

MODELACIÓN Y ESTIMACIÓN DEL VOLUMEN DE TEJIDO VEGETAL *in vitro* DE *Strombocactus disciformis* BASADA EN MEDICIONES NO INTRUSIVAS

Modeling and estimation of the *in vitro* plant tissue volume of *Strombocactus disciformis* based on non-intrusive measurements

M Ramos-Parra, F Ulín-Montejo ✉, JA Aguilar-Nieto, IL Solís-Trápala, JB Fierro-Carbajal

(MRP)(JAAN)(ILST)(JBFC) Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes, División de Estudios de Posgrado e Investigación.
km. 18 Carretera Aguascalientes-San Luis Potosí, El Llano, Aguascalientes, México
(FUM) División Académica de Ciencias Básicas, UJAT. fidel.ulín@basicas.ujat.mx

Artículo recibido: 7 de junio de 2008, **aceptado:** 19 de marzo de 2010

RESUMEN. La determinación del volumen de tejido vegetal puede usarse para estimar el peso fresco de callos obtenidos *in vitro*; sin embargo, el uso de técnicas de medición indirecta del volumen de callo en la multiplicación *in vitro* de cactáceas ha sido escasamente reportado. La medición indirecta, no destructiva, de variables de crecimiento durante la propagación *in vitro* es muy útil para la multiplicación masiva de especies vegetales en peligro extinción, como es el caso de *Strombocactus disciformis* (Britton & Rose 1922), cactácea de las zonas áridas y semiáridas de México. En este trabajo se analizaron seis modelos de regresión con el objetivo de obtener una expresión matemática útil para estimar el volumen de callos frescos de *Strombocactus disciformis*, basada en mediciones no destructivas. Se observó una relación lineal entre las variables de estudio y, bajo un criterio de selección, el modelo correspondiente a una semiesfera achatada, reducido en una variable, resultó como el mejor modelo para estimar volumen y peso fresco del tejido vegetal.

Palabras clave: *Strombocactus disciformis*, *in vitro*, estimación de tejido, devianza, criterio de información de Akaike.

ABSTRACT. The determination of plant tissue volume may be used to estimate the fresh weight of calli obtained *in vitro*; however, the use of techniques for the indirect measurement of callus volume in the *in vitro* multiplication of cacti has not been reported widely. The non-destructive indirect measurement of growth variables during *in vitro* propagation is very useful in the massive multiplication of plant species in danger of extinction, as is the case of *Strombocactus disciformis* (Britton & Rose 1922), a Cactaceae of the arid and semi-arid zones of Mexico. This study analysed six regression models in order to obtain a mathematical expression to estimate the volume of fresh calli of *Strombocactus disciformis*, based on non-destructive measurements. A linear relationship was observed among the variables of the study and, based on a selection criterium, the model corresponding to a flattened semi-sphere, reduced to one variable, was the best model to estimate the volume and fresh weight of the plant tissue.

Key words: *Strombocactus disciformis*, *in vitro*, tissue estimation, deviance, Akaike information criterium.

INTRODUCCIÓN

Los estudios *in vitro*, que tratan con cultivo de callo, involucran el monitoreo del crecimiento de los callos. El volumen estimado puede usarse para determinar crecimiento y estimar peso de callo fresco (King & Morehart 1988). El uso del volumen como una medida del crecimiento así como la estimación del volumen, desde una o más dimensiones lineales, se ha usado por años en estudios de campo en árbo-

les y arbustos (King & Morehart 1988). La medición de dimensiones lineales de los callos a través de su contenedor es no destructiva y simple de ejecutar pero, por lo general, las mediciones no son precisas. King & Morehart (1988) mencionaron que se aplicó este procedimiento a callos de fresa y encontraron una alta correlación entre el volumen calculado y el peso fresco. Ellos asumieron una forma semiesférica para el callo y midieron sólo una dimensión (diámetro del callo). A su vez King & Morehart (1988)

hicieron pruebas sobre callo de maple rojo y manzana para determinar la fórmula para calcular volumen que diera la más alta correlación con peso fresco y reportan que los callos no mantuvieron una forma semiesférica simétrica. En el presente trabajo se verificó la relación lineal que existe entre las variables volumen y peso fresco de tejido obtenido *in vitro* de la cactácea *Strombocactus disciformis*; y también, se propone una metodología para estimar volumen *in vitro* de callo fresco de la especie de cactácea referida sin destruir las muestras.

La flora de México es de unas 30 mil especies, de las que 3573 son endémicas. Más del 80 % de este endemismo se localiza en las vegetaciones de matorral xerófilo (matorral desértico micrófilo y rosetófilo, matorral crasicaule) que a su vez cubre unos 135 millones de hectáreas (más del 65 % de la superficie del territorio nacional) denominadas zonas áridas y semiáridas. En estas zonas, la explotación de los recursos se concentra en unas pocas especies vegetales tales como: candelilla, cortadillo, jojoba, lechuguilla, maguey, mezquite, nopal, cactus y palma. El Altiplano mexicano, es la región con la más vasta extensión de zonas áridas y semiáridas de México, con una vegetación de matorral xerófilo asociado con pastizales, que comprende la zona árida chihuahuense (Aguascalientes, Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León, San Luis Potosí y Zacatecas), la zona árida queretana e hidalguesa y la zona árida tamaulipeca (Coahuila, Nuevo León y Tamaulipas). Dentro de las especies referidas, las cactáceas son un grupo representativo de la flora de México, con cerca de 850 especies en nuestro país. El total de géneros y especies para la familia es aún incierto; se estima entre 102 y 135 el número de géneros y en 1200-2500 el número de especies. La familia *Cactaceae* es el grupo más numeroso de especies "protegidas" en México (257 especies), seguido por *Orchidaceae*, *Palmae* y *Agavaceae*. Con relación a endemismos, en 1984 se registraron 3282 especies en México y el grupo más abundante lo conforman las cactáceas (687 especies); para 1988 se reportan 3573 especies endémicas, lo que denota el desconocimiento que aún se tiene al respecto, puesto que en México apenas se ha empezado a elaborar inventarios de flora y fauna, a diferen-

cia de países desarrollados que lo hacen desde hace más de un siglo (Bravo-Hollis 1978; Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada 1991). Asimismo, existen varias razones que justifican la necesidad de propagar cactáceas artificialmente, quizá la de mayor peso sea la sustitución de material cultivado por el material silvestre que ha sido objeto de tráfico ilegal en los mercados nacionales e internacional, ya que resulta mejor negocio (Sánchez-Mejorada 1979; Manzanos 1996).

De acuerdo a lo anterior, se resumen las siguientes consideraciones importantes: a) Estas plantas han sido saqueadas de su hábitat, aparentemente debido a que sus formas, extrañas y variadas, llaman la atención a coleccionistas y comerciantes. b) Su hábitat ha sido destruido por asentamientos humanos, vías de comunicación, sobrepastoreo, etc. c) Como ornamentales, se cotizan a precios atractivos en mercados internacionales, por lo que su producción sería una posibilidad de entrada de divisas al país y posiblemente de autoempleo para los habitantes del campo. d) Muchos cactus tienen propiedades medicinales porque contienen alcaloides, azúcares, cardiotónicos, flavonoides, taninos y saponinas entre otras sustancias, que constituyen materias primas para la industria farmacéutica y la agroindustria. e) Los cactus ayudan a prevenir la erosión y mejoran los suelos (CONAZA-SEDESOL 1994). Dadas estas consideraciones, se requiere utilizar combinadamente la propagación sexual y la asexual, incluyendo técnicas *in vitro*, para recuperar especies protegidas, pues muchas de ellas son autoestériles o de lento desarrollo en forma natural, lo que induce a una tendencia progresiva a la extinción que se revierte en condiciones controladas.

La especie *Strombocactus disciformis* (Figura 1), bautizada así en 1922 y cuyo nombre proviene del griego "strombo" que significa trompo, florece de febrero a marzo. Se localiza en Hidalgo y Querétaro. Crece en las laderas inclinadas de los arroyos, en suelos calizos o de lutitas, en condiciones de sequía extrema, casi desprovistas de vegetación. Se distinguen con dificultad confundiendo con el suelo calizo. *Strombocactus disciformis* es una de las especies de cactáceas que se encuentra en peligro de extinción, vulnerable o sujeta a protección especial

(CITES 1990), (Castañeda-Melendres *et al.* 1995), es una planta de ornato con gran demanda en el extranjero, lo que trae por consecuencia una reducción importante en las poblaciones silvestres (Arias 1994). Debido a su status, es claro que ésta especie requiere de una propagación masiva que puede ser alcanzada mediante micropropagación, la cual tiene las siguientes ventajas: 1) Se obtienen grandes cantidades de plantas a partir de pocos explantes, lo cual es más valioso en individuos escasos (Olguín & Chávez 1994). 2) Se reduce el ciclo de cultivo y se promueve la precocidad, induciendo floración temprana. 3) Se mantienen grandes “stocks” de plantas en espacios reducidos. 4) Por la condición aséptica, se facilita el intercambio de material vegetal entre distintas zonas geográficas, eliminando barreras cuarentenarias. 5) El material *in vitro* está exento del control legal que se aplica al tráfico de flora.



Figura 1. *Strombocactus disciformis*. D.R. CONABIO-SEMARNAT.

Figure 1. *Strombocactus disciformis*. D.R. CONABIO-SEMARNAT.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el Laboratorio de Biotecnología Aplicada del Centro de Investigación y Graduados Agropecuarios (CIGA) del Instituto Tecnológico Agropecuario No. 20 de Aguascalientes

(ITA 20) hoy Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes (ITEL), ubicado en el km. 18 de la Carretera Aguascalientes a San Luís Potosí. Se realizaron dos experimentos para generar callo de la cactácea *Strombocactus disciformis* (Britton & Rose 1922), en el primer experimento se subcultivaron porciones de callo en el medio de cultivo de Murashigue y Skoog (MS) al 100 % adicionado con 2.5 mg de la hormona 2-4D con 80 repeticiones, en el segundo experimento también se subcultivó callo en el mismo medio al 25 % con 3 mg de esta misma hormona 2-4D y 47 repeticiones (Aguilar-Nieto, *et al.* 1994). Ambos experimentos se realizaron en el mes de abril y tuvieron su origen poco antes, en enero de 2000 a partir de callo obtenido de explantes de ápices de plantas asépticas provenientes de semillas germinadas *in vitro*. A cada planta se le seccionó el ápice y se obtuvieron los explantes que se sembraron en el medio propicio para formar callo. Este callo, adecuado para inducir organogénesis se subcultivó para usarse en los experimentos referidos. El subcultivo se hizo seccionando con bisturí, cubos de callo semejantes, de 5 mm por lado, que se sembraron en 20 ml de medio (MS) de cultivo, dentro de frascos de vidrio apropiados. Este procedimiento se realizó en campana de flujo laminar con las condiciones de asepsia normales para evitar contaminación.

Para las mediciones en laboratorio se utilizó el siguiente material esterilizado a 121 °C durante 20 min: 4 botellas con agua destilada, 4 cajas petri, 5 aros de madera con tul de 10 cm de diámetro habilitados como cedazos, 4 vasos de precipitados de 0.5 L cada uno, 4 navajas de bisturí número 4 y sus respectivos mangos, 4 pinzas y 2 espátulas para manipular el callo. A cada callo se le midieron tres dimensiones por fuera del frasco: a) Diámetro 1 (d_1), dimensión lineal paralela al horizonte del medio y la más grande, considerando el recipiente frente al observador; b) Diámetro 2 (d_2), dimensión paralela al medio y perpendicular a d_1 y c) Altura (h), dimensión perpendicular al espejo del medio y a las anteriores. Las mediciones se hicieron con regla de 1 mm de aproximación para el experimento 1 y con vernier (calibrador) de 0.1 mm de aproximación para el experimento 2. Posteriormente, en condiciones de asepsia en campana de flujo laminar, se midió

el peso fresco a cada callo previamente medido, en una balanza analítica con 0.0001 g de aproximación, extrayendo el material del frasco a una caja petri previamente tarada. El volumen se midió colocando el material pesado en una probeta con 0.1 ml de aproximación, realizándose por desplazamiento de volumen de agua destilada estéril con volumen inicial de 30 ml. El material vegetal así manipulado se regresó a su medio de cultivo, se tapó y se recuperó para futuros trabajos. Los datos descritos se tomaron a las 4 semanas de haberse realizado la siembra. Para el primer experimento, cuya siembra fue el 19 de abril de 2000, se tomaron datos el 18 de mayo. Para el segundo experimento que se sembró el 25 abril, se tomaron mediciones el 24 de mayo. En ambos casos se registraron los datos siguientes: Número de frasco, d_1 , d_2 y h , en mm; volumen del callo, en ml; peso de la caja petri ($Tara$), peso total con callo (Pt) y peso del callo (P), obtenido de la operación $Tara - Pt$, en g.

Para estimar el volumen se consideraron las 6 fórmulas correspondientes a las figuras regulares de la Tabla 1, para considerar sólo las formas de tipo esferoide y más parecidas al modelo *in vitro*. Con base en las mediciones, se verificó y estimó la relación lineal entre el volumen y el peso fresco a través de modelos de regresión; eligiendo, entre los seis modelos de la Tabla 1, aquel que su ajuste permitiera predecir mejor el volumen. Se ajustó dicho modelo y se verificaron los supuestos empleando rutinas de cómputo implementadas en el programa R (Gentleman & Ihaka 1997).

RESULTADOS

Se presenta primero, un modelo de regresión que permite estimar el peso a partir del volumen. Posteriormente, se encuentra un modelo a través del cual es posible estimar el volumen mediante un conjunto de mediciones. Se sabe que entre peso y volumen existe una relación de tipo lineal, por lo que el empleo del análisis de regresión es justificable. Por otro lado, dado que se tienen dos experimentos diferentes, es importante considerar el posible efecto de éstos en el ajuste del modelo de regresión entre el peso fresco y el volumen. A saber,

$$Vol = \beta_0 + \beta_1 P + \beta_2 expmto \quad (1)$$

Vol es el volumen que se desea estimar, P el peso observado, $expmto$ es una variable dicotómica: 0 para el primer experimento y 1 para el segundo; y las β 's son los parámetros del modelo.

A fin de averiguar si el efecto del experimento es significativo, se realizó un análisis de regresión. Obteniéndose las estimaciones siguientes: $\beta_0 = 0.173$, $\beta_1 = 0.865$ y $\beta_2 = -0.029$, un error estándar de 0.474 y $R^2 = 0.850$; con lo que se probó la hipótesis correspondiente al efecto del experimento, $\beta_2 = 0$, resultando no-significativa ($p > 0.806$). Debido a esto, se combinó la información de ambos experimentos y se realizó un análisis de regresión a los datos de peso fresco y volumen, buscando evidencia para la relación lineal entre ambas variables; obteniéndose una correlación de $r = 0.927$, altamente significativa ($p < 0.001$), y para el modelo de regresión respectivo las estimaciones siguientes: $\beta_0 = 0.172$, $\beta_1 = 0.088$, un error estándar de 0.472 y $R^2 = 0.859$; lo que muestra un buen ajuste a un modelo lineal.

La Figura 2 muestra la dispersión de los datos obtenidos del peso fresco y volumen, mostrando una relación de tipo lineal, justificando el modelo de regresión lineal.

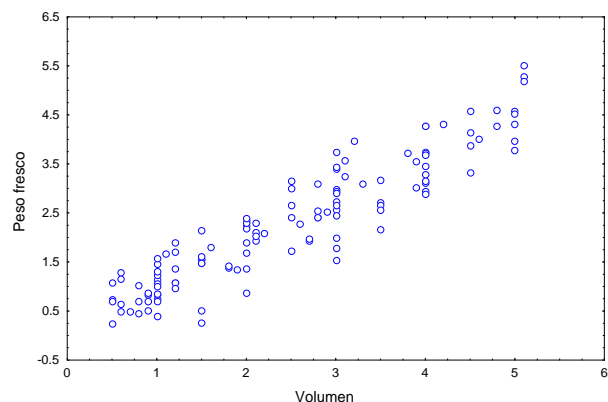


Figura 2. Gráfica de dispersión de los datos peso fresco vs volumen de callo.

Figure 2. Scatter plot of the fresh weight vs callus volume data.

Tabla 1. Figuras regulares y relación acordes a la forma del callo.
Table 1. Regular figures and relationship in agreement with the callus shape.

No.	Modelo	Relación	VARIABLES explicatorias
1	Semiesfera d_1	$\frac{\pi d_1^3}{6}$	d_1^3
2	Semiesfera con d_2	$\frac{\pi d_2^3}{6}$	d_2^3
3	Semiesfera con promedio de d 's	$\frac{\pi \left[\frac{(d_1+d_2)}{2} \right]^3}{6}$	$d_1^3 + d_1 d_2^2 + d_2 d_1^2 + d_2^3$
4	Semiesfera con promedio de d 's y h	$\frac{\pi \left[\frac{(d_1+d_2+h)}{3} \right]^3}{6}$	$d_1^3 + d_2^3 + h^3 + d_1 d_2^2 + d_1 h^2 + d_2 h^2 + d_2 d_1^2 + d_1^2 h + d_2^2 h + d_1 d_2 h$
5	Semiesfera con h	$\frac{\pi h^3}{6}$	h^3
6	Semiesfera achatada	$\frac{\pi \left(\frac{d_1+d_2}{2} \right)^2 h}{6}$	$d_1^2 h + d_1 d_2 h + d_2^2 h$

Entonces, la relación lineal entre peso fresco y volumen es razonable; sin embargo, es importante verificar los supuestos homoscedasticidad, no-autocorrelación, distribución normal de los errores y no multicolinealidad entre variables explicativas. Una herramienta comúnmente utilizada para identificar violaciones a los supuestos son las gráficas de residuales, útiles para buscar patrones sistemáticos, lo que indicaría que alguno de los supuestos no se satisface y el modelo estaría en duda. Se observó gráficamente que los residuales del análisis de regresión muestran una distribución considerablemente adecuada, ya que no existe patrón alguno. Sin embargo, para verificar el supuesto de no autocorrelación de errores, es más recomendable usar una prueba analítica. El estadístico de prueba de Durbin-Watson, d , es muy utilizado; aquí su valor fue de 1.9201, cercano a 2, y por tanto está dentro de la zona de no rechazo para la hipótesis que asevera que el patrón no aleatorio de residuales no es estadísticamente significativo. Además, la correlación serial r , fue de 0.029638, cercano a 0, lo que significa que se tiene muy poca correlación. Por lo tanto, no existe suficiente evidencia para rechazar la hipótesis de no autocorrelación (Gujarati 1981).

Aunado a lo anterior, se realizó una prueba Kolmogorov-Smirnov para la normalidad de los residuales del modelo de regresión, donde la hipótesis de normalidad no fue rechazada ($p < 0.162$), lo que

concuera con la relación lineal entre peso fresco y volumen.

DISCUSIÓN

Con lo anterior se observó que los supuestos se cumplen para este modelo, y se procedió a encontrar el mejor modelo, de la Tabla 1, para predecir el volumen a partir de mediciones no destructivas. Para la selección de modelos existen varios criterios, el del AIC (Akaike Information Criterion) mide la información contenida en un modelo, permitiendo seleccionar el modelo con mayor información (Agresti 1996). Este criterio utiliza la devianza, definida como menos dos veces el logaritmo natural de la función de verosimilitud observada. El valor del índice de AIC es la devianza más dos veces el número de parámetros estimados (Lindsey 1995). Valores pequeños de AIC hablan de buena bondad de ajuste; es decir, son preferibles.

La Tabla 2 muestra las estimaciones y valores de AIC correspondientes a los modelos propuestos en la Tabla 1, de donde el Modelo 6 tuvo mejor ajuste, dado que su valor de AIC fue el menor (76.811). Por tanto éste puede ser utilizado para obtener un mejor modelo para predecir el volumen. Para ello es importante verificar los supuestos y realizar las evaluaciones siguientes (Tabla 3).

En primera instancia se observó que, a pesar

Tabla 2. Parámetros estimados y valores AIC para los modelos de la Tabla 1 usando el programa R.
Table 2. Estimated parameters and AIC values for the models in Table 1 using the R software.

No.	Modelo	Coefficientes	Estimador	Error est.	Pr(> t) g.l.	AIC	
1	Semiesfera con la dimensión d_1 d_1^3 (v1)	(Intercepto)	1.5373	0.1302	<2e-16 ***	125	130.970
		v1	0.0374	0.0036	<2e-16 ***		
2	Semiesfera con d_2 d_2^3 (v2)	(Intercepto)	1.2718	0.1137	<2e-16 ***	125	92.155
		v2	0.0717	0.0050	<2e-16 ***		
3	Semiesfera con promedio de d 's $d_1^3 + d_1d_2^2 + d_2d_1^2 + d_2^3$ (v1 + v2 + v3 + v4)	(Intercepto)	1.2723	0.1183	<2e-16 ***	122	95.700
		v1	0.1337	0.0914	0.1460		
		v2	0.6031	0.4270	0.1600		
		v3	-0.4679	0.3492	0.1830		
		v4	-0.1963	0.1680	0.2450		
4	Semiesfera con promedio de d 's y h $d_1^3 + d_2^3 + h^3 + d_1d_2^2 + d_1h^2 + d_2h^2 +$ $d_2d_1^2 + d_1^2h + d_2^2h + d_1d_2h$ (v1 + v4 + v5 + v2 + v6 + v9 + v3 + v7 + v10 + v8)	(Intercepto)	1.0050	0.1107	3.41e-15 ***	116	83.350
		v1	-0.0043	0.1381	0.9751		
		v2	0.8638	0.4283	0.0460 *		
		v3	-0.3099	0.3299	0.3495		
		v4	-0.6388	.2789	0.0238 *		
		v5	0.6195	0.4996	0.2175		
		v6	0.2901	0.7341	0.6934		
		v7	0.4863	0.5423	0.3717		
		v8	1.6631	1.0149	0.1040		
		v9	-1.3344	1.4992	0.3753		
		v10	-1.4444	0.8193	0.0805		
5	Semiesfera con h h^3 (v5)	(Intercepto)	1.4440	.1351	<2e-16 ***	125	128.899
		v5	0.2932	0.0283	<2e-16 ***		
6	Semiesfera achatada $d_1^2h + d_1d_2h + d_2^2h$ (v7 + v8 + v10)	(Intercepto)	1.0221	0.1099	6.72e-16 ***	123	76.811
		v7	0.0304	0.0567	0.5930		
		v8	0.0869	0.0814	0.2870		
		v10	0.0326	0.1365	0.8120		
6a	$d_1^2hd_2^2h$ (Modelo 6 menos v8)	(Intercepto)	1.0193	0.1088	4.46e-16 ***	124	74.843(*)
		hd_1	0.0437	0.0099	2.35e-05 ***		
		hd_2	0.1061	0.0143	2.02e-11 ***		

Códigos de Significancia: 0 "****"; 0.01 "**".

(*) Modelo con todos los coeficientes significativos y menor valor AIC

del buen ajuste del Modelo 6, marginalmente los parámetros asociados a las variables del modelo muestran valores de p muy grandes, lo cual refiere que los efectos correspondientes no son significativos (Tabla 3). Esto puede indicar un problema de multicolinealidad, para esta situación Gujarati (1981) sugiere retirar una variable de mayor p -valor, en este caso hd_1d_2 , para obtener un modelo de regresión con dos variables. Como puede verse en la Tabla 4. todos parámetros asociados a las variables del modelo reducido muestran significancia al 0.001 %. Ahora, es posible verificar, mediante el criterio AIC, que para el Modelo 6 reducido (Modelo 6a) el valor AIC es de 74.843, siendo el más bajo. Así, el Modelo 6a se elige como el mejor.

Para verificar los demás supuestos, se graficaron los residuales estandarizados, respecto a ambas variables del modelo (Figura 3), mostrándose una adecuada distribución sin un patrón evidente, lo cual permite asumir que los residuales presentan una homoscedasticidad (varianza constante) aceptable para el uso y aplicación del Modelo 6a; omitiéndose más pruebas analíticas al respecto.

Por otro lado, se observó gráficamente la posible existencia de datos discrepantes (outliers); debido en gran medida a que la toma de datos fue realizada por tres operadores, a lo largo de ocho horas para el primer experimento y de tres para el segundo, por lo que no pudo descartarse un posible error de la lectura ó registro de las mediciones. Una

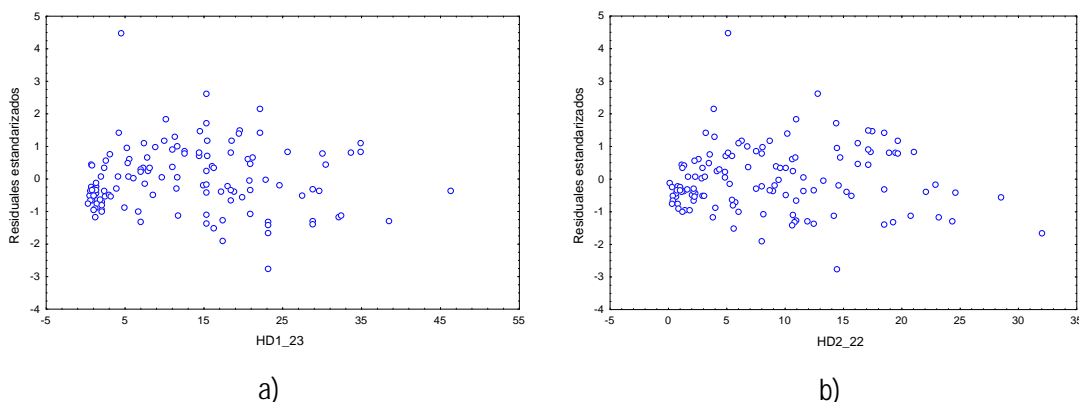


Figura 3. Gráficos de dispersión de los residuales estandarizados respecto a hd_1 a) y hd_2 b).
 Figure 3. Scatter plot of standardised residuals regarding hd_1 a) y hd_2 b).

Tabla 3. Estimaciones de los coeficientes de regresión para el modelo 6.
 Table 3. Estimations of the regression coefficients for model 6.

Coefficiente	Estimador	Error est.	Valor t	Pr (t)
(Intercepto)	1.02211	0.10993	9.297	6.72e-16 ***
hd_1	0.03041	0.05671	0.536	0.593
hd_2	0.08697	0.08140	1.068	0.287
hd_1d_2	0.03263	0.13659	0.239	0.812

Tabla 4. Estimaciones para el Modelo 6 reducido con variable la volumen como dependiente.
 Table 4. Estimations for the restricted Model 6 with the volume as the dependent variable.

	β	Err. est. de BETA	β	Err. est. de B	t (124)	p-valor
Intercepto			1.019315	0.108896	9.360450	0.000000
HD1_23	0.332028	0.075545	0.043744	0.009953	4.395116	0.000024
HD2_22	0.557330	0.075545	0.106111	0.014383	7.377478	0.000000

$R^2 = 0.70268424$ R^2 Ajustado = 0.69788883, $F(2,124) = 146.53$, $p < 0.00000$, Error estándar del estimador: 0.74511

lectura, medición u observación es influyente, sólo ó combinado con otras, si al quitarlo causa cambios sustanciales en el modelo ajustado (Weisbeg 1980), de modo que es importante identificarlas y analizarlas. Para Jobson (1991) los datos discrepantes son observaciones distantes del resto de la nube de datos. Si una medida residual estandarizada es mayor que 2, es candidata a ser eliminada. Sin embargo, no todas las observaciones que son discrepantes tienen una fuerte influencia en el modelo ajustado, en cuyo caso no deben eliminarse. Para la identificación de datos influyentes se realizó un diagnóstico estadístico para la relación e influencia de las variables como lo recomienda Jobson (1991). Las “medi-

das de influencia” que se generan son los DFBETAS para cada variable del modelo, DFFITS, razón de covarianza, distancia de Cook y los elementos de la diagonal de la matriz Hat (*hat inf*). Dado que estas medidas conducen a conclusiones muy similares, se utilizó solo uno de estos criterios: la columna correspondiente a la influencia *hat*, y se comparan los más altos valores de ésta, considerando los valores correspondientes de su residual estandarizado. A su vez, se pueden identificar los valores máximos de los residuales estandarizados y se observa su medida de influencia. En este sentido, se extrajeron los valores con mayor valor de *hat inf* y los residuales estandarizados con mayor valor absoluto, los cuales que se

Tabla 5. Valores máximos de *hat inf* y de residuales estandarizados.
Table 5. Maximum values of *hat inf* and of standardised residuals.

Obs.	Máx. valor <i>hat inf</i>	Valor corresp. Residual estand.	Obs	Máx. valor <i>hat inf</i>	Valor corresp. Residual estand.
67	0.17800	-0.362	63	0.01270	4.483
97	0.13146	-1.646	119	0.01639	-2.762
58	0.10534	-0.551	60	0.01079	2.621
86	0.10090	-1.292	98	0.05226	2.162
76	0.01244	1.848	84	0.01410	-1.906

muestran en la Tabla 5:

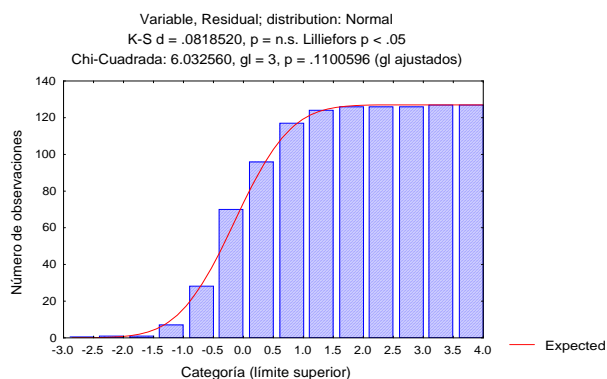


Figura 4. Prueba de normalidad para los residuales del modelo ajustado ($p > 0.05$).

Figure 4. Normality test for the residuals of the fitted model ($p > 0.05$).

Así, para que un dato sea candidato a eliminarse, debe verificarse que sea discrepante (residual estandarizado mayor que 2), y simultáneamente, que sea influyente (*hat inf* = 1 ó muy cercano) (Jobson 1991, Samprit 1991, Weisbeg 1980).

Después de eliminado, se diagnostica nuevamente, para verificar la no existencia de algún otro dato influyente, susceptible de ser eliminado si no cumple con el criterio establecido y así sucesivamente, hasta no encontrar más datos que influyan en el modelo. La Tabla 5 muestra que el dato con el mayor valor de residual estandarizado es el 63, al que corresponde un valor *hat* muy alejado de 1, por lo que no fue eliminado de la base de datos. Aquí es posible identificar el dato con el mayor valor de *hat inf*, que corresponde al mercado con el número 67, en el cual se observa que el valor del residual estandarizado queda alejado del límite establecido, lo

cual indica que no hay necesidad de excluir algún valor del conjunto de datos.

En la verificación del supuesto de no autocorrelación, *d* arrojó un valor de 1.821, y para *r*, 0.087; los cuales están comprendidos entre los correspondientes límites inferior y superior de tablas, por lo que no se rechaza la hipótesis de no autocorrelación. Finalmente, la Figura 4 muestra que la distribución de los residuales del modelo ajustado, parecen distribuirse normalmente, por lo que puede asentarse que el modelo ajustado también cumple con los supuestos correspondientes.

Con base en la evaluación anterior, el modelo seleccionado puede ser considerado un buen modelo para estimar el volumen. Además, la verificación del supuesto de normalidad ($p = 0.110$) lo hace susceptible de que los estimadores obtenidos puedan ser utilizados en pruebas de hipótesis y construcción de intervalos de confianza. De esta manera, el modelo más apropiado para estimar volumen y peso fresco es el Modelo 6a (Tabla 2), semiesfera achatada, reducido en una variable explicatoria, es decir, $d_1^2 h + d_2^2 h$. Es decir, el modelo para obtener estimaciones del volumen de callo es:

$$\hat{v} = 1.019 + 0.044(d_1^2 h) + 0.106(d_2^2 h) \quad (2)$$

Con la estimación del volumen \hat{v} , es posible estimar el peso de callo fresco \hat{P} , a través de la fórmula,

$$\hat{P} = 0.173 + 0.858(\hat{v}) \quad (3)$$

Se pudo verificar y estimar una relación lineal entre el volumen y el peso fresco. Por otra parte se encontró un modelo que permite estimar el volumen de callo a través de un conjunto de mediciones no

destructivas, de acuerdo con los objetivos planteados en el estudio. Los resultados de este proyecto pueden ayudar a obtener información preservando material vegetal valioso, pudiendo ser utilizados por

investigadores y asociaciones conservacionistas, nacionales y extranjeras interesadas en preservar recursos vegetales o reforestar zonas saqueadas, de las zonas áridas y semiáridas de México.

LITERATURA CITADA

- Agresti A (1996) An introduction to categorical data analysis. Wiley, New York. 290 pp.
- Aguilar-Nieto JA, Soria-Cruz J, Silos-Espino H, Ramos-Parra M (1994) Respuesta *in vitro* de *Strombocactus disciformis* a tres reguladores de crecimiento. Memorias: V Congreso Nacional de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agropecuario. SEP-SEIT-DGETA. Acapulco, Guerrero, México: 18-23.
- Arias S (1994) Las cactáceas como un recurso valioso. Memorias del Encuentro Internacional sobre el Impacto de la Biotecnología en el Desarrollo Sustentable. OEA/SEP/SEIT/DGETA, Aguascalientes, México: 98-106.
- Bravo-Hollis H (1978) Las cactáceas de México Vol. I. Segunda ed. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal. 743 pp.
- Bravo-Hollis H, Sánchez-Mejorada H (1991) Las cactáceas de México Vol. II. Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal. 404 pp
- Britton, NL, Rose JL (1922) The Cactaceae. Carnegie Institution, Publ. N° 248, Washington.
- Castañeda-Melendres BE, Nava-Cedillo A, García-Mendoza A, Ramos-Parra M (1995) Brotación múltiple *in vitro* de *Agave victoria reginae* T. Moore. In: VI Congreso Nacional de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agropecuario (Memorias) SEP-SEIT-DGETA. Celaya, Guanajuato, México: p 82.
- CITES (1990) - Diario Oficial de la Federación del 2 de agosto de 1993. Checklist of CITES Fauna y Flora: 146-151. Clive I, Glass C (1991) Cacti. Portland House, New York: 281-286.
- CONAZA-SEDESOL (1994) Plan de acción para combatir la desertificación en México. México, D.F. 160pp.
- Gentleman R, Ihaka R (1997) Notes on R: A programming environment for data analysis and graphics. University of Auckland. 85 pp.
- Gujarati D (1981) Econometría básica. McGraw-Hill, México, D.F. 463 pp
- Jobson JD (1991) Applied multivariate data analysis. Vol I. Springer, New York. 621 pp.
- King SM, Morehart AL (1988) Correlation of callus weight to volume of two woody species. HortScience 23(1): 219-227.
- Lindsey JK (1995) Modeling frequency and count data. Oxford University Press. USA. 304 pp.
- Manzanos R (1996) Venta ilegal de cactus en Xochimilco. Proceso 1024: 27-30.
- Olgún S, Chávez VM (1994) Regeneración *in vitro* de *Ariocarpus retusus* Scheidw., cactácea amenazada de extinción. In: 1er. Congreso Nacional de Biotecnología Agropecuaria y forestal (Resúmenes) UNAM-ANABAF. Cuautitlán, México: p 28.
- Samprit C, Price B (1991) Regression analysis by example. 2nd. ed. Wiley , New York. 278 pp.
- Sánchez-Mejorada H (1979) Saqueo de cactáceas mexicanas: una alternativa para la conservación de especies amenazadas y en peligro de extinción. Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.
- Weisbeg S (1980) Applied Linear Regression. Wiley, New York. 283 pp.