

---

## Tamaño mínimo muestral para caracteres anatómicos de *Corymbia torelliana* (F. Muell.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson.

Minimum sample size for anatomical traits of *Corymbia torelliana* (F. Muell.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson.

Gimenez, Carla A.<sup>1</sup>; Bruno, C.<sup>2</sup>, López, J.A.<sup>3</sup>; Martínez-Meier, A.<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Becaria INTA-CONICET. <sup>2</sup>Facultad Cs. Agropecuarias, UNC. UFyMA-INTA-CONICET, Córdoba. <sup>3</sup> EEA INTA Bella Vista, Corrientes. <sup>4</sup> EEA INTA Bariloche, Río Negro.

[gimenez.carla@inta.gob.ar](mailto:gimenez.carla@inta.gob.ar)

### Resumen

*Corymbia torelliana* es una especie que ha adquirido relevancia desde el punto de vista del mejoramiento genético por su tolerancia a heladas y al estrés hídrico, entre otros. Las características anatómicas de la madera y la tolerancia al frío tienen relación desde la resistencia a la cavitación del xilema en diferentes especies forestales. Por tal, es necesario realizar un análisis anatómico preciso. El objetivo de este trabajo fue determinar el tamaño mínimo de muestra (TMM) para dos variables anatómicas: diámetro de lumen y espesor de pared de fibra. Para ello se utilizó una metodología paramétrica y otra no paramétrica. Los resultados indican que el TMM para los atributos anatómicos oscilan en un rango de n= 30 – 40 mediciones para obtener una estimación con una variabilidad del 4%.

**Palabras clave:** *Tamaño mínimo de muestra, anatomía de la madera, tolerancia a heladas.*

### Abstract

*Corymbia torelliana* has become important from the perspective of forest breeding because of its tolerance to frost and water stress, among others. The anatomical traits of wood and cold tolerance are related from the resistance to xylem cavitation in different forest species. Therefore, an accurate anatomical analysis is necessary. The aim of this work was to determine the minimum sample size (MSS) for two anatomical variables: lumen diameter and fibre wall thickness. A parametric and non-parametric methodology were used. The results suggest that the MSS for anatomical traits range from n= 30 – 40 measurements to obtain an estimate with a variability of 4%.

**Keywords:** *Minimum sample size, wood anatomy, cold hardiness.*

### Introducción

*Corymbia torelliana* (F. Muell.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson es una especie nativa del norte de Queensland, Australia. Actualmente, forma parte de programas de mejoramiento genético forestal, como parental femenino para la obtención de híbridos debido a sus características adaptativas, su tolerancia a heladas y su capacidad rizogénica (Lee *et al.*, 2005; Reis *et al.*, 2014) y como especie pura en cortinas rompevientos (Rockwood *et al.*, 2022). Así como las características de adaptabilidad ambiental, la tolerancia al frío es un atributo deseable en los materiales genéticos para aquellas zonas marginales de Argentina, en donde las bajas temperaturas son letales a edades juveniles para las plantaciones comerciales.

Antecedentes en otras especies forestales indican que existe una relación entre la tolerancia al frío y las características anatómicas de madera desde su rol en la resistencia a la cavitación del xilema (Barotto *et al.*, 2018, Sperry & Sullivan, 1992). Es por ello que la cuantificación de los elementos anatómicos es de vital importancia al permitir realizar las estimaciones óptimas de los parámetros genéticos y heredabilidades, para la selección y reproducción de materiales con características deseables, como ser sus propiedades físicas y mecánicas y sus atributos ecofisiológicos (Carlquist,

2012). Sin embargo, aún no se ha dilucidado el rol de los elementos anatómicos en relación con la tolerancia a heladas para *C. torelliana* (CT).

Estudios preliminares son útiles para evitar una recolección de datos poco representativa de la población, tal que los estadísticos muestrales estimados sean inconsistentes, ineficientes y sesgados (Balzarini *et al.*, 2016). Cuando los datos son sometidos a estudios comparativos para selección de individuos con características anatómicas superiores, un tamaño muestral menor al necesario incrementa la probabilidad de cometer error de tipo II ( $\beta$ ). Un aumento de  $\beta$  provoca una disminución de la potencia de una prueba estadística ( $1-\beta$ ) para encontrar diferencias significativas. Por el contrario, al realizar un elevado número de mediciones, se incurriría en consumo de tiempo y recursos económicos innecesarios. Existen trabajos de tamaño mínimo muestral para caracteres como densidad de la madera (da Páscoa *et al.*, 2020); sin embargo, existe un vacío en el conocimiento del número de observaciones óptimo a recolectar para estimar los valores individuales de los caracteres anatómicos de CT, que represente objetivamente y con precisión las dimensiones celulares, evitando las desventajas de una subestimación. El objetivo de este trabajo fue estimar el tamaño mínimo muestral para diámetro de lumen de fibra y espesor de pared de fibra, con un nivel de precisión y confianza apropiados para realizar inferencias.

## Materiales y Métodos

Se analizaron los caracteres anatómicos, espesor de pared y diámetro de lumen de fibras, de 6 árboles de 2 años de edad plantados en un ensayo de progenies de medios hermanos, ubicados en la EEA INTA Concordia, Entre Ríos, Argentina (31°21'43" S, 58°07'16" E) El material utilizado corresponde a 6 familias de CT, seleccionadas por su fuente de semilla. (Ex-IFONA, Goya, Corrientes, Argentina (29° 16' S, 59° 13' O) para las familias denominadas 100, 103, 106 y 107; INTA, Bella Vista Corrientes, Argentina (28° 26' S, 58° 59' O) para la familia 113; y Helenvale, 25Km South of Cooktown, (QLD) SeedEnergy, Australia (15° 42' S, 145° 13' E) para la familia 117).

Para el estudio se obtuvieron muestras de madera de cada árbol a 0,5 m de altura, utilizando el barreno de Pressler. A partir de éstas, con un micrótopo de deslizamiento se obtuvieron cortes transversales para la medición de variables anatómicas. Los cortes histológicos de 25  $\mu$ m de espesor y teñidos con safranina (1% v/v), fueron montados en microscopio óptico (Olympus BH2, Japón) utilizando un aumento de 100x, y con cámara digital (Sony DSC-W100) incorporada. El procesamiento de imágenes fue realizada a través del software ImagePro-Plus, Media Cybernetics, USA.

Se midieron en las imágenes digitales de los cortes transversales los valores del espesor doble de pared de las fibras, que al dividirlos por 2 arrojan el espesor de pared ( $\mu$ m, EP), y el diámetro de lumen de las fibras ( $\mu$ m, DLF). En total se tomaron 11 imágenes por individuo analizado y de cada imagen, se obtuvieron 30 mediciones de cada variable anatómica, totalizando 330 observaciones anatómicas por individuo.

Se estimaron medidas descriptivas y estadísticos muestrales utilizados para el cálculo del tamaño muestral. Para la obtención de resultados se utilizó el software Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2022).

Se realizó una estimación paramétrica del Tamaño Mínimo Muestral (TMM) basado en la distribución t de Student según la siguiente fórmula:

$$n \leq \frac{(2 \cdot t_{1-\alpha/2} \cdot s)^2}{c}$$

Donde,  $n$  representa la cantidad de mediciones a muestrear;  $S^2$  la varianza muestral; la confianza ( $1-\alpha$ ) de la estimación, bajo el estadístico t de Student; y  $c$  la amplitud del intervalo de confianza. Se estimaron los límites del intervalo de confianza (IC) para una distribución t de Student con 3 niveles de confianza 0,90; 0,95 y 0,99.

También se realizó una estimación no paramétrica del TMM, aplicando el método de muestreo y re-muestreo con reposición *bootstrap* (Efron, 1979). El tamaño muestral ( $n$ ) fue variando de 5 en 5, es decir desde  $n=5$  hasta  $n=40$  con 500 repeticiones *bootstrap* por cada tamaño muestral.

## Resultados y Conclusiones

Se pueden observar los resultados de TMM para los dos caracteres anatómicos evaluados en cada familia de CT en la Tabla 1. La variable DLF es el carácter anatómico que presenta los valores más altos de TMM para la especie, arrojando un promedio, entre todas las familias, de TMM=33 para un IC de 95%. Tanto EP como DLF, son medidas que se utilizan en conjunto para la obtención del carácter

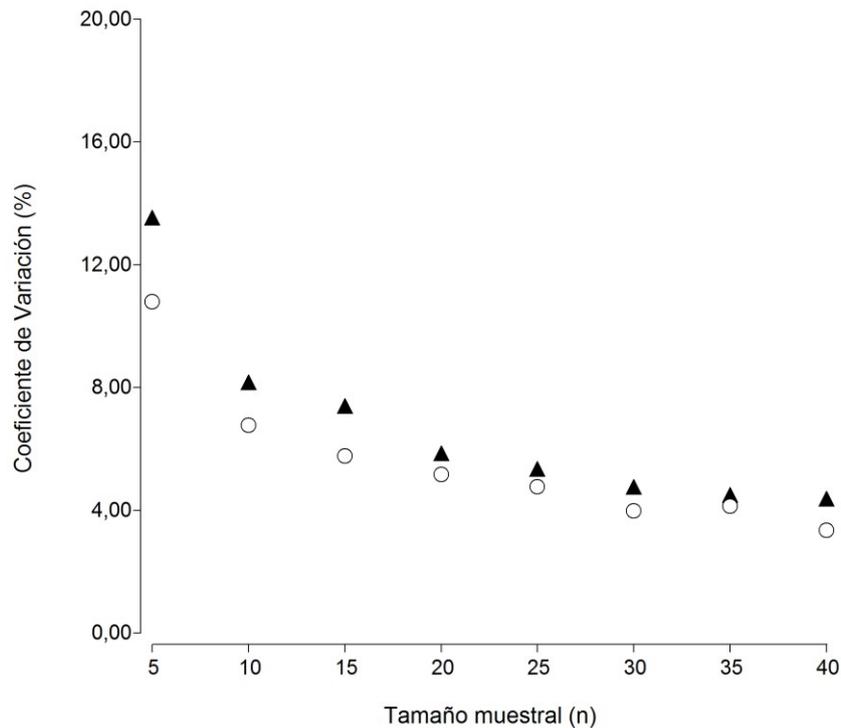
anatómico ancho de fibra. Por tal motivo, en función de los resultados obtenidos el tamaño óptimo de mediciones para ambos caracteres se encuentra dentro del intervalo  $n=30-40$ .

En la Figura 1, se grafican los valores de Coeficiente de Variación (% CV) para cada muestra *bootstrap* por carácter anatómico evaluado. Se destaca, como era de esperar que el CV disminuyó a medida que aumentó el tamaño de muestra, tanto para el carácter DLF, como para EP. Estos resultados evidencian que con un tamaño muestral de 10 mediciones, el CV de la estimación de los caracteres anatómicos EP y DLF estarían por debajo del 10%. Así mismo, también se observa que tamaños muestrales por encima de 30 medidas, tendrían una variación del 4% en la estimación de los caracteres anatómicos. Estos resultados indican que un aumento en el tamaño muestral por encima de 30 no provoca una disminución del CV.

**Tabla 1.** Estimación del tamaño mínimo muestral para los caracteres EP y DLF, con sus distintos niveles de confianza en la estimación del IC.

**Table 1.** Minimum sample size estimation for EP and DLF traits, with their different confidence levels in the CI estimation.

| Identificación del Individuo | Confianza del Intervalo | EP          |   |      |     | DLF         |   |      |     |
|------------------------------|-------------------------|-------------|---|------|-----|-------------|---|------|-----|
|                              |                         | Amplitud IC | Tamaño mínimo muestral (n) estimado para diferentes niveles de significancia ( $\alpha$ ) |      |     | Amplitud IC | Tamaño mínimo muestral (n) estimado para diferentes niveles de significancia ( $\alpha$ ) |      |     |
|                              |                         |             | 0,01  | 0,05 | 0,1 |             | 0,01  | 0,05 | 0,1 |
| 100                          | 99                      | 0,50        | 15  | 8    | 6   | 1,54        | 46  | 25   | 18  |
|                              | 95                      | 1,14        | 20  | 11   | 8   | 1,14        | 62  | 34   | 24  |
|                              | 90                      | 0,95        | 24  | 13   | 9   | 0,95        | 75  | 41   | 28  |
| 103                          | 99                      | 1,31        | 19  | 11   | 7   | 1,31        | 39  | 22   | 15  |
|                              | 95                      | 0,97        | 26  | 14   | 10  | 0,97        | 53  | 29   | 20  |
|                              | 90                      | 0,81        | 31  | 17   | 12  | 0,81        | 64  | 35   | 24  |
| 106                          | 99                      | 1,39        | 18  | 10   | 7   | 1,39        | 42  | 23   | 16  |
|                              | 95                      | 1,03        | 25  | 14   | 9   | 1,03        | 56  | 31   | 21  |
|                              | 90                      | 0,86        | 29  | 16   | 11  | 0,86        | 67  | 37   | 26  |
| 107                          | 99                      | 1,77        | 18  | 10   | 7   | 1,77        | 53  | 29   | 20  |
|                              | 95                      | 1,31        | 24  | 13   | 9   | 1,31        | 71  | 39   | 27  |
|                              | 90                      | 1,09        | 29  | 16   | 11  | 1,09        | 86  | 47   | 33  |
| 113                          | 99                      | 1,37        | 15  | 8    | 6   | 1,37        | 41  | 23   | 16  |
|                              | 95                      | 1,02        | 21  | 11   | 8   | 1,02        | 56  | 31   | 21  |
|                              | 90                      | 1,47        | 25  | 14   | 9   | 1,47        | 67  | 37   | 25  |
| 117                          | 99                      | 1,45        | 15  | 8    | 6   | 1,45        | 44  | 24   | 17  |
|                              | 95                      | 1,08        | 11  | 11   | 7   | 1,08        | 32  | 32   | 22  |
|                              | 90                      | 0,89        | 24  | 13   | 9   | 0,89        | 71  | 39   | 27  |



**Figura 1.** Estimación de la variabilidad muestral en función del tamaño muestral a través de un método no paramétrico de muestreo y re-muestreo con reposición *bootstrap*. Símbolos: triángulos representa el carácter DLF, y círculos el carácter EP.

**Figure 1.** Variability sample estimation depending on the sample size, using a non-parametric method of sampling and re-sampling with bootstrap replenishment. Symbols: triangles represent the DLF trait, circles represent the EP trait.

## Bibliografía

- Balzarini, M. G., Di Rienzo, J., Tablada, M., Gonzalez, L. A., Bruno, C., Córdoba, M., & Casanoves, F. (2012). Estadística y Biometría: Ilustraciones del uso de InfoStat en problemas de agronomía. Universidad Nacional de Córdoba. 400 pp.
- Barotto, A. J., Monteoliva, S., Gyenge, J., Martinez-Meier, A., & Fernandez, M. E. (2018). Functional relationships between wood structure and vulnerability to xylem cavitation in races of *Eucalyptus globulus* differing in wood density. *Tree Physiology*, 38(2), 243-251 p.
- Carlquist, S. (2012). How wood evolves: a new synthesis. *Botany*, 90(10), 901-940.
- da Páscoa, K. J. V., Gomide, L. R., Tng, D. Y. P., Scolforo, J. R. S., & de Mello, J. M. (2020). How many trees and samples are adequate for estimating wood-specific gravity across different tropical forests? *Trees*, 34(6), 1383-1395.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2022. Centro de Transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.
- Efron, B. (1979). Bootstrap methods: Another look at the jackknife. *Ann. Stat.* 7: 1-26 p.
- Lee, D.; Nikles, G.; Pomroy, P.; Brawner, J.; Wallace, H.; Stokoe, R. (2005). *Corymbia* species and hybrids: a solution to Queensland hardwood plantations? *Corymbia* Research Meeting. Gympie, Queensland 1-2 junio de 2005. 5-7p.
- Reis, C. A. F., de Assis, T. F., Santos, A. M., & Paludzyszyn Filho, E. (2014). *Corymbia torelliana*: estado da arte de pesquisas no Brasil. Embrapa Florestas-Documentos. 261. 48 p.
- Rockwood, D. L., Huber, D. A., Crawford, M. A., Rucks, P. C., Lamb, E., Fabbro, K. W., & Hodge, G. R. (2022). *Eucalyptus Amplifolia* and *Corymbia Torelliana* in the Southeastern USA: Genetic Improvement and Potential Uses. *Forests*, 13(1), 75. 11 p.
- Sperry, J. S., & Sullivan, J. E. (1992). Xylem embolism in response to freeze-thaw cycles and water stress in ring-porous, diffuse-porous, and conifer species. *Plant physiology*, 100(2), 605-613.