



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

**INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E  
INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS**

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES**

**PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE *Pinus leiophylla*  
SCHIEDE EX SCHLTDL. ET CHAM.**

**JUAN CARLOS CUEVAS CRUZ**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO**

**2014**

*Pinus leiophylla* SCHIEDE EX SCHLTDL. ET CHAM., realizada por el alumno: Juan Carlos Cuevas Cruz, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS**  
**POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES**

**CONSEJO PARTICULAR**


**CONSEJERO**



---

**Dr. Jesús Jasso Mata**


**ASESOR**



---

**Dr. Marcos Jiménez Casas**


**ASESOR**



---

**Dr. Javier López Upton**

**ASESOR**



---

**Dra. Virginia Rebolledo Camacho**

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO; JUNIO DEL 2014

# PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE *Pinus leiophylla* SCHIEDE EX SCHLTDL. ET CHAM

Juan Carlos Cuevas Cruz, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2014

## RESUMEN

Se probó el enraizado de estacas, acodo aéreo e injerto para clonar genotipos de un huerto semillero de *P. leiophylla*, putativamente resistentes al ataque de *Dendroctonus* sp. y *Toumeyella pinicola* Ferris. y que además muestran las mejores características fenotípicas. Con el primer método se clonó a la progenie, mientras que los otros métodos se desarrollaron para clonar a los árboles madre. En el enraizado de estacas se evaluó el efecto del sustrato, tipo de estaca y concentración de ácido indolbutírico (AIB). Se utilizaron dos tipos de sustrato (100 % de agrolita vs. una mezcla de turba-agrolita-vermiculita 1:1:1), dos tipos de estaca (apicales vs. basales) y dos concentraciones de AIB (0 vs. 10, 000 ppm). En el acodo aéreo se evaluó el efecto de cuatro concentraciones de AIB (0, 3000, 5000 y 10000 ppm), mientras que el efecto del árbol donante y tipo de púa fueron los factores considerados en el injerto. En el enraizado de estacas, usando estacas basales es 3.5 veces más probable que el enraizamiento sea inducido que con apicales, el porcentaje de enraizado entre el tratamiento de mayor y menor respuesta fue de 45.3 y 8.6 %, respectivamente. El uso de agrolita y la aplicación de AIB favorecieron un mayor número de raíces. Para el acodo aéreo utilizando las concentraciones de 3000, 5000 y 10000 ppm de AIB es 1.6, 3.2 y 12 veces más probable que el enraizamiento sea inducido que con la concentración de 0 ppm. En la propagación por injerto no fue posible realizar un análisis estadístico de los factores bajo estudio; las condiciones ambientales y la calidad de los portainjertos limitaron el prendimiento.

**Palabras clave:** Enraizado de estacas, acodo aéreo, injerto, auxina, raíces.

# **ASEXUAL PROPAGATION OF *Pinus leiophylla* SCHIEDE EX SCHLTDL. ET CHAM.**

Juan Carlos Cuevas Cruz, M.C.  
Colegio de Postgraduados, 2014

## **ABSTRACT**

In order to clone genotypes of a seed orchard of *P. leiophylla* with the better phenotypic characteristics and resistant putatively to *Dendroctonus* sp. and *Toumeyella pinicola* Ferris., rooting cuttings, air layering and grafting for vegetative propagation of genotypes of interest was performed. With the first method cloning propagation was for the offspring, whereas the other methods were developed for progenitors. In the rooted cuttings the effect of substrate, type of cutting and indolebutyric acid (IBA) concentration was evaluated. Two types of substrate (100% of perlite vs. mix of peat, perlite, vermiculite 1:1:1), two types of cuttings (apical vs. basal) and two concentrations of IBA (0 vs. 10, 000 ppm). In air layering effect of four concentrations of IBA (0, 3000, 5000 and 10000 ppm) was evaluated, while the effect of the donor tree and type of scion were the factors considered in the graft. The rooted cuttings using basal cuttings is 3.5 times more likely to be induced rooting than by apical cutting; rooting percentage between the highest and lowest treatment response was 45.3 and 8.6 %, respectively. The use of perlite and implementation of IBA favored a greater number of roots. For air layering using concentrations of 3000, 5000 and 10000 ppm IBA is 1.6, 3.2 and 12 times more likely to be induced rooting with the concentration of 0 ppm. In propagation by grafting was not possible to perform a statistical analysis of the factors under study; environmental conditions and the quality of rootstocks limited engraftment.

**Key words: Rooting cuttings, air layering, graft, auxin, roots.**

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el programa de becas del cual fui beneficiado para la realización de mis estudios.

Al Colegio de Postgraduados, por el privilegio de haber continuado mi formación académica en el Postgrado en Ciencias Forestales.

Al Centro Regional Universitario del Anáhuac de la Universidad Autónoma Chapingo, por el apoyo y facilidades otorgadas.

A los integrantes de mi Consejo Particular:

Al Dr. Jesús Jasso Mata mi más sincero agradecimiento por su apoyo sin igual, consejos y atinadas indicaciones en la realización del trabajo.

Al Dr. Marcos Jiménez Casas por su orientación y apoyo constante, le reitero mi agradecimiento, admiración por su paciencia y gran calidad como profesor y ser humano.

Al Dr. Javier López Upton por su amplio interés en la revisión de este trabajo, mi admiración y respeto por su profesionalismo y compromiso con la formación académica de un servidor.

A la Dra. Virginia Rebolledo Camacho por el apoyo y atenciones brindadas.

Al C. Luis Justino Méndez Hidalgo por su invaluable apoyo en cada una de las fases del experimento, gracias por su amistad y calidad humana.

A los Ing. Margarita Escobar, Jennifer Vargas, Liliana Muñoz y Moisés Rivera, por su apoyo y colaboración desinteresada en el presente trabajo, es un privilegio conocerles.

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a:

Mi amada esposa y amado hijo.

A mi madre y hermanos.

## CONTENIDO

RESUMEN GENERAL .....	i
GENERAL ABSTRACT.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
CONTENIDO.....	v
LISTA DE CUADROS .....	vii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPÍTULO I. EFECTO DEL SUBSTRATO, ESTACA, Y CONCENTRACIONES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (AIB), SOBRE LA CAPACIDAD DE ENRAIZADO DE ESTACAS DE <i>Pinus leiophylla</i> SCHIEDE EX SCHLTDL. ET CHAM. ....	5
RESUMEN.....	5
ABSTRACT .....	6
INTRODUCCIÓN.....	7
MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
Localización .....	9
Condiciones experimentales.....	9
Material vegetal.....	10
Diseño experimental.....	13
Plantas propagadas por semilla y plantas propagadas por estaca.....	13
Variables evaluadas y análisis de datos.....	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
Efecto del tipo de sustrato .....	17
Efecto del tipo de estaca.....	18
Efecto de la concentración de AIB.....	20
Efecto de las interacciones .....	21
Plantas propagadas por estaca y plantas propagadas por semilla.....	25
CONCLUSIONES.....	27
LITERATURA CITADA.....	28
CAPÍTULO II. EFECTO DEL ÁCIDO INDOL3-BUTÍRICO (AIB), SOBRE LA CAPACIDAD DE ENRAIZADO DE ACODOS AÉREOS DE <i>Pinus leiophylla</i> SCHIEDE EX SCHLTDL. ET CHAM. ....	32

RESUMEN .....	32
ABSTRACT .....	33
INTRODUCCIÓN.....	34
MATERIALES Y MÉTODOS.....	36
Condiciones experimentales.....	36
Selección de los genotipos .....	36
Diseño de tratamientos y experimental .....	37
Establecimiento del experimento .....	37
Variables evaluadas y análisis de datos.....	39
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	41
Efecto del árbol .....	41
Efecto de la concentración de AIB.....	43
Efecto de la interacción del árbol × AIB.....	46
CONCLUSIONES.....	49
LITERATURA CITADA.....	50
CAPÍTULO III . INJERTADO DE <i>Pinus leiophylla</i> SCHIEDE EX SCHLTDL. ET CHAM. .....	52
RESUMEN .....	52
ABSTRACT .....	53
INTRODUCCIÓN.....	54
MATERIALES Y MÉTODOS.....	57
Material vegetal: portainjertos .....	57
Material vegetal: Púas .....	58
Injerto en invierno .....	58
Injerto en primavera .....	61
Injerto en verano.....	61
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	64
Injerto en invierno .....	64
Injerto en primavera .....	66
Injerto en verano.....	69
CONCLUSIONES.....	69
LITERATURA CITADA.....	70



## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamientos con su respectiva combinación de factores usados en el experimento de enraizado de estacas de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	13
Cuadro 2. Coeficientes estimados para el modelo 1 sobre los factores considerados en el enraizamiento de estacas de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	17
Cuadro 3. Significancia estadística ( $p \leq 0.05$ ) para las variables relacionadas con la capacidad de enraizado de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	19
Cuadro 4. Comparación de medias para cada variable y factor evaluado sobre la capacidad de enraizado de estacas de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	20
Cuadro 5. Comparación de medias para cada variable y factor evaluados sobre el crecimiento de plantas de <i>Pinus leiophylla</i> , propagadas por enraizado de estacas y por semilla. .....	26
Cuadro 6. Significancia estadística (P) para las variables altura (ALT), diámetro del cuello de la raíz (DIAM), longitud de la raíz más larga (LONGR), peso seco de la parte aérea (PSA), peso seco de la raíz (PSR), relación parte aérea raíz (PA/R), índice de esbeltez (IE), índice de calidad de Dickson (ICD), y conductividad hidráulica de raíz ( $k_r$ ) de plantas de <i>Pinus leiophylla</i> propagadas por semilla y por estaca. ....	26
Cuadro 7. Características fenotípicas de los árboles seleccionados. ....	37
Cuadro 8. Significancia estadística (P) para las variables relacionadas con la capacidad de enraizado de acodos aéreos de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	41
Cuadro 9. Valores promedio del efecto del árbol sobre las variables relacionadas con el enraizado de acodos aéreos de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	42
Cuadro 10. Coeficientes estimados para el modelo 2 sobre los factores considerados en el enraizado de acodos aéreos de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	44

Cuadro 11. Valores promedio del efecto del AIB sobre las variables relacionadas con el enraizado de acodos aéreos de <i>Pinus leiophylla</i> .....	46
Cuadro 12. Valores promedio por efecto de la interacción árbol × AIB sobre las variables relacionadas con la capacidad de enraizado de acodos aéreos de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	48
Cuadro 13. Procedencia de árboles donantes del huerto semilleros sexual de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	60
Cuadro 14. Porcentaje de púas y portainjertos en las categorías establecidas durante los días posteriores al injertado de <i>Pinus leiophylla</i> .....	65
Cuadro 15. Porcentaje (%) de púas distribuidas en categorías días posteriores a su injertación en <i>Pinus leiophylla</i> .....	67

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Micro túnel que favoreció el control de la temperatura y humedad del enraizado de .. estacas de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	9
Figura 2. Charolas cubiertas con plástico que mantenían una humedad relativa alta en el enraizado de estacas de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	10
Figura 3. Brotes apicales (A) y brotes basales (B) del enraizado de estacas de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	11
Figura 4. Estacas de <i>Pinus leiophylla</i> establecidas en agrolita.....	12
Figura 5. Charolas cubiertas con plástico en el enraizado de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	12
Figura 6. Evaluación de plantas de <i>Pinus leiophylla</i> propagadas por semilla (A) y plantas propagadas por estaca (B). .....	14
Figura 7. Porcentaje de enraizado de estacas de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	21
Figura 8. Efecto de las interacciones sobre el crecimiento de la estaca durante el proceso de enraizado, efecto de la interacción tipo de sustrato × tipo de estaca, tipo de sustrato × concentración de AIB y triple interacción. ....	22
Figura 9. Efecto de las interacciones sobre el número de raíces secundarias, efecto de la interacción tipo de estaca × concentración de AIB, tipo de sustrato × concentración de AIB y triple interacción. ....	23
Figura 10. Efecto de la interacción tipo de sustrato × concentración de AIB sobre la longitud de raíces de primer orden. ....	24
Figura 11. Efecto de interacciones sobre la longitud de raíces de segundo orden: tipo de estaca × concentración de AIB (B) y triple interacción (C). ....	25
Figura 12. Temperatura promedio (T °C) y humedad relativa promedio (HR) registrada durante el experimento de acodado en árboles de <i>Pinus leiophylla</i> . ....	36

Figura 13. Acodo aéreo en un árbol de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	38
Figura 14. Diagrama de dispersión del número de raíces y diámetro de la rama acodada....	42
Figura 15. Efecto de la concentración de AIB, sobre el porcentaje de acodos enraizados, vivos y muertos en árboles de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	46
Figura 16. Temperatura media, mínima (°C) y humedad relativa (%) en el sitio del experimento. ....	59
Figura 17. Tipo de púa injertada en invierno en injertos de <i>Pinus leiophylla</i> .....	59
Figura 18. Uso de bolsa de plástico con agua para aumentar la humedad relativa en injertos de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	60
Figura 19. Tipo de púa injertada en primavera de <i>Pinus leiophylla</i> .....	61
Figura 20. Tipo de púa (A) injertada en verano, bolsa de plástico para aumentar la humedad relativa (B) en injertos de <i>Pinus leiophylla</i> . .....	62
Figura 21. Registro de temperatura y humedad relativa durante el desarrollo del experimento. ....	63

## INTRODUCCIÓN GENERAL

*Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. es una especie con amplia distribución natural en México, cuyas poblaciones se localizan desde el estado de Chihuahua hasta Oaxaca, en altitudes de 1600 a 3000 msnm (Perry, 1991); donde existen condiciones subtropicales, cálidas y templadas. La capacidad plástica de la especie para crecer en esta variedad de ambientes, que incluyen sitios con baja precipitación anual y suelos pobres en materia orgánica, ha sido factor importante para recomendar a *P. leiophylla* dentro de programas de rehabilitación y restauración de sitios degradados (Rodríguez *et al.*, 2009). Además, es una de las especies más importantes en términos económicos para la producción de resina (López *et al.*, 2005).

Es necesario germoplasma de calidad para llevar a cabo el establecimiento de plantaciones con fines diversos, pero la disponibilidad de semilla no siempre es posible, la periodicidad de producción de semilla de los árboles en bosques naturales es uno de los inconvenientes (Gómez *et al.*, 2010).

La propagación vegetativa constituye una alternativa para la multiplicación de individuos que han mostrado características superiores al resto de la población; en especies forestales obedece al interés por conservar genotipos valiosos. El enraizado de estacas, injerto y acodo, son las técnicas más utilizadas a nivel operativo en el sector forestal; ya sea para propagar progenies valiosas de familias de medios hermanos (Greenwood y Weir, 1994), para establecer huertos semilleros clonales (Mencuccini *et al.*, 2007), para conservar genotipos adaptados a las condiciones locales, o para obtener plantas de mayores dimensiones y en menor tiempo (Vacek *et al.*, 2012).

Una limitante de la propagación vegetativa en la mayoría de coníferas es que comparadas con otras especies, presentan mayor dificultad para emitir raíces en estacas y acodos, así como problemas de incompatibilidad en el injertado (Zobel y Talbert, 1984; White *et al.*, 2007); mientras que en el género *Populus*, en la propagación por estacas es posible obtener

porcentajes de enraizamiento de 22 a 86 % (Zalesny *et al.*, 2005). En el género *Pinus* se han obtenido porcentajes de enraizamiento de 5 a 73 % (Lebude *et al.*, 2004).

En el enraizamiento de estacas del género *Pinus* y en otros géneros se ha estudiado el efecto del tipo de estaca, la época de enraizado, el tipo de sustrato, el tratamiento hormonal, la reducción del área foliar para disminuir transpiración, así como la comparación de sistemas de humidificación, encontrando que dependiendo de la especie y de la interacción de los factores estudiados, es posible obtener porcentajes de enraizamiento que resultan viables a nivel operativo (Preece, 2003; Lebude *et al.*, 2004; Muñoz *et al.*, 2009).

El acodo aéreo es un método de propagación que representa una alternativa para aquellas especies de difícil enraizamiento cuando se propagan por estacas, y que no responden bien al injerto (Becerra y Plancarte, 1993). Con el acodo aéreo se obtiene una planta idéntica a la planta madre, además se propagan plantas de mayor tamaño y en un periodo de tiempo corto, en comparación con las plantas provenientes de semilla (Westcott, 2005).

La técnica del acodo aéreo en especies leñosas es pertinente cuando se han identificado individuos que se han adaptado a condiciones ambientales adversas, a fin de propagar dichos individuos y que sean considerados como portainjertos para la adaptación de árboles de interés (Amissah *et al.*, 2013). La aplicación de ácido indolbutírico (AIB) y/o ácido naftalacético (ANA), así como la época de acodado, tipo de sustrato y para algunas especies la etiolación, son los tratamientos que más se han estudiado en este método de propagación vegetativa para especies leñosas (Brenan y Mudge, 1998; Ramírez *et al.*, 2004; Amissah *et al.*, 2013).

En la propagación por injerto es primordial la formación de una unión perfecta y fuerte entre patrón e injerto, caracterizada por un crecimiento en grosor igual en ambas partes, color de la madera y corteza sin alteraciones y una unión de larga duración funcional; cuando sucede lo contrario, se menciona que existe incompatibilidad vegetativa provocada por factores endógenos y exógenos de la planta (Nieto y Borys, 1999; Zobel y Talbert, 1984).

El injerto en coníferas se ha estudiado a partir del efecto de la edad de los árboles donantes sobre patrones de diferentes edades y/o procedencias, evaluando el crecimiento vegetativo, la morfología foliar y el desarrollo reproductivo (Parker *et al.*, 1998; Mencuccini *et al.*, 2007; Greenwood *et al.*, 2010).

El presente trabajo se desarrolló con el propósito de establecer un protocolo para la clonación de árboles madre y progenie de un huerto semillero de *P. leiophylla*, evaluando el efecto de diferentes tratamientos para inducir la formación de raíces adventicias en estacas y acodos aéreos, así como el estudio de los factores que influyen durante el prendimiento de injertos.

En el primer capítulo se analiza el efecto del tipo de sustrato, tipo de estaca y nivel de concentración de ácido indolbutírico (AIB) en el enraizamiento de estacas procedentes de plantas de *P. leiophylla* de 1.5 años de edad; las estacas se establecieron bajo condiciones de invernadero; también se contrasta el crecimiento y la fisiología de la raíz entre plantas obtenidas por estaca y por semilla.

En el segundo capítulo se describe el efecto de tratamientos de AIB sobre la capacidad de enraizado de acodos aéreos realizados en árboles adultos de un huerto semillero de *P. leiophylla*, se analiza la posible relación entre las concentraciones de AIB y el genotipo, para determinar si existe algún efecto de interacción en el que se favorezca la aparición y crecimiento de la raíz; dado que se ha encontrado que en especies leñosas es posible obtener acodos aéreos con y sin la aplicación de AIB (Brenan y Mudge, 1998), incluso en especies de frutales se ha encontrado que la capacidad de enraizado de una especie, además de la aplicación de AIB también depende de la raza y el genotipo en particular (Salazar *et al.*, 2004).

El tercer capítulo aborda la propagación por injerto de *P. leiophylla*, se analizan las características de los portainjertos, las características de púas injertadas, el manejo y las condiciones experimentales en las que se desarrollaron tres experimentos en tres épocas del año. En los Estados Unidos de Norteamérica, para el establecimiento de huertos semilleros la

técnica del injerto ha sido plenamente dominada en varias especies de coníferas (Blada y Panea, 2011); sin embargo, en México solo se reporta el trabajo de Becerra y Plancarte (1993).



# CAPÍTULO I. EFECTO DEL SUBSTRATO, ESTACA Y CONCENTRACIONES DE ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (AIB), SOBRE LA CAPACIDAD DE ENRAIZADO DE ESTACAS DE *Pinus leiophylla* SCHIEDE EX SCHLTDL. ET CHAM.

## RESUMEN

Con el propósito de multiplicar progenies de familias de medios hermanos de *P. leiophylla* putativamente resistentes al ataque de plagas; se evaluaron los efectos del tipo de sustrato, tipo de estaca y concentración de ácido indolbutírico (AIB) en el enraizado de estacas de esta especie. También se evaluaron características morfológicas y fisiológicas entre plantas propagadas por semilla y plantas propagadas por estaca, determinando índices de calidad de planta. Se utilizaron dos tipos de sustratos (100 % de agrolita vs. una mezcla de turba-agrolita-vermiculita 1:1:1), dos tipos de estacas (apicales vs basales) y dos concentraciones de AIB (0 vs. 10000 ppm). Únicamente el tipo de estaca y la interacción de los tres factores tuvieron efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de enraizado, el porcentaje de enraizado entre el tratamiento de mayor y menor respuesta fue de 45.3 % y 8.6%, respectivamente. Los resultados mostraron que es 3.5 veces más probable que el enraizamiento sea inducido en la estaca basal que en la apical; el tipo de sustrato y en interacción con otros factores favoreció la producción de raíces. Con agrolita se generó mayor número de raíces primarias (2.4) y secundarias (4.5) en contraste con la mezcla (1.6 y 2.5, respectivamente). Por otro lado, la concentración de 10000 ppm de AIB favoreció un mayor número de raíces primarias comparada con la concentración de 0 ppm (2.4 vs. 1.6), mientras que combinado con agrolita hubo mayor número de raíces secundarias. Con el tipo de estaca basal se incrementa la probabilidad y porcentaje de enraizado, mientras que los demás factores (agrolita y 10000 ppm de AIB) y sus interacciones favorecen el número y longitud de raíces. No se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre plantas propagadas por semilla y plantas propagadas por estaca en la longitud de raíz, peso seco de la raíz, relación parte aérea raíz, índice de esbeltez, índice de calidad de Dickson, ni en la conductividad hidráulica; sin embargo, si hubo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la altura de la planta, diámetro del cuello de la raíz y en el peso seco de la parte aérea; mejorar las características de diámetro, altura y calidad de raíz estará en función del manejo proporcionada a las plantas.

**Palabras clave: auxina, raíces, clón, propagación.**

## ABSTRACT

The effect of substrate, type of cutting and indolebutyric acid (IBA) concentration on the rooting of cuttings of *P. leiophylla* was evaluated with the goal to multiply progenies of half-sib families of this species, which are resistant to pests putatively. Morphological and physiological characteristics between plants propagated by seed and plants propagated by cuttings were also evaluated, determining plant quality indices. Two types of substrates (100% perlite vs. mix of peat, perlite, vermiculite 1:1:1), two types of cuttings (apical vs. basal) and two concentrations of IBA (0 vs. 10,000 ppm) were used. Only the type of cutting and the interaction of the three factors had significant effect ( $p \leq 0.05$ ) in the percentage of rooted, rooting percentage between the higher and lower treatment response was 45.3% and 8.6%, respectively. The results showed that it is 3.5 times more likely to be rooted in the basal cuttings than in the apical ones; the type of substrate and interaction with other factors favored the production of roots. With agrolita were produced the greater number of primary roots (2.4) and secondary (4.5), in contrast to the mixture (1.6 and 2.5, respectively). Furthermore, the concentration of 10000 ppm of IBA favored a larger number of primary roots compared to the concentration of 0 ppm (2.4 vs. 1.6), while no increased agrolita combined with secondary roots. With the type of basal cuttings chance rooted and percentage increases, while other factors (agrolita and 10000 ppm IBA) and their interactions favor the number and length of roots. No significant differences ( $p \leq 0.05$ ) between plants propagated by seed and propagated by cuttings in the plant root length, root dry weight, part aerial root ratio, slenderness ratio, Dickson quality index, or find the hydraulic conductivity; however, if there were significant differences ( $p \leq 0.05$ ) in plant height, collar diameter and root dry weight of the aerial part; improve the characteristics of diameter and height will result in quality management function provided to the plants.

**Key words: auxin, roots, clone, propagation.**

## INTRODUCCIÓN

La propagación por medio del enraizado de estacas en el género *Pinus* a partir de brotes juveniles se realiza con el propósito de multiplicar progenie que se ha identificado como superior, a fin de obtener clones elite para reforestación y/o plantaciones comerciales (Zobel y Talbert, 1984; Greenwood y Weir, 1994; Mori *et al.*, 2011). Para favorecer el enraizado de estacas es necesario emplear tallos de características juveniles, mantener la humedad relativa alta, controlar la temperatura, definir el tamaño de estaca y el tipo de substrato (Preece, 2003).

Los protocolos que se han empleado en el enraizado de estacas del género *Pinus* involucran el uso de invernaderos, manteniendo un porcentaje de luz del 50 a 60 %, temperaturas de 23 a 26 °C durante el día y 20 a 23°C en la noche, con una humedad relativa del 60 al 99 % que se logra mediante el control del riego (Lebude *et al.*, 2004; Rosier *et al.*, 2006; Mori *et al.*, 2011).

El tipo de substrato es un factor determinante en el enraizado de estacas, una buena aireación, drenaje, capacidad de retención de humedad y no permanecer anegado durante el periodo de enraizamiento, son factores deseables (Ragonezi *et al.*, 2010). La vermiculita y mezclas de perlita con turba se han utilizado en el enraizado de *Thuja occidentalis* L., *Juniperus scopulorum* Sarg., *Abies fraseri* (Pursh) Poir., *Pinus virginiana* Mill, *Picea glauca* Moench. y *Pinus taeda* L.; sin embargo, las investigaciones indican que los requerimientos específicos de cada especie pueden ser diferentes (Ragonezi *et al.*, 2010). En *Taxodium distichum* L. se obtuvo un 53 % de enraizado y mayor número de raíces al utilizar perlita, mientras que con turba fue de 36 % y menor número de raíces (King *et al.*, 2011).

Las estacas de brotes de características juveniles presentan porcentajes de enraizado adecuados, los cuales decrecen a medida que se emplean brotes lignificados (Rosier *et al.*, 2006). Brotes semi lignificados de *Pinus virginiana* Mill. generan 47 % de enraizado, mientras que brotes lignificados presentaron 23 % de enraizado, la diferencia de edad entre los tipos de brotes fue de un año (Rosier *et al.*, 2004).

Aunque el ácido indolbutírico (AIB) ha sido una de las auxinas más efectivas en el enraizado de estacas (Preece, 2003), la respuesta también depende de la especie y/o genotipo. En *Pinus roxburghii* Sarg., al utilizar 4000 ppm de AIB se obtienen porcentajes de enraizado de 80 a 100 % y hasta 3.6 raíces por estaca dependiendo del genotipo (Sharma y Verma, 2011); mientras que en *Pinus pinaster* Ait. con y sin la aplicación de AIB se lograron porcentajes de enraizamiento superiores al 90 % y un número de raíces promedio de entre 2.9 y 3.8 por estaca (Majada *et al.*, 2011).

Además de lograr el enraizamiento de estacas en coníferas, es importante evaluar su crecimiento después del trasplante, plantas de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco, propagadas por enraizamiento de estacas, se han evaluado a partir del diámetro y calidad del sistema de raíz (Ritchie *et al.*, 1993).

Los protocolos de enraizado de estacas incluyen el empleo de infraestructura y equipo para controlar las condiciones ambientales, lo que resulta oneroso. Los objetivos del presente trabajo fueron: 1) determinar el efecto del tipo de sustrato, tipo de estaca y concentración de AIB en el enraizado de estacas de *Pinus leiophylla*, 2) comparar el funcionamiento fisiológico y comportamiento morfológico entre plantas producidas por semilla y por estaca. Además, se propone una alternativa en cuanto a la infraestructura que se puede adaptar sin realizar grandes inversiones para la clonación y propagación masiva de otras especies de *Pinus*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización

El experimento se estableció en las instalaciones del huerto semillero de *P. leiophylla* del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicado entre las coordenadas geográficas 19° 27' 34.8'' LN y 98° 54' 15.8'' LO, a una altitud de 2249 msnm, en Texcoco, Estado de México. El clima del área es templado con lluvias en verano con una precipitación media anual de 659 mm y temperatura media anual de 15.3 °C (Estación Meteorológica Montecillo).

### Condiciones experimentales

El estudio se desarrolló en un invernadero rústico con control parcial de la temperatura por medio de la apertura o cierre de cortinas, sin sistema de riego. Dentro del invernadero se instaló un microtúnel de plástico (1.80 m de ancho × 2.5 m de largo × 1.5 m de altura) (Figura 1); la temperatura promedio dentro del microtúnel durante el experimento fue de 24 °C, mínima de 19 °C y máxima de 27.5 °C.



Figura 1. Micro túnel que favoreció el control de la temperatura y humedad del enraizado de estacas de *Pinus leiophylla*.

Las estacas se establecieron en charolas de plástico de 96 cm de longitud, 46 cm de ancho y 18 cm de alto (Figura 2); las charolas fueron cubiertas totalmente con plástico transparente de calibre 200, de tal forma que la humedad y el agua producto de la transpiración de las estacas se mantuvieron dentro de las charolas. La humedad relativa al interior fue de 77 % en promedio, mínima de 65 % y máxima de 90 %. Durante los días que duró el experimento no fue necesario el riego.



Figura 2. Charolas cubiertas con plástico que mantenían una humedad relativa alta en el enraizado de estacas de *Pinus leiophylla*.

### **Material vegetal**

En el año 2011 se pusieron a germinar 800 semillas de ocho familias de medios hermanos (100 semillas por familia) del huerto semillero de *Pinus leiophylla* del Colegio de Postgraduados. A los nueve meses se trasplantaron en contenedores individuales de 310 cm<sup>3</sup> en un sustrato de turba-agrolita-vermiculita en proporción 2:1:1, y crecidas bajo condiciones de invernadero hasta los 11 meses de edad, continuando su desarrollo bajo malla sombra del 50 %.

A los 14 meses de edad la planta fue podada a una altura de 15 cm y se retiraron los brotes que la especie emite en la base del tallo. Cuatro meses después de la poda, se generaron nuevos brotes apicales y basales de 8 a 12 cm de longitud. Se aplicó una vez por semana fertilizante Peters Profesional® (0.7 g/l), durante los primeros 2.5 meses con la fórmula 7-40-

17 N-P-K, posteriormente y hasta los 4.5 meses 20-7-19 N-P-K, finalmente y hasta que se cosecharon los brotes de características juveniles se aplicó 4-25-35 N-P-K.

Para el establecimiento del experimento se tuvieron dos tipos de estaca (apical y basal). El tipo “estaca basal” representó a los rebrotes que se originan en la base del tallo de la planta y el tipo “estaca apical” se refiere a los rebrotes que surgieron en el ápice de la planta (Figura 3). Los rebrotes fueron separados de las plantas madre el mismo día en que se estableció el experimento, obteniendo estacas de 8 cm de longitud y diámetro de 1.5 a 2 mm; a cada estaca se le retiraron 2 cm de acículas a partir de su base.

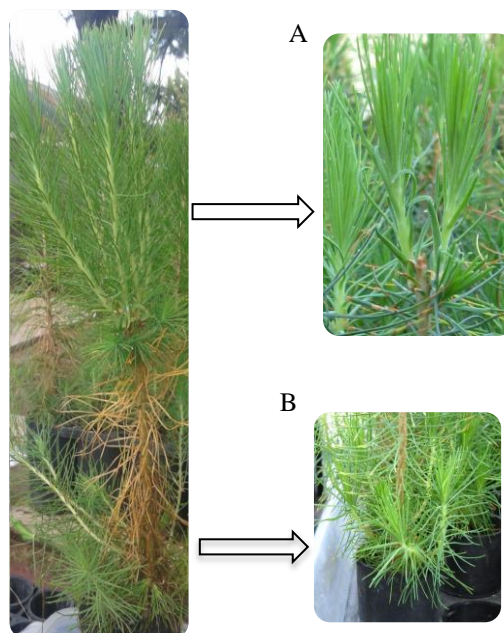


Figura 3. Brotes apicales (A) y brotes basales (B) del enraizado de estacas de *Pinus leiophylla*.

La sección basal (2 cm) de la estaca fue sumergida en el enraizador [4-(1H-Indol-3-yl) butyric acid)], eliminando el exceso; el tratamiento 0 ppm de AIB se estableció sin agregar ninguna sustancia a la estaca. Los sustratos se humedecieron a capacidad de campo utilizando agua destilada. Las estacas se colocaron en las charolas antes mencionadas con el sustrato correspondiente (Figura 4).

Las estacas se asperjaron con fungicida [N-(triclorometilitio) ciclohex-4-en-1,2-dicarboximida] ( $1\text{g l}^{-1}$ ) al momento de su establecimiento, finalmente las charolas fueron cubiertas totalmente con plástico transparente (Figura 5), propiciando un microclima donde la humedad se mantenía dentro de las charolas, de tal forma que durante los 84 días que duró el experimento, solo se aplicó un riego inicial. Transcurridos 30 días nuevamente se asperjaron las estacas con el mismo fungicida ( $1\text{g l}^{-1}$ ).



Figura 4. Estacas de *Pinus leiophylla* establecidas en agrolita.

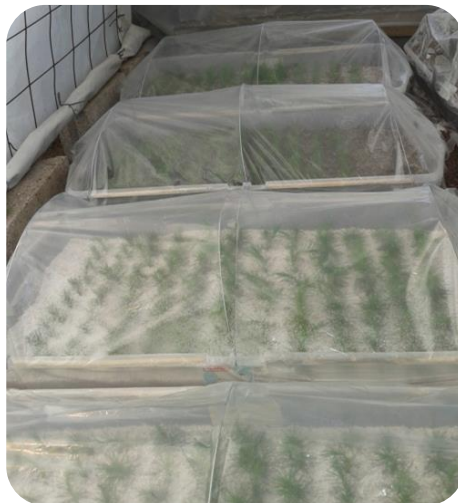


Figura 5. Charolas cubiertas con plástico en el enraizado de *Pinus leiophylla*.



## Diseño experimental

Los factores fueron dos tipos de sustrato: agrolita y una mezcla de turba-agrolita-vermiculita 1:1:1; dos tipos de estacas: basales y apicales y dos concentraciones de ácido indolbutírico: 0 y 10,000 ppm, que se combinaron en un arreglo factorial  $2 \times 2 \times 2$ , esto es 8 tratamientos (Cuadro 1), con tres repeticiones en un diseño factorial en completamente al azar.

Cuadro 1. Tratamientos con su respectiva combinación de factores usados en el experimento de enraizado de estacas de *Pinus leiophylla*.

Tratamiento	Sustrato	Estaca	AIB
1	Agrolita	Apical	-
2	Mezcla	Apical	-
3	Agrolita	Apical	+
4	Mezcla	Apical	+
5	Agrolita	Basal	-
6	Mezcla	Basal	-
7	Agrolita	Basal	+
8	Mezcla	Basal	+

Dosis de AIB/ + (10000 ppm), - (0 ppm)

## Plantas propagadas por semilla y plantas propagadas por estaca

Para dar seguimiento al comportamiento de las plantas obtenidas por propagación vegetativa, el 16 % de las estacas enraizadas (sin importar de que tratamiento provenían) fueron trasplantadas a contenedores de PVC de 4 litros, utilizando como sustrato, turba-agrolita y vermiculita en proporción 2:1:1, agregando fertilizante (Multicote® 14-7-14) de liberación controlada ( $4 \text{ kg/m}^3$ ), también se aplicó cada 15 días ( $0.7 \text{ g l}^{-1}$ ) Fertilizante Peters Profesional® (20-7-19 N-P-K); seis meses después se midieron características morfológicas y fisiológicas, realizando un comparativo entre plantas obtenidas por estaca y plantas provenientes de semilla (ambos tipos de planta permanecieron en las mismas condiciones ambientales), al momento de trasplantar las estacas, se obtuvo su altura y diámetro del cuello

de la raíz, de tal forma que las plantas propagadas por semilla presentaban el mismo diámetro y altura; sin embargo, cabe señalar que las plantas por semilla presentaban una edad de 6 meses a partir de su germinación, mientras que los brotes enraizados tenían una edad de 7 meses (4 meses para la formación del brote y 84 días para enraizar).

Para medir las variables morfológicas y fisiológicas, las plantas fueron extraídas de los contenedores (Figura 6), se registraron pesos de biomasa en fresco y se almacenaron las muestras dentro de bolsas de papel estraza, las cuales permanecieron en una estufa de secado, durante 72 horas a 70 °C obteniendo así el peso de biomasa seca de cada parte de la planta. La conductancia hidráulica de la raíz ( $K_r$ ) fue medida usando el método de presión hidrostática (Jiménez, 2009). En resumen, el sistema de raíz fue separado de la parte aérea de la planta 3 cm arriba del cuello de raíz con ayuda de una podadora de mano, y sumergida en agua destilada en un contenedor, y se trasladó a la cámara de presión de Scholander (PMS Instruments, Corvallis, OR), donde la parte del tallo, que permaneció unida al sistema radical después de la escisión, fue conectada a una pipeta graduada a través de la tapa de la cámara de Scholander para observar y cuantificar el desplazamiento de la savia. La cámara fue presurizada con aire comprimido a 0.3 MPa y después de 5 min, el flujo de agua ( $Q_v$ ) fue medido por 15 min. Siguiendo el paso anterior, la presión fue incrementada a 0.6 y 0.9 MPa y la  $Q_v$  registrada en ambas presiones. Finalmente, la  $K_r$  fue calculada a partir de la pendiente obtenida de los registros de  $Q_v$  contra la presión hidrostática y expresada como  $\text{m}^3 \text{H}_2\text{O s}^{-1} \text{MPa}^{-1} \times 10^3$ .



Figura 6. Evaluación de plantas de *Pinus leiophylla* propagadas por semilla (A) y plantas propagadas por estaca (B).

## VARIABLES EVALUADAS Y ANÁLISIS DE DATOS

A los 60 y 80 días de establecido el experimento se extrajo al azar una estaca de cada unidad experimental, revisando los avances en la formación de raíces. Con base en ambos muestreos se optó por realizar la evaluación final a los 84 días de iniciado el experimento. Se determinó la probabilidad de enraizado con base en los factores estudiados, así como el porcentaje de enraizado y crecimiento de las estacas; se consideró como estaca enraizada a aquella que presentara al menos una raíz de primer orden  $\geq 1$  cm de longitud.

En las estacas enraizadas se contaron el número de raíces de primero y segundo ordenes, midiendo la longitud de la raíz más larga para ambos tipos de raíz. Los valores promedio del número y dimensiones de raíces por estaca solo se obtuvieron en las estacas que enraizaron en cada tratamiento.

Para el análisis de datos en relación a la probabilidad de enraizado se utilizó un modelo de regresión binaria con tres predictores (factores), el factor 3 fue la concentración de ácido indolbutírico (AIB) [ $k = 1, 2$ ], el factor 2 fue el tipo de estaca [ $j = 1, 2$ ] y el factor 1, el tipo de sustrato [ $i = 1, 2$ ]. El modelo utilizado se presenta en la Ecuación 1.

$$\text{logit } p_{ijk} = \log \frac{p_{ijk}}{1-p_{ijk}} = \beta_0 + \beta_1 D1_i + \beta_2 D2_j + \beta_3 D3_k \quad (1)$$

En el modelo se asume que la variable respuesta  $y_{ijk} \sim \text{Bernoulli}(p_{ijk})$ ,  $y_{ijk} = 0$  (estaca no enraizada),  $y_{ijk} = 1$  (estaca enraizada),  $p_{ijk}$  es la probabilidad de enraizamiento y se supone que depende del tipo de sustrato, el tipo de estaca y la concentración de AIB.  $D1=1$  si tipo de sustrato es 2 (mezcla) y 0 de otro modo;  $D2=1$  si tipo de estaca es 2 (basal), 0 de otro modo; finalmente  $D3=1$  si concentración de AIB es 10000 ppm, y 0 de otro modo. El modelo fue ajustado mediante PROC LOGISTIC en el programa SAS 9.1 para Windows (SAS Institute, 2004).

Las variables relacionadas con la capacidad de enraizado de las estacas fueron analizadas con el procedimiento GLM en el programa SAS 9.1 para Windows. Para la comparación de

medias se utilizó la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). Previo al análisis de varianza la variable porcentaje de enraizado fue transformada con la función arcoseno ( $y = \arcseno \sqrt{p}$ ). Las variables de conteo (número de raíces) también fueron transformadas usando la función logaritmo natural, ( $y' = \ln(\text{conteos})$ ), dado que al analizar los datos no se ajustaron a la distribución Poisson ( $\lambda$ ), posteriormente los valores promedio fueron re-transformados a las unidades originales en ambas variables.

En cuanto al seguimiento de plantas obtenidas por enraizamiento de estacas, comparadas con plantas propagadas por semilla, se determinaron el diámetro del cuello de la raíz, altura de la planta, longitud de la raíz principal, volumen de la raíz en fresco, biomasa aérea y biomasa de la raíz. A partir de estas variables se obtuvieron cuatro índices de calidad de planta: índice de robustez (IR), relación altura del tallo: longitud de la raíz principal (AT:LR), relación peso seco de la parte aérea y el peso seco del sistema raíz (PA/SR), índice de calidad de Dickson (ICD) y como variable fisiológica se midió la conductancia hidráulica de raíz ( $K_r$ ).

Las variables morfológicas y fisiológicas de plantas propagadas mediante enraizado de estacas y plantas propagadas por semilla, se sometieron a un análisis de varianza, realizando comparación de medias (Tukey,  $p \leq 0.05$ ); los índices de calidad de planta se obtuvieron con base en la metodología descrita en Rodríguez (2008).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto del tipo de sustrato

Con base en el análisis del modelo (Ecuación 1) el tipo de sustrato no tiene efecto en la probabilidad de enraizado ( $\chi^2 = 1.0$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.31$ ) (Cuadro 2). El porcentaje de enraizado fue de 26 % en todo el ensayo; sin embargo, el tipo de sustrato no tuvo efecto ( $p \leq 0.05$ ) sobre el porcentaje y crecimiento de las estacas durante el proceso de enraizado ni en la longitud de raíces, pero si tuvo efecto ( $p \leq 0.05$ ) en el número de raíces (Cuadro 3). Se generó un mayor número de raíces de primer (2.4 vs. 1.6) y segundo orden (4.5 vs. 2.5) al utilizar únicamente agrolita como sustrato, que cuando se utilizó la mezcla de turba-agrolita-vermiculita (Cuadro 4).

El sustrato ha mostrado ser muy importante en el número y longitud de raíces; por ejemplo el uso de aserrín propicia un mayor número de raíces que la corteza de pino, atribuyéndose a que el primero presenta un pH más neutro (Santelices y Cabello, 2006), la agrolita presenta un pH de 6.5 a 7.5 en su presentación comercial; mientras que la turba es más ácida (Rodríguez *et al.*, 2010), el único riego proporcionado fue con agua destilada a fin de no modificar el pH, ya que valores neutros favorecen la rizogénesis (Hartmann y Kester, 2001). El análisis de los resultados sugiere que el uso de agrolita como sustrato es una opción viable en el enraizado de estacas de *P. leiophylla*, comparado con el sustrato de turba-agrolita-vermiculita 1:1:1.

Cuadro 2. Coeficientes estimados para el modelo 1 sobre los factores considerados en el enraizamiento de estacas de *Pinus leiophylla*.

Coeficiente	Estimador	Error estándar	$\chi^2$	P
$\beta_0$	-1.6635	0.2446	46.2524	<.0001
$\beta_1$	0.2257	0.2243	1.0121	0.3144
$\beta_2$	1.2526	0.2339	28.6895	<.0001
$\beta_3$	-0.2757	0.2245	1.5087	0.2193

## Efecto del tipo de estaca

El análisis de los factores que influyen en la probabilidad de enraizado muestra que el tipo de estaca tuvo efecto significativo ( $\chi^2 = 28.69$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.0001$ ) (Cuadro 2). El modelo indica que cuando se usa una estaca del tipo basal, la probabilidad de enraizamiento es de 3.5 veces mayor que con una estaca de tipo apical (valor obtenido a partir de la exponencial del coeficiente para los efectos del tratamiento, es decir,  $\exp(1.2526) = 3.5$  (Cuadro 2).

El tipo de estaca no afectó el crecimiento de la estaca durante el proceso de enraizado, ni el número y longitud de raíces de primer orden, pero sí tuvo efecto ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de enraizado y en el número y longitud de raíces de segundo orden (Cuadro 3). El promedio de estacas enraizadas varió de 14.9 % en estacas apicales a 38.5 % en estacas basales, mientras que el número y longitud de raíces de segundo orden es mayor en estacas basales (Cuadro 4).

El tipo de estaca y/o posición de donde se obtienen los brotes es un factor a considerar; en *Gmelina arborea* Roxb. se ha encontrado que la posición de la estaca es el único factor que influye en el porcentaje de enraizado (Ruíz *et al.*, 2005). Características del tallo de donde se toman las estacas, tales como juvenilidad, ontogenia y/o posición, así como el manejo de las plantas madre, son los factores que mayormente inciden en el porcentaje de estacas enraizadas en *Taxus globosa* Schltdl. (Muñoz *et al.*, 2009), *Pinus virginiana* Mill. (Rosier *et al.*, 2006) y *Abies fraseri* (Pursh) Poir. (Rosier *et al.*, 2005).

Cuadro 3. Significancia estadística ( $p \leq 0.05$ ) para las variables relacionadas con la capacidad de enraizado de *Pinus leiophylla*.

Fuente de variación	Estacas		Raíces			
	Enraizado	Crecimiento	Número de primer orden	Número de segundo orden	Longitud de primer orden	Longitud de segundo orden
Tipo de sustrato (S)	0.4107	0.2068	0.0194	0.0006	0.7865	0.2007
Tipo de estaca (E)	0.0008	0.0623	0.9969	0.0077	0.0543	0.0009
Concentración AIB	0.4730	0.9504	0.0194	0.6350	0.1457	0.1815
E × AIB	0.9008	0.1109	0.4865	0.0011	0.5739	0.0001
S × E	0.8153	0.0180	0.1563	0.7663	0.0934	0.8144
S × AIB	0.5659	0.0002	0.0614	0.0001	0.0053	0.2865
S × E × AIB	0.0219	0.0083	0.9381	0.0004	0.4828	0.0003

Hartmann y Kester (2001) indican que tallos del tipo apical presentan un mejor enraizamiento puesto que ahí la concentración de auxinas, sustancias promotoras del enraizamiento, es mayor, por lo que la concentración de 10,000 ppm de AIB pudo haber tenido un efecto tóxico en las estacas apicales (Houle y Babeux, 1998).

Cuadro 4. Comparación de medias para cada variable y factor evaluado sobre la capacidad de enraizado de estacas de *Pinus leiophylla*.

Factor	Estacas		Raíces			
	Enraizado (%)	Crecimiento (cm)	Número		Longitud	
			Primarias	Secundarias	Primarias (cm)	Secundarias (cm)
<b>Sustrato</b>						
Agrolita	23.6 a <sup>1</sup>	1.9 a	2.4 a	4.5 a	8.6 a	1.7 a
Mezcla	28.1 a	2.4 a	1.6 b	2.5 b	8.7 a	1.5 a
<b>Estaca</b>						
Apical	14.9 b	1.8 a	1.9 a	2.7 b	8.1 a	1.2 b
Basal	38.5 a	2.5 a	1.9 a	4.1 a	9.3 a	2.0 a
<b>AIB</b>						
0 ppm	27.8 a	2.1 a	1.6 b	3.3 a	8.2 a	1.7 a
10000 ppm	23.9 a	2.2 a	2.4 a	3.5 a	9.1 a	1.5 a
Promedio	26.1	2.1	1.9	3.4	8.6	1.6

<sup>1</sup>Valores promedio dentro de un mismo factor seguido por diferente letra indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre ellas.

### Efecto de la concentración de AIB

El análisis del modelo muestra que la concentración de AIB no tuvo efecto significativo ( $\chi^2 = 1.5$ ,  $df = 1$ ,  $p = 0.2193$ ) en la probabilidad de enraizado (Cuadro 2). La concentración de AIB únicamente tuvo efecto ( $p \leq 0.05$ ) sobre el número de raíces de primer orden (Cuadro 3); la concentración de 10,000 ppm de AIB favorece un mayor número de raíces de primer orden (2.4 vs. 1.6), que la concentración de 0 ppm de AIB (Cuadro 4); la aplicación de AIB acelera la formación de raíces (Ruíz *et al.*, 2005). En eucalipto el AIB genera mayor número de raíces (Navarrete y Vargas, 2005); mientras que en concentraciones de 0.0, 5.0, 10.0 y 15.0 g l<sup>-1</sup> de AIB (disuelto en 50% isopropyl alcohol) se incrementa linealmente ( $r = 0.70$ ) el número de raíces en *Chamaecyparis thyoides* (L.) B.S.P. (Hinesley *et al.*, 1994).



## Efecto de las interacciones

Únicamente la interacción de los tres factores (tipo de sustrato  $\times$  tipo de estaca  $\times$  concentración de AIB) tuvo efecto ( $p \leq 0.05$ ) en el porcentaje de enraizado (Cuadro 3), el cual varió de 45.3 % en el sustrato compuesto por turba-agrolita-vermiculita, con estacas basales y con 10,000 ppm de AIB a 8.6 % en agrolita como sustrato, con estacas apicales y 0 ppm de AIB (Figura 7).

El crecimiento de la estaca durante el proceso de enraizado fue afectado ( $p \leq 0.05$ ) por la interacción sustrato  $\times$  estaca, sustrato  $\times$  AIB y por la triple interacción (Cuadro 3); el sustrato de turba-agrolita-vermiculita favorece un mayor crecimiento de la estaca (3.1 cm), mientras que la mayoría de las interacciones de sustrato  $\times$  AIB y la triple interacción (Figura 8), afectan ( $p \leq 0.05$ ) el crecimiento de la estaca durante el proceso de enraizado. Los porcentajes de enraizado obtenidos en los tratamientos de *P. leiophylla* se encuentran en el rango de los obtenidos por varios autores en otras especies de *Pinus* (Lebude *et al.*, 2004; Mori *et al.*, 2011; Rosier, 2006), aunque son inferiores a los porcentajes máximos que dichos autores han obtenido; debe considerarse que la mayoría de los trabajos publicados se realizan con temperatura y humedad controlada, probándose diferentes sistemas de nebulización que en varios casos generan problemas de enfermedades (Preece, 2003). En el presente estudio, se usó tecnología “moderada” constituida por microtuneles, donde la cubierta de plástico cerrada herméticamente mantuvo la humedad relativa alta (Ramírez *et al.*, 2004) y el riego no fue necesario.

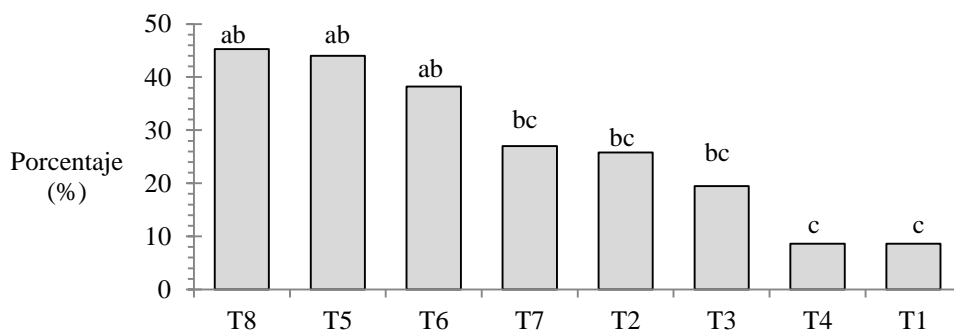


Figura 7. Porcentaje de enraizado de estacas de *Pinus leiophylla*.

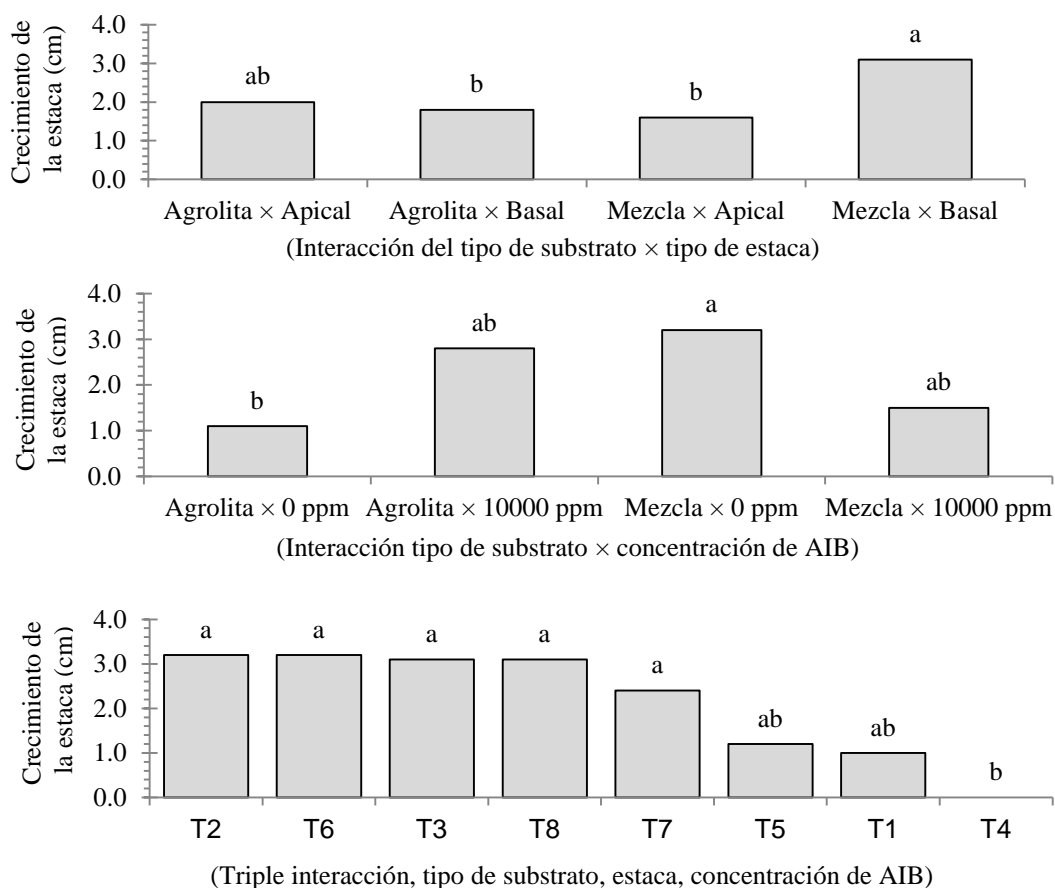


Figura 8. Efecto de las interacciones sobre el crecimiento de la estaca durante el proceso de enraizado, efecto de la interacción tipo de sustrato × tipo de estaca, tipo de sustrato × concentración de AIB y triple interacción.

El número de raíces de primer orden no fue afectado por ninguna de las interacción, mientras que el número de raíces de segundo orden mostró efecto ( $p \leq 0.05$ ) por la interacciones: tipo de estaca × AIB, tipo de sustrato × AIB y por la triple interacción (Cuadro 3). La estaca basal × 0 ppm de AIB presentó más del doble de raíces secundarias comparada con la estaca apical × 0 ppm de AIB (5.3 vs. 2.1); la agrolita × concentración de 10,000 ppm de AIB, también formó más del doble de raíces con respecto a las demás interacciones (Figura 9), finalmente la diferencia entre la triple interacción con mayor y menor número de raíces es de 8.7 raíces secundarias (10.0 vs. 1.3) (Figura 9).

Los resultados muestran que la concentración exógena de AIB favorece la formación de raíces de *P. leiophylla* dependiendo del tipo de estaca y tipo de sustrato; en *Gmelina arborea* se ha observado que la formación de raíces es favorecida por la interacción entre la concentración de AIB y el tipo de estaca (Ruíz *et al.*, 2005).

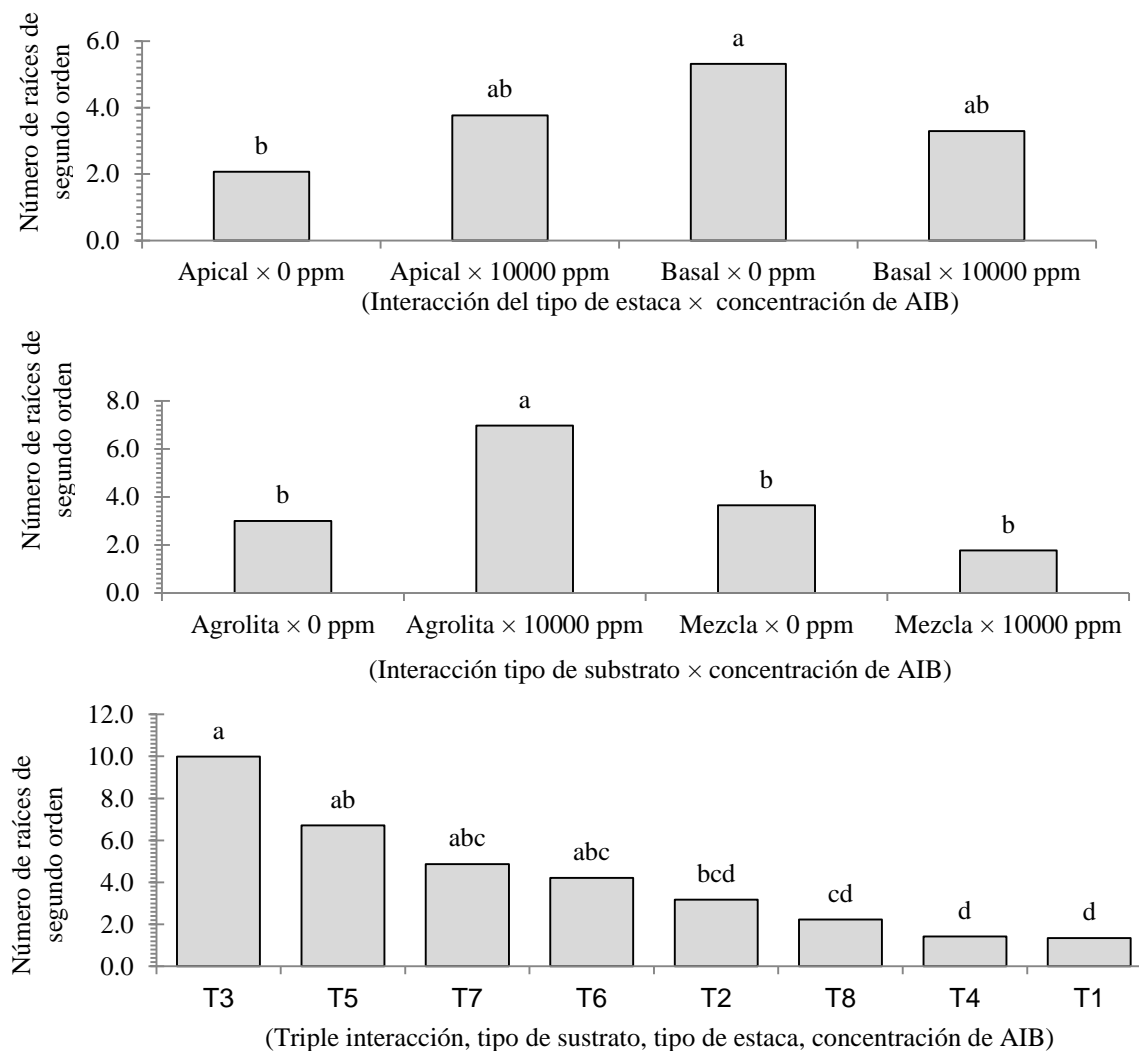


Figura 9. Efecto de las interacciones sobre el número de raíces secundarias, efecto de la interacción tipo de estaca × concentración de AIB, tipo de sustrato × concentración de AIB y triple interacción.

En relación a la longitud de raíces, únicamente la interacción tipo de sustrato × AIB tuvo efecto ( $p \leq 0.05$ ) sobre la longitud de raíces primarias (Cuadro 3), la agrolita × 10,000 ppm de AIB presentó la mayor longitud con respecto a agrolita × 0 ppm de AIB (10.0 vs. 7.1 cm) (Figura 10).

La interacción tipo de estaca × AIB y la triple interacción afectaron ( $p \leq 0.05$ ) la longitud de raíces secundarias (Cuadro 3); una diferencias de 1.6 cm se presentó entre la interacción de mayor y menor longitud para la interacción doble; en la combinación de los tres factores se observa una diferencia de 2.5 cm entre la interacción de mayor y menor longitud (Figura 11). Una mayor longitud de raíces por efecto de la interacción de factores también se ha observado en *Taxodium distichum*, obteniendo longitudes de raíz de 3.8 a 11.9 cm dependiendo del tipo de sustrato y concentración de AIB (King *et al.*, 2011).

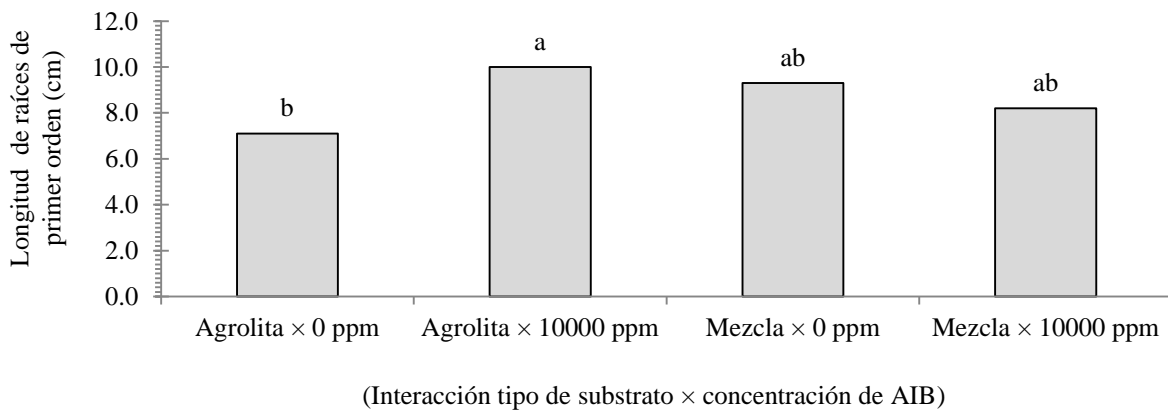


Figura 10. Efecto de la interacción tipo de sustrato × concentración de AIB sobre la longitud de raíces de primer orden.

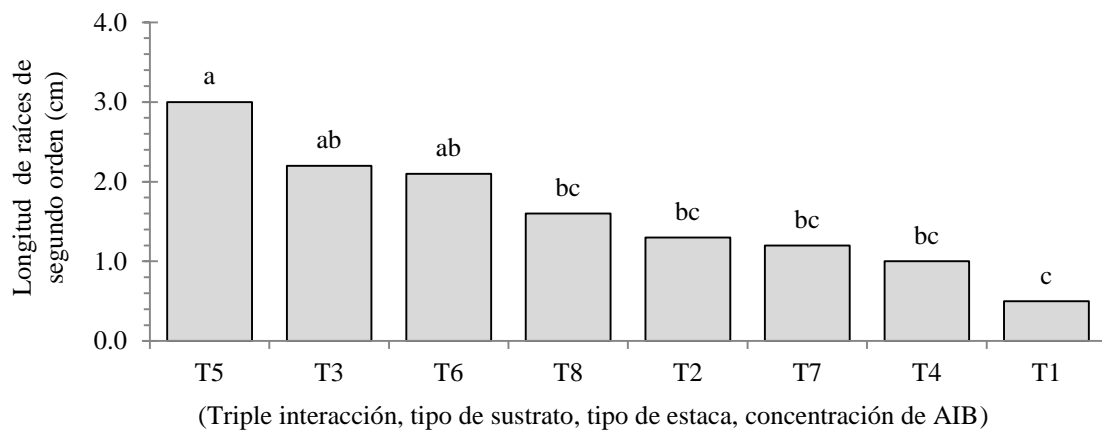
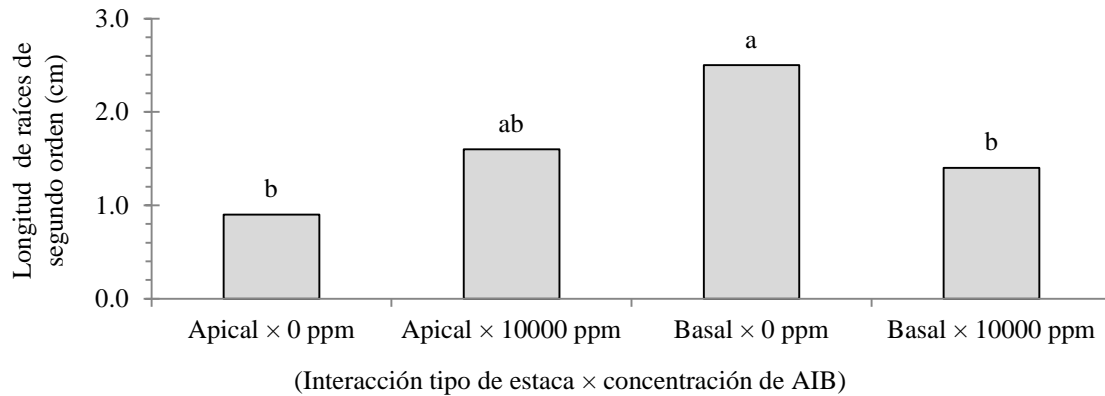


Figura 11. Efecto de interacciones sobre la longitud de raíces de segundo orden: tipo de estaca × concentración de AIB (B) y triple interacción (C).

### Plantas propagadas por estaca y plantas propagadas por semilla

El análisis de varianza entre plantas propagadas por estaca y por semilla, indica que no se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la longitud de raíz, peso seco de la raíz, relación parte aérea raíz, índice de esbeltez, índice de calidad de Dickson, ni en la conductividad hidráulica; sin embargo, si hubo diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la altura de la planta, diámetro del cuello de la raíz y en el peso seco de la parte aérea (Cuadro 6).

Cuadro 5. Comparación de medias para cada variable y factor evaluados sobre el crecimiento de plantas de *Pinus leiophylla*, propagadas por enraizado de estacas y por semilla.

Método de propagación	ALT (cm)	DIAM (mm)	LONGR (cm)	PSA (g)	PSR (g)	PA/R	IE	ICD	kr (m <sup>3</sup> s <sup>-1</sup> MPa <sup>-1</sup> )
Vegetativo	31.8 b	3.8 b	28.0 a	2.7 b	0.5 a	4.6 a	7.9 a	0.3 a	1.7x10 <sup>3</sup> a
Sexual	35.5 a	4.3 a	37.5 a	3.8 a	0.8 a	4.9 a	8.8 a	0.3 a	1.2x10 <sup>3</sup> a
Promedio	33.6	4.0	32.7	3.2	0.6	4.7	8.3	0.3	1.4x10 <sup>3</sup>

Cuadro 6. Significancia estadística (P) para las variables altura (ALT), diámetro del cuello de la raíz (DIAM), longitud de la raíz más larga (LONGR), peso seco de la parte aérea (PSA), peso seco de la raíz (PSR), relación parte aérea raíz (PA/R), índice de esbeltez (IE), índice de calidad de Dickson (ICD), y conductividad hidráulica de raíz (kr) de plantas de *Pinus leiophylla* propagadas por semilla y por estaca.

Fuente de variación	ALT	DIAM	LONGR	PSA	PSR	PA/R	IE	ICD	Kr
Método de propagación	0.0235	0.0306	0.2234	0.0152	0.0781	0.7820	0.0796	0.7049	0.6055

Las plantas propagadas por semilla mostraron mayor altura (35.5 vs. 31.8 cm), mayor diámetro del cuello de la raíz (4.3 vs 3.8 mm) y mayor peso seco de la parte aérea (3.8 vs. 2.7 g) que las plantas propagadas por estaca (Cuadro 5), en *Pseudotsuga menziesii*, se evaluó el comportamiento en campo de plantas propagadas por estaca en función del diámetro del tallo y la calidad de raíz, encontrando que plantas con diámetro < 4 mm presentan baja supervivencia, mientras que las plantas obtenidas por estaca, no muestran diferencias con plantas de semilla cuando presentan diámetro y calidad de raíz similar (Ritchie *et al.*, 1993). En el presente estudio todas las plantas obtenidas por estaca y seis meses después de su trasplante continuaron su crecimiento, sin que alguna de ellas muriera, por lo que mejorar sus características de diámetro, altura y calidad de raíz estará en función del manejo que se les proporcione.

Al no encontrar diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) en la conductividad de la raíz entre plantas de semilla y plantas por estaca, esto indica que el método de propagación no influye en el funcionamiento de la raíz. En *P. leiophylla* bajo las condiciones experimentales en que se propagaron y desarrollaron las plantas madre es posible obtener dos veces al año estacas para su enraizamiento, obteniendo en promedio 12 plantas por planta madre.

## CONCLUSIONES

El uso de estacas basales con 10,000 ppm de AIB y utilizando agrolita como sustrato es el tratamiento más factible para clonar progenie de *P. leiophylla*, la técnica y el método representa una opción accesible para la mayoría de silvicultores, además no se identifican diferencias en el funcionamiento de la raíz ni en términos de calidad de planta entre plantas obtenidas por estaca y plantas propagadas por semilla.

## LITERATURA CITADA

- Amissah, N., Akakpo, B., Yeboah, J., & Blay, E. (2013). Asexual propagation of sheanut tree (*Vitellaria paradoxa* C. F. Gaertn.) using container layering technique. *American Journal of Plant Sciences* 4: 1758-1764.
- Becerra O, E. C., & Plancarte B, A. (1993). Propagación asexual en *Pinus greggii*, injertos, enraizado de estacas y acodos aéreos. *Agrociencia, Recursos renovables* 3 (1): 97-110.
- Blada, I., & Panea, T. (2011). Improvement of grafting procedures for the ornamental species: I. *Picea pungens* Engelm. var. *glauca* Regel. *Annals of Forest Research*. 54(2): 185-196.
- Brennan, E. B., & Mudge, K. W. (1998). Vegetative propagation of *Inga feuillei* from shoot cuttings and air layering. *New Forest* 15: 37-51.
- Gómez-Jiménez, D. M., Ramírez-Herrera, C., Jasso-Mata, J., & López-Upton, J. (2010). Variación en características reproductivas y germinación de semillas de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33 (4): 297-304.
- Greenwood, M. S., Day, M. E., & Schatz, J. (2010). Separating the effects of tree size and meristem maturation on shoot development of grafted scions of red spruce (*Picea rubens* Sarg.). *Tree Physiology* 30: 459-468.
- Greenwood, M. S. & Weir, R. J. (1994). Genetic variation in rooting ability of loblolly pine cutting: effects of auxin and family on rooting by hypocotyl cuttings. *Tree Physiology* 15:41-45.
- Hartmann, H., & Kester, D. (2001). *Propagación de Plantas. Principios y Prácticas*. 8va reimpresión. Editorial Continental. México, D.F. 760 p.
- Hinesley, L. E., Blazich, F. A., & Snelling, L. K. (1994). Propagation of Atlantic white cedar by stem cuttings. *HortScience* 29 (3): 217-219.
- Houle, G., & Babeux, P. (1998). The effects of collection date, IBA, plant gender, nutrient availability, and rooting volume on adventitious root and lateral shoot formation by *Salix planifolia* stem cuttings from the Ungava Bay area (Quebec, Canada). *Canadian Journal of Botany* 76:1687:1692.



- King, A. R., Arnold, M. A., Welsh, D. F., & Watson, W. T. (2011). Substrates, wounding, and growth regulator concentrations alter adventitious rooting of Baldcypress cuttings. *HortScience* 46(10):1387–1393.
- Lebude, A. V., Goldfarb, B., Blazich, F. A., Wise, F. C., & Frampton, J. (2004). Mist, substrate water potential and cutting water potential influence rooting of stem cuttings of loblolly pine. *Tree Physiology* 24: 823-831.
- López, C., Chanfón, S., & Segura, G. (2005). La riqueza de los bosques mexicanos más allá de la madera: Experiencia de comunidades rurales. SEMARNAT, México, D. F. p. 111.
- Majada, J., Martínez-Alonso, C., Feito, I., Kidelman, A., Aranda, I., & Alía, R. (2011). Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 41:399-412.
- Mencuccini, M., Martínez-Vilalta, J., Hamid, H. A., Korakaki, E., & Vanderklein, D. (2007). Evidence for age-and size-mediated controls of tree growth from grafting studies. *Tree Physiology* 27: 463-473.
- Mori, Y., Miyahara, F., Tsutsumi, Y., & Kondo, R. (2011). Effects of combinational treatment with ethephon and indole-3-butyric acid on adventitious rooting of *Pinus thunbergii* cuttings. *Plant Growth Regulators* 63:271–278.
- Muñoz-Gutiérrez, L., Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., & Soto-Hernández, M. (2009). Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa*. *New Forests* 38: 187-196.
- Navarrete-Luna, M., & Vargas-Hernández, J. J. (2005). Propagación asexual de clones de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. utilizando radix en diferentes concentraciones. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 11 (2): 111-116.
- Nieto-Ángel, R., & Borys, M. W. (1999). Relaciones fisiológicas y morfológicas de injertos de frutales sobre tejocote (*Crataegus* spp.) como portainjerto. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5(2): 137-150.
- Parker, S. R., White, T. L., Hodge, G. R., & Powell, G. L. (1998). The effects of scion maturation on growth and reproduction of grafted slash pine. *New Forest* 15:243-259.
- Perry, J. P. (1991). *The Pines of Mexico and Central America*. Timber Press, Portland, OR.

- Preece, J. E. (2003). A century of progress with vegetative plant propagation. *HortScience* 38 (5): 1015-1025.
- Ragonezi, C., Klimaszewska, K., Castro, M. R., Lima, M., de Oliveira, P., & Zavattieri, M. A. (2010). Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors. *Trees* 24:975:992.
- Ramírez-Villalobos, M., Urdaneta-Fernández, A., & Vargas-Simón, G. (2004). Tratamientos con ácido indolbutírico y lesionado sobre el enraizamiento de estacas de icaco (*Chrysobalanus icaco* L.). *Agronomía Tropical* 54 (2): 203-218.
- Ritchie, G. A., Tanaka, Y., Meade, R. M, Duke, S. D. (1993). Field survival and early height growth of Douglas-fir rooted cuttings: relationship to stem diameter and root system quality. *Forest Ecology and Management* 60: 237-256.
- Rodríguez-Banderas, A., Vargas-Mendoza, C. F., Buonamici, A., & Vendramin, G. G. (2009). Genetic diversity and phylogeographic analysis of *Pinus leiophylla*: a post-glacial range expansion. *Journal of Biogeography* 36: 1807-1820.
- Rodríguez-Macías, R., Alcantar-González, E. G., Iñiguez-Covarrubias, G., Zamora-Natera, F., García-López, P. M., Ruíz-López, M. A., & Salcedo-Pérez, E. (2010). Caracterización física y química de sustratos agrícolas a partir de bagazo de agave tequilero. *Interciencia* 35 (7): 515-520.
- Rodríguez T., D. A. (2008). Indicadores de Calidad de Planta Forestal. Universidad Autónoma Chapingo. Mundi Prensa México. 156 p.
- Rosier, C.L., Frampton, J., Goldfarb, B., Blazich, F.A., & Wise, F. C. (2004). Growth stage, auxin type, and concentration influence rooting of Virginia pine stem cuttings. *HortScience* 39 (6): 1397-1402.
- Rosier, C.L., Frampton, J., Goldfarb, B., Wise, F.C., & Blazich, F.A. (2005). Stumping height, crow position, and age of parent tree influence rooting of stem cuttings of Fraser fir. *HortScience* 40 (3): 771-777.
- Rosier, C.L., Frampton, J., Goldfarb, B., Blazich, F. A., & Wise, F.C. (2006). Improving the rooting capacity of stem cuttings of Virginia pine by severe stumping of parent trees. *Southern Journal of Applied Forestry* 30(4): 172-181.

- Ruíz-García, R., Vargas-Hernández, J. J., Cetina-Alcalá, V. M., & Villegas-Monter, A. (2005). Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28 (4): 319-326.
- Salazar-García, S., Velasco-Cárdenas, J. de J., Medina-Torres, R., & Gómez-Aguilar, J. R. (2004). Selecciones de aguacate con potencial de uso como portainjertos. II. Respuesta al enraizamiento mediante acodos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27 (2): 183 – 190.
- Santelices, R., & Cabello, A. (2006). Efecto del ácido indolbutírico, del tipo de la cama de arraigamiento, del sustrato, y del árbol madre en la capacidad de arraigamiento de estacas de *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser. *Revista Chilena de Historia Natural* 79:55-64.
- SAS Institute. (2004). SAS/STAT 9.1 user's guide. SAS Institute, Cary, N.C.
- Sharma, S. K., & Verma, S. K. (2011). Seasonal influences on the rooting response of Chir pine (*Pinus roxburghii* Sarg.). *Annals of Forest Research* 54(2): 241-247.
- Vacek, S., Hejčmanová, P., & Hejčman, M. (2012). Vegetative reproduction of *Picea abies* by artificial layering at the ecotone of the alpine timberline in the Giant (Krkonoše) Mountains, Czech Republic. *Forest Ecology and Management* 263: 199–207.
- Westcott-Gratton, S. (2005). Air layering: a simple way to clone your camellias and many other woody plants. *ProQuest Agriculture Journals* 16 (1): p.24.
- White, T. L., Adams, W. T., & Neale, D. B. (2007). *Forest Genetics*. CABI Publishing, Cambridge, MA USA. 462 p.
- Zalesny Jr, R. S., Riemenschneider, D. E., & Hall, R. B. (2005). Early rooting of dormant hardwood cuttings of *Populus*: analysis of quantitative genetics and genotype x environment interactions. *Canadian Journal of Forest Research* 35: 918-929.
- Zobel, B., & Talbert, J. (1984). *Applied Forest Tree Improvement*. John Wiley & Sons. New York. pp: 314-316.

## **CAPÍTULO II. EFECTO DEL ÁCIDO INDOL3-BUTÍRICO (AIB), SOBRE LA CAPACIDAD DE ENRAIZADO DE ACODOS AÉREOS DE *Pinus leiophylla* SCHIEDE EX SCHLTDL. ET CHAM.**

### **RESUMEN**

Con el objetivo de clonar genotipos putativamente resistentes al ataque de dos plagas forestales se evaluó el efecto del ácido indolbutírico (AIB) en el enraizado de acodos aéreos realizados en la punta de la copa de árboles adultos. Se utilizaron cuatro concentraciones de AIB (0, 3000, 5000 y 10000 ppm). A los 170 días de haberse establecido el experimento, los acodos enraizados fueron separados del árbol madre; se determinó la probabilidad de enraizado, el porcentaje de acodos enraizados, vivos y muertos, el inicio del proceso de enraizado, número, longitud y diámetro de raíces. En las concentraciones de 3000, 5000 y 10000 ppm de AIB es 1.6, 3.2 y 12 veces más probable que el enraizamiento sea inducido que con la concentración de 0 ppm; mientras que el genotipo tuvo efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) en el inicio del proceso de enraizado, así como en el número y longitud de raíces.

**Palabras clave:** Acodo aéreo, ácido indolbutírico (AIB), enraizado, genotipo.

## ABSTRACT

In object to clone genotypes resistant putatively to attack of two forest pests, the effect of indole butyric acid (IBA) on rooting of air-layers made at the tip of the crown of mature trees was evaluated. In the experiment, IBA four concentrations (0, 3000, 5000 and 10000 ppm) were used. After 170 days under treatments, rooted layering were separated from the mother tree; likely of rooting, , the percentage of layering rooted, layering living and dead, the beginning of the process of rooting, and number, length and diameter of roots. IBA induced more rooting than the control treatment; while genotype had significant effect ( $p \leq 0.05$ ) at the start of the rooting process, as well as the number and length of roots.

**Key Words: Air layering, indole butyric acid (IBA), rooted, genotype.**

## INTRODUCCIÓN

La propagación vegetativa representa una alternativa para conservar y multiplicar genotipos superiores del huerto semillero; el acodo aéreo resulta ser un método factible ya que garantiza la clonación de los árboles madre (Sánchez *et al.*, 2009); sin embargo la información es escasa en el género *Pinus*.

El acodo de ramas se ha empleado con el propósito de conservar y multiplicar poblaciones de especies donde las condiciones ambientales no permiten la propagación por semilla (Vacek *et al.*, 2012). Es el método de propagación más viable para obtener porta injertos genéticamente uniformes. (Salazar *et al.*, 2004); los géneros *Ilex* spp., *Syringa* spp., y *Hamamelis* spp. y *Acer palmatum* Thunb., son propagados mediante acodo aéreo (Westcott, 2005).

El genotipo y el diámetro de la rama acodada es determinante en el número de raíces que puedan generarse; en *Myrciaria dubia* (H.B.K.), genotipos plenamente identificados en combinación con acodos en ramas gruesas (2.1 a 2.6 cm) generaron 20.3 raíces, mientras que en ramas delgadas (1.5 a 2.0 cm) el número de raíces fue de 12.0 raíces. (Liao *et al.*, 2012).

La vitalidad de los árboles madre también influye en la sobrevivencia de las ramas acodadas, en *Picea abies* (L) H. Karst, ramas acodadas de árboles vigorosos presentaron 0 % de mortandad, mientras que ramas acodadas de árboles madre poco vigorosos, tuvieron un 69 % de mortandad (Vacek *et al.*, 2012).

El ácido indolbutírico (AIB) ha sido un factor importante en el éxito del acodo aéreo, en *Magnolia grandiflora* L. empleando AIB, ácido naftaleno acético (ANA) y ácido indolacético (AIA), el mejor resultado se obtuvo con AIB a una concentración de 200 mg L<sup>-1</sup> después de 335 días (Hernández y Almeida, 2010); en *Inga feuillei* utilizando AIB al 0.3 %, después de tres semanas el 96 % de los acodos aéreos mostraba raíces (Brennan y Mudge, 1998), mientras que en *Plinia trunciflora* DC. empleando 0, 4000 y 6000 mg L<sup>-1</sup> de AIB, la concentración de 4000 mg L<sup>-1</sup> resulto ser la más eficiente para la inducción de raíces (Andrigo *et al.*, 2006).

El acodo aéreo es la técnica utilizada para la propagación comercial de *Ficus* (Dolgun and Tekintas, 2008) y litchi (Ali-Awan *et al.*, 2000); sin embargo, en especies del género *Pinus* existe poca información al respecto y aunque puede no ser un buen método para producir plantas del género *Pinus* a nivel comercial, si representa una alternativa para conservar y multiplicar genotipos de interés, especialmente si el injerto y/o el enraizado de estacas es difícil.

En un huerto semillero sexual de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. *et* Cham., establecido en 1991 en Montecillo, Texcoco, Edo. de México, permanecen 91 de los 180 árboles plantados (Jasso y Jiménez, 1994), los cuales han crecido en un suelo salino con pH de hasta 7.6, durante su crecimiento han mostrado resistencia al ataque de plagas (López y Estañol, 2006; Jiménez y Jasso, 2011) y se han identificado los genotipos con (Gómez *et al.*, 2010).

En este trabajo se evaluó el efecto de la concentración de ácido indolbutírico (AIB) sobre la capacidad de enraizado de acodos aéreos en genotipos de un huerto semillero de *Pinus leiophylla*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Condiciones experimentales

El experimento se desarrolló en un huerto semillero sexual de *Pinus leiophylla*, ubicado entre las coordenadas geográficas 19° 27' 34.8'' LN y 98° 54' 15.8'' LO, a una altitud de 2249 msnm, en Texcoco, Estado de México; sitio que se encuentra a orillas de lo que fue el vaso del lago de Texcoco, con suelos salinos. La temperatura y humedad relativa del ambiente fueron tomadas mediante un sensor digital con capacidad de almacenamiento de datos (data logger), registrando los promedios de temperatura y humedad relativa por día, durante los 170 días que duró el experimento (Figura 12). Los promedios de temperatura y humedad relativa, durante el desarrollo del experimento fueron de 17.1 °C y 72.2 %, respectivamente.

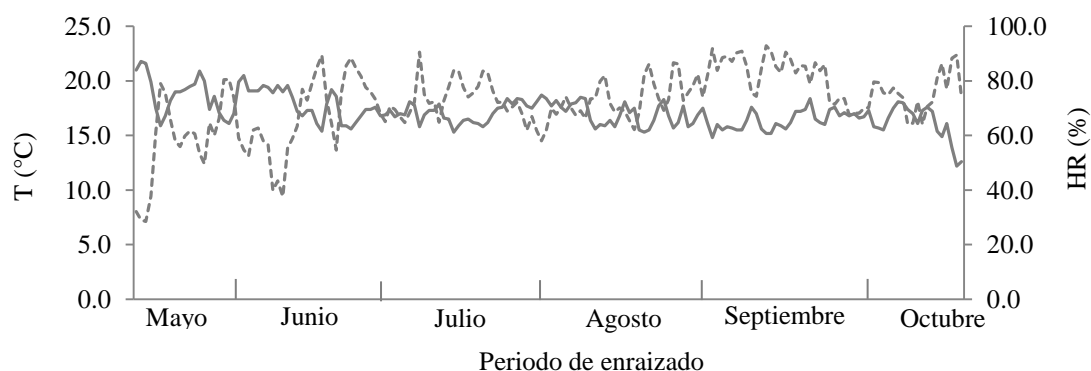


Figura 12. Temperatura promedio (T °C) y humedad relativa promedio (HR) registrada durante el experimento de acodado en árboles de *Pinus leiophylla*.

### Selección de los genotipos

Diez genotipos del huerto semillero fueron identificados como putativamente resistentes al ataque de *Dendroctonus* sp. y *Toumeyella pinicola* Ferris. también muestran la mayor producción de conos y semillas, así como mayores crecimientos en altura y diámetro, sin



embargo únicamente fueron seleccionados cuatro (Cuadro 7), ya que el resto no mostraba el suficiente número de ramas.

Cuadro 7. Características fenotípicas de los árboles seleccionados.

Árbol madre	Edad (años)	Altura (m)	DAP <sup>1</sup> (cm)	Altura de copa (m)	Rectitud de fuste	Grosor de ramas	Ángulo de ramas	Follaje	Daños por plagas	Puntaje
09 (A)	24	19.0	58.0	4.5	3	2	3	4	4	16
11 (B)	24	22.0	50.0	15.0	4	2	2	5	4	17
51 (C)	24	22.5	50.5	12.0	4	2	2	5	4	17
101 (D)	24	20.0	60.0	4.0	4	2	2	4	4	16

Rectitud de fuste: Recto (4), ligeramente torcido (3), medianamente torcido (2), muy torcido (1).

Grosor de ramas principales: Delgadas (3), medianas (2), gruesas (1).

Ángulo de ramas: Agudo (3), normal (2), recto (1).

Follaje: totalmente verde (5), clorótico en algunas ramas (4), clorótico en 1/3 del árbol (3), clorótico en 2/3 del árbol (2), clorótico en todo el árbol (1).

Daños por *Dendroctonus* sp.: Sin daño (5), daño mínimo (4), daño en 1/3 del árbol (3), daño en 2/3 del árbol (2), daño en todo el árbol (1).

DAP: Diámetro a la altura del pecho.

## Diseño de tratamientos y experimental

Los factores probados fueron cuatro concentraciones de ácido indolbutírico (AIB) (0, 3000, 5000, 10000 ppm) y cuatro árboles madre, siendo 16 tratamientos, con 4 réplicas. La unidad experimental fue una rama acodada.

## Establecimiento del experimento

Los acodos aéreos se realizaron en la segunda semana de mayo de 2013. Las ramas acodadas se ubicaron en la sección más alta de cada árbol (a una altura promedio de 17 m), para ello se hizo uso de equipo de escalado y seguridad, así como cuerdas y “garrochas” a fin de alcanzar y sujetar las ramas aproximándolas al tronco del árbol.

Cada concentración de AIB (0, 3000, 5000 y 10000 ppm) estuvo representada en cuatro ramas por árbol, una rama por cada cuadrante en los que se dividió cada árbol, siguiendo la orientación de los puntos cardinales. Se seleccionaron ramas con un diámetro  $\geq 1.0$  cm y  $\leq 2.5$

cm y con una longitud  $\geq 0.5$  m y  $\leq 1.30$  m, además debían presentar crecimiento activo de la yema apical. Al ser árboles adultos, la mayoría no presentaba el suficiente número de ramas con las características de interés; de ahí la razón del pequeño número de árboles y acodos realizados.

Se realizó un anillado de 1 cm de ancho utilizando una navaja (Victorinox ®), abarcando la circunferencia de la rama y eliminando el tejido de la corteza. Posteriormente en la parte anillada se agregó AIB de acuerdo con la concentración correspondiente, el AIB se aplicó en polvo utilizando guantes de plástico desechable, formando una delgada capa del producto enraizador, esparciéndola perimetralmente en el área anillada quedando así impregnada del producto. Enseguida se colocó como sustrato turba humedecida, la cual fue envuelta con plástico transparente (20 x 30 cm) asemejando un “tamal”, los extremos de la envoltura se ataron con rafia (Figura 13) y en la rama acodada se sujetó una cinta con un color específico para cada tratamiento de (AIB). Una vez concluido el acodado de la rama (s) éstas se dejaban en su posición original, retirando así la cuerda que sirvió para sujetarla. Con el propósito de mantener la humedad del sustrato cada 15 días se aplicó en promedio 60 ml de agua destilada por acodo, utilizando jeringas de 60 ml.



Figura 13. Acodo aéreo en un árbol de *Pinus leiophylla*.

## VARIABLES EVALUADAS Y ANÁLISIS DE DATOS

Se evaluó el número de acodos aéreos enraizados 170 días después de haberlos realizado. Se consideró que un acodo había enraizado si se observaban un mínimo de cuatro raíces con longitud mayor o igual a 5 cm; las ramas que cumplieron con estas características, fueron separadas del árbol madre y se midió su diámetro y longitud.

En el experimento se registró i) el porcentaje de enraizado; ii) el inicio del proceso de enraizado (definido como el número de días en que se observó la aparición de las primeras raíces en las ramas acodadas); iii) el número de raíces por acodo, y iv) la longitud y diámetro de la raíz más larga; para las mediciones se utilizaron una regla flexible y un vernier digital (DIGIMATIC).

Para estudiar la probabilidad de enraizado se utilizó un modelo de regresión binaria con dos predictores (factores), el factor 2 fue el árbol [ $j = 1, \dots, 4$ ] y el factor 1 fue la concentración de auxina [ $i = 1, \dots, 4$ ], modelando la probabilidad de que un acodo pueda enraizar, pudiendo tomar dos valores 0 (acodo no enraizado) ó 1 (acodo enraizado). En el modelo (ec. 2) se asume que la variable respuesta  $Y \sim \text{Bernoulli}(p)$ . El modelo fue analizado mediante PROC LOGISTIC en el programa SAS 9.1 para Windows (SAS Institute, 2004).

$$\text{logit } p_{ij} = \log \frac{p_{ij}}{1-p_{ij}} = \beta_0 + \beta_1 D'_{1i} + \beta_2 D'_{2i} + \beta_3 D'_{3i} + \beta_4 D_{1j} + \beta_5 D_{2j} + \beta_6 D_{3j} \quad (\text{ec. 1})$$

Donde  $D'_1, D'_2, D'_3$  y  $D_1, D_2, D_3$  son variables indicadoras utilizadas para incluir el efecto de los tratamientos y se obtienen con el métodos de la celda de referencia (Hosmer y Lemeshow, 2000), como se muestra a continuación.

Árbol	$D'_1$	$D'_2$	$D'_3$	Auxina	$D_1$	$D_2$	$D_3$
1	0	0	0	0	0	0	0
2	1	0	0	3000	1	0	0
3	0	1	0	5000	0	1	0
4	0	0	1	10000	0	0	1

Las variables (porcentaje de enraizado, inicio de enraizado, número de raíces, longitud y diámetro de la raíz) se analizaron con el procedimiento GLM en el programa SAS 9.1 para Windows; para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ), realizando comparaciones múltiples mediante la corrección Bonferroni. Previo al análisis de varianza la variable porcentaje de acodos enraizados fue transformada con la función arcoseno ( $y = \arcseno \sqrt{p}$ ). Las variables de conteo (inicio de enraizado y número de raíces) también fueron transformadas usando la función logaritmo natural, ( $y' = \ln(\text{conteos})$ ), dado que al analizar los datos no se ajustaron a la distribución Poisson ( $\lambda$ ), posteriormente los valores promedio fueron re-transformados con la función seno [ $y' = \text{seno}(y)^2$ ] para la variable porcentaje y con la función [ $y'' = \exp(y')$ ] para las variables de conteo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Efecto del árbol

Los resultados del modelo (ec. 1) muestran que el árbol no tiene efecto en la probabilidad de acodos enraizados ( $\chi^2 = 1.3810$ ,  $df = 3$ ,  $P = 0.7100$ ). Del total de acodos aéreos realizados, el 25.6 % formó raíces adventicias. El árbol no tuvo efecto ( $p \leq 0.05$ ) sobre el porcentaje de enraizado, acodos vivos, acodos muertos, ni en el diámetro de la raíz (Cuadro 8); pero si afectó ( $p \leq 0.05$ ) el inicio del proceso de enraizado, una diferencia de 14.3 días se identificó entre el árbol de mayor y menor prontitud para la emisión de raíces (Cuadro 9). El árbol también mostró efecto ( $p \leq 0.05$ ) en el número y longitud de raíces; la diferencia entre el árbol con mayor número de raíces (árbol B) con respecto al de menor número (árbol A) fue de aproximadamente cuatro veces más raíces (24.5 vs. 6.3), ocurre lo contrario en la longitud de raíz, pues el árbol con menor número de raíces, genera mayor longitud de las mismas (Cuadro 9).

Cuadro 8. Significancia estadística (P) para las variables relacionadas con la capacidad de enraizado de acodos aéreos de *Pinus leiophylla*.

Fuente de variación	Acodos				Raíces		
	Enraizado (%)	Vivos (%)	Muertos (%)	Inicio del enraizado (días)	Número de raíces	Longitud de la raíz más larga (cm)	Diámetro de la raíz más larga (mm)
Árbol	0.7536	0.3699	0.6846	0.0453	0.0316	0.0103	0.1787
AIB	0.0195	0.7822	0.0105	0.0593	0.1686	0.3127	0.7944
Árbol x AIB	0.7963	0.9040	0.8646	0.0476	0.0111	0.0053	0.9449

Cuadro 9. Valores promedio del efecto del árbol sobre las variables relacionadas con el enraizado de acodos aéreos de *Pinus leiophylla*.

Árbol	Inicio del enraizado (días)	Número de raíces	Longitud de la raíz más larga (cm)	Diámetro de la raíz más larga (mm)
A	120.0 ab <sup>1</sup>	5.9 c	10.8 a	2.4 a
B	115.0 a	24.3 a	7.5 b	3.8 a
C	129.1 b	6.9 c	6.3 c	2.4 a
D	129.4 b	11.2 b	10.3 a	2.2 a
Promedio	123.3	12.5	8.7	2.7

<sup>1</sup>Valores con diferente letra en columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

Se encontró que el número de raíces mantiene cierta correlación con el diámetro de la rama acodada (Figura 14). El número de raíces se incrementa en relación al diámetro de la rama acodada ( $r = 0.77$ ,  $p = 0.0001$ ). La longitud de la rama acodada no mostró correlación sobre alguna de las variables evaluadas.

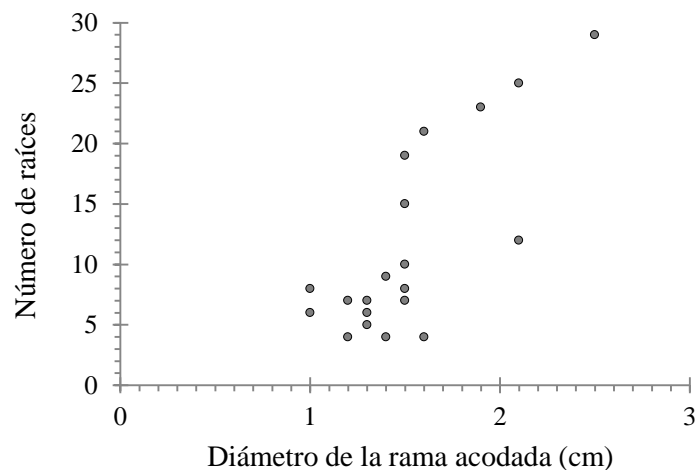


Figura 14. Diagrama de dispersión del número de raíces y diámetro de la rama acodada.

Al parecer la respuesta se encuentra en función de las características de la rama acodada, ya que las ramas con mayor diámetro presentaron mayor número de raíces. Resultados similares fueron reportados por Dolgun y Tekintas (2008) en *Ficus carica* L. donde el número de raíces fue mayor en acodos realizados en la parte inferior de la planta (11.0 a) que en la parte media (8.2 b) o superior (6.6 c); concluyendo que se debe a que en la parte inferior, los árboles madre presentan ramas de mayor diámetro y longitud; en tanto Liao *et al.* (2012) en *Myrciaria dubay*, encontró que genotipos con diámetro grueso (2.1 a 2.6 cm) generan mayor número de raíces (20.3 vs. 12.8) comparados con genotipos de diámetro delgado (1.5 a 2.0 cm). Esto se confirma con la correlación obtenida en el presente estudio entre el número de raíces y el diámetro de la rama (Figura 14), indicando que un árbol madre con diámetro de ramas acodadas > 2.0 cm generará mayor número de raíces.

### **Efecto de la concentración de AIB**

El análisis del modelo (ec. 1) muestra que la concentración de ácido indolbutírico (AIB) tiene efecto en la probabilidad de acodos enraizados ( $\chi^2 = 9.7702$ ,  $df = 3$ ,  $P = 0.0206$ ), la concentración de 10000 ppm de AIB, presenta 12.4 veces más probabilidad de enraizado de acodos aéreos en comparación con la de 0 ppm de AIB (valor obtenido a partir de la exponencial del coeficiente para los efectos del tratamiento, es decir,  $\exp(2.5206) = 12.4$  (Cuadro 10); las concentraciones de 5000 y 3000 ppm de AIB presentan una probabilidad de enraizado de 1.6 y 3.2 respectivamente, (exponencial del estimador  $\beta_5$  y  $\beta_4$ ), en comparación con 0 ppm de AIB (Cuadro 10).

Cuadro 10. Coeficientes estimados para el modelo 2 sobre los factores considerados en el enraizado de acodos aéreos de *Pinus leiophylla*.

Coeficiente	Estimador	Error estándar	$\chi^2$	P
$\beta_0$	-1.6356	0.8905	3.3734	0.0663
$\beta_1$	-0.7161	0.8574	0.6975	0.4036
$\beta_2$	-202E19	0.8092	0.0000	1.0000
$\beta_3$	-0.7161	0.8574	0.6975	0.4036
$\beta_4$	1.1810	0.9378	1.5858	0.2079
$\beta_5$	0.4873	0.9987	0.2381	0.6256
$\beta_6$	2.5206	0.9304	7.3404	0.0067

La concentración de AIB no tuvo efecto ( $p \leq 0.05$ ) sobre el porcentaje de acodos vivos, en el inicio del proceso de enraizado, ni en el número, longitud y diámetro de raíces (Cuadro 8). Sin embargo, con las concentraciones mayores se generan poco más del doble de raíces (Cuadro 11); el AIB mostró efecto ( $p \leq 0.05$ ) sobre el porcentaje de acodos enraizados y muertos; la concentración de 10000 ppm obtuvo los mayores porcentajes de enraizado y el menor porcentaje de acodos muertos, 69.1 y 3.8 % respectivamente, mientras que la concentración de 0 ppm mostró el menor porcentaje de enraizado y el mayor porcentaje de acodos muertos 3.8 y 85.3 %, respectivamente (Figura 15).

En el género *Pinus* no se reportan estudios sobre el efecto del AIB en el enraizado de acodo aéreo; sin embargo, la aplicación de AIB ha sido determinante en el porcentaje de enraizado en algunas especies; obteniendo un 100 % de enraizado al utilizar 200 ppm de AIB en *Magnolia grandiflora* (Hernández y Almeida, 2010), 96 % en *Inga feuillea* con 0.8% de AIB (Brennan y Mudge, 1998); 100 % en *Plinia trunciflora* con 4000 ppm de AIB (Andrigo *et al.*, 2006).

La probabilidad de éxito en el enraizado de acodos aéreos de *P. leiophylla* (12.4 veces mayor que el testigo) con la concentración de 10000 ppm de AIB, puede deberse a las características de los genotipos empleados, es decir, se trata de árboles fisiológicamente adultos (24 años de edad), que al no mostrar características juveniles y encontrarse en etapa reproductiva presentan limitantes para ser propagados vegetativamente (Greenwood *et al.*,



2010); los brotes de características juveniles contienen altas concentraciones de ácido indolacético (AIA) lo que favorece el enraizado de partes vegetativas (Osterc y Stamper, 2011), pero en árboles adultos la presencia exógena de concentraciones altas de AIB en combinación con el AIA sintetizado de forma natural en el ápice, pueden ser la causa que determina el éxito del enraizado en acodos realizados en plantas adultas.

Los altos porcentajes de mortandad registrados con concentraciones menores a 10,000 ppm de AIB pueden estar asociados a la ontogenia de los árboles; al ser individuos en plena edad reproductiva la mayoría de sus meristemos presentan estímulo para desarrollo reproductivo y se sabe que en especies perennes se presenta un intercambio de crecimiento vegetativo a reproductivo de un año a otro y viceversa (Bergonzi y Albani, 2011). Aun cuando se seleccionen ramas en crecimiento vegetativo en árboles adultos de *P. leiophylla*, éstas al haber pasado por una transición de estado reproductivo a vegetativo y no recibir la suficiente dosis de auxina exógena para la formación de raíces adventicias, son sometidas a niveles altos de estrés, afectando su metabolismo y crecimiento por no contar con el aporte fisiológico de la raíz, que finaliza con la muerte de la rama.

En *Psidium guajava* L. concentraciones de 5000 ppm de AIB, comparadas con 0 ppm y 4000 ppm de AIB, presentan efecto tóxico para el acodo, provocando muerte de la rama (Vilchez *et al.*, 2011), en *Plinia trunciflora* concentraciones de 6000 ppm disminuyen el porcentaje de enraizado respecto a 4000 ppm (Andrigo *et al.*, 2006); ya que en el presente estudio la concentración alta favorece mayor enraizado y menor mortandad, no es posible concluir la presencia de un efecto tóxico de las concentraciones menores, sino de una falta de estímulo exógeno (mayor concentración de AIB) y de un elevado estrés al que es sometida una rama que ha cambiado de crecimiento reproductivo a vegetativo y que además se le induce para que forme raíces, lo cual provoca su muerte.

Cuadro 11. Valores promedio del efecto del AIB sobre las variables relacionadas con el enraizado de acodos aéreos de *Pinus leiophylla*.

AIB (ppm)	Inicio del enraizado (días)	Número de raíces	Longitud de la raíz más larga (cm)	Diámetro de la raíz más larga (mm)
0	120.5 a	4.8 a	9.8 a	2.3 a
3000	118.0 a	5.8 a	9.1 a	2.1 a
5000	123.3 a	15.5 a	10.5 a	3.1 a
10000	127.0 a	11.6 a	7.7 a	2.8 a
Promedio	122.2	9.4	9.2	2.5

<sup>1</sup> Valores con diferente letra en columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

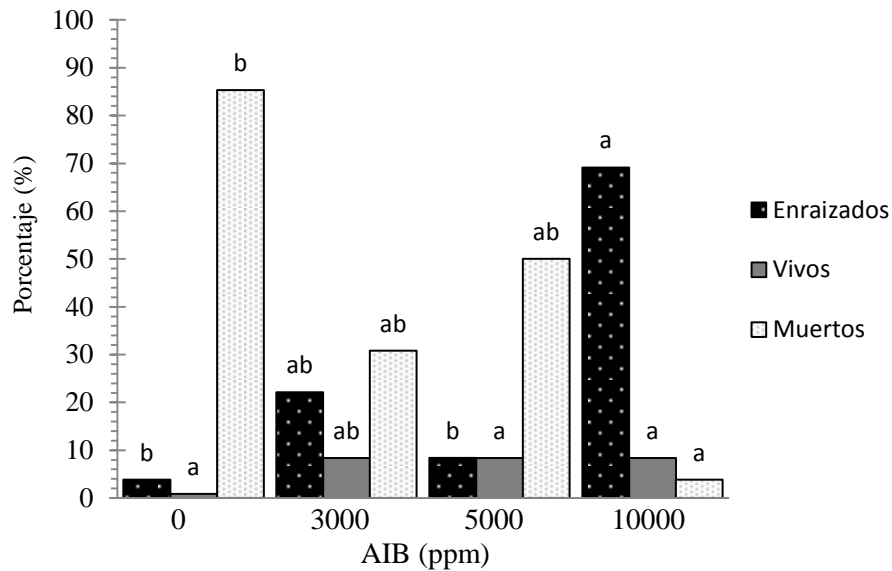


Figura 15. Efecto de la concentración de AIB, sobre el porcentaje de acodos enraizados, vivos y muertos en árboles de *Pinus leiophylla*.

### Efecto de la interacción del árbol $\times$ AIB

La interacción del árbol  $\times$  AIB, no tuvo efecto ( $p \leq 0.05$ ) en los porcentajes de acodos enraizados, vivos, muertos y diámetro de raíces, pero si mostró efecto significativo ( $p \leq 0.05$ ) en el inicio del proceso de enraizado, número de raíces y en la longitud de raíz; el genotipo A

en interacción con las concentraciones menores de AIB, inicia el proceso de enraizado en menor número de días que el resto de los genotipos evaluados. En contraste tres de los cuatro genotipos evaluados en interacción con la concentración 10000 ppm de AIB requiere mayor número de días para emitir raíces (Cuadro 12). El genotipo A en interacción con la concentración de 5000 ppm fue el de mayor longitud de raíces, generando tres veces más longitud en comparación con las interacciones de menor longitud (17.2 vs. 5.3) (Cuadro 12).

El efecto ( $p \leq 0.05$ ) de la interacción del árbol con el AIB sobre el inicio del proceso de enraizado y la longitud de raíces, puede estar asociado a la disponibilidad de carbohidratos de cada individuo. El árbol A que fue el primero en iniciar la emisión de raíces y generar mayor longitud de las mismas posee mayor follaje y por tanto realiza más fotosíntesis para una menor biomasa que el resto de los genotipos evaluados (Cuadro 7), una menor altura y mayor follaje puede favorecer acumulación de reservas, que propician una pronta respuesta al enraizado y mayor crecimiento de raíces al haber mayor transporte de carbohidratos en el floema (Loescher *et al.*, 1990).

El genotipo y las condiciones ambientales también influyen en el comportamiento de las auxinas, las cuales poseen propiedades morfogénicas que son reguladas por el medio ambiente definiendo cambios dinámicos en la percepción y translocación de sus funciones, cuyos efectos pueden ser dependientes o independientes a la expresión de genes (Sibu y Petrásec, 2011). La acción de la auxina exógena para formar raíces puede ocurrir cuando en interacción con auxinas endógenas, factores ambientales y el genotipo promuevan el estímulo suficiente para que se inicie el proceso de rizogénesis.

Cuadro 12. Valores promedio por efecto de la interacción árbol × AIB sobre las variables relacionadas con la capacidad de enraizado de acodos aéreos de *Pinus leiophylla*.

Árbol × AIB	Inicio del enraizado (días)	Número de raíces	Longitud de la raíz más larga (cm)	Diámetro de la raíz más larga (mm)
A x 0 ppm	120.0 ± 6.0 a	3.9 ± 3.4 c	9.1 ± 1.6 bc	2.0 ± 0.7 a
A x 3000 ppm	111.0 ± 4.2 a	4.4 ± 2.8 c	12.5 ± 1.1 b	2.1 ± 0.5 a
A x 5000 ppm	111.0 ± 6.0 a	9.9 ± 4.0 b	17.2 ± 1.6 a	2.9 ± 0.7 a
A x 10000 ppm	135.0 ± 4.2 c	7.4 ± 2.8 bc	6.8 ± 1.1 c	2.6 ± 0.7 a
B x 0 ppm	-	-	-	-
B x 3000 ppm	-	-	-	-
B x 5000 ppm	128.0 ± 6.0 ab	24.9 ± 4.0 a	5.5 ± 1.6 cd	3.2 ± 0.4 a
B x 10000 ppm	111.0 ± 3.4 a	24.3 ± 2.3a	8.1 ± 0.9 c	3.3 ± 0.7 a
C x 0 ppm	121.0 ± 6.0 ab	5.9 ± 4.0 bc	10.5 ± 1.6 b	2.6 ± 0.7 a
C x 3000 ppm	124.0 ± 4.2 ab	7.9 ± 2.8 bc	5.7 ± 1.1 cd	2.1 ± 0.5 a
C x 5000 ppm	-	-	-	-
C x 10000 ppm	136.0 ± 3.4 c	7.2 ± 2.3 bc	5.3 ± 0.9 cd	2.6 ± 0.5 a
D x 0 ppm	-	-	-	-
D x 3000 ppm	122.0 ± 6.0 ab	6.9 ± 4.0 bc	9.0 ± 1.6 bc	2.4 ± 0.7 a
D x 5000 ppm	132.0 ± 6.0 ab	14.9 ± 4.0 b	9.0 ± 1.6 bc	2.6 ± 0.4 a
D x 10000 ppm	132.0 ± 4.2 c	13.4 ± 2.8 b	11.7 ± 1.1 b	2.0 ± 0.5 a
Promedio	92.6	8.1	6.9	1.9

<sup>†</sup>Valores con diferente letra en columna son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).  
- (no enraizado).

## CONCLUSIONES

Con base en los resultados del presente estudio el acodo aéreo en *Pinus leiophylla* es factible utilizando la concentración de 10000 ppm de AIB, considerando que el uso de dicho método de propagación es pertinente cuando se hayan identificado genotipos superiores y que aún no hayan iniciado la etapa reproductiva, a menos que los intereses así lo demanden. Sin embargo en otras especies del género *Pinus* es un método que debe iniciarse con pruebas de diferentes concentraciones de auxina, definir el diámetro y longitud de rama, probar tiempos de etiolación y realizar el acodo preferentemente a inicios de verano a fin de contar con mayor humedad relativa.

## LITERATURA CITADA

- Andrigo-Daner, M., Citadin, I., Fernandes-Junior, A. de A., Paulo-Assman, A., Miguel-Mazaro, S., Donazzolo, J., & Zolet-Sasso, S. A. (2006). Enraizamiento de Jabuticabeira (*Plinia trunciflora*) por mergulhia aérea. *Revista Brasileira de Fruticultura* 28 (3): 530-532.
- Ali-Awan, A., Hussain, L., Rehman, N., Jan, A., & Ali, N. (2000). Effect of different media and timing factor on rooting of litchi (*Litchi chinensis*) plant through air layering. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 3 (11): 1809-1810.
- Bergonzi, S., & Albani, M. C. (2011). Reproductive competence from an annual and a perennial perspective. *Journal of Experimental Botany* 62 (13):4415–4422.
- Brennan, E. B., & Mudge, K. W. (1998). Vegetative propagation of *Inga feuillei* from shoot cuttings and air layering. *New Forest* 15: 37-51.
- Dolgun, O., & Tekintas, F. E. (2008). Production of fig (*Ficus carica* L.) nursery plants by stem layering method. *Agriculturae Conspectus Scientificus* 73 (3): 157-160.
- Gómez-Jiménez, D. M., Ramírez-Herrera, C., Jasso-Mata, J., & López-Upton, J. (2010). Variación en características reproductivas y germinación de semilla de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33(4): 297-304.
- Hernández-Gil, R., & Almeida P., J. A. (2010). Ensayo para el enraizamiento de acodos aéreos de *Magnolia grandiflora* L. (Magnoliaceae). *Pittieria* 34: 129-131.
- Jasso-Mata, J., & Jiménez-Casas, M. (1994). Fenología vegetativa y reproductiva de *Pinus leiophylla* en un huerto semillero sexual. 2do. Congreso Latinoamericano de Genética, XV Congreso de Fitogenética. México.
- Jiménez-Casas, M., & Jasso-Mata, J. (2011). Infección por escamas en árboles de un huerto semillero sexual de *Pinus leiophylla* Schl. et Cham. XVI Simposio nacional de parasitología forestal. Cuernavaca, Morelos, México. p. 77.
- Liao-Torres, J. O., Imán-Correa, S. A., & Soplín-Ríos, J. A. (2012). Efecto de la ubicación y diámetro de la rama en tres genotipos promisorios de *Myrciaria dubia* (H.B.K.) “camu camu” para propagación vegetativa por acodo aéreo. *Scientia Agropecuaria* 3: 225 – 233.

- Loescher, W. H., McCamant, T., & Keller, J. D. (1990). Carbohydrate reserves, translocation, and storage in woody plant roots. *HortScience*. 25 (3):274-281.
- López-López, M. A., & Estañol-Botello, E. (2006). Detección de deficiencias de hierro en *Pinus leiophylla* a partir de los efectos de dilución y concentración nutrimental. *Terra Latinoamericana* 25:9-15.
- Omodeo-Cubero, P., González-Lutz, M. I., Mora-Acedo, D., & Durán-Quirós, A. (2006). Concentración del ácido indolbutírico y cobertura con papel aluminio en acodos de *Dracaena marginata*. *Revista de Agricultura Tropical* 36: 11-21.
- Osterc, G., & Stampar, F. (2011). Differences in endo/exogenous auxin profile in cuttings of different physiological ages. *Journal of Plant Physiology* 168: 2088-2092.
- Salazar-García, S., Velasco-Cárdenas, J. de J., Medina-Torres, R., & Gómez-Aguilar, J. R. (2004). Selecciones de aguacate con potencial de uso como portainjertos. II. Respuesta al enraizamiento mediante acodos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 27 (2): 183 – 190.
- Sánchez-Urdaneta, A. B., Suárez, E., González, M. R., Amaya, Y., Colmenares, C. B., & Ortega, J. (2009). Efecto del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de acodos aéreos de guayabo (*Psidium guajava* L.) en el municipio Baralt, Venezuela. Evaluación preliminar. *UDO Agrícola* 9 (1): 113-120.
- SAS Institute. 2004. SAS/STAT 9.1 user's guide. SAS Institute, Cary, N.C.
- Sibu, S., & Petrášek, J. (2011). Why plants need more than one type of auxin. *Plant Science* 180:454-460.
- Vacek, S., Hejčmanová, P., & Hejčman, M. (2012). Vegetative reproduction of *Picea abies* by artificial layering at the ecotone of the alpine timberline in the Giant (Krkonoše) Mountains, Czech Republic. *Forest Ecology and Management* 263: 199–207.
- Vilchez, J., Albany, N., Martínez, L., Casassa-Padrón, A. M., González, C., & Marin, M. (2011). Efecto de auxinas en la propagación por acodos aéreos de guayabos tolerantes a *Meloidogyne* spp. *Revista de la Facultad de Agronomía Universidad del Zulia* 28 (1): 445-455.
- Westcott-Gratton, S. (2005). Air layering: a simple way to clone your camellias and many other woody plants. *ProQuest Agriculture Journals* 16 (1): 24.

### **CAPÍTULO III. INJERTADO DE *Pinus leiophylla* SCHIEDE EX SCHLTDL. ET CHAM.**

#### **RESUMEN**

Con el propósito de propagar genotipos putativamente resistentes al ataque de plagas y con las mejores características fenotípicas en un huerto semillero sexual de *P. leiophylla*, se procedió al injertado de púas de árboles probando el efecto de la época del año (invierno, primavera y verano), del árbol donante y del tipo de púa injertada. No se logró que ningún injerto realizado tuviera éxito con los experimentos realizados en este trabajo. Aunque se considera que algunos factores ambientales y el manejo de portainjertos podrían explicar el nulo injertado, no se descarta que factores intrínsecos de la especie influyen de alguna manera en la falta de compatibilidad entre las partes del injerto. Se concluye que las bajas temperaturas registradas en el injerto de invierno pudieron provocar muerte de las púas; mientras que en el injerto de primavera algún factor no determinado en el portainjerto generó la pudrición en el punto de unión; y en el injerto de verano las elevadas temperaturas pudieron afectar el prendimiento. Finalmente, se considera que el control de las condiciones ambientales y la calidad de planta destinada para porta injerto, son factores importantes que se deben considerar en futuros trabajos para incrementar la probabilidad de éxito en el injertado de *P. leiophylla*.

**Palabras clave:** Injerto, púa, portainjerto, época del año.



## ABSTRACT

With the object to propagate genotypes resistant putatively to pests and the best phenotypic features in a sexual seed orchard of *Pinus leiophylla*, proceeded to graft trees scions testing the effect of the time of year (winter, spring and summer), the donor and the type of tree grafted scion. It was not possible that no grafting succeed with the experiments performed in this work. It is recognized that some environmental and management factors could explain the grafted rootstocks null, it is possible that intrinsic factors of the species somehow influenced the lack of compatibility between parts of the graft. We conclude that declines in the graft winter temperatures may cause death of the scions; whereas a grafting spring factor determined not rot rootstock generated in the junction; grafting and summer high temperatures might affect the success. Finally, it is considered that the control of environmental conditions and quality of plant intended for rootstock are important factors to be considered in future work to increase the probability of success in the grafted *P. leiophylla*.

**Key words:** Graft, scion, rootstock, time of year.

## INTRODUCCIÓN

En el sector forestal la propagación vegetativa por injerto, definido como la fusión de partes de plantas donde se establece una conexión continua del cambium vascular (Pina y Errea, 2005) se ha utilizado para multiplicar genotipos superiores y establecer plantaciones clonales en varias especies (White *et al.*, 2007). El injerto como técnica de propagación no ha presentado grandes variantes, las técnicas y tipos de injertos, así como la importancia de lograr la unión entre el cambium vascular del injerto y portainjerto fue documentada desde el siglo pasado (Preece, 2003).

Es necesario definir protocolos de injertado en las especies de interés para garantizar el mayor éxito posible. En coníferas se ha considerado la altura y diámetro del porta injerto, el tipo de injerto, características de la púa, longitud del corte en el punto de unión, la época de injertado, las condiciones de temperatura y la humedad relativa para incrementar el éxito del injerto (Jayawickrama *et al.*, 1991; Valera *et al.*, 1999; Ramírez y Krasowski *et al.*, 2007; Zannete *et al.*, 2011).

En fruticultura la selección del porta injerto se realiza con base en sus características para controlar la altura del árbol, favorecer la precocidad, rendimiento y calidad del fruto; en coníferas la selección del porta injerto primeramente definirá el éxito del injerto. De 22 especies injertadas sobre *Cedrus atlantica* Endl., únicamente púas de la familia Pinaceae mostraron éxito en el injerto (Jayawickrama *et al.*, 1991).

La selección de porta injertos inter e intraespecífica en coníferas es posible, sin embargo, los porcentajes de éxito pueden diferir. Injertos de *Pinus strobus* L. sobre porta injertos de *P. strobus* L., *P. resinosa* Sol. Ex Aiton., *P. banksiana* Lamb., *P. sylvestris* L., *P. montana* Hoffm., y *Abies balsamea* (L.) Mill. mostraron porcentajes de sobrevivencia de 74, 8, 9, 9, 45 y 0 % respectivamente; mientras que injertos de *Pinus cembra* L., injertado en los mismos porta injertos de *P. strobus*, tuvieron mayor porcentaje de sobrevivencia al utilizar *P. montana* como porta injerto (Ahlgren, 1972).

El tipo de injerto más utilizado en coníferas, es el enchapado lateral, el ápice del porta injerto es decapitado al momento del injerto y todos los brotes laterales son removidos un mes después del injerto (Nienstanedt, 1965). El tipo de injerto enchapado lateral, tiene más éxito cuando se hace un corte en ambos lados de la púa, la anchura y longitud del corte es de la misma dimensión para el porta injerto, de tal forma que las capas del cambium vascular quedan estrechamente unidas en ambos lados (Blada y Panea, 2011).

Las características de la púa pueden ser un factor de éxito. Púas de *Fagus grandifolia* Ehrh., con diámetro mayor a 0.5 mm que el porta injerto, favorecen un 72 % de éxito, mientras que púas con diámetro menor a 0.5 mm que el porta injerto propiciaron menos del 30 % de éxito (Ramírez y Krasowski *et al.*, 2007). En *Abies fraseri* (Pursh) Poir. púas recolectadas de la parte superior de la copa, obtenidas del brote en desarrollo y de ramas de primer orden, tuvieron 90 % de éxito; mientras que púas de la parte media y baja de la copa, obtenidas de ramas de segundo orden, mostraron 50 y 70% de éxito (Hibbert *et al.*, 2011).

Para especies del género *Pinus* destinadas al establecimiento de huertos semilleros en Estados Unidos de Norteamérica, se ha recomendado utilizar púas de 7.5 a 10.0 cm de longitud y de 0.3 a 0.6 cm de diámetro (Nienstaedt, 1965).

La mejor época de injertado en especies de coníferas como *Abies fraseri* es a inicios de primavera (abril) con un 95 % de éxito, en verano (julio) el éxito fue de 52 %, y en otoño (octubre) el prendimiento fue de 0 % (Hibbert *et al.*, 2010). En *Picea rubens* Sarg. el injerto se realiza en primavera (abril) obteniendo porcentajes de prendimiento del 34 al 98 % (Greenwood *et al.*, 2010).

No todas las especies pueden injertarse en una misma época, ni al aire libre, sin embargo, el injerto debe practicarse durante la época en que se produce el movimiento de savia (Hussein y McFarland, 1994; Salehi *et al.*, 2010), el cual coincide con cambios vegetativos a inicios de primavera y finales de otoño en especies caducifolias, mientras que en especies perennifolias hay un retraso de los cambios vegetativos en ambas estaciones (Loescher *et al.*, 1990).

Un factor adicional que puede influir en el éxito del injerto es la experiencia del injertador; un injertador con cinco años de experiencia llega a obtener un 85 % de prendimiento, mientras que un injertador con un año de experiencia obtiene un 54 % de prendimiento (Hibbert *et al.*, 2011). El presente trabajo se realizó con el propósito de evaluar el efecto de la época de injertado y el tipo de púa en el prendimiento de injertos de *P. leiophylla*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El injertado de *P. leiophylla* se realizó en tres estaciones del año (invierno, primavera y verano) por operarios especializados a excepción del injerto efectuado en verano. En las tres estaciones, cada siete días se evaluó el desarrollo de las plantas injertadas, definiendo cuatro categorías para describir el progreso de la púa injertada: A) Púa con yema apical en crecimiento y acículas erguidas, B) Púa con yema apical sin crecimiento y con acículas erguidas, C) Púa con yema apical sin crecimiento y acículas decaídas y D) Púa con yema apical muerta y acículas muertas.

En el injerto (enchapado lateral) realizado durante el invierno y verano también se definieron cuatro categorías para describir el progreso del portainjerto: A) portainjerto con yema apical en crecimiento, acículas erguidas sin presencia de clorosis, B) portainjerto con yema apical sin crecimiento, acículas erguidas sin presencia de clorosis, C) portainjerto con yema apical sin crecimiento, acículas decaídas sin presencia de clorosis y D) portainjerto con yema apical muerta, acículas decaídas y cloróticas. En el injerto de primavera, únicamente se definieron las categorías para la púa, ya que el portainjerto fue decapitado.

### **Material vegetal: portainjertos**

En el injerto de invierno y primavera se ocupó como portainjerto planta de *P. leiophylla* cuya semilla para su propagación fue recolectada a 2700 m de altitud en Juchitepec, Estado de México, mientras que en el injerto de verano se utilizó como portainjerto *P. leiophylla* y *P. greggii* Engelm. var. *australis* Donahue et López, el primero fue propagado con semilla recolectada a 2600 m de altitud en Sultepec, Estado de México y el segundo con semilla de procedencia desconocida. La planta fue proporcionada por el vivero San Luis Tlaxiátemalco, Distrito Federal, y fue trasplantada de contenedores de 310 cm<sup>3</sup> a bolsas de polietileno de 5 litros, usando como sustrato turba-agrolita-vermiculita (2:1:1), agregando fertilizante (*Multicote*® 14-7-14) de liberación controlada (4kg/m<sup>3</sup>).

Durante los primeros tres meses posteriores al trasplante (una vez por semana) la planta se fertilizó con *fertilizante peters profesional*® 20-20-20 (0.7 g/l), al cabo de los tres meses se

aplicó un riego excesivo para evitar acumulación de sales, posteriormente durante dos meses (una vez por semana) se fertilizó con *fertilizante peters profesional*® 4-25-35 (0.7g/l); en cada aplicación de fertilizante y riego se controló el pH del agua adicionando ácido fosfórico, hasta obtener un pH de 5.5 a 6.0. Al momento de hacer los injertos, los portainjertos tenían una edad de un año cinco meses (invierno), un año ocho meses (primavera) y un año tres meses (verano).

### **Material vegetal: Púas**

Las púas fueron recolectadas de árboles de un huerto semillero sexual de *P. leiophylla* ubicado en Montecillo, Texcoco, Estado de México. Seleccionados por poseer las mejores características fenotípicas y por ser putativamente resistentes al ataque de *Dendroctonus* sp. y *Toumeyella pinicola* Ferris (López y Estañol, 2006; Jiménez y Jasso, 2011). Las púas se recolectaron de la parte más alta de cada árbol (último tercio) y se depositaban en bolsas de plástico transparente para inmediatamente ser colocadas en una hielera, a fin de evitar su deshidratación.

### **Injerto en invierno**

Púas de nueve árboles donantes fueron recolectadas el 25 de enero de 2013 (Cuadro 13), siendo injertadas durante los dos días siguientes, las púas mostraban yema en latencia, acículas totalmente brotadas y tallo con cierto grado de lignificación (Figura 17). El experimento se desarrolló en un invernadero rústico con control parcial de la temperatura por medio de la apertura o cierre de cortinas, sin sistema de riego, la temperatura y humedad relativa promedio registrada fue de 18.7 °C y 38.5 % respectivamente (Figura 16) (sensor digital con capacidad de almacenamiento de datos, data logger). Para favorecer un microambiente con humedad relativa alta se cubrió al injerto con bolsa de plástico transparente agregando agua al interior de la bolsa (Figura 18).

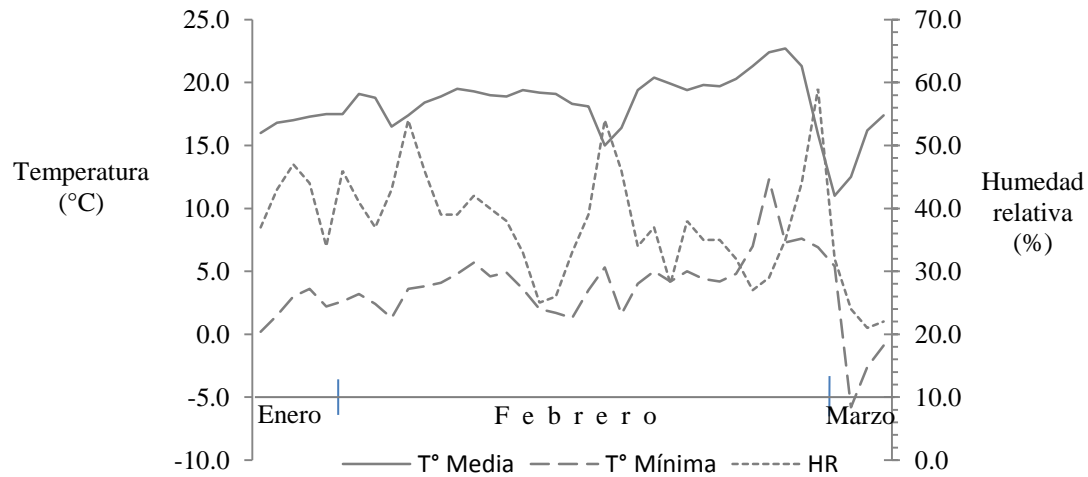


Figura 16. Temperatura media, mínima (°C) y humedad relativa (%) en el sitio del experimento.



Figura 17. Tipo de púa injertada en invierno en injertos de *Pinus leiophylla*.

El factor bajo estudio fue el efecto del árbol donante, a fin de dar seguimiento al desarrollo de sus características morfológicas. El diseño fue en bloques completamente al azar, la unidad experimental fue de seis plantas con nueve repeticiones; injertándose un total de 486 plantas. El tipo de injerto fue enchapado lateral, utilizando plástico de color transparente para el amarre de la púa.



Figura 18. Uso de bolsa de plástico con agua para aumentar la humedad relativa en injertos de *Pinus leiophylla*.

Cuadro 13. Procedencia de árboles donantes del huerto semilleros sexual de *Pinus leiophylla*.

Árbol	Procedencia	Latitud N	Longitud W	Altitud (m)	Precipitación (mm)
03	Santa María Ateptzingo, Puebla	19° 20'	98° 31'	2500	950
09 <sup>1</sup>	Tlahuapan, Puebla				
11 <sup>1</sup>	Tlalmanalco, Estado de México	19° 11'	98° 47'	2550	1072
34	Tlamacas, Puebla	19° 03'	98° 40'	2550	1186
51 <sup>1</sup>	San Juan Tetla, Puebla	19° 15'	98° 32'	2550	1160
84	Tequexquihuac, Estado de México	19° 27'	98° 47'	2700	750
92	San Rafael, Estado de México	19° 13'	98° 45'	2600	1072
101 <sup>1</sup>	Tlalmanalco, Estado de México	19° 11'	98° 47'	2550	1072
105	San Juan Tetla, Puebla	19° 15'	98° 32'	2550	1160
109	San Juan Tetla, Puebla	19° 15'	98° 32'	2550	1160

<sup>1</sup> Árboles donantes en el injerto de primavera y verano. A excepción del árbol 09 todos los árboles fueron donantes en el injerto de invierno.



## Injerto en primavera

Púas de cuatro árboles donantes (Cuadro 13) fueron recolectadas el 18 de abril de 2013, siendo injertadas durante los dos días siguientes; las púas presentaban yema en latencia, acículas recién brotadas y tallo no lignificado, todas de 12.0 cm de longitud (Figura 19). El experimento se llevó a cabo bajo condiciones ambientales presentes en el huerto semillero sexual de *P. leiophylla*, con una temperatura promedio de 18.1°C y humedad relativa de 63.8 % (sensor digital con capacidad de almacenamiento de datos, data logger).

Se estudió el efecto de cuatro árboles donantes y el tipo de púa (púas con 6 cm de acículas, 4 cm con acículas, 2 cm con acículas y púas con 0 cm de acículas), que se combinaron en un arreglo factorial 4 x 4 generando 16 tratamientos con cuatro repeticiones en bloques completamente al azar. La unidad experimental fue de tres plantas injertadas. El tipo de injerto fue enchapado lateral y el portainjerto fue decapitado.



Figura 19. Tipo de púa injertada en primavera de *Pinus leiophylla*.

## Injerto en verano

Púas de cuatro árboles donantes (Cuadro 13) fueron recolectadas el 29 de julio de 2013, injertándose durante los dos días siguientes, las púas presentaban yema en latencia, acículas recién brotadas y tallo no lignificado (Figura 20). El experimento se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero, para el registro de temperatura y humedad relativa (Figura 21) se

utilizó un data logger, la temperatura y humedad relativa promedio fue de 18.5 °C y 69.7 %, respectivamente.

Los factores bajo estudio fueron el efecto de cuatro árboles donantes y dos portainjertos, que se combinaron en un arreglo factorial 4 x 2 generando 8 tratamientos con seis repeticiones en bloques completamente al azar. La unidad experimental fue de 6 plantas injertadas. El tipo de injerto fue enchapado lateral. Para favorecer un microambiente con humedad relativa alta se cubrió al injerto con bolsa de plástico transparente, a fin de que con la transpiración de las acículas la humedad quedase atrapada (Figura 20).



Figura 20. Tipo de púa (A) injertada en verano, bolsa de plástico para aumentar la humedad relativa (B) en injertos de *Pinus leiophylla*.

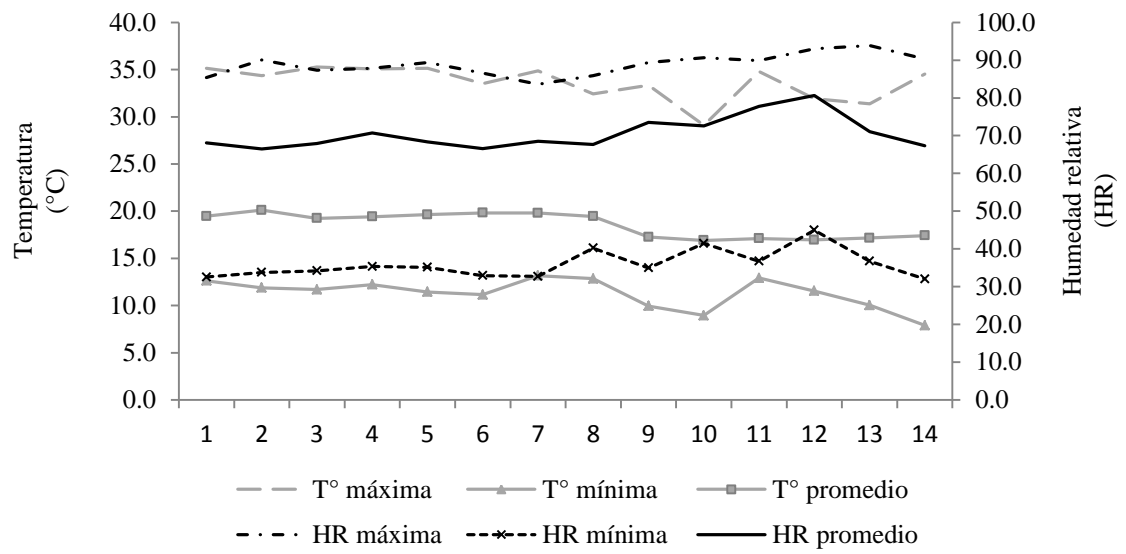


Figura 21. Registro de temperatura y humedad relativa durante el desarrollo del experimento.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Injerto en invierno

El número de injertos con prendimiento no fue suficiente para llevar a cabo un análisis estadístico, las bajas temperaturas registradas a los 37 y 38 días (-5.8 °C y -2.6°C) después de haberse injertado provocaron muerte de la púa y daños a los portainjertos (Figura 16). Blada y Panea (2011), en *Picea pungens* Engelm. var. *glauca* Regel, encontraron que temperaturas entre 20 y 25 °C favorecen la formación de callo, el cual es necesario para iniciar los eventos de diferenciación y conexión del tejido vascular entre ambas partes del injerto.

Durante el injerto la parte donante y receptora generan nuevas células parenquimatosas, producidas desde el tejido de callo generado producto del corte, ambos tipos de células se mezclan y llenan los espacios vacíos entre injerto y portainjerto, esta actividad depende de factores externos, incluyendo la temperatura (Mahunu *et al.*, 2013). En el presente estudio durante los primeros 36 días posteriores al injerto de *P. leiophylla* la temperatura media diaria osciló entre los 16.8 y 22.7 °C; sin embargo, durante los dos días en que se registraron temperaturas bajo cero, la temperatura media fue de 11.0 y 12.5 °C, respectivamente (Figura 16), este cambio brusco de temperatura pudo haber detenido la división celular en el punto de unión impidiendo la conexión continua entre el cambium de injerto y portainjerto.

Con base en las categorías establecidas para dar seguimiento al progreso de la púa y portainjerto, durante los primeros 15 días posteriores al injertado, púa y portainjerto no mostraron cambios en la yema apical ni en las acículas; sin embargo, a partir del día 21, el 15.3 % de las púas tuvieron un crecimiento promedio de 0.6 cm y acículas erguidas, 10 % de los portainjertos presentaba crecimiento promedio de la yema apical de 1.4 cm, 12.3 % de las púas habían muerto y el resto de portainjertos y púas no registraron cambios, el seguimiento de púa y portainjerto fue posible realizarlo hasta el día 35 (Cuadro 14).

Cuadro 14. Porcentaje de púas y portainjertos en las categorías establecidas durante los días posteriores al injertado de *Pinus leiophylla*.

Factor	Categorías (%)			
	A	B	C	D
Púa/Portainjerto				
Día 21	15.2/10.0	64.1/82.3	8.4/4.5	12.3/2.8
Día 28	16.0/16.6	54.9/75.1	12.7/5.1	16.4/3.2
Día 35	18.1/18.9	39.4/60.0	16.8/15.6	25.7/5.5

Categorías para púa: A) Púa con yema apical en crecimiento y acículas erguidas, B) Púa con yema apical sin crecimiento y con acículas erguidas, C) Púa con yema apical sin crecimiento y acículas decaídas y D) Púa con yema apical muerta y acículas muertas.

Categorías para portainjerto: A) portainjerto con yema apical en crecimiento, acículas erguidas sin presencia de clorosis, B portainjerto con yema apical sin crecimiento, acículas erguidas sin presencia de clorosis, C) portainjerto con yema apical sin crecimiento, acículas decaídas sin presencia de clorosis y D) portainjerto con yema apical muerta, acículas decaídas y cloróticas.

A los 21 días después de haberse injertado el 64.1 % de las púas se encontraba en la categoría B, mientras que a los 35 días posteriores al injerto dicho porcentaje se había reducido a 39.4 % (Cuadro 14) y las categorías C y D, aumentaron dos veces más el porcentaje. Con respecto a los portainjertos, se presentó una reducción del 22.3 % en la categoría B del día 21 al día 35 después del injertado; mientras que el porcentaje de la categoría C se triplicó (Cuadro 15); tanto púas como portainjertos presentaron porcentajes similares en la categoría A (18.1 vs. 18.9) a los 35 días del injertado (Cuadro 14). Al día 68 después del injerto se contabilizó un 2.0% de injertos vivos y en crecimiento.

De acuerdo con las categorías definidas para dar seguimiento a púas y portainjertos, para el día 35 después del injertado el 57.5 % de las púas y el 78.9 % de portainjertos se encontraba en las mejores categorías (A y B), ambas categorías describen púas y portainjertos vigorosos con oportunidad de continuar el proceso de unión, sin embargo las bajas temperaturas al parecer afectaron totalmente la conexión continua de cambium cuando ésta estaba por completarse; mediante estudios histológicos en injertos de *Pseudotsuga menziessi* (Mirb.) Franco., se determinó que a los 35 días se establece la unión completa, después de los 35 días

únicamente ocurre el alargamiento de los tejidos y 84 días posteriores al injerto la mayoría de las traqueidas se han lignificado (Copes, 1969).

### **Injerto en primavera**

En el injerto de primavera el 3.1 % de los injertos mostró prendimiento, sin embargo el número de injertos logrados no fue suficiente para realizar un análisis estadístico, a los 35 días después de haberse injertado se identificó pudrición del portainjerto en dirección basipeta, originada a partir del punto donde fue decapitado el portainjerto, también se observó un limitado sistema de raíz reflejado en escasas raíces nuevas.

Los tipos de púa con 6 y 2 cm de acículas mostraron mayores cambios en su condición, comparadas con las púas de 4 y 0 cm de acículas; el 70.8 % de las púas con 6 cm de acículas a los siete días de haberse injertado mostraban la condición de categoría A (Púa con yema apical en crecimiento y acículas erguidas), en tanto 47.9 % de las púas con 2 cm de acículas presentaban la condición de categoría A; sin embargo, 28 días después del injertado los porcentajes en ambos tipos de púa para la misma categoría eran de 25.0 y 10.4 % en púas con 6 y 2 cm de acículas, respectivamente (Cuadro 15).

En contraste, a los siete días en la categoría A las púas con 4 y 0 cm de acículas manifestaban el 47.9 y 58.3 %, respectivamente; 28 días posteriores al injertado dichos porcentajes eran de 29.2 y 39.6 %; el comportamiento de las púas injertadas con base en las categorías establecidas se indica en el Cuadro 15.

Cuadro 15. Porcentaje (%) de púas distribuidas en categorías días posteriores a su injertación en *Pinus leiophylla*.

Factor	Categorías (%)			
	A	B	C	D
Púa con 6 cm de acícula				
Día 7	70.8	27.1	2.1	0.0
Día 14	39.6	54.2	2.1	4.1
Día 21	37.5	35.4	4.2	22.9
Día 28	25.0	10.4	27.1	37.5
Púa con 4 cm de acícula				
Día 7	47.9	41.7	10.4	0.0
Día 14	37.5	50.0	10.4	2.1
Día 21	31.3	18.7	39.6	10.4
Día 28	29.2	18.7	10.4	41.7
Púa con 2 cm de acícula				
Día 7	47.9	45.8	6.3	0.0
Día 14	41.7	54.2	4.1	0.0
Día 21	18.7	41.7	27.1	12.5
Día 28	10.4	12.5	37.5	39.6
Púa con 0 cm de acícula				
Día 7	58.3	31.3	8.3	2.1
Día 14	41.7	52.1	2.1	4.1
Día 21	33.3	33.3	29.2	4.2
Día 28	39.6	20.8	6.3	33.3
Promedio	38.2	34.2	14.2	13.4

La falta de prendimiento de los injertos durante la primavera se atribuye a la decapitación del portainjerto. Esta práctica se realizó considerando que el portainjerto es el proveedor de nutrimentos y agua en función de la capacidad de absorción del sistema raíz (Martínez-Ballesta *et al.*, 2010).

Desde el siglo pasado varios tipos de injerto se han abordado en especies de coníferas, enchapado lateral y el injerto de hendidura han sido los más utilizados; en el primero el portainjerto es decapitado días posteriores al injerto y en el segundo el portainjerto es decapitado al momento del injertado, el método de hendidura se ha recomendado cuando se tienen portainjertos jóvenes y vigorosos, ya que se garantiza un mayor porcentaje de éxito (Mergen, 1955).

El haber decapitado al portainjerto en *P. leiophylla* y que éste haya presentado pudrición en el lugar del corte sugiere que se trataba de plantas poco vigorosas, al no tener el suficiente número de raíces el transporte de nutrimentos y agua hacia la biomasa aérea no fue suficiente (Loescher *et al.*, 1990). En el injerto de coníferas la unión entre púa y portainjerto ocurre en un periodo de tiempo más largo comparado con la mayoría de especies caducifolias; por tanto, la púa depende de la cantidad de reservas (carbohidratos) que tenga almacenadas (Mergen, 1955), ya que a los 28 días posteriores al injerto el 38.2 % de las púas mostraba la condición de categoría A (púas en crecimiento) y el 34.2 % categoría B (púa con acículas erguidas) (Cuadro 16), esto indica un contenido de reservas suficiente y que la pudrición del portainjerto pudo deberse a un bajo contenido de carbohidratos.

No es recomendable tomar como portainjertos plantas que han sido producidas para otros fines, en el injertado de esta época se identificó que al momento del trasplante la planta contaba con pocas raíces nuevas y aunque el injerto se realizó meses después, no fue tiempo suficiente.

En *Pinus elliottii* Engelm., al utilizar el injerto de hendidura en plantas de dos a tres años de edad mantenidas bajo condiciones de invernadero, y plantas establecidas en campo se obtuvieron porcentajes de prendimiento cercanos al 30.0 y 10.0 % respectivamente, (Mergen, 1955), esto sugiere que es posible decapitar al portainjerto, sin embargo, el éxito en el prendimiento estará en función del manejo proporcionado a las plantas receptoras.



## **Injerto en verano**

En verano a los 60 días posteriores al injerto el 2.7 % de injertos mostraba prendimiento, cabe señalar que todos fueron injertos de púas de *P. leiophylla* sobre portainjertos de *P. greggii*; no se contó con datos suficientes para realizar el análisis estadístico. A los 14 días de haberse injertado el 31.5 % de las púas permanecían vivas, sin embargo durante los siguientes días la mayoría había muerto.

La combinación de una elevada temperatura (34.8 °C) y la humedad relativa (89.8 %), registradas el día 12 posterior al injerto (Figura 21) se identifica como la causa que limitó el prendimiento en el injertado de *P. leiophylla*, la temperatura es un factor importante, a los 4 °C el desarrollo del callo es lento y escaso y a los 32 °C o más la producción de callo se retarda y se presentan daños celulares, hasta que a los 40 °C ocurre la muerte de las células (Flores y Chávarry, 2005); en *Picea pungens* el prendimiento del injerto se logró en condiciones de temperatura y humedad relativa de 20 a 25 °C y de 85 a 95 %, respectivamente (Blada y Panea, 2011). La técnica de injertado en la mayoría de los casos no es la causa de los bajos porcentajes de prendimiento, sino el mal manejo que se le da a la púa y/o al portainjerto antes y durante el injertado (Zobel y Talbert, 1984).

## **CONCLUSIONES**

En el injertado de *P. leiophylla* se concluye que la falta de control de las condiciones ambientales fue la causa que impidió el prendimiento y aunque en las tres épocas no se tuvo éxito en el injertado, no significa que la especie no pueda propagarse por éste método, aunque tampoco se descarta que se trate de una especie de difícil propagación por injerto; un mayor control de las condiciones ambientales y la producción de portainjertos son factores a atender para aumentar las probabilidades de éxito.

## LITERATURA CITADA

- Blada, I., & Panea, T. (2011). Improvement of grafting procedures for the ornamental species: I. *Picea pungens* Engelm. var. *glauca* Regel. *Annals of Forest Research*. 54(2): 185-196.
- Ahlgren, C. E. (1972). Some effects of inter-and intraespecific grafting on growth and flowering of some five-needle pines. *Silvae Genetica*. 21:122-125.
- Copes, D. 1969. Graft union formation in Douglas-Fir. *American Journal of Botany* 56 (3): 285-289.
- Flores-Tapia, F., & Chávayry-Sánchez, L. (2005). Edad optima del patrón, época oportuna de injertado y producción masiva de injertos de *Casaelpinia spinosa* (Molina) Kuntze "Tara". ADEFOR. Cajamarca, Perú. 78 p.
- Gómez-Jiménez, D.M., Ramírez-Herrera, C. Jasso-Mata, J., & López-Uptón, J. (2010). Variación en características reproductivas y germinación de semilla de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33(4): 297-304.
- Greenwood, M. S., Day, M. E., & Schatz, J. (2010). Separating the effects of tree size and meristem maturation on shoot development of grafted scions of red spruce (*Picea rubens* Sarg.). *Tree Physiology* 30: 459-468.
- Hibbert-Frey, H., Frampton, J., Blazich, F.A., Hundley, D., & Hinesley, L.E. (2011). Grafting Fraser Fir (*Abies fraseri*): effect of scion origin (crown position and branch order). *HortScience* 46(1):91–94.
- Hibbert-Frey, H., Frampton, J., Blazich, F.A., & Hinesley, L.E. (2010). Grafting Fraser fir (*Abies fraseri*): effect of grafting date, shade, and irrigation. *HortScience* 45(4):617–620.
- Hussein, I.A., & McFarland, M.J. (1994). Rootstock-induced differences in sap flow of 'Granny Smith' apple. *HortScience* 29(10):1120–1123.
- Jiménez-Casas, M., & Jasso-Mata, J. (2011). Infección por escamas en árboles de un huerto semillero sexual de *Pinus leiophylla* Schl. et Cham. XVI Simposio nacional de parasitología forestal. Cuernavaca, Morelos, México. p. 77.
- Jayawickrama, K.J.S., Jett, J.B. & Mckeand, S.E. (1991). Rootstock effects in grafted conifers: A review. *New Forests* 5:157-173.

- Loescher, W. H., McCamant, T., & Keller, J. D. (1990). Carbohydrate reserves, translocation, and storage in woody plant roots. *HortScience* 25(3):274-281.
- López-López, M., & Estañol-Botello, E. (2006). Detección de deficiencias de hierro en *Pinus leiophylla* a partir de los efectos de dilución y concentración nutrimental. *Terra Latinoamericana* 25:9-15.
- Mahunu, G.K., Osei-Kwarteng, M. & Quainoo, A.K. (2013). Dynamics of graft formation in fruit trees: a review. *Albanian Journal of Agricultural Sciences* 12 (2): 177-180.
- Martínez-Ballesta, M. C., Alcaráz-López, C., Muries, B., Mota-Cadenas, C. & Carvajal, M. (2010). Physiological aspects of rootstock–scion interactions. *Scientia Horticulturae* 127: 112–118.
- Mergen, F. (1955). Grafting slash pine in the field and in the greenhouse. *Journal of Forestry* 53:836-842.
- Nienstaedt, H. (1965). Grafting Northern Conifers with Special Reference to White Spruce. Institute of Forest Genetics, Lake States Forest Experiment Station. Rhineland, Wisconsin. pp: 41-45.
- Pina, A., & Errea, P. (2005). A review of new advances in mechanism of graft compatibility-incompatibility. *Scientia Horticulturae* 106: 1-11.
- Preece, J. E. (2003). A century of progress with vegetative plant propagation. *HortScience* 38 (5): 1015-1025.
- Ramírez, M. & Krasowski, M. J. (2007). Vegetative propagation of American beech resistant to beech bark disease. *HortScience* 42 (2): 320-324.
- Salehi, R., Kashi, A., Jung-Myung, L., Babalar, M., Delshad, M., Sang-Giu, L. & Yun-Chan, H. (2010). Leaf gas exchanges and mineral ion composition in xylem sap of iranian melon affected by rootstocks and training methods. *HortScience* 45(5):766–770.
- Valera, L., Garay, V., Flores, A. & Sánchez, J. (1999). Aparente incompatibilidad en injertos de *Pinus caribea* var. *hondurensis* en el huerto semillero clonal, Santa Cruz de Bucaral, Falcón-Venezuela. *Revista Forestal Venezolana* 43 (1): 25-31.
- White, T.L., Adams, W.T. & Neale, D.B. (2007). *Forest Genetics*. CABI Publishing, Cambridge, MA. 462 p.

- Zanette, F., Oliveira, L. Da S. & Biasi, L.A. (2011). Grafting of *Araucaria Angustifolia* (Bertol.) Kuntze through the four seasons of the year. *Revista Brasileira de Fruticultura* 33(4): 1364-1370.
- Zobel, B. & Talbert, J. (1984). *Applied Forest Tree Improvement*. John Wiley & Sons. New York. pp: 314-316.