



**SUBPROYECTO:**

*“Manejo, Conservación y Uso de los Recursos Genéticos de Frutales amazónicos a través de la Coordinación y Cooperación Institucionales en el marco de la Iniciativa Amazónica”*

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES  
MENCIÓN FORESTALES**

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS DE LOS RECURSOS  
NATURALES RENOVABLES**



**Validación Clonal de Plantas Madres Promisorias de *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh “camu camu arbustivo”, en Cámaras de Sub Irrigación en Ucayali – Perú**

**TESIS para optar el título de INGENIERO EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES MENCIÓN FORESTALES**

**LARRY PUENTE GANZ**

Tingo María – Perú 2008

## I. INTRODUCCIÓN

El camu camu arbustivo *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh, es una especie nativa de las zonas aluviales de la Amazonía Peruana. Se caracteriza principalmente por ser una fuente importante de vitamina C, ya que posee frutos con alta concentración de ácido ascórbico (AA), que ninguna otra especie conocida, razón por la cual el mercado internacional del producto se viene incrementando significativamente (IIAP, 2006).

Sin embargo dada la importancia, el aprovechamiento comercial de esta especie es aun incipiente, ya que presenta elevados niveles de variabilidad genética cuantitativa y cualitativa; que determina una alta heterogeneidad en el rendimiento y contenido de AA (VASQUEZ, 2000).

Frente a este contexto el Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP), en convenio con el Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA), viene trabajando en la ejecución del plan de mejoramiento genético orientado al aprovechamiento eficiente de esta especie, que plantea la colección, caracterización, selección, pruebas, estudios genéticos y clonación de plantas superiores.

En tal sentido surge la necesidad de diseñar estrategias de clonación en el cultivo de camu camu, a fin de avanzar significativamente en el proceso de mejoramiento genético, promoviendo el cultivo con mayores índices de productividad. Para ello se cuenta con una base tecnológica preliminar sobre la propagación vegetativa, producto de las investigaciones realizadas durante varios años, las mismas que se han venido ajustando con los pequeños paquetes tecnológicos generados, las cuales necesitan ser validados.

Con la finalidad de establecer una metodología que permita clonar eficientemente el material selecto y establecer un paquete tecnológico de clonación que permita optimizar el material genético congruentes a la realidad social, económica y ecológica, para así contribuir al desarrollo sostenible de la población amazónica; se plantea el presente trabajo de investigación que tiene por finalidad validar la metodología de propagación vegetativa en plantas madres promisorias de camu camu arbustivo, mediante la utilización de estaquillas en cámaras de sub irrigación, la cual presenta los objetivos siguientes:

- Determinar el porcentaje de enraizamiento de estaquillas de camu camu arbustivo.
- Determinar el efecto de la variabilidad fenotípica en el enraizamiento de estaquillas de plantas madres de camu arbustivo.
- Determinar el efecto del incremento de área foliar  $\epsilon$  enraizamiento de estaquillas de camu camu arbustivo.
- Determinar la interacción del factor fenotipo Vs área foliar en el enraizamiento de estaquillas.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades del cultivo de camu camu arbustivo

#### 2.1.1. Taxonomía

División	:	Fanerógamas
Sub división	:	Angiospermas
Clase	:	Dicotiledóneas
Orden	:	Myrtales
Familia	:	Myrtaceae
Genero	:	Myrciaria
Especie	:	<i>Myrciaria dubia</i> H.B.K. Mc Vaugh
Nombre común	:	Camu camu (Perú), Guayabito (Venezuela) Cacari, araza de agua (Brasil).

Fuente: Humboldt, Bonpland y Kunt citado por VÁSQUEZ (2000).

#### 2.1.2. Origen y distribución natural

El camu camu es una especie nativa de la amazonía peruana, crece de manera natural en las orillas de los ríos, cochas, lagunas y cursos menores de agua, permaneciendo cubierto con agua hasta por mas de cinco meses (MINAG, 2000). En estado natural se localiza en fajas de riveras que pueden ser muy estrechas, como el río Nanay (unos 5 metros.), hasta muy amplias (100 m.) en el río Putumayo (PINEDO *et al.* 2001).

FLORES (1997), manifiesta que esta especie nativa se encuentra distribuida ampliamente en la amazonía continental del Perú, Colombia, Brasil y Venezuela. Su distribución natural indica que la mayor concentración de poblaciones y de diversidad se encuentra en la amazonía peruana

(VILLACHICA, 1996). Hacia el sur de Loreto, en la región de Ucayali, su ocurrencia es muy escasa, en contraste con el camu camu arbóreo, que ocurre con mayor abundancia (IIAP, 2004).

### **2.1.3. Descripción botánica**

Según OLIVA (2002), la especie *Myrciaria dubia* HBK Mc Vaugh, es un arbusto que alcanza una altura promedio de 5.1 m con variación desde 2.4 hasta 6.5 m de altura; se ramifica desde la base formando varios tallos secundarios que a su vez ramifican en forma de vaso abierto. El fruto es de color rojo oscuro, hasta negro púrpura al madurar; puede tener 2 a 4 cm de diámetro; con una a cuatro semillas por fruto, siendo lo más común dos a tres semillas. Las semillas son reniformes, aplanadas con 8 a 11 mm de longitud, cubiertas por una vellosidad blanca.

La inflorescencia es axilar, las flores agrupadas de una a doce, son subsésiles y hermafroditas; cáliz tiene cuatro lóbulos ovoides y la corola cuatro pétalos blancos; ovario es ínfero, el androceo cuenta con 125 estambres. Las hojas varían entre 4.5 y 12 cm de longitud y el ancho entre 1.5 y 4.5 cm; ápice muy puntiagudo y base redondeada, a menudo algo asimétrico (IIAP, 2004).

VILLACHICA, (1996), agrega que las flores de *Myrciaria dubia* son hermafroditas y la fecundación ocurre por alogámia facultativa, cuya polinización es realizada por la acción del viento o de los insectos; la endogamia sería en parte prevenida por la falta de sincronía entre el desarrollo del gineceo y el androceo, conduciendo a una alogámia facultativa; es decir, la especie tendría un sistema reproductivo que combina en proporciones aún no determinadas, la autofecundación y la fecundación cruzada.

Según VÁSQUEZ (2000) esta especie tiene un 91% de alogámia y 9% de autogámia; razón por la cual IIAP (2006) determinó en condiciones de restinga que del 100% de la producción de botones florales, solamente el 28.8% llegan a ser frutos pequeños y el 15% del total de flores llegan a ser frutos de cosecha o frutos maduros. La polinización se produce principalmente por insectos de la especie *Melipona fuscopilara* y *trigona portica* (IIAP, 2004).

### **2.1.4. Importancia del cultivo**

Dentro de la diversidad de frutales nativos existentes en la amazonía peruana, el camu camu arbustivo es una planta con tolerancia a las inundaciones y adaptada a suelos ácidos. Resalta por sus notables características, como son: elevada concentración de ácido ascórbico (vitamina C) en el fruto con 2700 a 3200 mg AA/100 g de pulpa (IIAP, 2001). Además tiene minerales de gran importancia bioquímica como tiamina, riboflavina, niacina y es rico en bioflavonoides (PROMPEX, 1998). Se tiene información de que su corteza y su tallo consumidos en infusión, son un excelente remedio

para la diabetes; así mismo estudios recientes han determinado que la cáscara del fruto maduro tiene una buena concentración del pigmento antocianina ideal para la fabricación de colorantes (IIAP, 2001).

Durante mucho tiempo este frutal pasó desapercibido, hasta que en 1957 el Instituto de Nutrición del Ministerio de Salud del Perú realizó el primer análisis bromatológico de la fruta, arrojando resultados sorprendentes: 2800 mg de ácido Ascórbico/100 g de pulpa. Su cotización a partir de esa fecha fue en aumento, despertando un gran interés en el mercado mundial. En la actualidad su consumo es tan necesario en diferentes países, como es el caso específico del Japón (79.9%), Estados Unidos (12%), Holanda (4.1%) y Hong kong (2.2%), que son los principales importadores, según los reportes recientes de ADUANAS 2006, las mismas que fueron abastecidas por las principales empresas exportadoras de camu camu del Perú; como son: "Perú Amazon Export (30.4%), "Empresa Agroindustrial del Peru" (29%), Agroindustrias Backus (16.3%), "Oro Verde Holdings" (8.2%),y entre otros.

IIAP (2001) manifiesta que debido a la elevada concentración de ácido ascórbico, el camu camu es considerado como frutal nativo de primer orden para la agroindustria. Sin embargo, hay una alta variabilidad genética que origina una heterogénea calidad en cuanto al el contenido de ácido ascórbico, cuyos valores se encuentra en un rango de 404.9 a 3253 mg/100 g de pulpa (OLIVA y VARGAS, 2003). Asimismo finalmente podemos considerar al camu camu como la primera especie nativa de importancia económica que se desarrolla en suelos inundables.

## **2.2. Generalidades de propagación asexual o vegetativa**

ROJAS *et al.* (2004) manifiesta que la propagación vegetativa o clonación se define como la reproducción de una planta a partir de una célula, un tejido, un órgano (raíces, tallos, ramas, hojas). Esta propagación implica la división mitótica de células, en la cual hay una duplicación integral del sistema cromosómico y del citoplasma asociado a la célula progenitora para formar dos células hijas, en consecuencia, las plantas propagadas vegetativamente, reproducen por medio de la replica del ADN toda la información genética de la planta madre (VASQUEZ, 2000).

En teoría, cualquier parte de una planta puede dar origen a otras de iguales características según sean las condiciones de crecimiento (luz, temperatura, nutrientes, sanidad, etc). Esto se debe a que muchas de las células de los tejidos vegetales ya maduros conservan la potencialidad de multiplicarse, de diferenciarse y dar origen a diversas estructuras como tallos y raíces; estos grupos celulares forma parte de meristemos primarios y secundarios que pueden encontrarse en todos los órganos de las plantas. Además las células no diferenciadas, tienen la propiedad fisiológica de manifestar totipotencia (ROJAS *e. al.*, 2004).

Considerando que la reproducción sexual por semilla mantiene la variabilidad genética y el avance evolutivo de la especie, la propagación vegetativa se orienta a la reproducción idéntica de plantas con características deseables como la alta productividad, calidad superior o tolerancia al estrés biótico o abiótico y como tal, juega un papel muy importante en la permanencia de una característica ideal de una generación a otra (ROJAS *et al.*, 2004).

### **2.2.1. Ventajas de la propagación vegetativa**

Según ROJAS *et al.* (2004), con la propagación vegetativa se pretende las siguientes ventajas:

- Valorar genéticamente material vegetal, incluyendo estudios de interacción genotipo ambiente, manifestaciones juveniles y maduras de una misma característica. Etc.
- Preservar genotipos y complejos genéticos en bancos clonales y arboretos.
- Acortar ciclos reproductivos para acelerar procesos de cruzamiento y prueba.
- Conservar genotipos superiores que determinan características genéticas favorables (resistencia a plagas y/o enfermedades, crecimiento, producción, calidad de frutos, tolerancia a condiciones extremas de humedad o sequía, etc.). Esas características se pueden “perder” por el cruzamiento genético en la propagación sexual.
- Obtener plantaciones uniformes o la producción de un determinado número de individuos con identidad genética.

### **2.2.2. Desventajas de la propagación vegetativa**

Según ROJAS *et al.* (2004) manifiesta algunas limitantes:

- Dispersión de enfermedades, especialmente bacteriales y virales; una vez que la planta adquiere la infección, puede transmitirse rápidamente dentro del sistema de la planta.
- La estrechez genética de las poblaciones propagadas vegetativamente suele convertirse en un problema, pues este tipo de reproducción no permite la recombinación genética que favorece la evolución y adaptación de las especies.

En caso de implementarse masivamente este método, debe ser una norma la búsqueda constante de clones elites con características deseables pero provenientes de diferentes ambientes, que permitan llevar a su vez la variabilidad genética de sus sitios de origen (ROJAS *et al.*, 2004).

### **2.3. Condición de la planta donadora que influyen en la propagación vegetativa**

ROJAS *et al.*, (2004), menciona las siguientes condiciones:

#### **2.3.1. Tipo de tejido a propagar**

Los meristemos juegan un papel muy importante en el momento de la multiplicación vegetativa, y este procedimiento de multiplicación lleva consigo casi siempre la información de nuevos meristemos. Cualquier programa de propagación vegetativa debe considerar que tipo tejidos meristemáticos están involucrados en el propágalo a multiplicar en la planta donadora.

#### **2.3.2. Regulación hormonal**

El desarrollo normal de una planta depende en gran parte de la interacción de factores externos (luz, nutrientes, agua, temperatura) e internos (hormonas). Las hormonas vegetales, son aquellas sustancias sintetizadas en un determinado lugar de la planta y que se translocan a otros donde actúan a muy bajas concentraciones, regulando el crecimiento, desarrollo, reproducción y otras funciones de la planta. Hay cinco grupos principales de hormonas reguladoras de crecimiento; las auxinas, giberelinas, citoquininas, el ácido abscísico y el etileno. A cada grupo se les ha asignado un efecto dominante, pero es común encontrar efectos contradictorios en la respuesta fisiológica asociada a cada etapa de desarrollo (vegetativa y reproductiva). En el momento de optar por la propagación vegetativa la regulación hormonal dependerá de la especie (genotipo), del ambiente (estímulos físicos) y la respuesta se verá afectada por la concentración y proporción de cada una de estas hormonas.

#### **2.3.3. Posición y madurez del tejido**

Cuando dos esquejes o propágalos provenientes de la misma planta suelen crecer en forma distinta o simplemente no producen raíces; las causas de este comportamiento se encuentran en la posición original que tenían estos esquejes en la planta, la edad al momento de ser obtenidos y las condiciones ambientales a las que estuvo expuesta la planta donadora, y se conoce como Topofisis a los efectos de Posición u origen y Ciclofisis a los efectos de la edad. En general las plantas jóvenes son vigorosas, tienen dominancia apical fuerte y se regeneran fácilmente por propagación vegetativa. Las plantas maduras no son vigorosas, ramifican fuertemente debido a la pérdida de dominancia apical por la diferenciación de los meristemos apicales en reproductivos (inflorescencias y frutos) y no se regeneran fácilmente por la propagación vegetativa. Además el grado de madurez también puede ser definida y mantenerse mediante la propagación vegetativa de la planta madre.

El mantener esta fase de desarrollo puede traer beneficios económicos, como en los árboles frutales, que al injertarlos con yemas provenientes de un árbol maduro, florecen poco después de ser injertados o en árboles maderables que conservan su vigor juvenil cuando se propagan por estacas provenientes de estructuras juveniles del árbol o induciendo a la juvenilidad mediante podas.

## **2.4. Propagación por estacas**

ROJAS *et al.*, (2004); manifiesta que la propagación por estacas consiste en cortar brotes, ramas o raíces de la planta, las cuales se colocan en una cama enraizadora, con el fin de lograr la emisión de raíces y brotación de la parte aérea, hasta obtener una nueva planta.

### **2.4.1. Factores que afectan el enraizamiento de estacas**

ROJAS *et al.* (2004) manifiesta que los fenómenos de la emisión radical no se desarrollan de manera aislada en el vegetal, son parte integrante del funcionamiento general de éste, de hecho “controlados” en parte por la acción integral de un cierto número de factores todavía no explicados en su totalidad. La actividad del cambium ejerce igualmente una influencia, cuanto mas importante sea esta actividad, mejor será la calidad y la rapidez del enraizamiento. Parece igualmente que las yemas y las hojas sean el asiento privilegiado de una cierta forma de “memoria” que dirige las células hacia la organización de meristemas radicales. El hecho de tomar una estaca y de separarla de la planta madre parece que suprime ciertas correlaciones y su efecto es mas profundo en algunas especies.

#### **a. Origen genético**

Esta aptitud para la emisión de raíces no es fácil de determinar visualmente y solo la experiencia permite seleccionar los pies madres que la poseen. Una regla general que en el interior de un mismo clon, las plantas que brotan en la cepa tienen una mejor aptitud para la propagación por estacas.

#### **b. Estado fisiológico**

Su importancia es grande, es la resultante de diversos componentes del metabolismo más o menos influenciado por factores exógenos. Se puede distinguir entre los principales factores que intervienen en la capacidad de producir raíces, la edad del tejido (estado de desarrollo), la regulación hormonal, las condiciones de luz y temperatura de la planta madre y del ambiente de la estaca y el estado nutricional de la planta donante; en este caso el área foliar de la planta madre influye vía fotosíntesis en una adecuada reserva nutricional de la estaca pues la iniciación de las raíces requiere de



metabolitos y nutrientes. En algunos casos la estaca también requiere la presencia de follaje para enraizar, pues sus reservas nutritivas no permiten la creación de nuevas estructuras, por lo tanto para este caso, las estacas deberán mantener cierto número de hojas. No se debe olvidar que también puede aumentar la transpiración, para evitar muerte por desecamiento de la estaca, las condiciones ambientales del sitio de propagación deberán ser muy controladas.

Por otro lado MESEN (1998) explica que existen especies que no necesitan dosis de hormonas o tratamientos extras para tener eficacia en el enraizamiento, debido a que las estaquillas tienen la cantidad de auxinas necesarias para promover la emisión de raíces de manera eficiente.

VAN OVERBEEK (1969) manifiesta que es necesario recurrir a una serie de estrategias para seleccionar un mejor sustrato, época de colección, estado fenológico y nutricional de las plantas donantes, dosis de hormona enraizante, tipo de estaca y cantidad de área foliar; en este último manifiesta que se considera de mucha importancia por ser la fuente de auxinas y nutrientes necesarios para la formación de raíces.

Además, LOPEZ Y OLIVA (2005) menciona que para realizar la propagación por estacas, lo primero que uno tiene que hacer es evaluar la planta madre y asegurarse que este en crecimiento vegetativo (sin frutos y flores), esto permitirá obtener estacas con gran capacidad de emitir raíces.

### c. Aspectos fitosanitarios

El estado de salud de las plantas donantes y de las yemas también es importante, hay que evitar coleccionar yemas de plantas enfermas, especialmente de bacterias, virus u hongos. Esto no solamente afecta el proceso de enraizamiento, sino que se puede expandir el problema cuando la yema se transplante al campo. En algunos casos las yemas pueden ser tratadas con pesticidas o mojadas en una mezcla con esterilizante (ROJAS *et al.*, 2004).

**Cuadro 1. Estados del proceso de enraizamiento y factores que afectan a cada una de las etapas.**

Proceso y/o Estado	Etapas	Factores
Propagación	Planta madre	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Balance hormonal</li> <li>- Estado energético</li> <li>- Minerales</li> <li>- Fitosanitario</li> </ul>

	Corte de estaca	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contenido de agua</li> <li>- Número de hojas</li> <li>- Tratamientos externos</li> </ul>
Inducción	Cicatrización de la herida (formación de callo)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contenido de agua</li> <li>- Inducción hormonal</li> <li>- Control fitosanitario</li> </ul>
	Diferenciación	
Regeneración	Primordio de raíz	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contenido de agua</li> <li>- Inducción hormonal</li> <li>- Control fitosanitario</li> </ul>
	Sistema vascular	
Iniciación	Inicio emisión raíces	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contenido de agua</li> <li>- Control hormonal</li> <li>- Control fitosanitario</li> </ul>
Elongación	Crecimiento radicular	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contenido de agua</li> <li>- Inducción hormonal</li> <li>- Control de minerales</li> <li>- Control fitosanitario</li> </ul>
Desarrollo	Endurecimiento	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Efecto de fertilizantes</li> <li>- Control hormonal</li> <li>- Control fitosanitario</li> </ul>
	Crecimiento planta (nueva planta)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Efecto de fertilizantes</li> <li>- Control hormonal</li> </ul>

Fuente: Wiesman et al. ICRAF 2002.

#### 2.4.2. Ventajas y desventajas

ROJAS *et al.* (2004) manifiesta; dentro de las ventajas de la propagación por estacas, se tienen: Fácil procedimiento de propagación y rápida propagación de plantas, de una sola planta se obtienen un gran número de nuevas plantas, se requiere poco espacio para realizar la propagación, bajo costo en la propagación y su manejo, homogeneidad de las nuevas plantas obtenidas, no se presentan problemas de incompatibilidades en la propagación.

LOPEZ y OLIVA (2005) agrega que la ventaja de la propagación por estacas en relación con la propagación por injerto, es la confiabilidad de la replicación genética de la planta madre; con esta técnica podemos obtener

nuevas plantas a partir de estacas con las características genéticas idénticas a las plantas madres. Este trabajo generalmente se debe realizar con la finalidad de instalar “jardines clonales”, esto quiere decir propagar las mejores plantas y sembrarlas en un lugar determinado para promover el cruzamiento entre ellas y así poder tener mejores semillas y por ende mejores plantas.

Por otro lado ROJAS *et al.* (2004) menciona que las desventajas que pueden presentar este método son: Susceptibilidad a condiciones desfavorables, especialmente en el área radicular, no es posible manejar características genéticas que permitan obtener plantas pequeñas y precoces y bajo porcentaje de prendimiento en algunas especies o variedades.

## **2.5. Antecedentes de la propagación vegetativa del camu camu**

El camu camu es difícil de enraizar, por tratarse de una especie arbustiva, lo cual dentro de su estructura, contiene células lignificadas (BAUS *et al.*, 1996). Diversos investigadores han venido desarrollando pruebas en diversos sustratos y dosis de hormonas enraizantes, con estacas de diámetro desde 0.8 cm hasta 3 cm, con resultados satisfactorios como Santana (1997) citado por OLIVA (2007) quien realizó el enraizamiento utilizando como sustrato arena y aserrín, mediante la aplicación de hormonas enraizantes con dosis de 0, 200, 2000 y 20000 ppm de ácido indolbutírico (AIB) con un toque al 20% de ácido naftalacético (ANA), bajo 4 riegos diarios a través de 4 aspersores, logrando obtener hasta 56% y 48% de enraizamiento en estacas tratadas con 200 y 2000 ppm de AIB respectivamente; otro buen resultado fue reportado por MENESES (1998), que utilizó sustratos de arena y aserrín, con la aplicación de 0, 150, 300, 1000 y 1500 ppm de AIB, obteniendo sobre sustrato arena hasta 73% de enraizamiento en las concentraciones de 300 y 1000 ppm de AIB; por su parte GALUCIO *et al.* (2002), utilizando estacas con diámetros mayores que 0.8 cm y aplicando 200 ppm de ANA logró obtener a los 90 días hasta un 90% de enraizamiento. Así mismo OLIVA (2003) ha logrado hasta 80% de enraizamiento utilizando estacas de 1.5 a 2.0 cm de diámetro y 25 cm de longitud, con la aplicación de 200 ppm de AIB en 48 horas de inmersión. Contrariamente a los resultados anteriores Este mismo autor en el año 2006 en su primer trabajo de enraizamiento utilizando estaquillas, ha logrado hasta 38.8% de enraizamiento, sin aplicación de hormonas, lo que pone en evidencia de una nueva orientación de propagación optimizando material genético a diferencia de los experimentos anteriores, que han tenido buenos resultados, pero el material genético no soportará para la propagación en cantidades altas. Bajo este contexto OLIVA (2007) realizó la propagación de estaquillas colectados de las ramas fruteras de plantas madres de 10 años de edad, utilizando cámaras de propagación con sub irrigación en sustrato arena; con la aplicación de 4 tratamientos (estaquillas con 4 hojas y sin la aplicación de hormonas, con 1 hoja + extracto de fruto pintón maduro, con 2 hojas + extracto de ápice y 3 hojas + extracto de ápice), logrando obtener a los 90 días un 73.33% de enraizamiento con el tratamiento testigo con 4.18 raíces por

estaquilla, la cual se comportó estadísticamente similar a los demás tratamientos pero significativamente superior al tratamiento extracto de frutos que solo alcanzo un 30% de enraizamiento. Cabe resaltar que la aplicación de los extractos tanto de fruto como de ápice fue en la parte basal de las estaquillas por un tiempo de 20 minutos de inmersión.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la Estación Experimental del Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (EE-IIAP) – Ucayali; jurisdicción del distrito de Yarina Cocha, provincia de Coronel Portillo, Región Ucayali, ubicado en el Km 12.4 de la carretera Federico Basadre de la ciudad de Pucallpa. Geográficamente se encuentra ubicado a 8° 22' 31" de latitud sur y 74° 34' 35" de longitud oeste; a una altitud de 154 msnm.

##### 3.1.1. Clima

La Región Ucayali se caracteriza por ser cálida y húmeda, con una temperatura media anual de 26.44°C, con un promedio de máxima y mínima de 41°C y 20.2°C respectivamente, humedad relativa de 82.93 %, y con una precipitación anual promedio de 1773 mm.

##### 3.1.2. Ecología

Según la clasificación ecológica propuesta por HOLDRIDGE (1986), la Región Ucayali pertenece a un Bosque Húmedo Tropical con cuatro ciclos estacionales: Primer ciclo lluvioso (comprende los meses de febrero a mayo), ciclo seco (junio a agosto), segundo ciclo lluvioso (setiembre a noviembre) y ciclo semi seco (diciembre a enero).

#### 3.2. Materiales del experimento

##### 3.2.1. Material genético

- *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh (camu camu arbustivo).

##### 3.2.2. Cámaras de Propagación

- Para realizar la propagación vegetativa del material genético se contó con una cámara de propagación con sub irrigación, de una capacidad propagativa de hasta 2000 estaquillas. (Anexo 8)

### **3.2.3. Materiales complementarios**

- Croquis de ubicación de plantas madres
- Formato de codificación de plantas madres
- Formato de evaluaciones
- Libreta de evaluaciones
- Moto pulverizador; Marca: SOLO, Capacidad: 13 L.
- Tijera de podar Marca: BAHCO
- 9 Cajas de tecnopor, Capacidad 20 Kg.
- Hielo 5 Kg/caja
- Papel periódico
- Plumón indeleble
- Regla milimetrada
- 1 Hidro-termometro
- Abono Foliar (EXTRAFOLLAGE)
- Fungicida agrícola (FUNGOQUIM)

### **3.3. Metodología de investigación**

#### **3.3.1. De las instalaciones**

Para realizar el trabajo de clonación, se contó con las instalaciones de propagación vegetativa de la EE-IIAP-Ucayali, que reúne las condiciones siguientes:

- Proporciona sombra (50% luz) para controlar la irradiación directa de la luz solar.
- Presenta un piso con topografía plana, para permitir la homogeneidad en la distribución del agua interior de la cámara.
- Fuente de agua permanente.

#### **3.3.2. De la preparación del propagador de sub irrigación**

Se confeccionó una cámaras de propagación, que consistió básicamente en un marco de madera, rodeado por la parte interna de plástico transparente (mica) para hacerlo impermeable, además esta contó con una tapa también forrada de plástico para mantener alta la humedad interna.

El sustrato que se utilizó en la cámara, para el enraizamiento de las estaquillas fue "arena" previamente lavada y solarizada (para evitar problemas de plagas y enfermedades). Para ello, primeramente sobre la base se colocaron las piedras en tamaño decreciente, manteniendo siempre el nivel; donde los primeros 25 cm se cubrieron con capas sucesivas de piedras grandes (6-10 cm de diámetro), piedras pequeñas (3-6 cm), grava, y los últimos 5 cm se cubrió con el sustrato de enraizamiento (arena fina).

Durante el proceso de llenado, se fijó en posición vertical los 3 tubos de 4" de diámetro, en la parte anterior de la cámara (para facilitar el manejo), permitiendo sobresalir 15 cm sobre la superficie de la última capa del sustrato. Luego por este medio se lleno los 20 cm basales con agua, los mismas que sirvieron para canalizar el ingreso al interior de la cámara, para de esta manera mantener siempre húmedo por capilaridad al sustrato de enraizamiento.

### 3.3.3. Componentes en estudio

El experimento comprende el estudio de 2 factores:

- Factor A: Estaquillas de plantas madres de *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh (Factor Fenotipo),
- Niveles del Factor A:
  - A1: Estaquillas de la planta madre N° 43
  - A2: Estaquillas de la planta madre N° 278
  - A3: Estaquillas de la planta madre N° 253
  - A4: Estaquillas de la planta madre N° 2
  - A5: Estaquillas de la planta madre N° 40
  - A6: Estaquillas de la planta madre N° 81
  - A7: Estaquillas de la planta madre N° 192
  - A8: Estaquillas de la planta madre N° 261
  - A9: Estaquillas de la planta madre N° 227
- Factor B: Número de hojas (área foliar) / estaquilla
- Niveles del Factor B:
  - B1: 2 Hojas
  - B2: 4 Hojas
  - B3: 6 Hojas

Los tratamientos están formados por la combinación de los 9 niveles del factor "A" con los 3 niveles del factor "B", las cuales hacen 27 combinaciones o tratamientos:  $a_1b_1$ ,  $a_1b_2$ ,  $a_1b_3$ ,  $a_2b_1$ ,  $a_2b_2$ ,  $a_2b_3$ ,..... $a_9b_1$ ,  $a_9b_2$ ,  $a_9b_3$ ). Cada combinación esta representada por 15 estaquillas, haciendo un total de 45 estaquillas en sus tres repeticiones.

### 3.3.4. Disposición experimental

#### a. Diseño experimental

El Experimento emplea un Factorial 9B X 3B, arreglado en Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), con 3 repeticiones.

**b. Distribución experimental**

**Factor A**

	<b>a<sub>6</sub></b>	<b>a<sub>9</sub></b>	<b>a<sub>1</sub></b>	<b>a<sub>3</sub></b>	<b>a<sub>4</sub></b>	<b>a<sub>7</sub></b>	<b>a<sub>8</sub></b>	<b>a<sub>2</sub></b>
<b>b<sub>1</sub></b>								
<b>b<sub>2</sub></b>								
<b>b<sub>3</sub></b>								

**BLOQUE 1**

	<b>a<sub>4</sub></b>	<b>a<sub>1</sub></b>	<b>a<sub>5</sub></b>	<b>a<sub>7</sub></b>	<b>a<sub>3</sub></b>	<b>a<sub>2</sub></b>	<b>a<sub>8</sub></b>	<b>a<sub>6</sub></b>	<b>a<sub>9</sub></b>
<b>b<sub>3</sub></b>									
<b>b<sub>1</sub></b>									
<b>b<sub>2</sub></b>									

**BLOQUE 2**

**Factor B**

	<b>a<sub>8</sub></b>	<b>a<sub>6</sub></b>	<b>a<sub>9</sub></b>	<b>a<sub>2</sub></b>	<b>a<sub>4</sub></b>	<b>a<sub>1</sub></b>	<b>a<sub>5</sub></b>	<b>a<sub>7</sub></b>	<b>a<sub>3</sub></b>
<b>b<sub>2</sub></b>									
<b>b<sub>3</sub></b>									
<b>b<sub>1</sub></b>									

**BLOQUE 3**

**3.3.5. Análisis estadístico**

**a. Análisis de Varianza (ANVA)**



<b>F. V.</b>	<b>G. L</b>
Bloque	2
Tratamiento	26
Factor A	8
Factor B	2
A x B	16
Error experimental	52
<b>Total</b>	<b>80</b>

### **b. Modelo Estadístico**

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i (a_i + b_j + a_i b_j) + \beta_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  = Es el resultado que se obtendrá de la interacción del i-ésimo clon por el j-ésimo N° de hojas perteneciente a la k-ésima repetición.

$\mu$  = Efecto de la media general.

$a_i$  = Efecto del i-ésimo nivel del Factor A (clon) en estudio.

$b_j$  = Efecto del j-ésimo nivel del Factor B (N° de hojas) en estudio.

$a_i b_j$  = Efecto de la interacción del i-ésimo clon por el j-ésimo N° de hojas

$\beta_k$  = Efecto de la k-ésima repetición.

$\varepsilon_{ijk}$  = Es el efecto aleatorio del error experimental asociado a dicha observación.

Para:

$i = 1, 2, \dots, 9$  Clones

$j = 2, 4, 6$  hojas

$k = 1, 2, 3$ , repeticiones

### **3.3.6. De la propagación de vegetativa**

#### **a. Identificación del material genético**

Para realizar el trabajo de clonación, primeramente se identificaron a las mejores plantas madres de camu camu arbustivo, como fuente de material genético, con características fenotípicas superiores (rendimiento Kg/pl/año, ácido ascórbico, tamaño de fruta, etc) de la Unidad de Conservación del Anexo Pacacocha de la Estación experimental Agraria- Pucallpa – INIA.

Para ello se contó con toda la información proporcionada por el INIA – IIAP, sobre la caracterización y selección de las 50 mejores plantas madres, como resultado del trabajo en convenio durante 4 años de investigación. La Unidad de Conservación fue establecida en el año 1988

por el INIA. Esta plantación esta formado por 315 plantas de camu camu arbustivo, que proceden de tres poblaciones naturales: Rio Nanay, Morona cocha y Supay; están mezclados al azar en una sola parcela, con un distanciamiento de 3 x 3 m, en un típico suelo aluvial reciente, formado por las deposiciones de las inundaciones del río Ucayali y reciben cuidados regulares de limpieza y control de plantas parásitas, no habiendo recibido fertilización ni podas.

### b. Selección de plantas madres

De las 50 mejores plantas, solamente se seleccionaron 9 plantas madres para el trabajo de clonación, con estado fenológico en crecimiento vegetativo, además de estar libre de ataque o indicios de plagas y/o enfermedades. Estas plantas corresponden a los a los códigos siguientes:

**Cuadro 1. Selección de plantas madres de *M. dubia* por el alto rendimiento y contenido de ácido ascórbico del Anexo Pacacocha en Convenio INIA-IIAP.**

Código Planta	AA/100g pulpa (mg)	Rendimiento (Kg/pl/año)	Tamaño de fruta
192	2631.53	7.204	9.13
227	2620.21	1.840	13.000
2	2584.64	13.152	8.585
81	2239.73	9.353	7.884
261	2586.78	20.191	12.667
253	1817.9	24.457	-
43	1288.1	21.042	-
278	-	11.697	-
40	663.4	9.656	7.143

### c. Preparación de plantas madres

- **Poda:** Se realizó la poda de fructificación en el nivel terciario y/o ramas fruteras, a las plantas madres seleccionadas; este trabajo se realizó con el objetivo de obtener material vegetativo de la misma edad en el momento determinando.

- **Aplicación de abono foliar:** se aplicó cada 15 días por un periodo de tres meses (EXTRAFOLLAGE).

- **Monitoreo de brotes:** Se realizó durante los tres meses después del realizado el trabajo de poda; en esta FACE se evaluó el crecimiento y

desarrollo de los brotes, al mismo tiempo se determinó el momento óptimo de cosecha de las estaquillas (antes de la producción de botones florales).

#### **d. Colecta del material vegetativo**

- **Preparación de cajas térmicas:** Las cajas fueron de tecnopor y se acondicionaron para brindar condiciones frías (14 – 16 °C), para ello se colocaron cubos de hielo en la base de cada caja y cubriéndolo con papel periódico (e = 3 mm) a fin de evitar el contacto directo con las estaquillas.

- **Cosecha de estaquillas:** Se realizó con la ayuda de una tijera de podar. Las estaquillas se tomaron de las ramas fruteras en crecimiento vegetativo de longitudes variables e inmediatamente se fueron colocando en las cajas térmicas, con sus respectivos códigos, y luego sellado herméticamente para ser transportados, hasta el centro de propagación clonal. En total se colectaron 135 estaquillas/planta madre, que hicieron un total de 1215 estaquillas.

El trabajo de colecta se realizó por la mañana antes de las 10 a.m. evitando las horas más calientes del día, para de esta manera colectar y mantener la turgencia del material.

#### **e. Instalación del material vegetativo**

- **Dimencionamiento:** Se dimensionaron las estaquillas a 9, 12 y 15 cm, de longitud con 2, 4, y 6 hojas respectivamente por cada código del material genético, haciendo un total 135 estaquillas/Código (45 estaquillas/Nº de hojas), luego se cortaron las hojas, hasta 50 % de su área foliar a fin de lograr el mejor balance entre las desventajas de la transpiración y las ventajas de la fotosíntesis.

- **Siembra:** Las estaquillas se instalaron en la cámara de propagación a un distanciamiento de 5 x 5 cm, y 3 cm de profundidad. Para ello antes de insertar las estaquillas se hicieron hoyos en el sustrato de 3 cm de profundidad, de un diámetro mayor a las estaquillas, luego se colocaron el material vegetativo con cuidado y se presionó el medio alrededor de la estaquilla. Las estaquillas fueron distribuidas de acuerdo al diseño experimental.

#### **f. Monitoreo de enraizamiento**

Este proceso incluye todas las actividades de manejo que se realizó en la cámara de propagación, los cuales son:

- **Control de Tº y Hº:** Una vez instalada las estaquillas para enraizamiento, se procedió al cuidado, mantenimiento y verificación periódica del contenido de agua, humedad y temperatura. Esta actividad de monitoreo se realizó durante todo el proceso de enraizamiento (90 días) que es el momento

optimo en que las estaquillas logran el enraizamiento total. Se trato de mantener a una temperatura óptima para el enraizamiento (entre 20 y 25°C), pero cuando la temperatura aumentaba en la cámara a mas de 30°C, se tubo que mantener también alta la humedad relativa (mas del 90%), para ello se agregó mas agua a la cámara, por el tubo de sub irrigación, además de asperjar las hojas con agua, mediante un aspersor manual, esto siempre se realizó en los periodos de alta temperatura.

▪ **Aclimatación:** Esta etapa se realizó después de los 60 días de instalado el experimento y consistió en abrir gradualmente la tapa del propagador hasta 20 centímetros cada 6 días, hasta completar los 90 días, con el objetivo de ir aclimatando gradualmente a las estaquillas. De esta manera al término del proceso de enraizamiento las estaquillas estuvieron aclimatadas al ambiente externo donde fue evaluado y a mismo tiempo repicado, con los mismos cuidados que se le brinda a cualquier planta de vivero.

### 3.3.7. De las evaluaciones de variables

Se realizó al término de los 90 días; después de culminado el proceso de enraizamiento de las estaquillas. Se tomaron los datos de las variables siguientes:

- Número de raíces/estaquilla
- Longitud de raíces.
- Formación de callos
- Numero de estaquillas muertas

Los datos tomados fueron puestos a una base da datos, utilizando el programa Excel, y con ello se determinó los siguientes:

#### a. Enraizamiento

Se determinó en función a la siguiente formula:

Donde:  $\%E = \left(\frac{EE}{E}\right) \times 100$        $\%M = \left(\frac{EM}{E}\right) \times 100$        $\%C = \left(\frac{EC}{E}\right) \times 100$

EE= N° de estaquillas con raíz

EC= N° de estaquillas con formación de callo

EM= N° de estaquillas muertas

E= N° total de estaquillas puesta a enraizar

%E= Porcentaje de enraizamiento

%C= Porcentaje de formación de callo

%M= Porcentaje de Mortalidad

#### b. Efecto de la variabilidad fenotípica en el enraizamiento

Se determinó mediante un análisis estadístico de los resultados obtenidos de cada nivel del Factor A (clon), en base al % de enraizamiento; N° de raicillas/clon, % de formación de callo y % de mortalidad; para ello se realizó la prueba estadística de Tukey con un nivel de significancia de 5%. Los datos fueron analizados utilizando el Software Estadístico Spss versión 13.

#### **c. Efecto del área foliar de estaquillas en el enraizamiento**

Se determinó mediante un análisis estadístico de los resultados obtenidos de cada nivel del factor B (Numero de hojas/estaquilla), en base al % de enraizamiento; N° de raicillas/clon, % de formación de callo y % de mortalidad; para ello se realizó la prueba estadística de Tukey con un nivel de significancia de 5%. Los datos fueron analizados utilizando el Software Estadístico Spss versión 13.

#### **d. Interacción del factor fenotipo Vs N° de hojas en el enraizamiento.**

Se determinó, como resultado de la interacción de las combinaciones de los niveles del factor B (N° de hojas) con cada nivel del factor B, en el enraizamiento (variable dependiente); se analizó correlaciones y regresiones.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

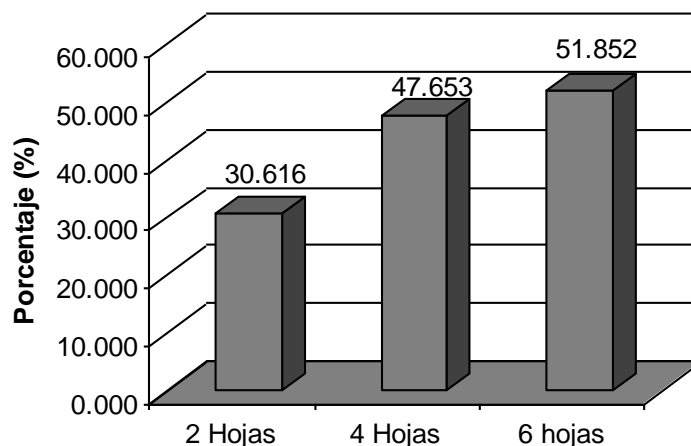
A los 90 días después de establecido el experimento de enraizamiento de estaquillas procedentes de 9 Plantas Madres de *Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh “camu camu arbustivo”, sin la aplicación de Hormonas y utilizando una tecnología sencilla mediante propagadores de Sub Irrigación, se obtuvo lo siguiente:

### 4.1. Comportamiento del enraizamiento de estaquillas de *M. dubia* mediante el incremento del área foliar

**Cuadro 2.** Estadística descriptiva para las variables de enraizamiento de *M. dubia* mediante el incremento del área foliar.

Nº de Hojas	Parámetros estadísticos	Enraizamiento (%)	Producción de raíces		Formación de Callo (%)	Mortalidad (%)
			Cantidad (Nº)	Longitud (cm)		
2 Hojas	Promedio	30.616	1.6	2.03	36.296	44.198
	Desv. Estand.	25.637	0.6	0.78	19.245	21.889
	Max	73.330	7.0	10.20	86.667	93.333
	Min	0.000	1.0	0.20	0.000	13.333
4 Hojas	Promedio	47.653	2.0	3.87	27.407	25.926
	Desv. Estand.	25.867	0.7	1.90	20.114	14.715
	Max	100.000	9.0	11.50	60.000	60.000
	Min	13.330	1.0	0.80	0.000	0.000
6 Hojas	Mean	51.852	2.1	4.75	27.654	20.000
	Desv. Estand.	26.366	0.8	2.84	24.229	11.839
	Max	100.000	4.0	15.50	80.000	53.333
	Min	13.330	1.0	0.70	0.000	0.000
Total	Promedio	43.374	1.9	3.67	30.453	30.041
	Desv. Estand.	27.246	0.7	2.34	21.446	19.469
	Max	100.000	9.0	15.50	86.667	93.333
	Min	0.000	1.0	0.20	0.000	0.000

La influencia del área foliar en el enraizamiento de estaquillas de *M. dubia*, se ven reflejados en el cuadro 2, donde los mejores resultados se obtuvieron en estaquillas con 6 hojas, con un promedio de 51.852 % de enraizamiento, seguidamente en estaquillas con 4 hojas, se obtuvo un promedio de enraizamiento de 47.653 %; finalmente en estaquillas con 2 hojas el porcentaje de enraizamiento disminuyó hasta un 30.616 %. Esta tendencia pone en evidencia la importancia del área foliar en el proceso de enraizamiento, donde se observa que a mayor área foliar (Nº de hojas), se obtiene mayor porcentaje de enraizamiento (ver figura 1).



**Figura 1.** Porcentaje de enraizamiento vs incremento de área foliar

En este caso el área foliar de las estaquillas con 4 y 6 hojas, influyó en una adecuada reserva nutricional; pues la emisión de raíces requieren de metabolitos y nutrientes (ROJAS *et al.* (2004). Además por ser esta la fuente de asimilados, auxinas y otras sustancias indispensables para el enraizamiento (VAN OVERBEEK, 1969 y MESÉN, 1998). Se ha demostrado que la división de las primeras células iniciadoras de la raíz depende de la auxina (HARTMANN y KESTER, 1998). Es probable de que cuando las estaquillas de *M. dubia*, sometida al enraizamiento con 2 hojas; la probabilidad a enraizar es menor, debido a que la cantidad de área foliar no permite una adecuada reserva en los tejidos de las estaquillas para un eficiente ordenamiento de los elementos promotoras de enraizamiento.

De los resultados de este experimento se deduce que hubo una baja respuesta en el enraizamiento de estaquillas de camu camu, frente al 73.33 % obtenido por OLIVA (2007), y que supera al mayor porcentaje promedio obtenido (51.852 %) cuando se trató en estaquillas con 6 hojas. Esto probablemente se debió a las diferencias en el material genético empleado, por la alta variabilidad existente en la especie (OLIVA Y VARGAS, 2003). Además la edad de la planta madre pudo haber contribuido en una disminución de la capacidad rizogénica de las estaquillas, ya que el material vegetativo procede de plantas adultas de 19 años de edad. Se ha demostrado que las estacas de árboles juveniles enraízan mejor que estacas de árboles adultos (MESÉN, 1998); y que el factor juvenilidad de la planta madre es determinante en la obtención de un gran porcentaje de enraizamiento de estacas (HARTMANN y KESTER, 1998). Como regla general, a medida que aumenta la edad del material a propagar, disminuye la capacidad de enraizamiento, (HARTMANN y KESTER, 1998); en este caso, es probable que a dicha edad, las plantas madres del experimento, hayan perdido en cierto grado la capacidad de enraizar. Por general, la capacidad de enraizamiento disminuye después del quinto año de edad (WRIGHT, 1984). Es posible entre otros factores que esta reducción del potencial de enraizamiento con la edad, sea resultado de la

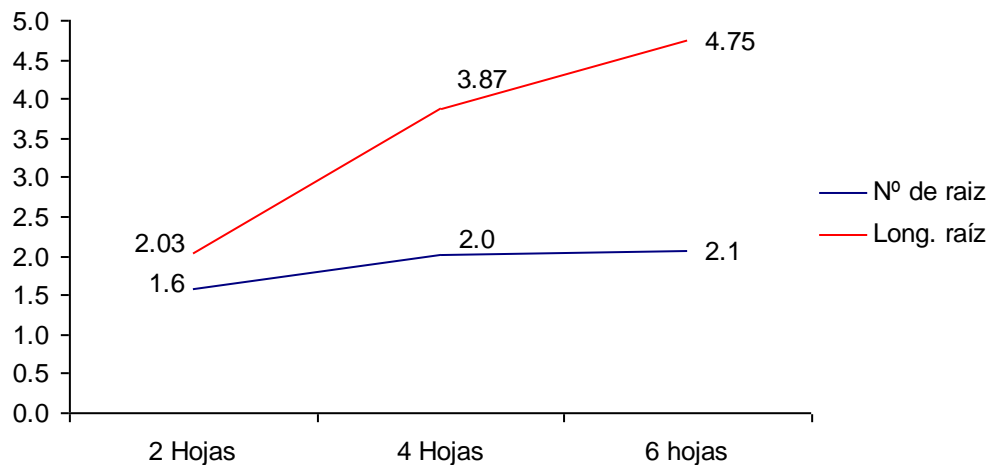
disminución del contenido de compuestos fenólicos, que actúan como cofactores de las auxinas en la iniciación de las raíces (PINO, 2002). O bien un aumento excesivo de fenoles los que activarían la enzima AIA oxidasa, inhibiendo la rizogénesis (LATSAGUE *et al.*, 2001).

Por otro lado se puede sumar a la baja respuesta de enraizamiento en las estaquillas, al estado nutricional de la planta madre donante, los mismos que dentro de la Unidad de Conservación, nunca recibieron fertilización, ni podas (a fin de mantener la juvenilidad), y que la aplicación del abono foliar durante el periodo de preparación de las plantas madres, no fueron suficientes como para mantener una buena reserva nutricional; ya que las condiciones nutritivas adecuadas de la planta madre es un factor determinante para lograr el mejor enraizamiento de las estaquillas tomadas de ella (ROJAS *et al.* (2004). En el experimento; el área foliar de la planta madre, influyó vía fotosíntesis en una escasa reserva nutricional de los brotes de la planta donante. Es probable que la mayoría de este compuesto aplicado, fueron utilizados solamente para acelerar la formación y el crecimiento de los brotes. En consecuencia, una planta madre con buena reserva nutricional, proporciona estacas ricas en carbohidratos, que determinan en gran medida, la obtención de raíces (HARTMANN y KESTER, 1998). De igual forma son las reservas de nitrógeno y la relación carbono nitrógeno (PINO, 2002). Por lo que en el experimento, la falta de un balance del contenido de este compuesto (reservas de nitrógeno) indispensables para la síntesis de ácido nucleico y de proteínas, haya existido un nivel de diferenciación bajo, las cuales han obstaculizado la iniciación de raíces (DEVLIN, 1982).

Además, en nuestro ensayo, para determinar el efecto del incremento del área foliar en el enraizamiento (para todas las variables evaluadas), ha existido una amplia variabilidad genética en las estaquillas producto de una mezcla de clones de 9 Plantas madres (ecotipos que manifiestan diferentes caracteres fenotípicas en cuanto al rendimiento y contenido de ácido ascórbico), (Cuadro 1); lo cual han manifestado una amplia variabilidad en las respuestas de enraizamiento.

La Desviación Estándar dentro de los parámetros estadísticos del Cuadro 2, es un indicador del alto grado de dispersión en las respuestas de enraizamiento (% de enraizamiento, número y longitud promedio de raíces, % de formación de callo y Mortalidad), encontrándose desde un mínimo de 13.33% hasta un máximo de 100 % de enraizamiento en estaquillas con 4 y 6 hojas, pero cuando las estaquillas presentaron 2 hojas, el grado de dispersión aumenta, debido a que en este último existen estaquillas que tuvieron 0 % de enraizamiento. Este grado de dispersión afectó directamente al promedio de enraizamiento de las estaquillas.





**Figura 2.** Variación del número y longitud de raíz Vs incremento de área foliar

El efecto del área foliar de las estaquillas también afecto en numero y longitud de raíces, siendo el mas evidente en cuanto a longitud (Figura 2). Se observa que esta longitud tiene relación directa con el área foliar. Si incrementamos el área foliar en las estaquillas, estaremos aumentando la posibilidad de obtener estaquillas con raíces considerables. En este caso cuando la estaquilla incrementa de 2, 4 hojas se obtiene un aumento de 2.03 cm, a 3.87cm de longitud, lo cual es muy marcada esta diferencia; por lo que este incremento tiene la tendencia a disminuir a partir de áreas foliares mayores, ya que a partir de 6 hojas (4.75cm) de acuerdo a la curva de la longitud (Figura 2) se observa una reducción en el incremento. En este sentido es probable de que un incremento de 2 pares de hojas a más no tenga significancia en la variable respuesta o bien podría incrementar la mortalidad por el aumento del área de transpiración de la estaquilla.

Por otro lado en cuanto a la curva de Nº de raíces (Figura 2), estos resultados no superan a los obtenidos por OLIVA (2007), quien reporto valores de 4.18 raíces por estaquilla, probablemente se debió a que en nuestro ensayo se evaluaron todas las raíces en su conjunto, los cuales han mostrado un amplio grado de dispersión pudiendo afectar directamente al promedio.

Cabe aclarar que las estaquillas con 6 hojas fueron los que tuvieron una mayor longitud (15cm), mientras que las de 4 y 2 hojas tuvieron una longitud de 12 y 9 cm respectivamente; esto indudablemente influyo directamente en una adecuada reserva nutricional para la emisión radicular. Es probable que las estaquillas con 6 hojas tuvieron almacenadas una amplia provisión de materias alimenticias que fueron necesarios para nutrir a las raíces logrando alcanzar hasta un promedio de 4.75 cm de longitud. Estos resultados concuerdan con lo mencionado por ROCHA (1998); pues recomienda esquejes entre 10 y 15 cm de longitud, rama terminal semimadura, sin floración y tres pares de hojas sanas a fin de obtener mejores resultados.



**Figura 3.** Variación de variables de enraizamiento Vs incremento de área foliar

De acuerdo con la variación de las variables de enraizamiento (Figura 3), se observa que cuando el área foliar incrementa de 2 a 4 hojas/estaquilla, el % formación de callo disminuye, por lo que pudiera atribuirse al efecto de este factor (Nº de hojas). Pero cuando incrementamos el área foliar de 4 a 6 hojas la curva del % de formación de callo presenta una tendencia constante, en este caso el efecto probablemente esta condicionada genéticamente.

Por otro lado en la grafica de la mortalidad (Figura 3), se observa que esta variable disminuye cuando se incrementa el área foliar, en contraste con el % de enraizamiento que tiene relación inversa. Esta disminución pone en evidencia la importancia de dejar un cierto Nº de hojas a fin de obtener la mayor sobrevivencia de estaquillas y por ende un mayor % de enraizamiento. Se observa que la mortalidad mas alta se dio cuando las estaquillas presentaron 2 hojas (44.198%), como también aquí se dio el % más alto de formación de callo (36.296%), y un bajo % de enraizamiento (30.616%). Es probable que la energía utilizada por esta, solamente logran alcanzar hasta la formación de callo, no pudiendo continuar el proceso de desdiferenciación celular; es por ello que la mortalidad más alta se dio en estaquillas con menor área foliar (Figura 3). En este sentido las estaquillas que lograron formar callo y no lograron enraizar, continuaron con sus funciones metabólicas, pero probablemente la muerte se debió una vez que terminaron las reservas de sus tejidos (MESEN, 1998).

Además, la reducción del área foliar ayuda en parte a solucionar el problema de la mortalidad por la perdida de agua por Evapotranspiración, pero se debe tener en cuenta que la presencia de hojas estimula el desarrollo radicular, por la síntesis de carbohidratos, a través del proceso de fotosíntesis (DELVIN, 1982); es por ello que los valores mas altos de enraizamiento se dieron en estaquillas con 4 y 6 hojas (Figura 3).

Cabe resaltar que en nuestro ensayo el % de enraizamiento no estuvo relacionado con la sobrevivencia de la estaquillas; ya que a los 90 días, casi todas las estaquillas con 4 y 6 hojas que formaron callo se mantuvieron

vivas, como también existieron estaquillas precoces que enraizaron al poco tiempo y que la mortalidad probablemente se dió por el agotamiento de sus reservas o la falta de nutrientes en el propagador. Por ejemplo, en el Cuadro 2, se observa que de todas las estaquillas tratadas con 4 hoja solamente un 47.653% lograron emitir raíces, 27.407% formaron callo y un 25.926% murieron, sumando un total de 81.02%, lo cual no cubre el 100% debido que han existido algunas estaquillas que no formaron callo pero que aun se mantenían vivas. Por el contrario sucedió en estaquillas con 2 hojas; que del total, el 30.616% lograron emitir raíces, 36.296% solamente formaron callo y un 44.198% de estaquillas murieron, lo cual suman un total de 111.11%, lo cual el 11.11% corresponden a las estaquillas que murieron después que formaron callo y a las estaquillas que emitieron raíces los mismos que murieron por agotamiento de sus reservas.

#### 4.2. Comportamiento del enraizamiento de estaquillas de *M. dubia* mediante la variabilidad fenotípica de la planta madre.

**Cuadro 3.** Estadística descriptiva para las variables de enraizamiento de *M. dubia* mediante la variabilidad fenotípica de la planta madre.

Clon	Parámetros estadísticos	Enraizamiento (%)	Nº de Raíz	Longitud Raíz (cm)	Callo (%)	Mortalidad (%)
43	Promedio	38.518	2.0	3.43	30.370	37.778
	Desv. Estand.	16.254	0.7	1.64	20.031	13.333
	Max	60.000	2.7	5.04	60.000	60.000
	Min	13.330	1.0	1.00	0.000	20.000
278	Promedio	34.814	1.7	3.14	38.519	34.815
	Desv. Estand.	17.568	0.5	1.53	16.254	17.249
	Max	53.330	2.4	5.36	53.333	66.667
	Min	6.670	1.0	0.80	0.000	13.333
253	Promedio	72.591	3.0	4.14	22.222	15.556
	Desv. Estand.	15.794	0.9	0.95	15.275	20.817
	Max	93.330	4.0	5.05	46.667	66.667
	Min	53.330	1.6	2.49	0.000	0.000
2	Promedio	80.741	2.2	2.88	9.630	25.926
	Desv. Estand.	15.073	0.3	1.19	12.958	16.140
	Max	100.000	2.9	4.83	33.333	60.000
	Min	53.330	1.8	1.14	0.000	6.667
40	Promedio	20.740	1.5	2.56	46.667	31.111
	Desv. Estand.	8.460	0.4	0.71	18.856	25.604
	Max	33.330	2.0	3.39	86.667	93.333
	Min	6.670	1.0	1.20	13.333	13.333
81	Promedio	54.073	1.5	3.82	23.704	33.333
	Desv. Estand.	7.778	0.3	1.23	19.468	20.276
	Max	66.670	1.9	5.03	53.333	66.667
	Min	40.000	1.1	1.94	0.000	13.333
192	Promedio	11.110	1.3	10.06	56.296	33.333
	Desv. Estand.	8.819	0.2	2.51	12.958	27.889
	Max	20.000	1.5	14.03	80.000	86.667

	Min	0.000	1.0	8.05	40.000	0.000
261	Promedio	63.703	2.3	2.79	22.963	20.741
	Desv. Estand.	9.495	0.4	0.37	11.600	8.462
	Max	80.000	3.1	3.23	40.000	33.333
	Min	53.330	1.8	2.13	0.000	13.333
227	Promedio	14.074	1.3	1.70	23.704	37.778
	Desv. Estand.	11.278	0.2	0.33	25.410	12.910
	Max	26.670	1.5	2.12	53.333	60.000
	Min	0.000	1.0	1.27	0.000	20.000
total	Promedio	43.374	1.9	3.67	30.453	30.041
	Desv. Estand.	27.246	0.7	2.34	21.446	19.469
	Max	100.000	4.0	14.03	86.667	93.333
	Min	0.000	1.0	0.80	0.000	0.000

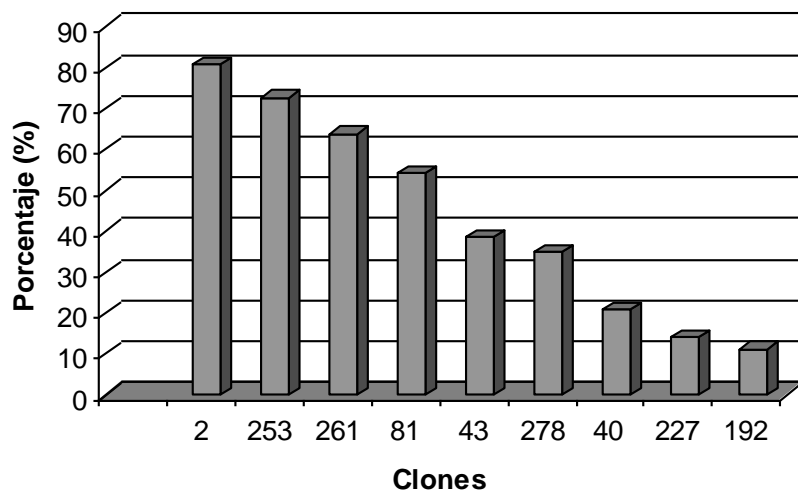
La influencia del árbol madre (Factor fenotipo) en el enraizamiento de estaquillas de *M. dubia*, se ven reflejados en el cuadro 2, donde los mejores resultados se obtuvieron en el clon 2 con un promedio de 80.741 % de enraizamiento, seguidamente en el clon 253 con 72.591% y finalmente en con el clon 261 con 63.70% de enraizamiento. Estos resultados son alarmantes ya que existen clones que tienen una alta capacidad de ser propagadas vegetativamente, sin la utilización de hormonas, como también existen plantas madres que no tienen esa capacidad de enraizar como es el caso del clon 192 que solamente alcanzo 11.11% de enraizamiento, pero que si este ultimo tiene una alta capacidad de formación de callo (Figura5).

La edad de la planta o mas concretamente el grado de madurez es el factor limitante para la propagación vegetativa (DURZAN, 1984; BOULAY, 1985; PIERIK *et al.*, 1997). Esto supone un gran obstáculo para la propagación masiva de fenotipos seleccionados, puesto que las características deseables normalmente no se expresan hasta que la planta ha alcanzado su madurez (HARTMANN Y KESTER, 1998). Además hay que considerar que la aptitud para formar nuevos individuos, depende en gran medida de la especie e incluso de genotipo, de la edad de la planta, la region de la planta de donde se recolecta el material para propagar y de las variaciones estacionales, entre otros factores (FRANCLET *et al.*, 1987; LO, 1997).

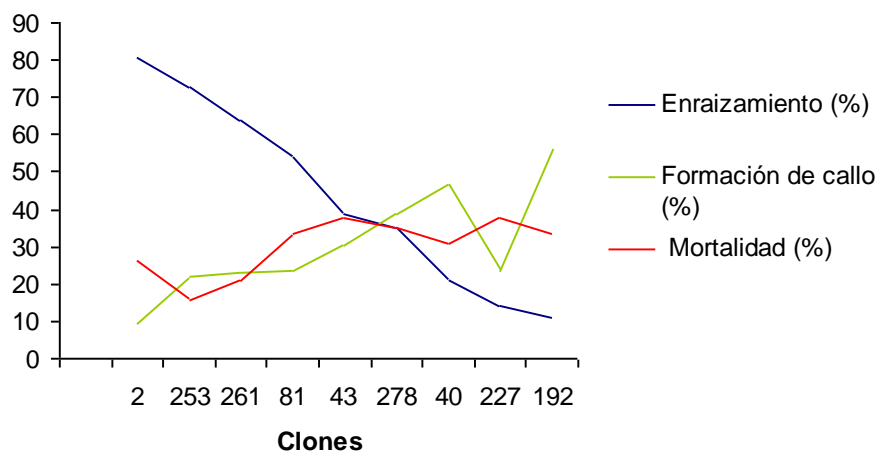
En propagación vegetativa convencional, la pérdida o disminución de la capacidad de enraizamiento, está íntimamente relacionada con la adquisición del estado adulto (Ahuja y Muhs, 1995; Hartmann y Kester, 1998), ya que la facilidad para formar raíces adventicias disminuye con la edad del material a ser utilizado para propagar (Hartmann y Hansen, 1997). Esta relación inversa entre envejecimiento y facilidad de enraizamiento, es la principal dificultad encontrada en la propagación de árboles adultos (Brown y Sommer, 1982). Esta pérdida de la capacidad rizogénica podría deberse a la presencia de inhibidores del enraizamiento.

Por otra parte, se ha observado que la posición del material a propagar en la planta madre, también tiene gran importancia, debido a que mantienen cierta memoria en los hábitos de crecimiento, encontrándose árboles propagados por estaquillado a partir de ramas laterales, con crecimiento plagiotrópico. Además,

el efecto de topófisis y ciclófisis se refleja, por lo tanto, en la capacidad de enraizamiento del material procedente de distintas partes de un mismo árbol, existiendo un gradiente que disminuye desde la base hacia la parte superior del árbol (Bonga, 1982; Martínez Pastur *et al.*, 1994). Estas diferencias en la capacidad rizogénica ya fueron observadas por Grace (1939) en roble y abedul, comprobando que las estaquillas de la parte basal, las cuales retienen características juveniles, enraizaban más fácilmente que las procedentes de partes superiores del árbol, ya que son las partes periféricas y superiores de una planta las primeras en exhibir una reducción del potencial de enraizamiento (Hackett, 1988).



**Figura 4.** Porcentaje de enraizamiento vs variación fenotípica

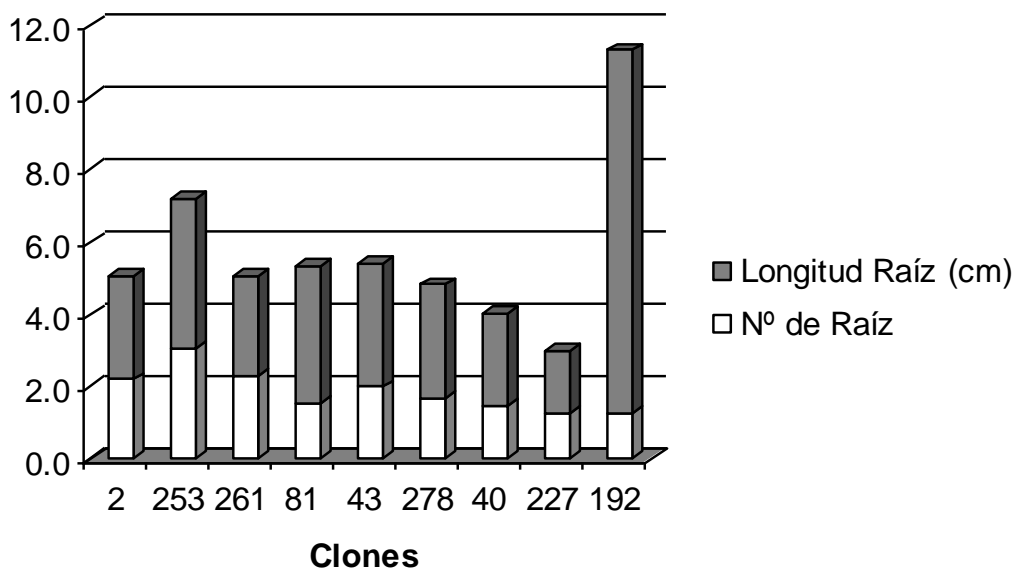


**Figura 5.** Comportamiento de las variables de enraizamiento mediante la variación fenotípica

Por otro lado MESEN (1998) explica que existen especies que no necesitan dosis de hormonas o tratamientos extras para tener eficacia en el enraizamiento, debido a que las estaquillas tienen la cantidad de auxinas necesarias para promover la emisión de raíces de manera eficiente.

Sin embargo, a un nivel comercial un enraizamiento por debajo del 70 %, no se considera adecuado para ninguna especie (LEAKEY, 1987); Por ello es necesario, si se quieren trabajar con el método de propagación asexual, en esta especie establecer criterios de selección de plantas madres, que presentan dichas cualidades. En el momento de optar por la propagación vegetativa la regulación hormonal dependerá de la especie (genotipo), del ambiente (estímulos físicos) y la respuesta se verá afectada por la concentración y proporción de cada una de estas hormonas ROJAS *et al.*, (2004),

Una vez más queda demostrado que la especie *M. dubia*, presenta una amplia variabilidad genética, tal como lo manifiesta OLIVA Y VARGAS (2003). Esta variabilidad se refleja en el amplio grado de dispersión en las respuestas de enraizamiento (Factor genético) y que los programas de mejoramiento genético debe estar dirigido en encontrar ecotipos con alta capacidad rizogénica, complementando con el estudio de sus caracteres morfológicos o expresiones fenotípicas.



**Figura 6.** Comportamiento del número y longitud de raíz mediante la variación fenotípica (Clones)

En los valores extremos para la longitud de raíz se observa una amplia distribución de valores máximos y mínimos lo que permite obtener altos valores de desviación estándar (Figura 6)

#### 4.3. Efecto del incremento de área foliar y la variación Fenotípica de estaquillas de Plantas madres de *Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh "camu camu arbustivo" en cámaras de Sub Irrigación

**Cuadro 4.** Análisis de Varianza Para la Variable % de enraizamiento.

Dependent Variable: % Enraizamiento					
Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	G. L.	Cuadrados Medios	F	Sig.
Bloque	53,816	2	26,908	,529	,592
Clon	47576,471	8	5947,059	117,020	,000
Nº de hojas	6829,703	2	3414,851	67,194	,000
Clon * Nº de hojas	2286,811	16	142,926	2,812	,003
Error	2642,688	52	50,821		
Total	59389,489	80			

**Cuadro 5.** Prueba de tukey para la variable % Enraizamiento Vs Clon

Tukey HSD <sup>a,b</sup> : % Enraizamiento				
Clon	Pomedio (%)	Significación (Alpha = ,05.)		
2	80,741	a		
253	72,591	a	b	
261	63,703		b	c
81	54,073			c
43	38,518			d
278	34,814			d
40	20,74			e
227	14,074			e
192	11,11			e

Clones unidos por la misma letra en columna no existe significación estadística.

En el Cuadro 3, se observa que existe una diferencia altamente significativa en el enraizamiento de estaquillas mediante el incremento de área foliar, donde los mejores resultados se encontraron en estaquillas con 6 y 4 hojas que presentaron 51.9% y 47.6% de enraizamiento, los mismos que se comportaron estadísticamente similar, pero significativamente superior a los resultados obtenidos en estaquillas con 2 hojas que solamente reportaron un 30.616% de enraizamiento (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Prueba de tukey para la variable %Enraizamiento Vs Area Foliar

Tukey HSD<sup>a,b</sup>: % Enraizamiento

<b>Nº Hojas</b>	<b>Pomedio (%)</b>	<b>Significación (Alpha = ,05.)</b>
Hojas 6	51,852	a
Hojas 4	47,653	a
Hojas 2	30,616	b

Parámetro de área foliar (Nº Hojas) unidos por la misma letra en columna no existe significación estadística.

Además en el Cuadro 3, se observa que existe una diferencia altamente significativa en el enraizamiento de estaquillas mediante el efecto del árbol madre (factor fenotipo), donde los mejores resultados se encontraron en estaquillas de los clones 2 y 253, que alcanzaron un 80.741% y 72.591% de enraizamiento, los mismos que son estadísticamente iguales, pero significativamente superior a los demás clones. El clon 40, 227, y 192 que reportaron un 20.74%, 14.074% Y 11.11% de enraizamiento, fueron los que reportaron como el peor en cuanto a dicha variable, pero se comportaron estadísticamente iguales.(cuadro 5).



#### IV. CONCLUSIONES

- El porcentaje de enraizamiento de estaquillas de *M. dubia* utilizando propagadores de sub irrigación es 43.374%. Como resultado de una mezcla de 9 clones, bajo diferentes parámetros de área foliar.
- El efecto de la Variabilidad Fenotipica influye de manera altamente significativa en el Porcentaje de enraizamiento de estaquillas, encontrándose un rango muy amplio desde un 80.741% hasta un 11.11% de enraizamiento.
- El parámetro de área foliar tiene un efecto altamente significativo en el Porcentaje de enraizamiento de estaquillas, donde el mejor resultado se reporto en estaquillas con 4 y 6 hojas, con 47.653% y 51.85% respectivamente.
- La influencia del área foliar actúa de manera independiente del efecto del factor fenotipo en el enraizamiento, ya que los clones de gran capacidad rizogénica responderán mejor cuando presentan mayor área foliar.
- Existe una alta variabilidad en la tasa de enraizamiento y calidad de raices de *M.dubia*, dependiendo del arbol madre de donde se colecta el material vegetal, razon por la cual el proceso de rizogénesis podria condicionado genotipicamente. Por ello la selección de los arboles deberían considerarse como un factor fundamental, sobre todo si se realizar algun tipo de mejoramiento utilizando sta tecnica.

#### VI. ECOMENDACIONES

- Realizar la propagación vegetativa de plantas madres promisorias de *M. dubia* mediante estaquillas con 4 y 6 hojas a fin de obtener mayores

porcentajes de enraizamiento, cuya longitud este en un rango de 12 – 15 cm de longitud.

- Realizar estudios de caracterización fenotípica de aquellas plantas madres cuyos clones presentan una mayor capacidad rizogénica.
- Para futuras investigaciones de enraizamiento de estaquillas, de *M. Dubia* considerar el factor árbol madre, ya que en esta especie existen plantas que por sus características genéticas (aun no determinadas) presentan una alta capacidad de enraizar mediante este método.
- Elaborar un protocolo de clonación, para la propagación vegetativa de *M. dubia*, que será una herramienta indispensable para los programas de mejoramiento genético de esta especie.
- Debido a la capacidad de enraizamiento de esta especie es ne determinar el tiempo empleado durante el ensayo a fin de lograr el numero de estacas enraizadas , a que despues de este periodo cua persiguen fines comercisales resulta poco practico y antieconómico el mantenimiento de las plantas.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahuja, M. S. y H. J. Muhs. 1995. *In vitro* techniques in clonal propagation of forest tree species. En: *Advances in Agricultural Biotechnology. In vitro techniques propagation and long term storage*. Eds: Schâfer-Menuhr, A. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Netherlands, pp: 41-49.
- BAUS, P. FLOR, B. TRUEBA, C. 1996. Descriptores de camu camu. Programa Nacional de Cultivos Tropicales. Informe Tecnico N° 8. 55 p.
- Bonga, J. M. 1982. Vegetative propagation in relation to juvenility, maturity and rejuvenation. En: *Tissue Culture in Forestry*. Eds: J. M. Bonga y D. J. Durzan. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk, Publishers. The Netherlands, pp: 387-412.
- BOULAY, M. 1985. Aspects pratiques de la multiplication *in Vitro* des essences forestieres. *Annales AFOCEL*, 1984 : 7-43.
- Brown, C. L. y H. C. Sommer. 1982. Vegetative propagation of dicotyledonous trees. En: *Tissue Culture in Forestry*. Ed: J. M. Bonga y D. J. Durzan. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers. The Hague, pp: 109-149.
- DEVLIN, R. 1982. *Fisiología Vegetal*. Ed. Omega, Barcelona, España. 517 p.
- DURZAN, J. 1984. Special problems: Adult vs. Juvenile explants. En: *Handbook of plant cell culture. Crop Series*. Eds: W. R. Sharp; D. A.

- Evans; P. V. Ammirato y Y. Yamada. Collier Macmillan. New York, 2: 471-503.
- FLORES, P. 1997. Cultivo de frutales nativos Amazónicos. Manual para extencionistas. TCA - SPT. Lima, Perú. 33 p.
- FRANCLET, A; BOULAY, M; BEKKAOUI, F y FOURET, Y. 1987. Rejuvenation. En: Cell and Tissue Culture in Forestry. General principles Biotechnology. The Netherlands, 1: 232-248.
- GALUCIO, P. 2002. Producción de mudas de camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) por estacas utilizando ramas provenientes de diferentes tipos y posiciones de la planta. Nota Técnica. INPA. Brasil.
- Hackett, W. P. 1988. Donor plant maturation and adventitious root formation. En: Adventitious Root Formation in Cuttings. Advances in Plant Science Series. Eds.: D. V. Davis; B. Haissig y N. Sankhla. 2: 11-28.
- Hartmann, H. T. y Hansen, C. J.. 1997. Effect of season of collecting, indolebutyric acid and pre-planting storage treatments on rooting of Marianna plum, peach and quince hardwood cuttings. Proc. Amer. Soc. Hortic. Sci., 71: 57-66.
- HARTMANN, H. y KESTER, D. 1998. Propagación de plantas. Principios y prácticas. VI impresión. Compañía editorial continental. México. 760 p.
- IIAP, 2001. Sistema de Producción de Camu Camu en Restinga. Programa de ecosistemas terrestres. Proyecto Bioexport - camu camu. 141 p.
- IIAP, 2003. Plan de mejoramiento genético de camu camu arbustivo *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh. RPSP/PAJPH. En preparación 2003.
- IIAP, 2004. Plan de mejoramiento genético de camu camu. Iquitos, Perú. 52 p.
- IIAP, 2006. Cuarto año de Caracterización Morfológica de 315 plantas de camu camu arbustivo *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh, establecidas en suelos inundables – Pacacocha – INIEA / IIAP. Informe Técnico Anual 2006. Pucallpa. Perú. 19 p.
- LATSAGUE, M; ROMERO, M; CASTRO, E. 2001. Influencia de los fenoles en la Rizogénesis de Estacas de *Nothofagus pumilio* Krasser. Rev. Gayana Botánica. 58 (1), pp81 y 82.
- LO, H. 1997. Factors affecting shoot organogenesis in leaf disc culture of African violet. Scienta Horticulture. 72: 49-57.
- LOPEZ, A. y OLIVA, C. 2005. Manual técnico del Cultivo de camu camu (*Myrciaria dubia* HBK) injerto en suelos Aluviales. Pucallpa, Perú. 34 p.
- Martinez Pastur, G; Buduba, C.; Boyeras, F.; Abedini, W. I. y Beltrano, J.. 1994. Análisis de la Ciclófisis y la Topófisis en *Populus deltoides* Bartr. desde la formación del estaquero hasta una plantación comercial. Revista Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales. España, 3 (2): 125-133.

- MENEZES, A. 1998. Efeitos de diferentes reguladores de crescimento sobre o enraizamento de estacas de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh). FCA/UA. Brasil. 2 p.
- MESEN, F. 1998. Enraizamiento de estacas juveniles de especies forestales: Uso de Propagadores de sub-Irrigación. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza - CATIE. Turrialba, Costa Rica 33 p. MINAG, 2000. Programa Nacional de camu camu 2000 – 2020. 22 p.
- OLIVA, C. 2002. Evaluación de la Productividad del camu camu *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh en Loreto. Tesis: Ingeniero Agrónomo. Iquitos, Perú. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 51 p.
- OLIVA, C. 2007. Enraizamiento de estaquillas de camu camu arbustivo *Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh, mediante incremento de área foliar, en Cámaras de sub Irrigación, en Ucayali. Artículo científico. Pucallpa. Perú. 8 p.
- OLIVA, C. y VARGAS, V. Selección de plantas madres promisorias de camu camu arbustivo en Ucayali. RPSP/PAJPH. En preparación 2003.
- PETERS, CH., VÁSQUEZ, A. 1986. Estudios Ecológicos de Camu camu *Myrciaria dubia*. I. Producción de Frutos en Poblaciones Naturales. En: *Acta Amazónica* 16 -17 (Número único). Brasil. pp. 161-174.
- PIERIK, L.; OOSTERKAMP, J. y EBBING, C. 1997. Factors controlling adventitious root formation of explants from juvenile and adult *Quercus robur* "Fastigata". *Scientia Horticulture*, 71: 87-92.
- PINEDO, P. 2001. Sistemas de producción de camu camu en restinga. IIAP.
- PINO, P. 2002. Propagación vegetativa de *Drimys Winteris*, una especie con características medicinales, sometidas a dos sistemas de riego: microjet y cinta de goteo, en el sector de Huichahue IX región. Tesis para optar al título de Ingeniero Forestal. Universidad Católica de Temuco, Facultad de Ciencias Agropecuarias y forestales. Escuela de Ciencias forestales. 52 p.
- PROMPEX. 1998. El cultivo del camu camu en la Amazonía peruana. Promoción de Exportaciones de Productos Agrícolas de la Selva.
- ROJAS, P., ARCE, P., ARRIAGADA, M. 1997. Propagación vegetativa por estacas en *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. *Ciencia e Investigación Forestal* (Chile), Vol. 1, Nº 2, P. 1-8.
- ROJAS, S. GARCIA, J. ALARCON, M. 2004. Propagación Asexual de Plantas. Conceptos Básicos y Experiencias con Especies amazónicas. CORPOICA / PRONATA / MADR. Colombia. 55 p.
- VAN OVERBEEK, J. 1969. An análisis of the function of the leaf in the process of root formation in cuttings. *American Journal of Botany*. V 33, 107 p.
- VASQUEZ, A. 2000. El camu camu; cultivo, manejo e investigaciones. UNAP. Iquitos, Perú. 218.

VILLACHICA, H. 1996. El cultivo de camu camu *Myrciaria dubia* (H.E. Vaugh), en la Amazonía Peruana. TCA. 95 p.

WRIGHT, J. 1984. Mejoramiento genético de los árboles forestales. E de selvicultura y productos forestales N° 16. FAO. Roma, Italia. 436 p.