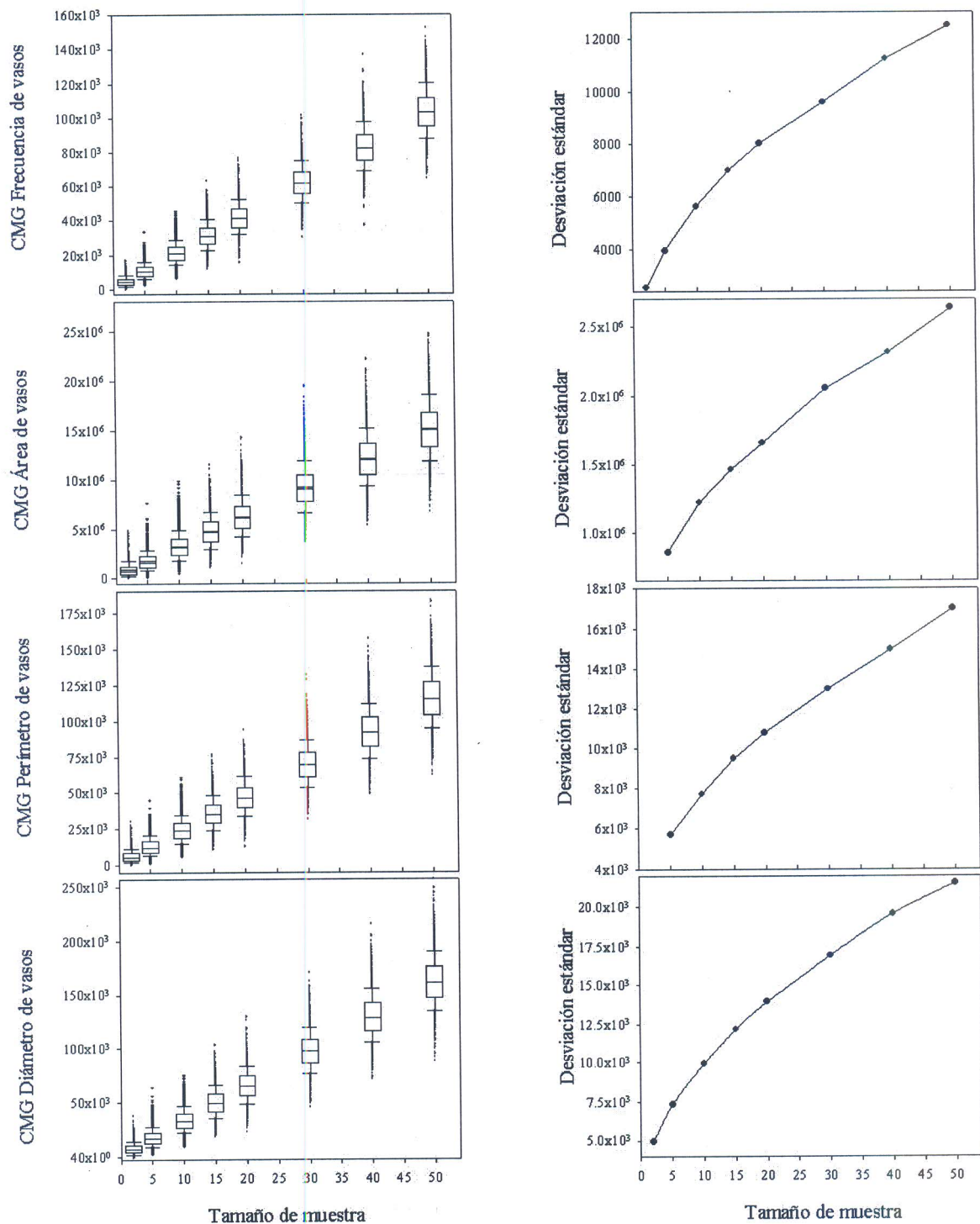


Figura 2. Cuadrado medio del error (CME) y su desviación estándar de características de vasos del xilema de tres genotipos segregantes de 'Colín V-33' de 5000 remuestreos con diferente tamaño de muestra (campos microscópicos)

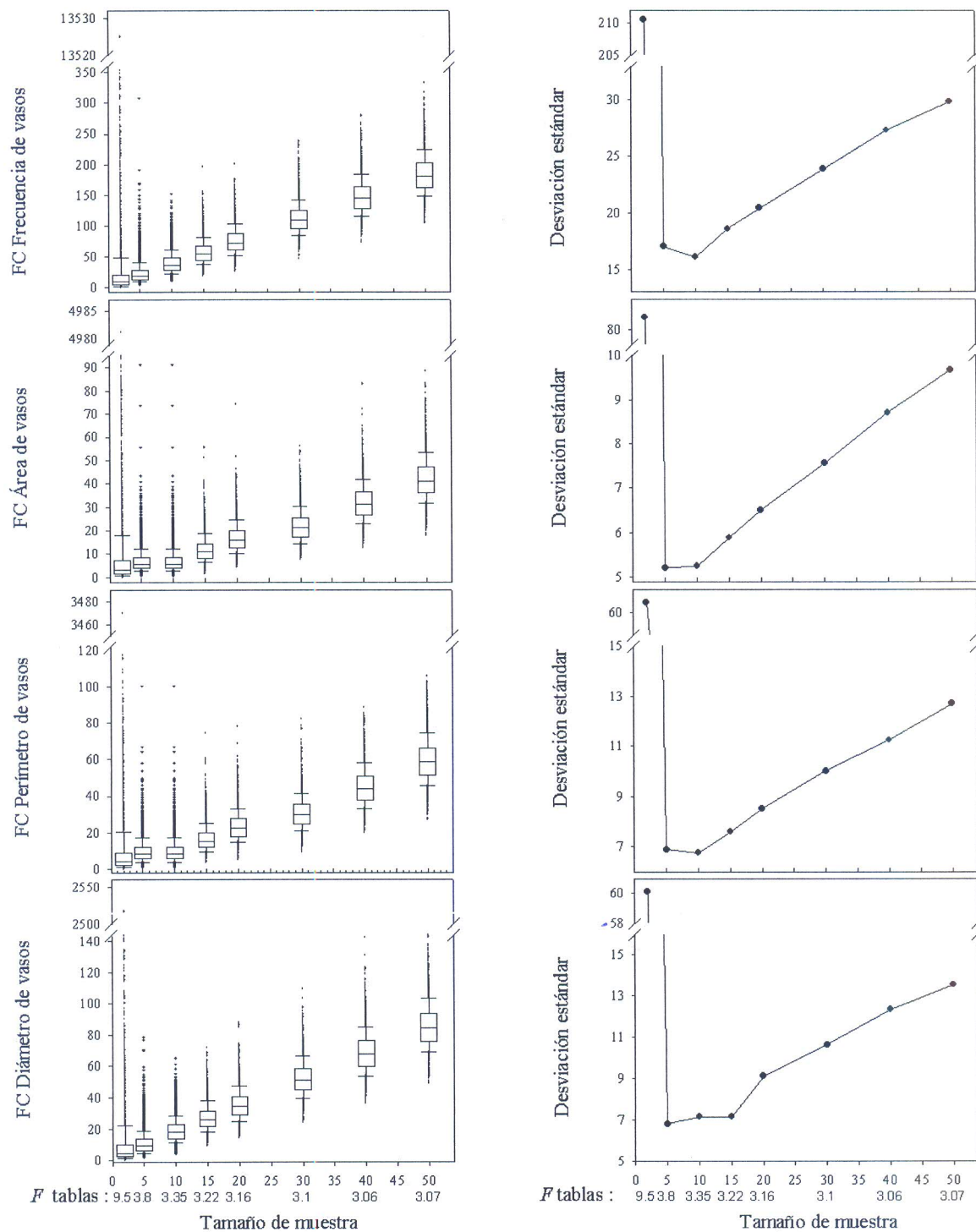


Descripción: La línea en el centro de la caja indica la media para los 5000 remuestreos; los límites de la caja ($\square$) representan la dispersión del 25% de valores alrededor de la media general; el límite superior e inferior externos de la caja ($T \perp$) representan la dispersión del 75% de valores alrededor de la media; fuera de los límites mencionados (...) se ubica el resto de las observaciones.

Figura 3. Cuadrado medio de genotipos (CMG) y su desviación estándar de características de los vasos del xilema de tres genotipos segregantes de 'Colín V-33' de 5000 remuestreos con diferente tamaño de muestra (número de campos microscópicos).

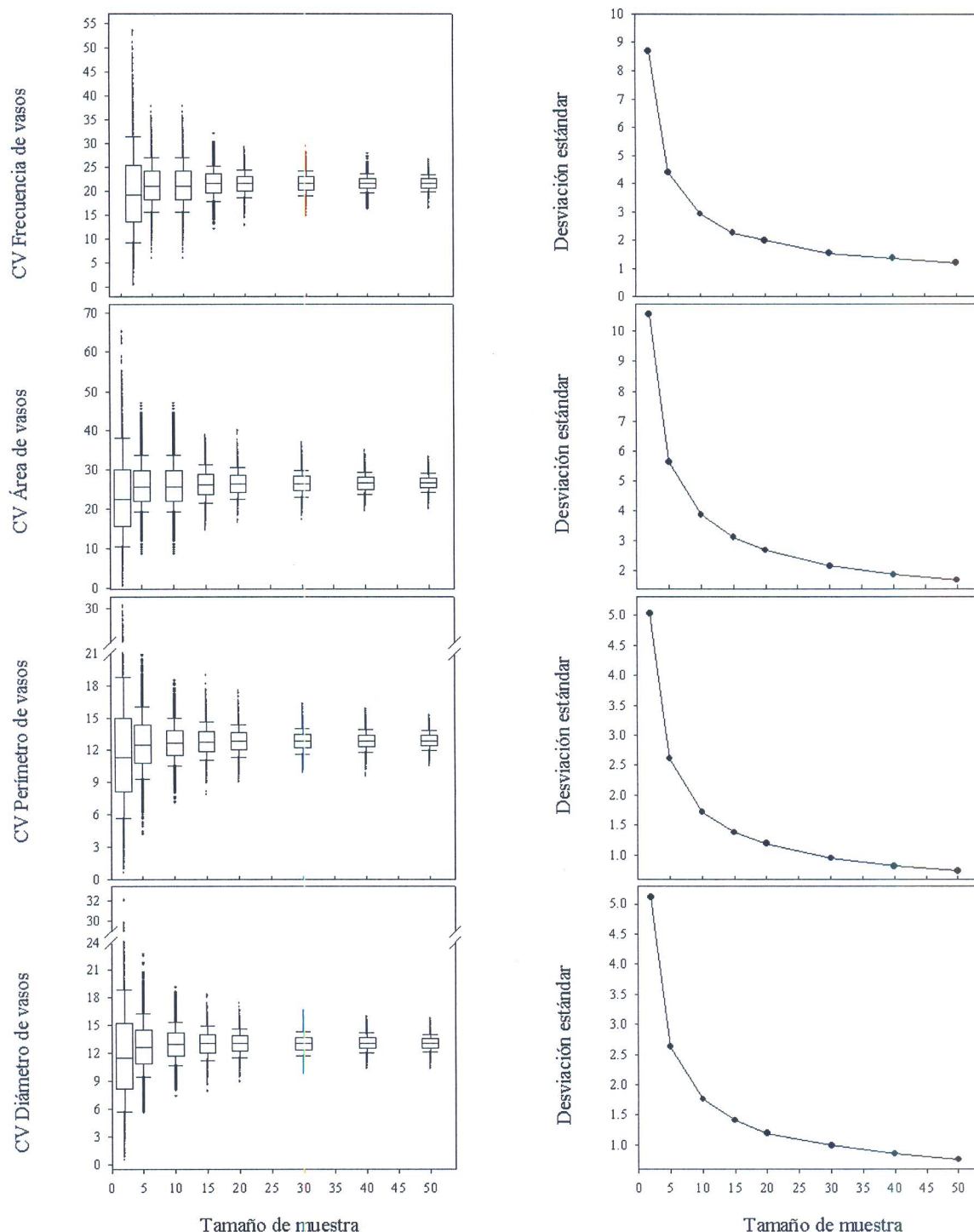
estándar, presentó incrementos al aumentar el tamaño de la muestra debido, principalmente al aumento del CMG, variabilidad atribuida a genotipos, debido a que el CME, permanece con una media constante (Figura 4). Con base en esto, con un mayor valor de F , habrá mayor posibilidad de rechazar H_0 (igualdad de efectos de genotipos) (Steel y Torrie, 1985; Chao, 1994; Infante y Zárate 1990). Al comparar las medias de la F calculada con los valores de F tabuladas ($\alpha = 0.05$, Figura 4) la hipótesis nula sobre la igualdad de efectos de genotipos fue rechazada en todos los tamaños de muestra; sin embargo, al observar la dispersión de las F calculadas, las posibilidades de no rechazar H_0 es mayor en tamaños de muestra pequeños. Si la hipótesis nula (H_0) fuera verdadera, se asume que todos los genotipos son iguales, en tanto que si el CMG es grande, se debe a que los genotipos difieren y como consecuencia la H_0 es falsa (Sprent, 1998).

El coeficiente de variación (CV) sirvió para comparar la dispersión de los valores de la variable respuesta con diferente tamaño de muestra (Figura 5). Este estimador confirma concretamente que es posible disminuir la variabilidad de las observaciones, ya que su valor promedio se estabiliza a partir del tamaño de muestra 15 para todos los caracteres estudiados. Por otra parte su desviación estándar disminuye conforme se incrementa el tamaño de muestra, hasta que a partir del tamaño 15 está es mínima, por lo tanto se recomienda utilizar con base en el CV y al resto de los estadísticos analizados un tamaño de muestra 20 para tener mayor seguridad en cuanto a la estabilización de la media y la disminución de la variación. Por otra parte los valores de este estimador son bajos, sin embargo, se ha señalado que para determinar si su magnitud es grande o pequeña, es preciso tener experiencia con datos similares (Steel y Torrie, 1985).



Descripción: La línea en el centro de la caja indica la media para los 5000 remuestreos; los límites de la caja ($\square$) representan la dispersión del 25% de valores alrededor de la media general; el límite superior e inferior externos de la caja ($T \perp$) representan la dispersión del 75% de valores alrededor de la media; fuera de los límites mencionados ($\cdots$) se ubica el resto de las observaciones. F de tablas con $\alpha = 0.05$.

Figura 4. F calculada ($FC = CMG/CME$) y su desviación estándar de características de vasos del xilema de tres genotipos segregantes de 'Colín V-33' de 5000 remuestreos con diferente tamaño de muestra (número de campos microscópicos).



Descripción: La línea en el centro de la caja indica la media para los 5000 remuestreos; los límites de la caja ($\square$) representan la dispersión del 25% de valores alrededor de la media general; el límite superior e inferior externos de la caja ($T \perp$) representan la dispersión del 75% de valores alrededor de la media; fuera de los límites mencionados (...) se ubica el resto de las observaciones. F de tablas con $\alpha = 0.05$.

Figura 5. Coeficiente de variación (CV) y su desviación estándar de características de vasos del xilema de tres genotipos segregantes de 'Colín V-33' de 5000 remuestreos con diferente tamaño de muestra (campos microscópicos).

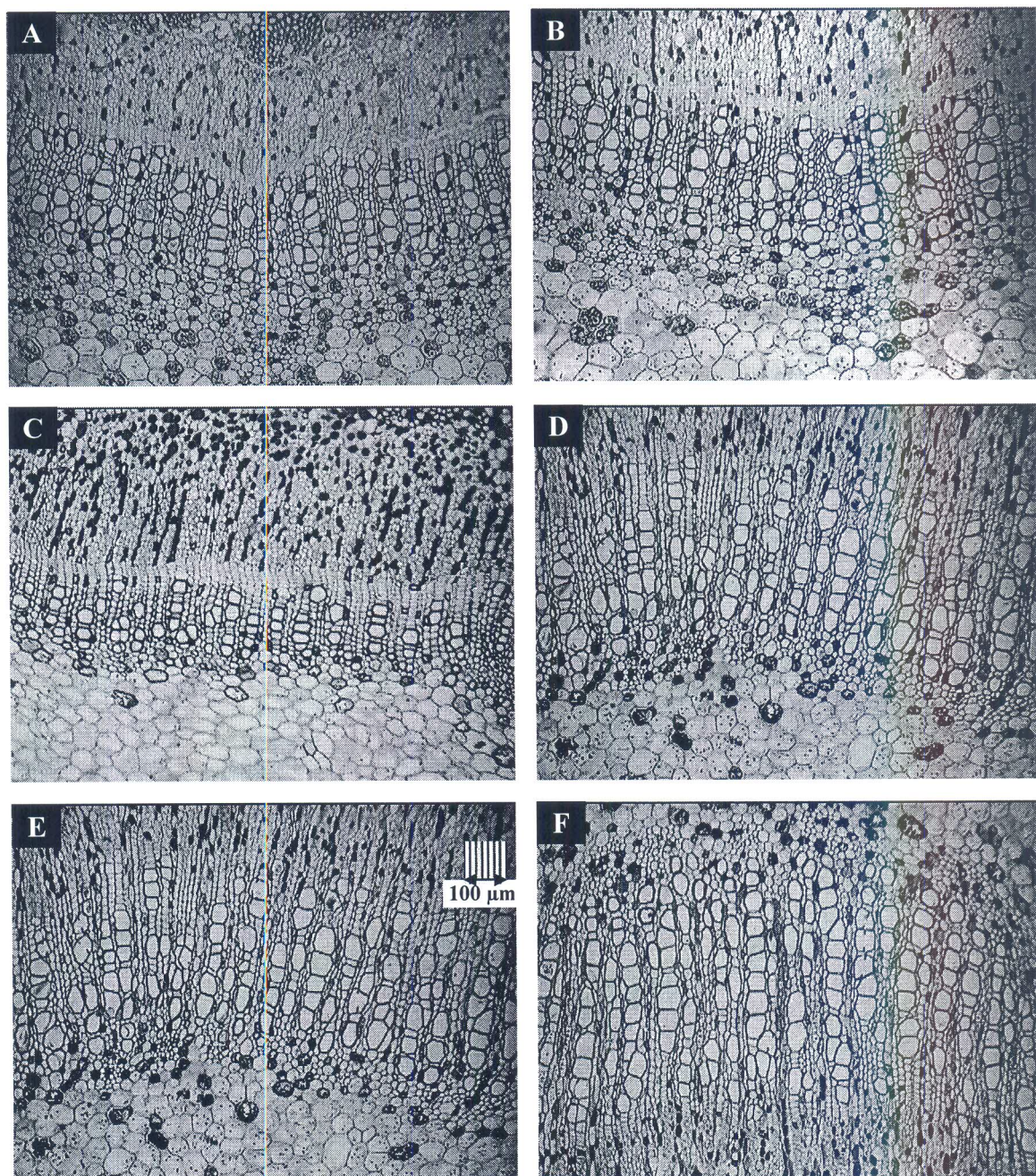


Figura 6. Cortes transversales de los brotes, mostrando proporción del xilema, de los genotipos contrastantes en altura de árboles de aguacatero (*Persea americana* Mill) segregantes de 'Colín V-33'. A y B: altura de árbol de 1.79 m; C y D: altura de árbol de 3.99 m; E y F = altura de árbol de 5.75 m. Observados a 100X. Escala, reducción del 40% de la original.

La variación de los estimadores obtenidos (medias y CME) de los vasos del xilema, se estabiliza a partir de un tamaño de muestra de 10 observaciones microscópicas, y evidenciado por el comportamiento de las correspondientes desviaciones estándar de tal forma que su variación es mínima con un tamaño de 15. Los resultados de la F de tablas corroboraron lo anterior ya que además de detectar la variabilidad entre genotipos, se asume que con 15 observaciones se obtiene una muestra, que refleja las propiedades de la población objeto de estudio por lo tanto se determinó que para tener mayor seguridad de representar características del xilema se deben evaluar 20 observaciones microscópicas por genotipo.

Mediante el método de remuestreo utilizado se obtuvo un tamaño de muestra el cual se espera que tenga la propiedad de presentar bajas posibilidades de no captar en forma adecuada la variabilidad causada por efectos de genotipos, situación lograda con base en 5000 remuesteos para cada tamaño de muestra considerado. Esto refleja una consistencia en las estimaciones de la media, a pesar de obtenerse a partir de una sola muestra original, que los métodos clásicos pueden no ser capaces de considerar. Por otra parte, en esta investigación fueron calculados estimadores propios del análisis de varianza, con fines de considerar una prueba donde se evaluaron más de dos genotipos adicionalmente, la posibilidad de obtener un CV, producto de estos análisis, corroboraron una adecuada selección del tamaño para caracteres que si requieren su estudio mediante el enfoque del análisis de varianza.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los análisis realizados, es posible determinar que para el estudio de caracteres de xilema en brotes anuales, la unidad experimental de 1mm^2 de campo de microscopio (100X) y para la realización de análisis de varianza que permita la diferenciación de genotipos, exige el uso de 15 repeticiones, aunque se recomienda usar 20 campos microscópicos.

LITERATURA CITADA

- Bailey, I. W. 1954. Contributions to plant anatomy. Waltham, Mass., U.S.A. Published by the Chronica Botanica Company. pp 127-138.
- Chao, L. L. 1994. Introducción a la Estadística. Compañía Editorial Continental, S. A. de C.V. D.F., México. 536 p.
- Diaconis, P. and Efron, B. 1983. Computer-intensive methods in statistics. Scientific American 248(5): 116-130.
- Efron, B. 1979. Bootstrap methods: Another look at the jackknife. The Annals of Statistics 7: 1-2

- Efron, B. and Tibshirani, R.J. 1986. Bootstrap methods for standard errors, confidence intervals, and other measures of statistical accuracy. *Statistical Science* 1(1): 54-77.
- Efron, B. and Tibshirani, R.J. 1993. *An Introduction to the Bootstrap*. Chapman & Hall. New York, USA. 436 p.
- Ewers, F. W., López-Portillo, J., Angeles, G. and Fisher, J. B. 2004. Hydraulic conductivity and embolism in the mangrove tree *Laguncularia racemosa*. *Tree Physiology* 24: 1057–1062.
- García, E. 1988. *Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen* 4ª edición. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F., México. 227 p.
- Hesterberg, T., Monaghan, S., Moore, S. D., Clipson, A., and Epstein, R. 2003. *Bootstrap Methods and Permutation Tests*. W. H. Freeman and Company. New York, USA. pp. 1-73.
- Infante, G., S. y Zárate, de L., G. P. 1990. *Métodos Estadísticos: Un Enfoque Interdisciplinario*. Editorial Trillas. 2ª ed. D.F., México. 635 p.
- Laskowski, L. y Bautista, D. 1999. Características anatómicas de raíces adventicias en estacas de de semeruco (*Malpighia emarginata* DC) tratadas con ácido indolbutírico. *Bioagro* 11(3): 88-96.

- Manly-Bryan, F. J. 1998. Randomization, Bootstrap and Monte Carlo Methods in Biology. 2^a ed. Chapman & Hall. New York, USA. 424 p.
- Peterson, I. 1991. Pick a sample. Science News 140: 56-58.
- Reyes-Santamaría, I., Terrazas, T., Barrientos-Priego, A. F. and Trejo, C. 2002. Xylem conductivity and vulnerability in cultivars and races of avocado. Scientia Horticulturae 92: 97-105.
- Salisbury, F. B., Ross, C. W. 1991. Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica. S.A. de C.V. pp 106-109.
- Sass, J. E. 1968. Botanical Microtechnique. 3rd Edition. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 227 p.
- Setphen, R.C. 1999. Simple bootstrap statistical inference using the SAS system. Computer Methods and Programs in Biomedicine 60: 79-82.
- Sperry, J. S. and Saliendra. N. Z. 1994. Intra and inter-plant variation on in xylem cavitation in *Betula occidentalis*. Plant Cell and Environment 17: 1233-1241.
- Sprent, P. 1998. Data Driven Statistical Methods. Chapman & Hall. London, UK. 406 p.

Steel, G. D. y Torrie, J. H. 1985. Bioestadística, Principios y Procedimientos. Ed. Mc. Graw-Hill. Bogotá, Colombia. 622 p.

Wilcox C.D.; Dove, S. B., Doss, W. M and Greer, D. B. 2002. UTHSCSA Image Tool. IT Versión 3.0 Department of Dental Diagnostic science. University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas, USA. 57 p.

RELACIÓN ENTRE ALTURA Y CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS, MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE 39 SEGREGANTES DE AGUACATERO 'COLÍN-V-33'

E. Meza-Castillo¹; A. F. Barrientos-Priego²; J. E. Rodríguez-Pérez²; M. I. Reyes-Santamaría³.

¹Parte de la tesis del primer autor, Programa de Maestría en Ciencias en Horticultura, Instituto de Horticultura; Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 56230.

² Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 56230.

³ Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Instituto de Ciencias Agropecuarias Tulancingo, Hidalgo.

RESUMEN

Con la finalidad de identificar algunas características anatómicas, morfológicas y fisiológicas como posibles indicadores de selección indirecta hacia enanismo en aguacatero (*Persea americana* Mill), fueron estudiados 39 árboles segregantes derivados de polinización libre de 'Colín-V33' de 9 años de edad, con altura contrastante, en Coatepec Harinas, Estado de México, México. Para ello, entre 2001-2004 fueron registrados 70 algunas características: de: hábito de crecimiento, de tejidos de brotes anuales (principalmente xilema), de estomas y de intercambio gaseoso. Se clasificaron los árboles de acuerdo a su altura en cuatro grupos: 1 (menores de 2.49 m), 2 (de 2.50 a 3.99 m), 3 (4.0 a 4.49 m) y 4 (mayores de 4.50 m), para ser analizados. Treinta caracteres fueron elegidos para caracterizar a los genotipos mediante un análisis multivariado discriminante, al utilizar los grupos descritos como variables categóricas. Las variables que fueron responsables de la discriminación de árboles de porte bajo fueron: mayor espesor de floema y mayor diámetro basal, en brote anual y mayor proporción de corteza en el tronco. Los caracteres: concentración de CO₂ subestomático, índice de alargamiento de vasos del xilema, temperatura de la hoja y espesor de epidermis de brote, participaron en la discriminación de grupos aunque no tuvieron relación directa con la altura del árbol. Un análisis de varianza determinó que las únicas variables que fueron significativas al comparar los grupos de árboles de acuerdo con su altura, fueron: espesor de floema en brote anual y proporción de corteza en el tronco. Palabras clave: *Persea americana* Mill., enanismo, indicadores de selección, anatomía, análisis discriminante.

**RELATIONSHIPS BETWEEN HEIGHT AND ANATOMICAL,
MORPHOLOGICAL AND PHYSIOLOGIC CHARACTERISTIC OF 39
AVOCADO SEEDLINGS OF 'COLÍN V-33'**

ABSTRACT

E. Meza-Castillo¹; A. F. Barrientos-Priego²; J. E. Rodríguez-Pérez²; M. I. Reyes-Santamaría³.

¹Parte de la tesis del primer autor, Programa de Maestría en Ciencias en Horticultura, Instituto de Horticultura; Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 56230.

² Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Estado de México, México. 56230.

³ Universidad Autónoma de Hidalgo. Tulancingo, Hidalgo.

With the idea of identifying some anatomical, morphological and physiologic characteristics as selection indicator toward dwarfism in avocado (*Persea americana* Mill.), they were studied 39 nine year-old 'Colín V-33' seedling trees from open pollination with contrasting height, established in Coatepec Harinas, State of Mexico, Mexico. In which, between 2001-2004 were registered characteristic of: habit of growth, tissue of annual shoots (mainly xylem), leaf stomata and of gas exchange of leaves. The trees were classified for analysis according to their height in four groups: 1 (smaller than 2.99 m), 2 (of 2.50 to 3.99 m), 3 (4.0 to 4.49 m) and 4 (bigger than 4.50 m). From 70 characteristics 30 were chosen to characterize the genotypes by means of a multivariate discriminative analysis, using the groups described as categorical variables. The variables that were responsible for the discrimination of trees of behavior under they were: larger phloem thickness and basal diameter, in shoots, as well as bark proportion in the trunk. The characters: concentration of sub-stomatal CO₂, elongation index of xylem vessels, temperature of the leaf and epidermis thickness, they participated in the discrimination of groups although they didn't have direct relationship with the height of the tree. A variance analysis determined that the only variables that were significant when comparing the groups of trees according to its height, were: phloem thickness in shoots and bark proportion in the trunk.

Key words: *Persea americana* Mill., dwarf, selection indicators, anatomy of the xylem, discriminative analysis.

RELACIÓN ENTRE ALTURA Y CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS, MORFOLÓGICAS Y FISIOLÓGICAS DE 39 SEGREGANTES DE AGUACATERO ‘COLÍN V-33’

INTRODUCCIÓN

El vigoroso desarrollo del aguacatero, en plantaciones comerciales paulatinamente reduce los espacios entre árboles, lo que propicia notablemente descensos en la producción por la falta de penetración de la luz solar, además se favorece una mayor incidencia de plagas y enfermedades, reduce la calidad de la producción e incrementa el costo en la cosecha. Uno de los principales retos en el mejoramiento genético en esta especie es la reducción de la altura ya sea por medio de la obtención de cultivares de porte bajo, o bien con el empleo de interinjertos o portainjertos enanizantes.

Este enfoque ha conducido a la obtención del cultivar de porte bajo ‘Colín V-33’, árbol compacto con ramificación lateral abundante (Sánchez-Colín y Barrientos-Pérez, 1982), esta despertó grandes expectativas para su utilización como cultivar en huertos comerciales en alta densidad; sin embargo su baja producción y fruto lo hacen poco atractivo como cultivar (Barrientos-Villaseñor, 1999).

Segregantes de ‘Colín V-33’ demostraron potencial como posibles portainjertos para reducir el tamaño del árbol, los cuales al emplearse con cultivares de porte bajo, intermedio y estándar, y con un desarrollo de 6 años, mostraron variación en altura del árbol (Barrientos-Priego *et al.*, 1992).

El empleo del cultivar Colín V-33 como intermedio entre el portainjerto y el cultivar final, ha mostrado su utilidad para reducir la altura del árbol de 11 años de edad en 43 % en el caso de 'Fuerte' y en árboles de 4 años de edad de 'Hass' en 27 % (Barrientos-Villaseñor *et al.*, 1999).

Se ha intentado tanto en 'Colín V-33' y sus segregantes, hallar características asociadas al porte del árbol con el propósito de identificar caracteres útiles en la selección indirecta de enanismo. Sin embargo a pesar de observar amplia variación en cuanto a la altura (Rubí-Arriaga, 1988), pocas son las características que se asocian a altura o bien esta relación no es del todo decisiva. Se han detectado correlaciones negativas entre altura de árbol y número de ramas (Barrientos-Pérez y Sánchez-Colín, 1983), área transversal de corteza (López-Jiménez y Barrientos-Priego, 1987) y densidad de estomas en hoja (Barrientos-Priego y Sánchez-Colín, 1987; Saavedra-Guevara, 1993), y positiva con circunferencia de tronco (De la Cruz y Sahún, 1995), así mismo la proporción de corteza y la circunferencia del tronco se asocian en forma negativa (López-Jiménez y Barrientos-Priego, 1987; Saavedra-Guevara, 1993); proporciones altas de corteza puede ser explicado por la presencia de una mayor degradación de auxinas, por la enzima AIA-oxidasa, peroxidasa, fenoles y quizás otros compuestos presentes en el floema, como consecuencia el nivel de auxinas que llegan a la raíz es menor, por lo que el crecimiento de raíces y síntesis de citocininas también es menor, modificando así el crecimiento de la parte aérea (Lockard y Schneider, 1981).

Entre las características que no han mostrado asociación con el porte del árbol se pueden mencionar al diámetro del tallo y número de entrenudos (De la Cruz y Sahagún, 1995). Por otra parte el empleo de longitud de entrenudos, número de ramas, diámetro de tallo, tamaño y número de nudos como indicadores de selección temprana no fue exitosa (Barrientos-Pérez y Barrientos-Priego, 1996)

Algunas características de diversa naturaleza (anatómicos, fisiológicos, morfológicos, hábito de crecimiento) han mostrado ser útiles en la caracterización y diferenciación de grupos de poblaciones de aguacate, los cuales debido a su fácil registro, podrían ser candidatas para su uso como indicadores de selección temprana hacia porte bajo, sólo si se lograra demostrar su asociación con la altura del árbol; de estas variables se pueden mencionar: índice estomático, frecuencia de estomas, circunferencia de tronco y concentración de CO₂ subestomático (Lavariega- Floréan, 2004).

Con base en lo expuesto anteriormente, fueron estudiados 39 árboles segregantes de 'Colín-V33' de nueve años de edad, clasificados de acuerdo a su altura en cuatro grupos: 1 (menores de 2.49 m), 2 (de 2.50 a 3.99 m), 3 (4.0 a 4.49 m) y 4 (mayores de 4.50 m), para ser analizados. Lo anterior con el propósito de relacionar la altura de árboles, con algunas características anatómicas, morfológicas y fisiológicas, para identificar caracteres útiles en la selección indirecta hacia porte bajo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación

El material de estudio se colectó en el Campo Experimental “La Cruz” en la Parcela “El Filtro” pertenecientes a la Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S. C. Ubicado en Coatepec Harinas, Estado de México, ubicado a 18° 55’ de latitud norte y 99° 46’ de longitud oeste a 2,240 msnm (García, 1988)

Material vegetal

Se utilizaron 39 árboles segregantes de ‘Colín V-33’, de nueve años de edad derivados de polinización abierta.

Variables morfológicas

Tamaño de árbol

Se tomaron fotografías digitales y con la ayuda del analizador de imágenes Image Tool Versión 3.0. (Wilcox *et al.*, 2002), se midió la altura y ancho de la copa de cada genotipo, para lo cual se utilizó un estandarte como referencia de medida.

Características de tronco

Proporción corteza:madera, se midió la circunferencia de tronco con la ayuda de una cinta métrica y se extrajeron dos secciones opuestas de corteza. Con estos datos se obtuvo la proporción de área transversal de corteza con relación a la madera de acuerdo a la metodología establecida por López-Jiménez y Barrientos-Priego, (1987).

Características de hoja

Se colectaron cinco hojas por árbol donde se midió: longitud de pecíolo, área foliar, largo y ancho de la lámina. Esto se realizó con imágenes digitalizadas mediante escáner y con la ayuda del analizador de imágenes anteriormente mencionado Image Tool V. 3.0.

Características de brote

Se tomaron cinco brotes de crecimiento del año y se les midió la longitud de entrenudo en la parte central, longitud del brote, número de entrenudos y diámetro del brote en la base y su parte media.

Variables anatómicas

Procesado de muestras: se colectaron tres brotes de crecimiento del año por genotipo y se fijaron en FAA (formaldehído-alcohol-agua) para su estudio histológico. Posteriormente, estas se procesaron en un cambiador automático de tejidos (Tissuematon Fisher) con cellosolve y xileno, después se transfirieron a parafina (55 °C) permaneciendo 72 horas, dentro de la estufa. Por brote se realizaron 10 cortes transversales (preparación) de 10 µm de grosor, en la parte media del brote, con un micrótopo rotatorio (American Optical modelo 820), los cuales se montaron con adhesivo Haup y formol al 10 % y su tinción fue con safranina y verde fijo (Sass, 1968).

Características de vasos de xilema

La evaluación de vasos del xilema se realizó a partir de tres preparaciones, de cada genotipo que contienen diez cortes transversales del brote anual, de éstos fueron

elegidos aleatoriamente 20 campos microscópicos, de aproximadamente 1 mm^2 , a partir de cortes diferentes, de acuerdo con la primera fase de esta investigación. La selección de campos en los cortes fue realizada sobre cuatro posibles ubicados cada 90° a partir de estos se evaluó los siguientes parámetros: frecuencia de vasos $\cdot \text{mm}^{-2}$, área, perímetro, eje (diámetro) mayor y menor, a partir de estas características se obtuvieron, índice de alargamiento (eje menor / eje mayor), índice de redondez $((4 \cdot \pi \cdot \text{área}) / \text{perímetro})$, diámetro Feret $(\sqrt{4 \cdot \text{área} / \pi})$ e índice de compactación $(\sqrt{4 \cdot \text{área} / \pi} / \text{eje mayor})$, área en mm^2 y frecuencia de los vasos / área del xilema en mm^2 , vulnerabilidad y conductividad relativa. La conductividad relativa se calculó con la ecuación modificada de Poiseuille (Fahn *et al.*, 1986) $\text{CR} = (\text{R}^4) (\text{FRE})$; donde: CR es conductividad relativa, R es el radio del vaso y FRE es el número de vasos $\cdot \text{mm}^{-2}$, esta ecuación permite en forma inferencial obtener un valor que indica el potencial de conductividad de agua para una especie dada (Zimmermann, 1983). El índice de vulnerabilidad $(\mu\text{m}^2 \times 10^6)$ se calculó con la siguiente formula: $\text{V} = \text{DV} / \text{FRE}$; donde: V es vulnerabilidad, DV es el diámetro del vaso y FRE es el número de vasos $\cdot \text{mm}^{-2}$, dicho índice estima la seguridad contra la susceptibilidad en la conducción de agua Carlquist (1977).

Características de tejidos en brote

Posteriormente de las tres preparaciones, mencionadas anteriormente, fueron elegidos al azar 10 cortes transversales por árbol para determinar en el brote del año: área, perímetro, diámetro en 2 ejes, a partir de las características; anteriores se obtuvieron: índice de alargamiento, índice de redondez diámetro Feret, índice de compactación; también se calculó en los estratos celulares: espesores, áreas y

proporciones de médula, xilema, corteza, floema y parénquima; a sí como dimensiones de fibras del floema y epidermis. Las proporciones de los tejidos se obtuvieron mediante la adaptación de la metodología establecida por López y Barrientos (1987) para estimar proporción corteza:madera.

Análisis de imágenes

La observación de vasos del xilema se realizó con un microscopio óptico (Leica, Alemania), utilizando el objetivo de 10X y el ocular de 10X; los estratos de tejidos del brote anual fueron observados con el objetivo 4X y el ocular 10X; mientras que la observación transversal del brote fue con un microscopio estereoscópico Iroscope SDZ-TPLID, utilizando el objetivo de 0.7X y el ocular de 10X. En todos los casos, los campos de evaluación, fueron microfotografiados, montando una cámara digital (Moticam 480), sobre el tubo ocular del microscopio, conectada en el puerto USB de una computadora. Las microfotografías se obtuvieron con el software Motic Images Plus 2001 Versión 2.0; el área de trabajo se calculó con un micrómetro objeto al que también se fotografió. Las imágenes digitales fueron procesadas en el paquete Photo Impact, V. 3.01 Special Edition. La medición de caracteres y obtención de índices fue realizada mediante el analizador de imágenes Image Tool, V. 3.0 (Wilcox *et al.*, 2002).

Características de Estomas

Se midió la frecuencia de estomas y células epidérmicas a partir de cinco impresiones de hojas por genotipo, la técnica empleada fue la de silicón para obtener los negativos (Weyers y Jonson, 1985) y los positivos se obtuvieron mediante la aplicación de barniz para uñas transparente en un área de 50 mm² de la superficie del negativo del

silicón. La capa de barniz seco, se removió y se montó en el portaobjetos, se tomaron dos muestras de cada hoja en la parte central y se observaron cinco campos en cada impresión dando un total de 100 campos por árbol. Se empleó un microscopio óptico objetivo 40X y ocular de 10X (Leica, Alemania) conectado a una video cámara de alta resolución. La imagen obtenida se digitalizó mediante una tarjeta externa GrabIt-Pro. Se calculó el área con un micrómetro objeto, se determinó la frecuencia de estomas y de células epidérmicas por mm^2 con la ayuda del analizador de imágenes Image Tool V. 3.0. Se estimó: el índice estomático ($\text{IE} = [\text{FE}/(\text{FE} + \text{FCE})] \times 100$; donde FE = frecuencia estomática y FCE = frecuencia de células epidérmicas.

Variables fisiológicas

Intercambio de gases

El día anterior al registro de datos se realizó un riego hasta capacidad de campo a la parcela experimental. Se estimó en una hoja madura joven: la tasa de transpiración, tasa de asimilación de CO_2 , $[\text{CO}_2]$ subestomático, conductancia estomática y temperatura, con un analizador de gases infrarrojo (CIRA-1 PP Systems, Inglaterra) programado para obtener el promedio de cinco lecturas. Se realizó una sola evaluación ya que de existir relación con el porte bajo, una preselección con este equipo debería realizarse con una sola lectura.

Análisis de Datos

Elección de variables

Dentro de cada conjunto de variables fueron aplicados análisis de Componentes Principales con el propósito de identificar aquellos caracteres que al tener alta asociación, explicaban la misma variabilidad; posteriormente mediante las matrices de correlaciones correspondientes se verificaron dichas asociaciones; con esta información fueron eliminadas características con el fin de determinar la dimensionalidad del conjunto de datos. Por otra parte se determinó que la circunferencia del tronco y el ancho de la copa no se incluirían en los análisis, debido a que al estar fuertemente asociados con la altura del árbol no permitieran una clara interpretación de los análisis, además de considerar que en etapas de selección temprana tales caracteres no pueden ser evaluados.

Inicialmente se clasificaron 39 genotipos segregantes de ‘Colín V-33’, en cuatro grupos de acuerdo con su altura: 1 (menores de 2.49 m), 2 (de 2.50 a 3.99 m), 3 (4.0 a 4.49 m) y 4 (mayores de 4.50 m). Al considerar estos grupos propuestos, se aplicó un análisis discriminante a partir de la matriz estandarizada de promedios de caracteres por genotipos con el propósito de detectar las variables con mayor importancia que describen a los grupos. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS ver.8.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de los análisis de Componentes Principales (Cuadro 1) y correlaciones fueron eliminadas 40 características cuya variabilidad estaba representada en otros, es decir que el empleo de una fue suficiente para explicar la variabilidad representada en otras. Esta situación fue más frecuente en la construcción de índices a partir de caracteres originales.

El análisis discriminante multivariado, realizado con la finalidad de describir a cada uno de los grupos propuestos de acuerdo a altura de forma congruente, determinó que dos funciones discriminantes contribuyeron con el 88 % de la variabilidad presente en los datos (Cuadro 2), con variación individual y significativa del 58 y 31 %.

La estructura total canónica (Cuadro 3) que representa a las correlaciones lineales entre las funciones discriminantes generadas con las variables originales, determinaron que la variable discriminante 1 (VD1), estuvo asociada en forma positiva principalmente con: espesor de floema (EF1), área transversal de corteza en el tronco (AcoTro) y diámetro de la base del brote anual (Dbabr). Por lo anterior, valores altos de la VD1 representa a genotipos con alta expresión, de EF1, AcoTro y DvaBr y viceversa; es decir valores altos de VD1 identifican a árboles con brotes gruesos, con alta proporción de floema y tronco con mayor proporción de corteza y viceversa.

Cuadro 1. Vectores propios de tres Componentes Principales (CP) por conjunto de características evaluadas: de hábito de crecimiento, de corte anatómico transversal de brote, vasos del xilema, y de estomas, intercambio de gases.

Característica	CP1	CP2	CP3	Característica	CP1	CP2	CP3
Ahoj	0.420	-0.082	-0.168	Fva	0.094	0.422	0.146
Phoj	0.395	0.091	-0.267	Ava	0.310	-0.202	0.069
LemaHoj	0.357	0.172	-0.309	PeVa	0.317	-0.187	0.011
LemeHoj	0.385	-0.235	-0.025	DiLog	0.324	-0.163	-0.034
Alhoj	-0.113	0.433	-0.260	DiTra	0.285	-0.245	0.149
IRHoj	0.062	-0.442	0.259	AlVa	0.125	0.247	-0.543
DFHoj	0.422	-0.082	-0.164	IRVa	-0.216	-0.103	0.449
ICHoj	0.112	-0.442	0.250	DFVa	0.309	-0.206	0.056
Lpec	0.053	-0.020	-0.176	ICVa	-0.214	-0.172	0.516
LbroVeg	0.203	0.226	0.417	ArVa	0.323	0.120	0.138
Nen	0.025	0.350	0.237	ArVa / mm ⁻²	0.323	0.120	0.139
Dbabro	0.225	0.213	0.360	FrVa mm	0.094	0.422	0.147
DMBro	0.203	0.274	0.282	EsXi	0.219	0.177	0.197
Lentr	0.219	0.142	0.331	FrVa / AXi	0.154	0.314	0.264
PeBro	0.444	-0.044	-0.226	Co Re	0.331	0.019	0.029
AlBro	0.068	-0.609	0.339	Ivu	0.075	-0.424	-0.124
IRBro	0.029	0.423	0.871				
DFBro	0.451	0.081	0.028	Ctro	0.395	0.033	-0.097
ICBro	-0.125	0.605	-0.239	EsCoTro	0.193	-0.065	-0.179
Abro	0.449	0.083	0.028	AcoTro	-0.349	-0.069	0.016
DmaBro	0.447	-0.111	0.082	Ttran	-0.030	0.521	0.174
DmeBro	0.421	0.238	-0.096	ConEst	0.038	0.497	0.254
Ame	0.286	-0.101	-0.072	TepHoj	-0.168	0.153	-0.293
Pme	0.174	-0.348	-0.215	AsCO ₂	0.127	0.430	0.230
Axi	0.253	0.190	-0.200	[CO ₂]Sub	-0.202	0.283	-0.007
Pxi	-0.035	0.296	-0.419	AlAr	0.360	0.105	-0.184
AFI	0.258	0.117	0.032	AnCop	0.305	0.112	-0.134
PFI	-0.129	0.146	-0.015	Lest	0.049	0.101	-0.347
Eflo	0.111	0.213	0.153	DeCeEp	-0.153	-0.177	0.244
EfiFlo	0.078	0.177	0.049	DeEst	0.075	-0.137	0.457
Apa	0.284	0.023	0.196	Iest	0.279	0.056	0.267
Ppa	-0.112	0.173	0.471	AsCO ₂ / TTran	0.272	-0.240	0.190
Epa	0.223	0.022	0.381	Al / Ctro	-0.036	0.061	-0.125
Eep	0.072	0.024	-0.007	IEst / [CO ₂] Sub	0.314	-0.182	0.264
Aco	0.283	0.115	0.173	Al / Iest	-0.304	-0.051	0.304
Pco	-0.169	0.233	0.420				

Características de hábito de crecimiento: Ahoj: Área de la hoja; Phoj: Perímetro de la hoja; LemaHoj: Longitud del eje mayor de la hoja; LemeHoj: Longitud del eje menor de la hoja; Alhoj: Alargamiento de la hoja; IRHoj: Índice de redondez de la hoja; DFHoj: Diámetro Feret de la hoja; ICHoj: Índice de compactación; Lpec: Longitud de peciolo; LbroVeg: Longitud del brote anual del año; Nen: Numero de entrenudos; Dbabro: Diámetro de la base del brote anual; DMBro: Diámetro de la parte media del brote anual; Lentr: Longitud de entrenudos.

Características de corte anatómico transversal del brote: PeBro: Perímetro del brote; AlBro: Alargamiento del brote; IRBro: Índice de redondez del brote; DFBro: Diámetro Feret de brote; ICBro: Índice de compactación del brote; Abro: Área del brote; DmaBro: Diámetro longitudinal del brote; DmeBro: Diámetro transversal del brote; Ame: área de la médula; Pme: Proporción de la médula; Axi: Área de xilema; Pxi: Perímetro de xilema; Afi: Área del floema; PFI: Proporción del floema; Eflo: Espesor de floema; EfiFlo: Espesor de fibras del floema; Apa: Área del parénquima; Ppa: Proporción de parénquima; Epa: Espesor de parénquima; Eep: Espesor de epidermis; Aco: Área de corteza; Pco: Proporción de corteza.

Características de vasos del xilema: Fva: Frecuencia de vasos en área de trabajo μm ; Ava: Área de vaso; PeVa: Perímetro de vaso; DiLog: Diámetro longitudinal de vaso; DiTra: Diámetro transversal de vaso; AlVa: Alargamiento de vaso; IRVa: Redondez de vaso; DfVa: Diámetro Feret de vaso; ICVa: Índice de compactación de vaso; ArVa: Área real de los vasos ocupada por área de campo microscopio; ArVa / mm⁻²: Área real de los vasos ocupada por área transversal de xilema en el brote en un mm²; FrVa mm: Frecuencia de vasos en un mm²; EsXi: Espesor de xilema; FrVa / AXi: Frecuencia de vasos en el xilema por área transversal de xilema; CoRe: Conductividad relativa; Ivu: Índice de vulnerabilidad.

Características de estomas, intercambio de gases e índices generados: Ttran: Taza de transpiración; ConEst: Conductancia estomática; TepHoj: Temperatura de la hoja; AsCO₂: Asimilación de CO₂; [CO₂]Sub: Concentración de CO₂ subestomático Longitud de estoma; DeCeEp: Densidad de células epidérmicas; DeEst: Densidad de estomas; Iest: Índice estomático; AsCO₂ / Ttran: Asimilación de CO₂ entre tasa de transpiración; Al / Ctro: Altura entre circunferencia del tronco; IEst / [CO₂] Sub: índice estomático entre concentración de CO₂ subestomático; Al / Iest: altura entre índice estomático; Ctro: circunferencia del tronco; EsCoTro: Espesor de la corteza en el tronco; AcoTro: Área transversal de la corteza en el tronco; AlAr: Altura de árbol; AnCop: Ancho de copa; Lest:

Cuadro 2. Valores propios de funciones discriminantes de cuatro grupos de aguacatero, de 39 segregantes del cv. Colín V-33, clasificados de acuerdo a su altura.

Variable discriminante	Valor propio	Proporción de variabilidad explicada	Proporción de variabilidad acumulada
VD1	10.69	0.58 ^{**}	0.58
VD2	5.73	0.31 [*]	0.88

* y **, diferente de cero con $P \leq 0.05$ y 0.01 , respectivamente.

Con respecto a la variable discriminante 2 (VD2) estuvieron asociados en forma negativa: concentración de CO₂ subestomático [CO₂], alargamiento de vasos del xilema (Ala) y espesor de epidermis (EEp); y positivamente con la temperatura de la hoja (THoj); en otras palabras si aumenta el valor de la VD2, corresponde a árboles que tuvieron alta temperatura, evidenciada en la baja [CO₂], así mismo presentan en el brote epidermis delgada y vasos de xilema alargados (Cuadro 3).

Cuadro 3. Estructura canónica de variables discriminantes definidas a partir de 4 grupos de genotipos de aguacatero segregantes de 'Colín V-33', contrastantes en altura.

Variable	Coeficiente canónico		Funciones discriminates	
	VD1	VD2	VD1	VD2
Redondez del brote CTAB.	-0.1243	0.0517	7183	7342
Diámetro Feret del brote CTAB.	0.0853	-0.0054	443	439
Proporción de xilema CTAB.	0.0300	-0.0644	-870	-863
Proporción de la medula CTAB.	-0.1102	-0.0002	105	106
Espesor epidermis CTAB.	0.3327	-0.2760	-45	-47
Espesor de fibras del floema CTAB.	-0.1792	-0.0193	-100	-99
Espesor de floema CTAB.	0.5910	-0.0038	49	48
Área de corteza CTAB.	0.1710	0.0207	-1201	-1187
Diámetro de los vasos CTAB.	0.0307	0.1437	-288	-320
Alargamiento de vasos CTAB.	0.0700	-0.2827	66569	66784
ArVa / mm ⁻²	0.1078	0.0640	806415	815777
Frecuencia de vasos CTAB.	0.1807	-0.1526	-298	-301
Espesor de xilema CTAB.	0.0819	-0.0117	34093	33763
Conductividad relativa	0.0805	0.1207	-210317x10 ³	-210905x10 ³
Índice de vulnerabilidad	-0.1248	0.2038	13590754	13901594
Área foliar	-0.0747	0.0607	-39	-38
Alargamiento de hoja	-0.0194	-0.0387	4093	4078
Longitud del pecíolo	-0.2767	0.1997	-67	-64
Longitud del brote anual	0.2876	0.1228	-590	-586
Número de entrenudos del brote anual	0.0545	-0.0521	-367	-359
Diámetro de la base del brote anual	0.3369	0.0031	363	353
Longitud de entrenudo	0.0883	0.1207	3198	3158
Área transversal de corteza en el tronco	0.5450	-0.1984	72	69
Conductancia estomática	0.0934	-0.0302	-19	-19
Temperatura de la hoja	0.0871	0.2758	812	817
Concentración de CO ₂ subestomático	0.2537	-0.2907	-19	-20
Longitud del estoma	-0.0276	0.2284	566	637
Densidad de células epidérmicas	0.2565	0.0045	53	52
Densidad de estomas	0.0597	-0.0816	-163	-162
Índice estomático	-0.2546	-0.1081	4815	4791

ArVa / mm⁻²: Área real de los vasos ocupada por área transversal de xilema en el brote en un mm²
CTAB: corte transversal anatómico.

Con la información anterior los grupos propuestos se representaron en un subespacio bidimensional (Figura 1), utilizando las variables discriminantes (eje de las abscisas: VD1 y eje de las ordenadas: VD2), tomando en cuenta que cada genotipo cuenta con un valor para cada función discriminante, se represento a los cuatro grupos de acuerdo a altura con la identificación correspondiente para cada genotipo, así como las correspondientes variables que los describen (Figura 2).

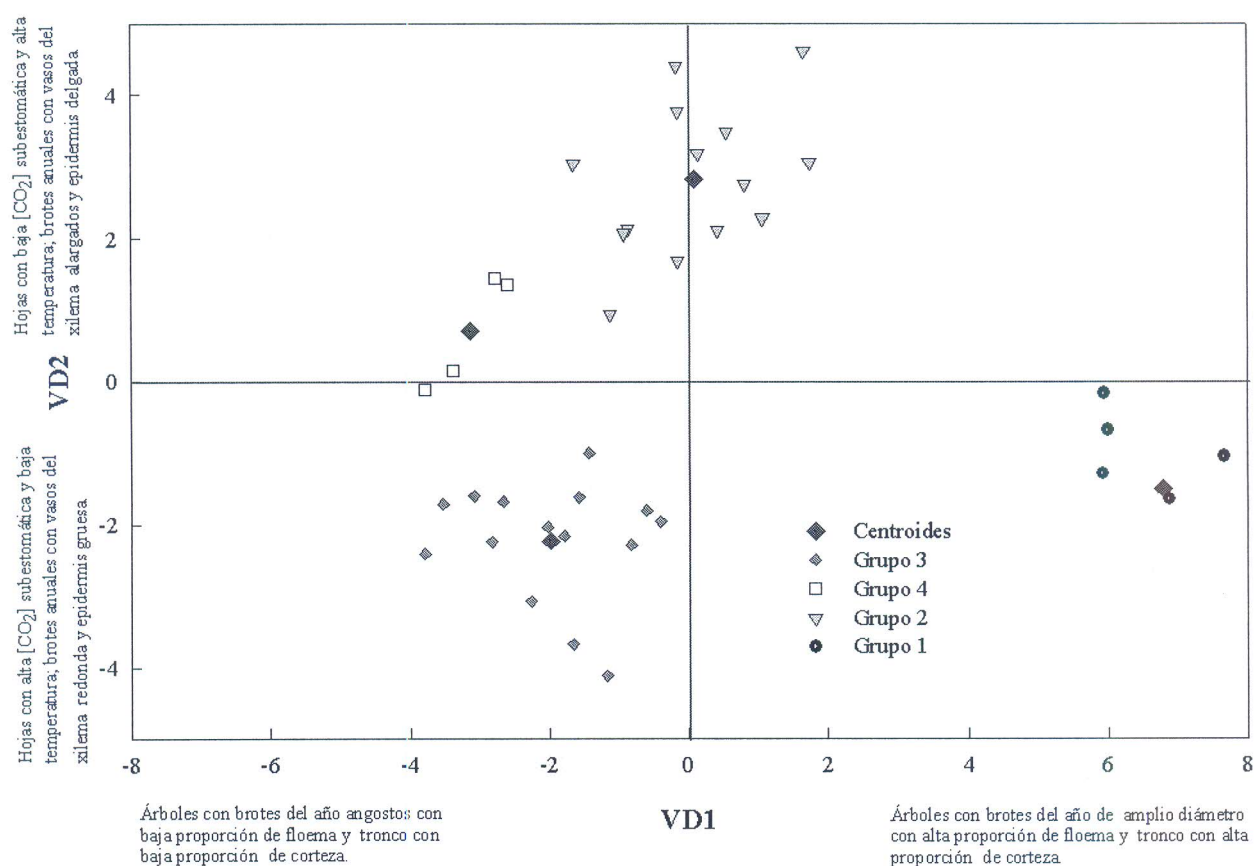


Figura 1. Representación gráfica de las variables discriminantes de cuatro grupos propuestos de acuerdo a altura de 39 árboles de aguacatero segregantes de 'Colín V-33'. Altura de árbol de: Grupo 1 (menores de 2.49 m), Grupo 2 (de 2.50 a 3.99 m), Grupo 3 (4.0 a 4.49 m) y Grupo 4 (mayores de 4.50 m).

El Grupo 1 “árboles enanos” se ubica en el cuadrante 2 perfectamente separado del resto de los grupos, por lo que se puede considerar que las variables clasificatorias lo describen perfectamente (Figura 2).

El análisis reveló que el grupo 1, altura menor de 2.49 m, considerados de porte bajo o “enanos”, se distinguen del resto de los grupos, principalmente por presentar brotes del año con la mayor proporción de floema transversal y diámetros de la base anchos; así como mayor proporción de área transversal de corteza en el tronco.

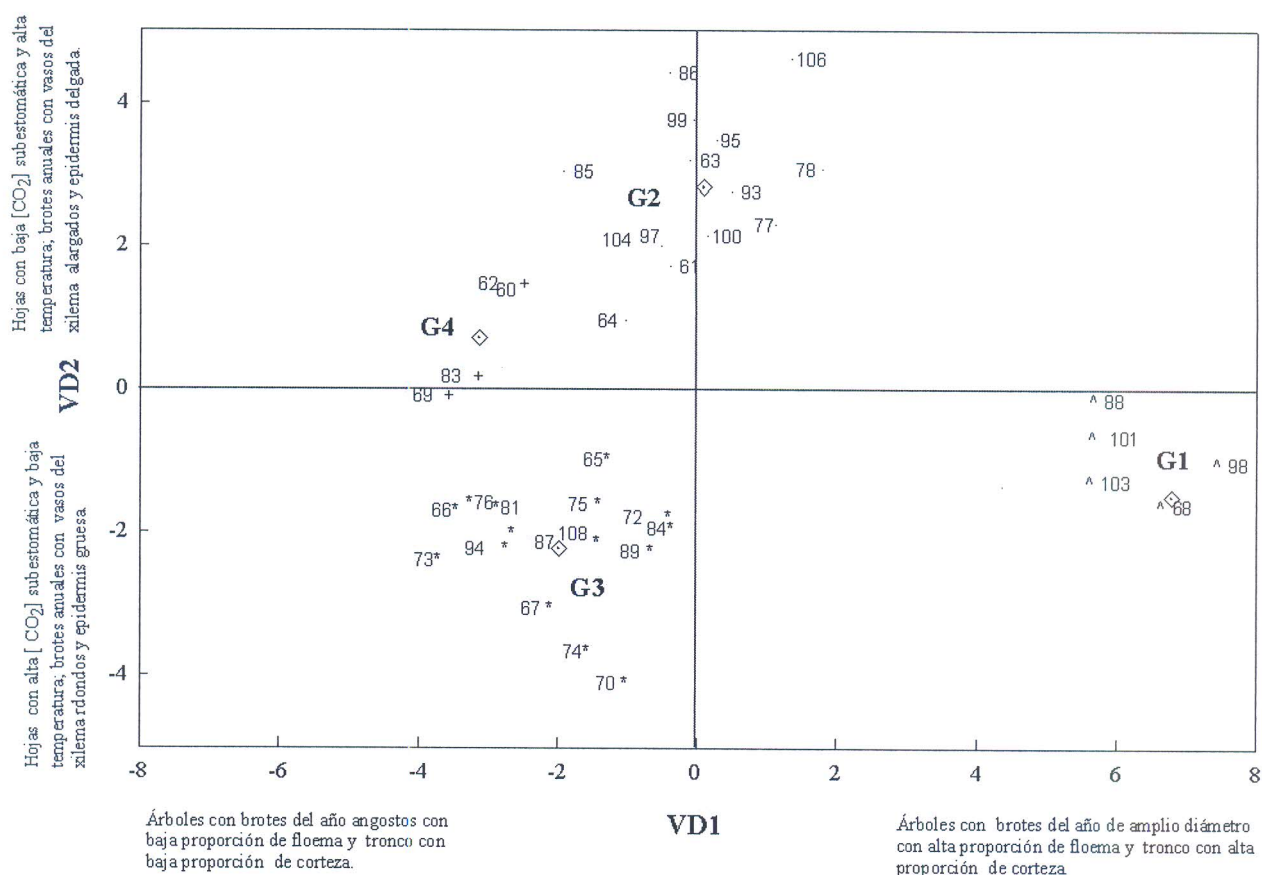


Figura 2 Representación gráfica de las variables discriminantes de cuatro grupos propuestos de acuerdo a altura de 39 árboles de aguacatero segregantes de ‘Colín V-33’. Altura de árbol de: Grupo 1 (menores de 2.49 m), Grupo 2 (de 2.50 a 3.99 m), Grupo 3 (4.0 a 4.49 m) y Grupo 4 (mayores de 4.50 m).

Se ha comprobado que árboles de porte bajo presenta mayor proporción de corteza que los de porte alto (López-Jiménez y Barrientos-Priego, 1987; Saavedra, 1993;) en árboles adultos; el espesor de floema en el brote es sencillo de medir, tanto en etapas tempranas como en árboles adultos, por lo que podrían ser útiles tales caracteres como herramienta en la selección de aguacates enanos, ya que además de representar características distintivas con respecto al porte bajo presentaron diferencias altamente significativas por grupo (Figura 3).

Haciendo referencia a los caracteres mencionados, la presencia de un mayor grosor de corteza, en árboles de porte bajo puede ser explicado debido a la presencia de alta degradación de auxinas y otros compuestos presentes en el floema, que a su vez están asociados con el crecimiento de la parte aérea (Lockard y Schneider, 1981); así mismo se encontró asociación entre estas dos variables ($r = 0.51$ $P \leq 0.05$).

En esta investigación el diámetro de brotes del año en la identificación de árboles de porte bajo y ante la imposibilidad de utilizar esta característica en etapa juvenil, es probable que el diámetro de tallo pudiera funcionar como indicador morfológico para selección de porte bajo. Sin embargo en el caso de portainjertos enanizantes, Barrientos-Pérez y Barrientos-Priego (1996) no encontraron que este carácter en plántulas de un año de edad estuviera relacionado con su potencial enanizante después de 4 años de injertados.

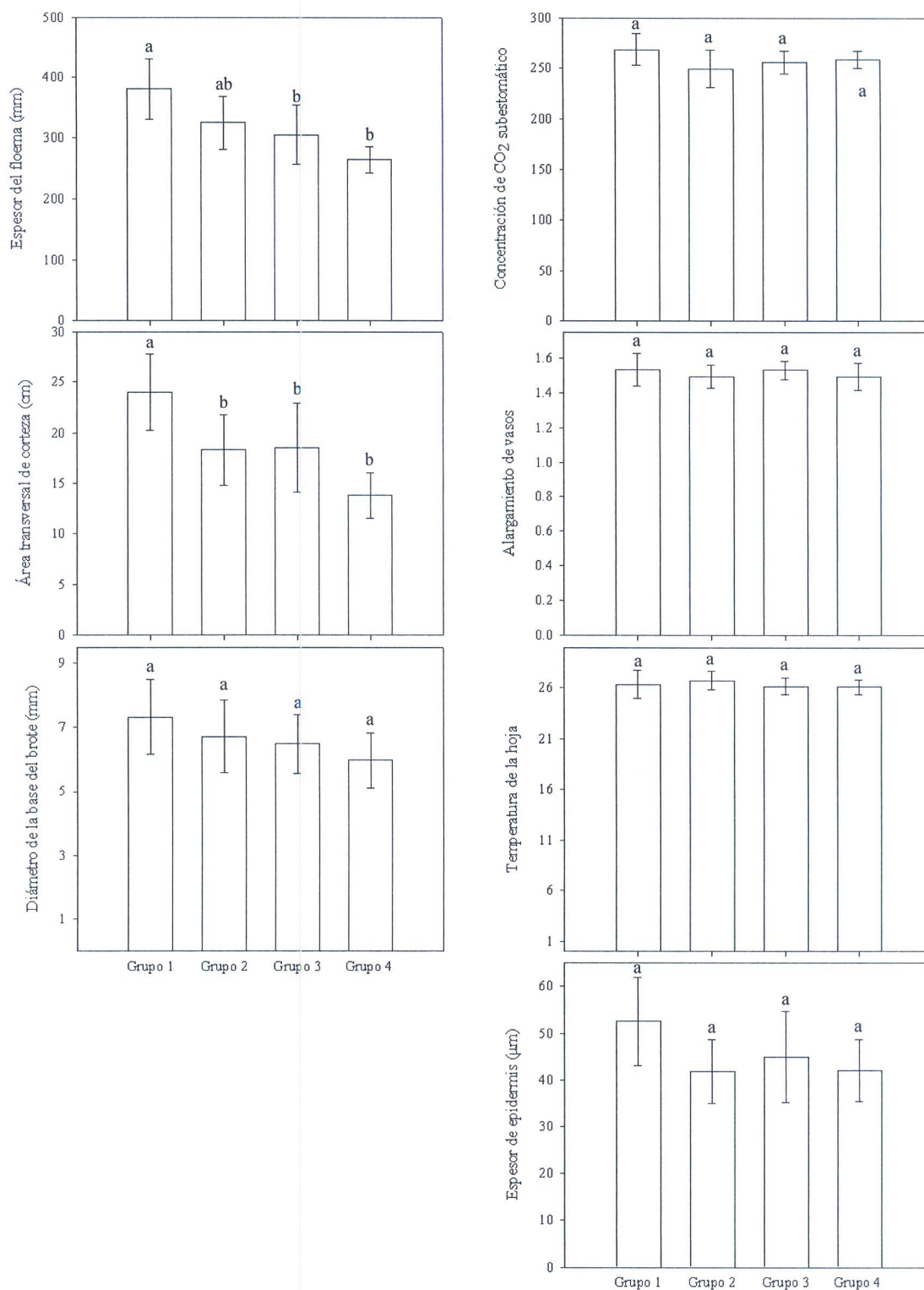


Figura 3. Medias significativas y error estándar de características que permitieron la caracterización de 4 grupos de porte de genotipos de aguacatero segregantes de 'Colín V-33'. Medias con la misma letra dentro de cada gráfica no difieren significativamente (Tukey $P = 0.05$). Altura de grupos: Grupo 1 (menores de 2.49 m), Grupo 2 (de 2.50 a 3.99 m), Grupo 3 (4.0 a 4.49 m) y Grupo 4 (mayores de 4.50 m).

Siguiendo con la descripción del grupo de principal interés, árboles de porte bajo (Grupo 1) posee vasos de xilema tendientes a ser redondos, característica que comparte con el grupo 3 (4.0 a 4.49 m. de altura), aunque estos son de mayor grado de redondez. Lo anterior sugiere que el Grupo 1 presenta diámetro de vasos angosto a diferencia del Grupo 3. El grupo 4 (mayores de 4.50 m) y en mayor medida el grupo 2 poseen vasos de xilema con tendencia a ser alargados.

La concentración de CO₂ subestomático y temperatura de hoja, pueden ser características que permitan la selección de genotipos de porte bajo, por su fácil y rápida evaluación, el Grupo1 “árboles enanos” junto con el grupo 3 (árboles de porte intermedio) presentaron valores altos de estos caracteres. En este estudio la [CO₂] subestomático logró asociarse con el área transversal de corteza ($r = 0.31 \quad P \leq 0.05$), teniendo en cuenta lo anterior se requieren estudios del comportamiento de la [CO₂] subestomático en árboles que presenten diferencias significativas de corteza, para evaluar su utilidad y no descartarlo como posible indicador de enanismo, ya que no se encontraron diferencias significativas entre grupos por lo que para el caso de este estudio no mostró ser un carácter consistente para la caracterización de grupos (Figura 3).

El mismo comportamiento tuvo la temperatura de la hoja (Figura 3), la cual es considerada como uno de los factores que limitan la fotosíntesis neta (asimilación de CO₂), cuando su valor es alto, lo cual quiere decir que influye en la concentración de CO₂ (Barden, 1971). Lo anterior hace suponer que posiblemente los árboles de porte bajo pueda tener un sistema fotosintético más eficiente (Barrientos-Villaseñor et al., 1999) que no es precisamente debido a la [CO₂], que pudiera deberse al comportamiento

de características anatómicas de la hoja, como se indicó para otros cultivares de aguacatero (Gonzalez, 2004) como: densidad de estomas y células epidérmicas, (Lavariega-Floréan, 2004). Cambios anatómicos por la influencia de estrés hídrico, en hojas de aguacate fueron reportados, así como una correlación inversa entre la fotosíntesis y la concentración de CO₂ bajo dicha condición (Chartzoulakis *et al.*, 2002), es decir cambios en la anatomía afectan la difusión de CO₂, y aunque para la medición de este carácter se tomaron las medidas necesarias para no presentar resultados sesgados, implica que la [CO₂] y algunas características fisiológicas relacionadas con estomas están influenciadas por el ambiente y a su vez pueden que no sean consistentes al pretender la clasificación de genotipos por su altura (Lavariega-Floréan, 2004).

El espesor de epidermis, fue de mayor espesor en brotes anuales para el caso de árboles de porte bajo (Grupo 1) por otra parte, en brotes anuales solo puede ser evaluado en etapas de crecimiento primario, es decir en brotes vegetativos no leñosos o bien en etapas tempranas de crecimiento, debido a que es un tejido de protección que se desprende y es sustituido por el corcho o súber así que puede estar relacionado con la corteza, debido a que en etapas tempranas de crecimiento forma parte de la corteza (Cronquist, 1971), aunque en la presente investigación no se detectó dicha asociación, por otra parte mostró correlación ($r = 0.33$; $P \geq 0.05$) con altura del árbol / índice estomático aunque con la altura del árbol no existió asociación significativa. Por lo que estudiando más estas relaciones podría deducirse si el espesor de epidermis podría servir como índice de selección de enanismo.

Dentro del espacio bidimensional, se pueden ubicar las coordenadas de los centroides de cada grupo, en términos de valores de las funciones discriminantes (Cuadro 4). La distancia entre centroides (Cuadro 5) determinó que las mayores distancias ocurren entre el grupo de árboles de porte bajo (Grupo 1) y grupo de mayor porte (Grupo 4), el análisis discriminante mostró que los genotipos correspondieron por completo con la variable categórica, es decir, con los grupos propuestos (Cuadro 6).

Cuadro 4. Coordenadas en el espacio bidimensional para cada grupo propuesto de segregantes de aguacatero ‘Colín V-33’.

Grupo	Variable Discriminante1	Variable Discriminante2
1	6.7857	-1.4963
2	0.1028	2.8193
3	-1.9729	-2.2213
4	-3.1399	0.7065

Cuadro 5. Distancia estadística generalizada entre centroides de grupos de segregantes de aguacatero ‘Colín V-33’.

Grupo	1	2	3	4
1	0	65.16	79.10	112.74
2			29.72	34.62
3				29.52
4				0

Cuadro 6. Proporción de genotipos en 4 grupos de aguacatero segregantes de ‘Colín V-33’ contrastantes en altura. Clasificación de acuerdo con el análisis discriminante.

Grupo	1	2	3	4	Total
1	100 ^z	0	0	0	100
2	0	100	0	0	100
3	0	0	100	0	100
4	0	0	0	100	100
Total de genotipos	6	14	15	4	39

^z Los valores por grupo representan la proporción (%) de los genotipos agrupados.

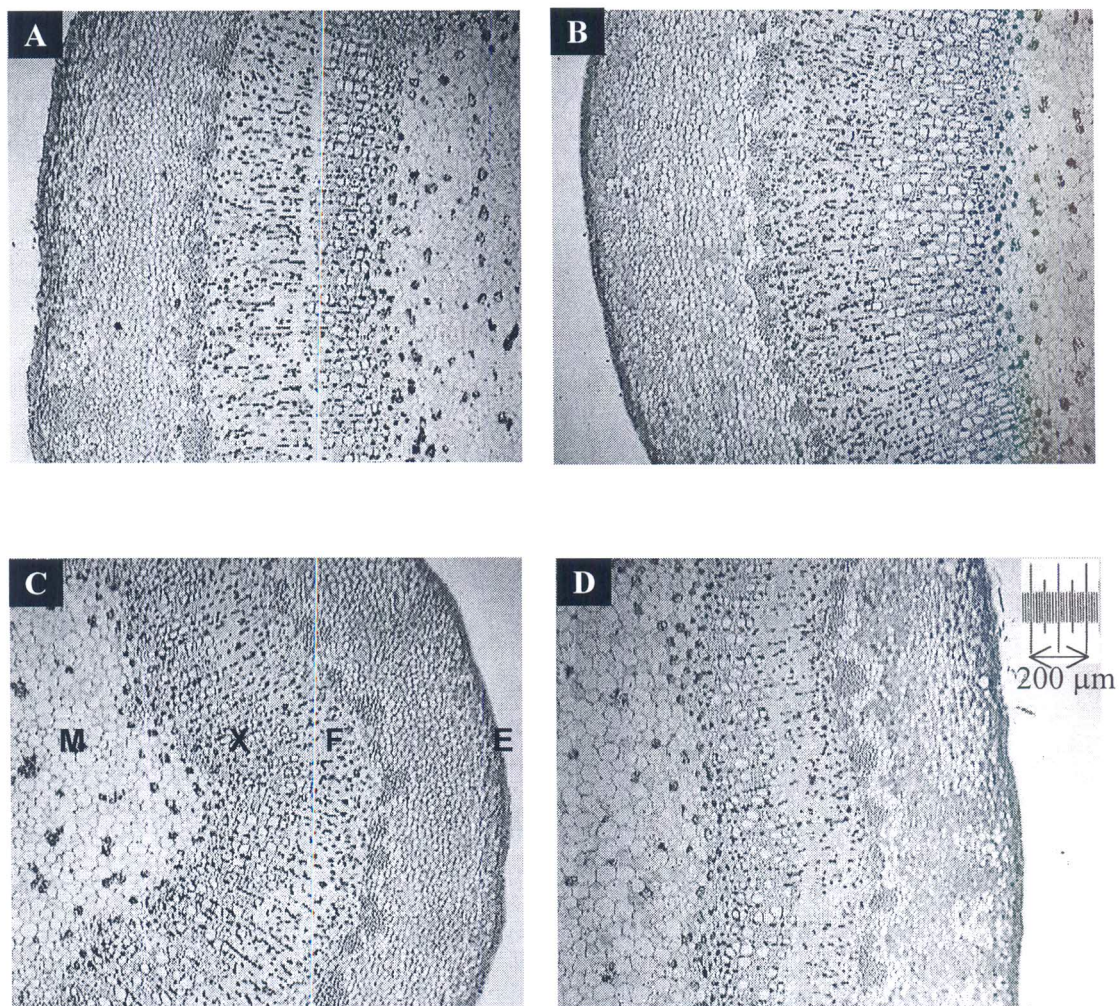


Figura 4. Cortes transversales representando a los grupos propuestos de acuerdo a altura de brotes anuales: A: Grupo 1; B: Grupo 2; C: Grupo 3; D: Grupo 4. de árboles de aguacatero segregantes de 'Colín V-33'. M: Médula, X: Xilema, F: Floema, E: epidermis. Observados a 40X. Escala, reducción del 50 % de la original.

CONCLUSIONES

La agrupación por altura de árboles de aguacate, es explicada, principalmente por medio de los caracteres: espesor de floema en brote del año, área transversal de corteza en el tronco, diámetro de la base del brote, temperatura de hoja, alargamiento de vasos del xilema, concentración de CO₂ subestomático y espesor de epidermis.

Se propone utilizar como variable auxiliares para la selección temprana hacia porte bajo en aguacate, los caracteres espesor de floema en brotes del año y el área transversal de la corteza del tronco.

Es posible que la forma de los vasos de xilema (alargamiento-redondez), así como la concentración de CO₂ subestomático tengan utilidad para la identificación de genotipos de porte bajo, lo cual deberá ser corroborado en estudios posteriores.

LITERATURA CITADA.

- Barden, J. A. 1971. Factors affecting the determination of net photosynthesis of apple leaves. HortScience 6: 448-451.
- Barrientos-Pérez, F., y Sánchez-Colín, S. 1983. Height variability obtained from a new dwarf avocado tree population. Acta Horticulturae 140: 163-168.
- Barrientos-Pérez, F. y Barrientos-Priego, A. F. 1996. Correlaciones entre algunas características de plántulas de aguacate 'Colín V-33' y sus efectos enanizantes como portainjertos. Revista Chapingo Serie Horticultura 2(5): 95-98.
- Barrientos-Priego, A. F., López-Jiménez, A. and Sánchez-Colín, S. 1987. Effect of Colín V-33 as interestock on avocado (*Persea americana* Mill.) growth cv. Fuerte South African Avocado Growers Association Yearbook 10: 62-63.
- Barrientos-Priego, A. F. y Sánchez-Colín, S. 1987. Stomatal density and its relationship with growth habit in avocado. South African Avocado Growers Association Yearbook 10: 66-67.
- Barrientos-Priego, A. F., Sánchez-Colín, S., Aguilar-Melchor, J. J., and López-Jimenez A. 1992. Selection of avocado dwarfing rootstocks. Proc. Of the Second World Avocado Congress. I: 515-520.

- Barrientos-Villaseñor, A. 1999. Influencia del interinjerto 'Colín V-33' sobre algunos aspectos fisiológicos en aguacatero (*Persea americana* Mill.). Tesis Maestro en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Fitotecnia. Posgrado en Horticultura. 105 p.
- Barrientos-Villaseñor, A., Barrientos-Priego, A.F., Rodríguez-Pérez, J.E., Peña-Lomelí, A., y Muñoz- Pérez, R. 1999. Influencia del interinjerto 'Colín V-33' sobre algunos aspectos fisiológicos en aguacatero (*Persea americana* Mill). Revista Chapingo serie Horticultura 5(N.E.): 103-116
- Carlquist, S. 1977. Ecological factors in Word evolution: a floristic approach. Amer. J. Bot. 64: 887-896.
- Chartzoulakis, K., Patakas, A., Kofidis, G., Bosabalidis, A. and Nastou, A. 2002. Water stress affects leaf anatomy, gas exchange, water relations and growth of two avocado cultivars. Scientia Hortic 95: 39-50.
- Cronquist. A. 1971. Introducción a la Botánica. 2ª ed. Editorial Continental, S. A. de C. V.D.F., México. pp. 415-422.
- De la Cruz Torres, E. y Sahagún Castellanos, J. 1995. Determinación de componentes de varianza genética y herabilidad en caracteres de interés en aguacate. Memoria 1995 Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S.C. Coatepec Harinas, Edo., México. pp 64-75

Fahn, A., Werker, E. and Baas, P. 1986. Wood anatomy and identification of trees and shrubs from Israel and adjacent regions. Isr. Acad. Sci. Hum. Jerusalem, Israel. 82 p.

González Calderón, V.M. 2004. Anatomía de hoja de ocho cultivares de aguacatero (*Persea americana* Mill) Tesis Profesional. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México 32p.

García, E. 1988. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen 4^a edición. Universidad Nacional Autónoma de México. D. F., México. 227 p.

Heisman, P. 1939. Notes on avocado anatomy. California Avocado Society Yearbook. pp. 87-91.

Lavariega-Floréan. 2004. Agrupamiento de segregantes de aguacatero 'Colín V-33' mediante características de estomas, intercambio gaseoso y de hábito de crecimiento. Tesis profesional de Ingeniero Agrónomo especialista en Fitotecnia. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. 36 p.

Lockard, R. G. and Schneider. 1981. Stock and scion growth relationships and the dwarfing mechanism in apple. Horticultural Reviews. 3: 315-317.

- López-Jiménez, A. y Barrientos-Priego, A. F. 1987. Selection of dwarfing rootstocks of avocado (*Persea Americana* Mill.). I. Studies of bark:xylem relationship in trunks of 'Colín V-33' seedlings. California Avocado Society Yearbook 71: 225-234.
- Reyes-Santamaría, I., Terrazas, T., Barrientos-Priego, A.F., Trejo C. 2002. Xylem conductivity and vulnerability in cultivars and races of avocado. *Scientia Horticulturae* 92(2): 97-105.
- Rubí-Arriaga, M. 1988. Descripción de una población de segregantes de aguacate del cultivar de porte bajo 'Colín V-33'. Memoria 1988 de CIC-FRUTICOLA-CICTAMEX. Coatepec Harinas, México. pp. 21-30.
- Sánchez-Colín, S. and Barrientos-Pérez, F. 1982. New dwarf avocado clone obtained from cv. Fuerte. Abstracts of the XXI International Horticultural Congress. August 29-September 4, 1982. Hamburg, Federal Republic of Germany. Vol. I: 1053.
- Saavedra-Guevara, C. 1993. Determinación de índices de selección hacia porte bajo en aguacate. Memoria 1993 Fundación Salvador Sánchez Colín CICTAMEX, S.C. Coatepec Harinas, Edo. México. pp. 129-137.
- Sass, J. E. 1968. Botanical Microtechnique. 3^{er} Edition. The Iowa State University Press. Ames, Iowa, USA. 227 p.

Wilcox, C. D., Dove S. B., Doss, W. M. and Greer, D.B. 2002. UTHSCSA Image Tool.

IT Versión 3.0 Ed. Department of Dental Diagnostic science. University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas. 57 p.

Zimmermann, M. H. 1983. Xylem Structure and the Afcent of Sap. Springer-Verlag.

Berlin. Germany. 297 p.

DISCUSIÓN GENERAL

En el caso de la primera fase de este trabajo, se determinó el tamaño de muestra adecuado para el estudio de algunas características de vasos de xilema de aguacate con base en técnicas de remuestreo conocidas como “bootstrap”, el cual determinó que 15 observaciones de microscopio son suficientes, de esta forma se facilitó el trabajo de la segunda fase en la cual fueron utilizados 20 observaciones por árbol sin embargo, aún con 20 repeticiones el trabajo es abundante por lo que con un tamaño de muestra 15 pudiese utilizarse, consecuentemente los requerimientos de trabajo y recursos serían menores sin sacrificar precisión.

La ventaja principal de utilizar este método para determinar el tamaño de muestra para vasos del xilema en la población objeto estudio, consistió en que mediante la aplicación de análisis de varianza se reflejó la variación entre genotipos, con el propósito de estimar los parámetros evaluados con esta técnica que, de acuerdo con el número de repeticiones, 20 campos microscópicos, a emplear, permitiera la discriminación adecuada de los efectos de tratamientos, en este caso genotipos. Por otra parte este método, en comparación con otros, clásicos, no requiere de un alto número de repeticiones para aplicarlo, así mismo, su uso es conveniente cuando la distribución probabilística de la variable respuesta e cuestión, situación presente en los caracteres anatómicos. A pesar de que esta investigación fue dirigida a características anatómicas, es factible su uso para cualquier campo de estudio que se enfoque al estudio de vasos de xilema.

En la segunda fase de la investigación se predefinieron cuatro grupos, de árboles de acuerdo con su altura, y posteriormente se detectaron aquellas variables que tuvieron asociación con la clasificación propuesta por lo que la caracterización de la población de acuerdo con la altura del árbol.

En la presente investigación se logró identificar características que pudiese estar asociados a una menor porte de árbol, a diferencia de los resultados que obtuvo Lavariega-Floréan (2004) no se empleo, en la presente investigación, la altura del árbol como un carácter más para la conformación de grupos, planteamiento no adecuado para el propósito perseguido.

Las características responsables de la discriminación de grupos de árboles de acuerdo a altura fueron: el espesor del floema en el brote del año, área transversal de corteza, diámetro del brote del año de su base, temperatura de la hoja, concentración de CO₂ subestomático, alargamiento de vasos del xilema, y espesor de epidermis.

De acuerdo con este estudio los árboles de porte bajo presentan mayor grosor de espesor de floema, vasos del xilema tendientes a la redondez, y con un mayor espesor de epidermis en el brote del año, el cual fue el de mayor grosor; así mismo con una concentración alta de CO₂ subestomática y mayor presencia de temperatura de la hoja; y mayor proporción de corteza en el tronco, carácter que continua estando en estrecha relación con la altura.

CONCLUSIONES GENERALES

El método de remuestreo resultó útil para definir el tamaño de muestra, para evaluar características del xilema en brotes anuales de árboles de aguacate, que difieren en porte, el cual fue de 20 campos, de aproximadamente 1 mm^2 , de observación microscópica, aunque es suficiente utilizar 15 observaciones.

Se logró agrupar de forma aceptable a árboles contrastantes en porte, utilizando como variable categórica a grupos de acuerdo a altura. Consecuentemente las variables clasificatorias permitieron una buena discriminación de grupos, principalmente el grupo con tendencia a enanismo.

Por lo que espesor de floema transversal en brote del año y proporción de corteza transversal en el tronco se sugieren como posibles indicadores de selección indirecta hacia enanismo en aguacate. Aunque no debe descartarse diámetro de la base del brote del año, la concentración de CO_2 subestomático, características de los vasos del xilema, temperatura de la hoja y espesor de epidermis para futuros trabajos.

LITERATURA CITADA

- Ben-Ya'acov, A. and Michelson, E. 1995. Avocado rootstocks. Horticultura Reviews 17: 381-429.
- Barrientos-Pérez, F., and Sánchez-Colín, S. 1983. Height variability obtained from a new dwarf avocado tree population. Acta Horticulturae 140: 163-168.
- Barrientos-Pérez, F. y Barrientos-Priego, A. F. 1996. Correlaciones entre algunas características de plántulas de aguacate 'Colín V-33' y sus efectos enanizantes como portainjertos. Revista Chapingo Serie Horticultura 2(5): 95-98.
- Barrientos-Priego, A. F., López-Jimenez, A. and Sánchez-Colín, S. 1987. Effect of Colín V-33 as interestock on avocado (*Persea americana* Mill.) growth cv. Fuerte South African Avocado Growers Association Yearbook 10:62-63.
- Barrientos-Priego, A. F., Sánchez-Colín, S., Aguilar-Melchor, J. J., and López-Jimenez A. 1992. Selection of avocado dwarfing rootstocks. Proc. Of the Second World Avocado Congress. I: 515-520.
- Barrientos-Priego, A. F., Borys, M. W., Trejo, C., y López-López, L. 2003. Índice y densidad estomática foliar en plántulas de tres razas de aguacatero. Revista Fitotecnia Mexicana 26(4): 285-290.

Cronquist. A. 1971. Introducción a la Botánica. 2ª ed. Editorial Continental, S. A. de C.

V. D.F. México. pp. 413-442.

Esau. K. 1985. Anatomía Vegetal. 1ª ed. Traducido del inglés. Ed. Omega. Barcelona, España. 729 p.

Gómez, R. E., Soule, J. and Malo, S. E. 1973. Anatomical aspects of avocado stems with reference to rooting. Proceedings of the American Society for Horticultural Science, Tropical Region 17: 23-28.

López-Jiménez, A. y Barrientos-Priego, A. F. 1987. Selection of dwarfing rootstocks of avocado (*Persea americana* Mill.). I. Studies of bark:xylem relationship in trunks of 'Colín V-33' seedlings. California Avocado Society Yearbook 71: 225-234.

Reyes-Santamaría, I., Terrazas, T., Barrientos-Priego, A.F., Trejo C. 2002. Xylem conductivity and vulnerability in cultivars and races of avocado. Scientia Horticulturae 92(2): 97-105.