



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

**PROPAGACIÓN VEGETATIVA A
TRAVÉS DE MINI-ESTACAS DE
Pinus ayacahuite EHREN.**

MONTSERRAT CARLOS GUILLERMO

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: **Propagación vegetativa a través de mini-estacas de *Pinus ayacahuite* Ehren.** realizada por la alumna: Montserrat Carlos Guillermo bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS
EN CIENCIAS FORESTALES

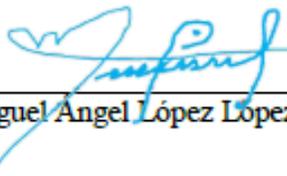
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. Marcos Jiménez Casas

ASESOR



Dr. Miguel Ángel López López

ASESORA



Dra. Virginia Rebolledo Camacho

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2021

PROPAGACIÓN VEGETATIVA A TRAVÉS DE MINI-ESTACAS DE *Pinus ayacahuite*

EHREN.

Montserrat Carlos Guillermo, M. C.
Colegio de Postgraduados, 2021

RESUMEN

Las plantaciones de *Pinus ayacahuite* Ehren para árboles de navidad requieren de genotipos con buena forma cónica, rápido crecimiento y uniformidad en todos los árboles. Atributos que se pueden obtener mediante el enraizamiento de estacas, esta es una técnica de clonación eficiente y relativamente barata, pero se necesita una alta producción de estacas con capacidad de desarrollar raíces. Para *P. ayacahuite* la capacidad para producir y enraizar estacas es desconocida. Por lo que en este trabajo se evaluó el diámetro, altura de planta madre y el número, longitud y diámetro de brotes producidos por planta madre de *Pinus ayacahuite*, en respuesta a cuatro dosis de fertilizante Peters 20-20-20 (0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 g L⁻¹). Por otro lado, se evaluó la capacidad de enraizado de estacas apicales de siete meses de edad y de mini-estacas de 13 meses de edad, en respuesta a los mencionados tratamientos de fertilización de la planta madre y cuatro concentraciones de AIB (0, 5000, 7500 y 10000 mg L⁻¹) y (0, 2500, 5000 y 7500 mg L⁻¹), respectivamente. La fertilización influyó positivamente en el crecimiento de las plantas madre e incremento la producción de brotes en más de 49 % que su testigo; con estacas 25 % más largas; pero no tuvo efecto en el enraizamiento. El AIB no incrementó el enraizamiento, con el tratamiento testigo y las concentraciones de AIB el porcentaje de enraizamiento estuvo por debajo del 35 % en los experimentos establecidos. Un alto porcentaje de formación de callo se registró en las estacas y más del 70 % sobrevivieron, independientemente de su enraizamiento. Los resultados indicaron que la fertilización debe ser adoptada como parte del sistema de manejo de las plantas madre de *P. ayacahuite*, para producir gran cantidad de estacas con buena calidad y capacidad de sobrevivir durante el proceso de enraizamiento. Las estacas que lograron enraizar, mostraron una morfología de raíz aceptable. El alto porcentaje de estacas sin raíces que sobrevivieron hasta la evaluación de los experimentos, indica la calidad de las estacas producidas y probablemente para esta especie el enraizamiento podría requerir más tiempo. Por lo que se debe continuar investigando con otras dosis y tipos de auxinas; así como con factores ambientales y mayor tiempo en la permanencia de las estacas en las cámaras de enraizamiento.

Palabras clave: Fertilización, brotes, mini-estacas, ácido indolbutírico (AIB), enraizamiento.

VEGETATIVE PROPAGATION THROUGH MINI-CUTTINGS OF *Pinus ayacahuite*

EHREN.

Montserrat Carlos Guillermo, M. C.
Colegio de Postgraduados, 2021

ABSTRACT

Pinus ayacahuite Ehren plantations for Christmas trees require genotypes with good shape, rapid growth and uniformity in all trees. Attributes that can be obtained by rooting cuttings, this is an efficient and relatively cheap cloning technique, but a high production of cuttings with the ability to develop roots is needed. For *P. ayacahuite* the ability to produce and root cuttings is unknown. Therefore, in this work the diameter, height of the mother plant and the number, length and diameter of shoots produced by the mother plant of *Pinus ayacahuite* were evaluated, in response to four doses of Peters fertilizer 20-20-20 (0.0, 0.5, 1.0 and 2.0 g L⁻¹). On the other hand, the rooting capacity of apical mini-cuttings of seven months of age and of basal mini-cuttings of 13 months of age was evaluated, in response to the aforementioned fertilization treatments of the mother plant and four concentrations of IBA (0, 5000, 7500 and 10000 mg L⁻¹) and (0, 2500, 5000 and 7500 mg L⁻¹), respectively. Fertilization had a positive influence on the growth of mother plants and increased shoot production by more than 49 % than its control; with 25 % longer stakes; but it had no effect on rooting. AIB did not increase rooting, which was below 35 % in established experiments. A high percentage of callus formation was registered in the cuttings and more than 70 % of the cuttings survived, regardless of their rooting. The results indicated that fertilization should be adopted as part of the management system for the mother plants of *P. ayacahuite*, to produce a large number of cuttings with good quality and the ability to survive during the rooting process. Although the AIB improved the percentage of rooting of the cuttings, the cuttings of this species managed to root, showing an acceptable root morphology. The high percentage of cuttings without roots that survived until the evaluation of the experiments, indicates the quality of the cuttings produced and probably for this species the rooting could require more time. For this reason, research should continue with other doses and types of auxins; as well as with environmental factors and longer time in the permanence of the cuttings in the rooting chambers.

Keywords: Fertilization, sprouts, mini-cuttings, indole butyric acid (IBA), rooting.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el programa de becas, del cual fui beneficiada para realizar mis estudios de maestría.

Al Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo y al Posgrado en Ciencias Forestales por darme la oportunidad de continuar con mis estudios profesionales.

Al Dr. Marcos Jiménez Casas, por su inmenso apoyo, aporte, participación en la realización de este trabajo, por sus consejos, por compartir sus conocimientos durante mi estancia en el Colegio y, sobre todo por su paciencia y amistad brindada.

Al Dr. Miguel Ángel López López, por ser parte de mi comité, por su apoyo, interés y sus aportaciones durante toda la investigación.

A la Dra. Virginia Rebolledo Camacho, por ser parte de mi comité, por las observaciones y sugerencias al realizar el presente trabajo.

Al Dr. Jesús Jasso Mata por aceptar ser mi sinodal, por sus comentarios, sugerencias y aportaciones en la realización de la tesis.

A mis profesores de los cursos tomados por compartir sus conocimientos en sus áreas de trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres Celerina y Fernando, por su apoyo incondicional, sus consejos, su amor y sobre todo la confianza que han puesto en mí.

A mi hermano Fernando Uziel, quién me ha enseñado a tomar las cosas de mejor manera, por estar a mi lado en todo momento.

A Francisco quien ha estado a mi lado todo este tiempo, por su cariño y apoyo incondicional.

A mi familia, que son fuente de inspiración.

A Susana, por su apoyo, comprensión y sobre todo su amistad brindada.

A José Luis, por su ayuda en la realización de los experimentos y por su amistad.

A Cecilia, Juan Carlos y Rafael por compartir tanto conocimientos, como momentos agradables durante mi estancia en el Colegio.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE CUADROS.....	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPITULO I. FERTILIZACIÓN DE PLANTAS MADRE DE <i>Pinus ayacahuite</i> EHREN. Y ENRAIZAMIENTO DE MINI-ESTACAS APICALES.....	4
1.1 RESUMEN.....	4
1.2 ABSTRACT.....	5
1.3 INTRODUCCIÓN.....	6
1.3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
1.4.1 Área de estudio.....	9
1.4.2 Material vegetal y producción de planta madre.....	9
1.4.3 Fertilización y riego de plantas madre.....	10
1.4.4 Enraizamiento.....	11
1.4.5 Variables evaluadas.....	13
1.4.5.1 Crecimiento en diámetro y altura por seto.....	13
1.4.5.2 Enraizamiento.....	14
1.4.6 Diseño experimental.....	14
1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
1.5.1 Fertilización de plantas madre.....	17
1.5.1.1 Crecimiento en diámetro y altura.....	17
1.5.2. Enraizamiento de estacas apicales.....	19
1.5.2.2. Efecto de las concentraciones de AIB.....	23
1.6 CONCLUSIONES.....	27
1.7 LITERATURA CITADA.....	28
CAPITULO II. INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN EN LA PROPAGACIÓN POR MINI-ESTACAS DE <i>Pinus ayacahuite</i> EHREN.....	34

2.1 RESUMEN.....	34
2.2 ABSTRACT.....	35
2.3 INTRODUCCIÓN.....	36
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS	39
2.4.1 Localización y material vegetal	39
2.4.2 Producción de brotes	39
2.4.3 Enraizado de mini-estacas	40
2.4.4 Variables evaluadas	41
2.4.4.1 Producción de brotes.....	41
2.4.4.2 Enraizamiento	42
2.4.5 Diseño experimental.....	42
2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
2.5.1 Producción de brotes	45
2.5.2 Enraizamiento adventicio	47
2.5.2.1 Efecto del fertilizante.....	48
2.6 CONCLUSIONES.....	57
2.7 LITERATURA CITADA.....	58
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES.....	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Tratamiento pre germinativo a las semillas de <i>P. ayacahuite</i>	10
Figura 1.2. Fases de la germinación de las semillas de <i>P. ayacahuite</i> . A) Fase de cerillo, B) Plántula sin testa, C) Plantas germinadas.....	10
Figura 1.3. Aplicación de tratamientos de fertilización con el riego a plantas madre de <i>P. ayacahuite</i> . A) Preparación de tratamientos, B) Riego por tratamiento a cada planta.	11
Figura 1.4. Manejo de las plantas madre de <i>Pinus ayacahuite</i> . A) Trasplante en contenedores de 1 L, B) Poda de plantas madre, C). Tratamientos de fertilización de plantas madre podadas.....	11
Figura 1.5. Establecimiento del experimento de enraizamiento de estacas apicales de <i>Pinus ayacahuite</i> . A) Preparación de los tratamientos de auxina, B) Corte de ápices a 6 cm, C) Estacas apicales de <i>P. ayacahuite</i> establecidas en la cámara de enraizado.	12
Figura 1.6. Toma de datos: diámetro y altura. A) Herramientas utilizadas para la toma de datos, B) Medición de altura, C) Toma de diámetro.	14
Figura 1.7. Incremento en altura y diámetro de plantas madre de <i>Pinus ayacahuite</i> tratadas con diferentes dosis de fertilizante por tres meses. A) Incremento en altura, B) Incremento en diámetro, las letras sobre las barras indican diferencias significativas al 5 %, n=24.	18
Figura 1.8. Porcentajes promedio de supervivencia, enraizamiento y formación de callo registrados después de 90 días en las estacas apicales de <i>Pinus ayacahuite</i> . En cada barra, los errores estándar son indicados (n= 6 ± error estándar).....	20
Figura 1.9. Porcentajes promedio de estacas con callo en las estacas <i>Pinus ayacahuite</i> provenientes de plantas madres tratadas con diferentes dosis de fertilizante. (n=6 ± error estándar).	22

Figura 1.10. Efecto de los tratamientos de fertilización sobre las variables morfológicas de la raíz en el enraizado de estacas apicales de <i>Pinus ayacahuite</i> . A) Número de raíces primarias y secundarias, B) Longitud de raíces primarias. (n= 6 ± error estándar). 23	23
Figura 1.11. Morfología de raíces en estacas de <i>P. ayacahuite</i> . A) Testigo con raíces primarias, B) 2500, con raíces secundarias, C) 7500, con raíces secundarias, D) 10000 mg L ⁻¹ de AIB, sin raíces primarias ni secundarias..... 24	24
Figura 1.12. Efecto de los tratamientos de AIB sobre las variables morfológicas de la raíz en el enraizado de estacas apicales de <i>Pinus ayacahuite</i> . A) Número de raíces primarias y secundarias, B) Longitud de raíces primarias. (n= 6 ± error estándar). 25	25
Figura 1.13. Diferentes tipos de callo formados en estacas de <i>P. ayacahuite</i> tratadas con diferentes concentraciones de AIB. A) Tratamiento testigo, sin la aplicación de auxina, B) 2500 mg L ⁻¹ , C) 7500 mg L ⁻¹ , D) 10000 mg L ⁻¹ 26	26
Figura 2.1. Enraizamiento de estacas de <i>P. ayacahuite</i> . A) Colecta de mini-estacas y desinfección, B) Preparación de tratamientos (concentraciones de AIB), C) Colocación de las estacas en las cámaras de enraizamiento. 40	40
Figura 2.2. Tratamientos de fertilización en la producción de mini-estacas para enraizado de <i>Pinus ayacahuite</i> . A) Tratamiento testigo, B) Dosis 0.5 g L ⁻¹ , C) Dosis 1.0 g L ⁻¹ , D) Dosis 2.0 g L ⁻¹ 41	41
Figura 2.3. Variables evaluadas en el enraizado de mini-estacas de <i>Pinus ayacahuite</i> . A) Estacas con presencia de raíz, B) Estacas con formación de callo, C) Estacas sin presencia de raíz ni callo a los 75 días. 42	42
Figura 2.4. Medias de tratamientos de fertilización de plantas madre. A) Número de brotes, B) Longitud de brotes, C) diámetro de brotes. Las letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas al 5 %, de acuerdo con la prueba de Tukey. 46	46
Figura 2.5. Porcentajes promedio de supervivencia, enraizamiento y formación de callo registrados después de 75 días en estacas de <i>Pinus ayacahuite</i> . En cada barra, los errores estándar son indicados (n=48 ± error estándar). 48	48

Figura 2.6. Vigor de las estacas en la cámara de enraizamiento. A) Al momento de ser cosechadas, B) Estacas vivas, pero sin raíces. 56

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.1. Valores de P en el análisis de varianza para el crecimiento en altura y diámetro de plantas madre de siete meses de edad de <i>Pinus ayacahuite</i> Ehren.	17
Cuadro 1.2. Valores de probabilidad (P) para la supervivencia, enraizamiento y producción de callo (%) en el enraizamiento de estacas de <i>Pinus ayacahuite</i>	21
Cuadro 1.3. Valores de probabilidad (P) para las variables incluidas en la morfología de raíces generadas en el enraizamiento de estacas de <i>Pinus ayacahuite</i>	22
Cuadro 2.1. Valores de significancia para las variables de plantas madre de 15 meses de edad de <i>Pinus ayacahuite</i>	45
Cuadro 2.2. Valores de probabilidad (P) para el análisis de varianza de las variables de enraizamiento en estacas de <i>Pinus ayacahuite</i> a las 10 semanas.	47
Cuadro 2.3. Valores medios (\pm error estándar) por dosis de fertilizante en las variables evaluadas en el experimento de enraizamiento de estacas de <i>Pinus ayacahuite</i>	51
Cuadro 2.4. Valores medios (\pm error estándar) por concentraciones de AIB en las variables evaluadas en el experimento de enraizamiento de estacas de <i>Pinus ayacahuite</i> a las 10 semanas.	53

INTRODUCCIÓN GENERAL

Pinus ayacahuite Ehren se distribuye desde la región central de México; en los estados de México, Morelos, Hidalgo, Puebla, Tlaxcala, Jalisco, Veracruz, Michoacán, Guerrero y hacia el sur en Chiapas continuando hasta Guatemala, Honduras y El Salvador. Se desarrolla principalmente en las cañadas y lugares de suelo profundo y húmedo, en elevaciones que van de 2 000 a 3 000 m en sitios con niveles de precipitación anual de 600 a 2200 mm y clima templado cálido con temperaturas medias anuales que oscilan entre 15 y 30° C (Eguiluz, 1982; Perry, 1991). Aunque las poblaciones naturales no forman masas puras, esta especie tiene potencial económico para utilizarse en plantaciones comerciales, debido a su alta tasa de crecimiento, buena calidad de la madera y su resistencia a plagas y enfermedades (Farfán *et al.*, 2002); principalmente es utilizada para árboles de navidad.

Pinus ayacahuite Ehren se ubica taxonómicamente dentro del subgénero *Strobos*, sección *Strobos*, subsección *Strobi* (Little y Critchfield, 1969), formando parte del grupo de los pinos blancos. Se encuentran entre las especies más explotadas de México, son pinos de condiciones ecológicas restringidas y como resultado de la enorme presión antropogénica se ha provocado su disminución, fragmentación y una continua reducción de los bosques de estas especies, lo que afecta la distribución y calidad fenotípica de las poblaciones de Pinos Blancos Mexicanos (Ramírez, 1990; Hernández, 1991; Pérez de la Rosa, 1993; Mirov, 1997).

Desde su identificación por Carl August Ehrenberg en 1837 (Farjon y Styles, 1997), se han reconocido tres variedades: *P. ayacahuite* var. *veitchii* (Roetzl) Shaw, *P. ayacahuite* var. *ayacahuite* del centro del país y *P. ayacahuite* var. *brachyptera* Shaw ubicada al norte del país (Martínez, 1948). Existe controversia con una variedad debido a que Engelman en 1848 mencionó a *P. ayacahuite* var. *brachyptera* como *Pinus strobiformis*, pero fue Shaw en 1990 quién redujo ambas especies a variedades de *P. ayacahuite* (Martínez 1948; Pérez de la Rosa, 1993). Sin embargo, Hernández (1990) a través de un estudio de variación aloezimática, reconoció a *P. strobiformis* como una especie diferente de *P. ayacahuite*, pero aún sigue la controversia sobre la variedad *brachyptera* (Perry, 1991; Farjon y Styles 1997; Musálem y Ramírez, 2003).

Anualmente en México la demanda de árboles de navidad es de 1.6 a 2.0 millones, sin embargo, la cantidad que se produce en el país es insuficiente, pues alrededor de 60 % se cubre a través de importaciones procedentes de Estados Unidos y Canadá, lo que representa una pérdida de divisas (CONAFOR, 2011).

La implementación de programas para el establecimiento de plantaciones con especies nativas para la producción de árboles de navidad en México, resulta ser una alternativa para cubrir la demanda de este producto en el mercado interno, además de ser una industria forestal generadora de empleos (Torres y Carvajal, 2012).

La propagación vegetativa (clonación) constituye un papel fundamental en el establecimiento de programas de plantaciones forestales comerciales como un medio de multiplicación a gran escala de genotipos superiores, ya que permite tener plantaciones con individuos homogéneos, permitiendo capturar y transferir al nuevo individuo todo el potencial genético del árbol madre de manera rápida (Zobel y Talbert, 1988). En la mayoría de especies forestales, se ha encontrado que las técnicas de propagación vegetativa más utilizadas son el enraizamiento de estacas, acodos aéreos e injertos (macro propagación) y el cultivo *in vitro* (micro propagación) (Peña *et al.*, 2010), siendo el enraizamiento de estacas el método de propagación más eficiente en términos de rapidez, manejo y costo (Hartmann *et al.*, 2013). Sin embargo, las especies leñosas de importancia económica presentan baja capacidad para formar raíces adventicias (Bellini *et al.*, 2014).

Una característica fundamental para el enraizado de estacas en especies forestales es el uso de tejido juvenil (Guan *et al.*, 2015), sin embargo, aún con rebrotes juveniles, la capacidad de enraizado depende de diversos factores tanto fisiológicos como ambientales, siendo un aspecto importante del manejo de la planta madre la fertilización a base de Nitrógeno (N) debido a que las concentraciones de N afectan los niveles de carbohidratos, la producción de brotes y el enraizamiento (Rowe *et al.*, 2002). La nutrición es un factor clave que afecta la predisposición de enraizamiento debido a su participación sobre las respuestas morfológicas de las diversas partes

de la planta (Villar Salvador *et al.*, 2005). En coníferas la reducción de carbohidratos es alta en invierno y baja en verano (Martínez-Alonso *et al.*, 2012)

Otro factor fisiológico importante en la formación de raíces adventicias, es la aplicación de auxina exógena, siendo la más utilizada el ácido indolbutírico (AIB) (Ruiz-García *et al.*, 2005; Hunt *et al.*, 2011), debido a que no es tóxica en un amplio rango de concentraciones (Husen, 2012). El AIB acelera la iniciación de raíces adventicias, y aumenta la uniformidad del enraizado, sin embargo, es necesario conocer la dosis adecuada para cada especie (Ruiz *et al.*, 2005), incluso para cada genotipo (Dumroese *et al.*, 2009)

Para la especie estudiada, no se tienen trabajos previos respecto al enraizado de estacas, debido a ello, la presente investigación tuvo como objetivo general establecer un protocolo de propagación vegetativa a través del enraizamiento de mini-estacas de *Pinus ayacahuite* en plantaciones comerciales de árboles de navidad.

En el primer capítulo se analizó la respuesta a la aplicación de fertilizante en el crecimiento y desarrollo de las plantas madre de *Pinus ayacahuite*, así como el efecto del ácido indolbutírico (AIB) en el enraizamiento de estacas apicales o mini-estacas apicales, mientras que en el segundo capítulo se prueba el efecto de la fertilización para promover la producción e incremento de brotes en cada planta madre y del AIB en la inducción de raíces adventicias.

CAPITULO I. FERTILIZACIÓN DE PLANTAS MADRE DE *Pinus ayacahuite* EHREN. Y ENRAIZAMIENTO DE MINI-ESTACAS APICALES

1.1 RESUMEN

Las plantaciones forestales comerciales de árboles de navidad se presentan como una alternativa para producir los árboles que demanda el mercado nacional, sin afectar los bosques naturales. En la producción de árboles de navidad se aprovechan especies nativas, siendo *Pinus ayacahuite* Ehren el más utilizado para este fin. La formación y el manejo de la planta madre o donadora es uno de los aspectos relevantes para el éxito de la propagación basada en enraizamiento de estacas. Por tales motivos, la presente investigación se realizó con el propósito de analizar el efecto de la fertilización en el crecimiento inicial de las plantas madre de *Pinus ayacahuite* de un año de edad, cultivadas en contenedores individuales de 310 mL durante 138 días para su posterior trasplante a contenedores de 1 L de capacidad, utilizando sustrato compuesto por una mezcla turba (Kekila[®]), perlita (agrolita[®]) y vermiculita[®] en proporción 3:1:1, cuatro dosis de fertilizante hidrosoluble Peters Profesional[®] (20-20-20), un tratamiento testigo sin fertilizante y tres niveles de fertilización (0.5, 1.0 y 2.0 g L⁻¹) y de determinar la concentración de AIB en combinación con dosis de fertilización para el enraizamiento de estacas apicales en el período otoño-invierno. El crecimiento en altura no mostró diferencias estadísticamente significativas, mientras que el incremento en diámetro si, en el cual los mejores tratamientos fueron 1.0 y 2.0 g L⁻¹ de fertilizante. Se obtuvo 18.67 % de enraizamiento mostrando que con 0.5 g L⁻¹ de fertilizante y 7500 mg L⁻¹ se obtienen mejores resultados. Al no aplicar axina exógena, el enraizamiento es nulo y la formación de callo es de 41.33 %.

Palabras clave: Planta madre, fertilizante, enraizado, estacas apicales, ácido indolbutírico.

1.2 ABSTRACT

Commercial Christmas tree plantations are presented as an alternative to produce the trees demanded by the national market, without affecting natural forests. Native species are used in the production of Christmas trees, being *Pinus ayacahuite* Ehren the most used for this purpose. The formation and management of the mother or donor plant is one of the relevant aspects for the success of propagation based on rooting of cuttings. For these reasons, the present investigation was carried out with the purpose of analyzing the effect of fertilization on the initial growth of the mother plants of one-year-old *Pinus ayacahuite*, grown in individual 310 mL containers for 138 days for subsequent transplantation to 1 L capacity containers, using a substrate composed of a mixture of peat (Kekila®), perlite (agrolite®) and vermiculite® in a 3: 1: 1 ratio, four doses of Peters Professional® water-soluble fertilizer (20-20-20), a control treatment without fertilizer and three levels of fertilization (0.5, 1.0 and 2.0 g L⁻¹) and to determine the IBA concentration in combination with fertilization doses for the rooting of apical cuttings in the autumn-winter period. The growth in height did not show statistically significant differences, while the increase in diameter did, in which the best treatments were 1.0 and 2.0 g L⁻¹ of fertilizer. 8.67 % rooting was obtained, showing that with 0.5 g L⁻¹ of fertilizer and 7500 mg L⁻¹ better results are obtained. By not applying exogenous auxin, rooting is null and callus formation is 41.33 %.

Keywords: Donor plant, fertilizer, rooting, apical cuttings, indole butyric acid (IBA)

1.3 INTRODUCCIÓN

Las plantaciones forestales comerciales constituyen, a nivel nacional, una actividad prioritaria que contribuye a incrementar la producción y productividad forestal del país; las plantaciones forestales comerciales de árboles de navidad se presentan como una alternativa para producir los árboles que demanda el mercado nacional, sin afectar los bosques naturales (CONAFOR, 2011); no sólo constituyen un negocio rentable, sino que favorecen la recuperación de suelos forestales y la provisión a la sociedad de servicios ambientales. Además, son generadoras de alternativas económicas rentables y competitivas para los productores, generando empleos directos e indirectos en torno a dicha actividad (SEMARNAT, 2011; Torres y Carvajal, 2012).

En la producción de árboles de navidad se aprovechan especies nativas, con lo que se favorece su conservación (Álvarez *et al.*, 2007). Entre las especies más comunes en el mercado se encuentran *Pinus ayacahuite*, *Pinus greggii*, *Pinus cembroides*, *Abies religiosa* y *Pseudotsuga menziesii* (CONAFOR, 2011), siendo *Pinus ayacahuite* Ehren. (pino blanco o pino vikingo) el más utilizado para este fin, el cual cuenta con características distintivas como la forma simétrica que toma por medio de podas, suficiente follaje con agradable color verde y el crecimiento relativamente rápido en relación con otros árboles (INIFAP, 1997).

Para capturar las características antes mencionadas, se puede recurrir al uso de la propagación vegetativa; la cual permite producir plantas con características genéticas idénticas a las de la planta madre, multiplicar fenotipos deseables y aplicar en proyectos productivos o para la conservación genética de especies, poblaciones e individuos (Zobel y Talbert, 1988; Celestino *et al.*, 2005). Estas características deseables son difíciles de mantener cuando la planta se obtiene a partir de semilla.

A pesar que, para la mayoría de especies leñosas, la propagación por enraizado de estacas es el método más eficiente en términos de rapidez (Hartmann *et al.*, 2013), se requiere tomar en cuenta diversos aspectos, como es el estado nutricional de las plantas madre y el manejo de las estacas con auxina exógena.

El desarrollo y el manejo de la planta madre o donadora es uno de los aspectos relevantes para el éxito de la propagación basada en enraizamiento de estacas. La planta donadora debe alcanzar un tamaño adecuado para ser considerada como un seto que se pueda manejar a base de podas. Se ha señalado que la fertilización principalmente a base de Nitrógeno (N) favorece el desarrollo y crecimiento de la planta donadora; (además el fósforo y potasio, también son requeridos durante la conformación de estas plantas). Un incremento de estos nutrientes genera plantas donadoras vigorosas, que con manejo a base de podas emiten estacas con una mayor calidad y capacidad para producir nuevas raíces y por ende plantas más desarrolladas (Van Den Driessche, 1992; Douglass *et al.*, 2005).

El estado nutricional en las plantas cumple múltiples funciones afectando los procesos fisiológicos, como la regulación del crecimiento, flujo de energía y la síntesis de los complejos orgánicos moleculares que las componen (Peñuelas y Ocana, 1996; Escobar, 2007). La carencia de una buena nutrición provoca cambios metabólicos, que pueden reflejarse en un inadecuado desarrollo de la planta. Además de ello, el éxito del enraizamiento de las estacas depende de los reguladores de crecimiento empleados (Itoh *et al.*, 2002; Klopotek *et al.*, 2012) los cuales se aplican en la base de las estacas para promover la formación de raíces adventicias e incrementar su capacidad de enraizado. El más eficaz es el ácido indolbutírico (AIB) (Bielenin, 2003), sin embargo, la respuesta depende de la especie y las concentraciones empleadas.

El uso de plantas producidas por estacas hace más efectivo el rendimiento de las plantaciones forestales por las ganancias logradas en términos de volumen, calidad de madera, rectitud de fuste y resistencia a enfermedades (Radke y Radke, 2004). Actualmente, la multiplicación de material genéticamente mejorado se logra a través de la producción de estacas enraizadas (Mitchell *et al.*, 2004a).

Debido a lo anterior, el objetivo de esta investigación es 1) analizar el efecto de diferentes dosis de fertilizante suministradas a setos de *P. ayacahuite* sobre el desarrollo y crecimiento de las plantas madre, y 2) Determinar la concentración de AIB en combinación con dosis de fertilizante para el enraizamiento de estacas apicales; bajo las hipótesis de que las plantas

fertilizadas tendrán un mayor crecimiento en diámetro y altura, en comparación con las plantas no fertilizadas y las dosis de fertilizante junto con el AIB promoverán la producción de raíces adventicias en estacas de *P. ayacahuite*.

1.3 MATERIALES Y MÉTODOS

1.4.1 Área de estudio

El experimento se realizó en el vivero, ubicado en el Huerto semillero sexual de *Pinus leiophylla* dentro del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, en las coordenadas geográficas 19° 27' 34.8'' LN y 98° 54' 15.8'' LO, a una altitud de 2250 m en Texcoco, Estado de México; el clima del área es templado con lluvias en verano con precipitación media anual de 659 mm (Gómez *et al.*, 2010).

1.4.2 Material vegetal y producción de planta madre

Para la producción de planta madre, en el año 2018 se recolectó semilla de árboles bien conformados y libres de plagas y enfermedades de un rodal ubicado en la localidad de Carbonero Jacales, perteneciente al municipio de Huayacocotla, Veracruz, localizado a una altitud de 2589 m.

La siembra se realizó en enero de 2019; las semillas se germinaron en contenedores individuales de 310 cm³ con una mezcla de sustrato compuesta por turba (Kekila[®]), perlita (agrolita[®]) y vermiculita[®] en proporción 3:1:1, respectivamente, bajo condiciones de invernadero. Para la germinación, las semillas se remojaron en agua destilada, adicionando agua oxigenada (4 g L⁻¹) durante 12 h para homogeneizar la germinación y separar las semillas vanas de las llenas por el método de flotación (Figuras 1.1 y 1.2).



Figura 1.1. Tratamiento pre germinativo a las semillas de *P. ayacahuite*

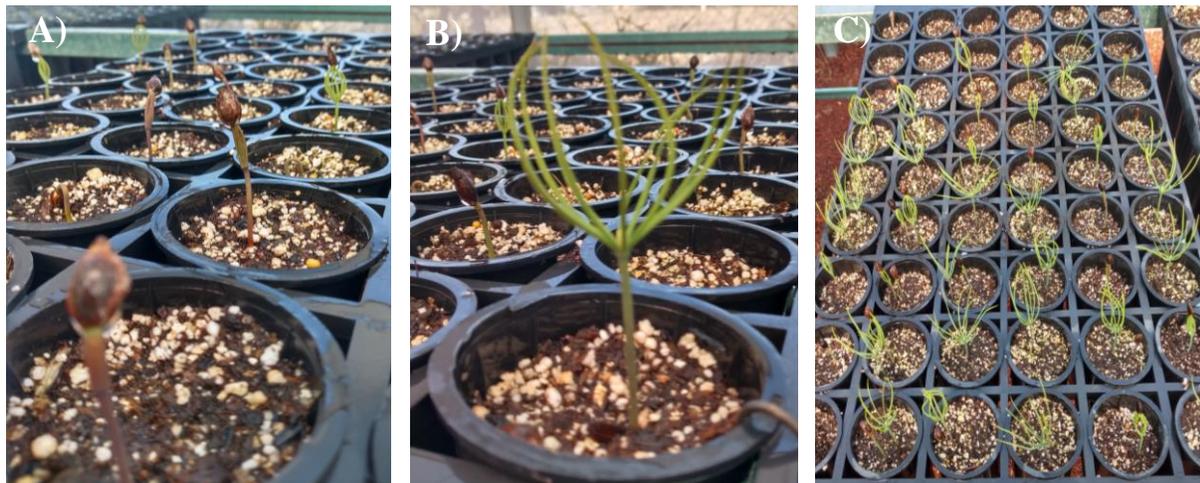


Figura 1.2. Fases de la germinación de las semillas de *P. ayacahuite*. A) Fase de cerillo, B) Plántula sin testa, C) Plantas germinadas.

1.4.3 Fertilización y riego de plantas madre

A los cuatro meses de edad de la planta inició el experimento. La fertilización de la planta madre se aplicó junto con el riego, agregándose 150 ml de solución nutritiva por planta. La solución nutritiva consistió en la solubilización de fertilizante hidrosoluble Peters Profesional® (20-20-20 N-P-K). En total, se aplicaron cuatro niveles de fertilización que consistieron en un testigo sin fertilizar (únicamente riegos con agua) y fertilización con tres dosis de la mencionada

fórmula (0.5, 1.0 y 2.0 g L⁻¹). Los fertirriegos se aplicaron dos veces por semana, cuidando que el pH se mantuviera a 5.5 (Figura 1.3).



Figura 1.3. Aplicación de tratamientos de fertilización con el riego a plantas madre de *P. ayacahuite*. A) Preparación de tratamientos, B) Riego por tratamiento a cada planta.

1.4.4 Enraizamiento

A los cinco meses de edad de la planta madre, se realizó el trasplante a contenedores de 1 L (Figura 1.4 A) y posteriormente se realizó una poda (siete meses de edad de la planta madre) a 8 cm del cuello de raíz para obtener el esqueje apical, el cual se ajustó a una longitud de 6 cm (Figuras 1.4 B y 1.4 C).

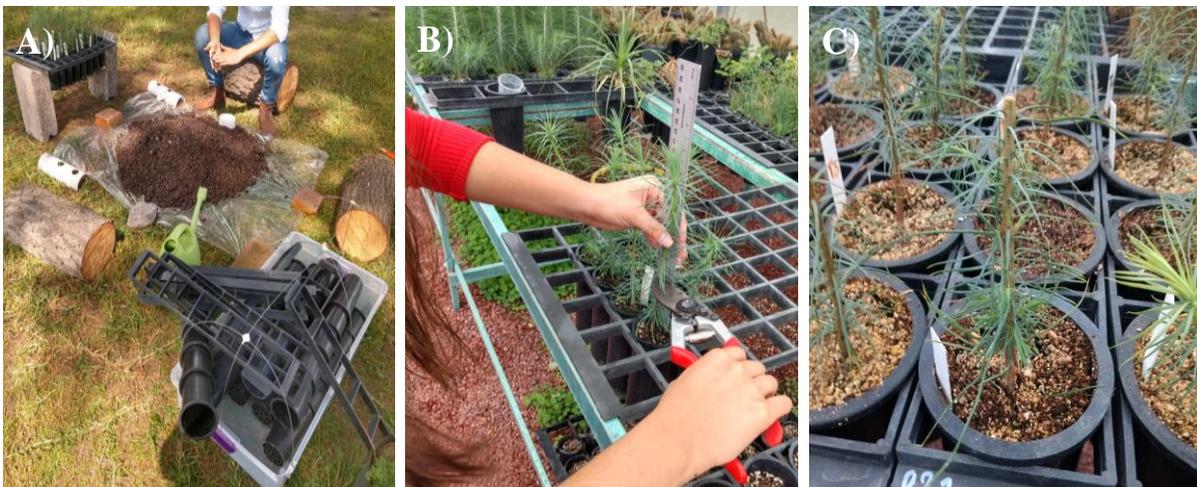


Figura 1.4. Manejo de las plantas madre de *Pinus ayacahuite*. A) Trasplante en contenedores de 1 L, B) Poda de plantas madre, C). Tratamientos de fertilización de plantas madre podadas.

Al momento de realizar la poda, se tomaron los ápices cortados para probar la mejor concentración de ácido indolbutírico en el enraizado de estos. Se utilizó enraizador comercial Radix-10000® en polvo; las concentraciones (0, 2500, 7500 y 10000 mg L⁻¹) se prepararon mediante diluciones con talco (silicato de magnesio hidratado); para preparar 10 g para la concentración 7500 mg L⁻¹ se tomó 7.5 g de Radix-10000® con 2.5 g de talco, la mezcla se homogeneizó antes de aplicarla; para el tratamiento testigo (0 mg L⁻¹) sólo se aplicó talco. Las estacas apicales se cortaron de 6 cm (mini-estacas), retirando 2 cm de acículas a partir de su base, a esa sección basal se le realizó un corte de forma diagonal, para posteriormente introducirlas en las mezclas y finalmente se eliminó el exceso de auxina (Figura 1.5 A y 1.5 B).



Figura 1.5. Establecimiento del experimento de enraizamiento de estacas apicales de *Pinus ayacahuite*. A) Preparación de los tratamientos de auxina, B) Corte de ápices a 6 cm, C) Estacas apicales de *P. ayacahuite* establecidas en la cámara de enraizado.

Los ápices se establecieron en cámaras de enraizado de madera de 60 cm de longitud, 70 cm de ancho y 13 cm de alto; la parte de arriba de la cámara se cubrió con plástico de polietileno. Las cámaras se cerraron de tal forma que la humedad y el agua producto de la transpiración se mantuviera dentro de las cajas. El sustrato que se utilizó para el enraizamiento fue una mezcla de perlita (agrolita[®]), vermiculita[®] y turba (Kekila[®]) en proporción 3:1:1, se colocó en las cajas de enraizamiento y se humectó con agua destilada (Figura 1.5 C).

Para el establecimiento de los ápices se realizaron hoyos de 4 cm de profundidad y a una distancia de 4×4 cm, colocando las estacas apicales y presionando el sustrato alrededor de ellas con cuidado para evitar daños al tejido vegetal. Al finalizar, las estacas se asperjaron con fungicida Captan[®] (1 g L⁻¹) y las cajas fueron cerradas propiciando un microclima de humedad del 70 al 85 % (datos registrados por un HOBO). A los 30 días se asperjaron nuevamente con el mismo fungicida; durante el experimento no fueron necesarios los riegos.

1.4.5 Variables evaluadas

1.4.5.1 Crecimiento en diámetro y altura por seto

En cada tratamiento se evaluó diámetro (mm) y altura (cm) de las plantas madre, al momento de la primera aplicación del fertilizante y una última medición se tomó a los 60 días; la altura se midió con una regla graduada, de la base del tallo, hasta el ápice de la yema apical desarrollada; mientras que el diámetro se tomó con un vernier digital en la base del tallo, un centímetro por arriba del cuello de raíz, para hacer las mediciones más precisas se colocó una marca de referencia para que cada medición se realizara en el mismo lugar (Figura 1.6 C).



Figura 1.6. Toma de datos: diámetro y altura. A) Herramientas utilizadas para la toma de datos, B) Medición de altura, C) Toma de diámetro.

1.4.5.2 Enraizamiento

Se tomó una evaluación final a los 120 días de iniciado el experimento, las variables fueron; estacas vivas (%), enraizamiento (%), número de raíces tanto primarias como secundarias, longitud media de raíces primarias (cm) y estacas con callo (%). En ese momento se extrajeron todas las estacas del sustrato, considerando como estaca enraizada la que presentó al menos una raíz de 2 mm de largo y estaca muerta cuando presento más de 50 % de tallo necrosado.

1.4.6 Diseño experimental

Para el experimento de fertilización, se utilizó un diseño experimental completamente al azar (DECA): cuatro dosis de fertilizante (0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 g L⁻¹) con un total de 24 repeticiones por tratamiento. Antes de aplicar el análisis de varianza, se realizaron las pruebas de normalidad (Shapiro) para determinar si los residuos de los datos eran simétricos o no y homogeneidad de varianzas (Bartlett); la variable respuesta (*Y*) incremento en diámetro no cumplió con los supuestos del modelo (normalidad y homogeneidad) aun realizando transformaciones: raíz cuadrada, logarítmica, arcoseno y box-cox, por lo que se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis al 95 % de confiabilidad (Kruskal y Wallis, 1952), Posteriormente se hizo el

análisis de varianza de un factor para el caso de la variable (Y) altura, en el programa estadístico SAS. Para la variable diámetro se realizó una prueba de rangos por pares en el Software InfoStat 2016. El modelo estadístico utilizado fue un DECA:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde, $i = 1, 2, \dots, t$; $j = 1, 2, \dots, r$; t = número de tratamientos, r = número de repeticiones; y_{ij} = la variable aleatoria (*v.a.*) correspondiente al tratamiento i en su repetición j ; μ = media general; τ_i = efecto del tratamiento i ; ε_{ij} = error experimental correspondiente al tratamiento i en su repetición j .

El experimento de enraizamiento, se estableció con un diseño completamente al azar con arreglo factorial (96 estacas en total): cuatro dosis de fertilizante (0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 g L⁻¹) y cuatro concentraciones de AIB (0, 2500, 7500 y 10000 mg L⁻¹), con seis repeticiones por tratamiento (cada estaca, representa la unidad experimental). El experimento se realizó en el periodo otoño-invierno (del 13 de septiembre de 2019 al 13 de enero de 2020).

Para las variables (Y); estacas vivas (%), enraizamiento (%) y estacas con callo (%) se utilizó un análisis de variables categóricas mediante el procedimiento CATMOD, mediante regresión logística, debido a que las variables dependientes no son continuas, sino binomiales. Para las variables respuesta (Y) número de raíces tanto primarias como secundarias y longitud media de raíces primarias (cm) se utilizó una prueba no paramétrica de rangos Kruskal-Wallis al 95 % de confiabilidad (Kruskal y Wallis, 1952), debido a que no asume normalidad en los supuestos, en el programa estadístico SAS y Software InfoStat 2016.

El modelo estadístico utilizado fue un DECA con arreglo factorial:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde, $i=1, 2, \dots, a$ número de niveles del factor A, $j=1, 2, \dots, b$ número de niveles del factor B, $k=1, 2, \dots, r$ número de repeticiones de cada combinación A*B, y_{ijk} = valor de la variable respuesta correspondiente a la repetición k del nivel i de A al nivel j de B, μ = media general, A_i efecto del nivel i de A (Auxina), B_j efecto del nivel j de B (Fertilizante), AB_{ij} interacción A*B, correspondiente al nivel i de A y nivel j de B, ε_{ijk} = error experimental correspondiente a la repetición k del nivel i de A al nivel j de B; Debe cumplirse que $\varepsilon_{ijk} \sim NID(0, \sigma^2)$.

1.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1 Fertilización de plantas madre

1.5.1.1 Crecimiento en diámetro y altura

El análisis de varianza no mostró diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0.05$) para el crecimiento en altura de las plantas madre. Éste fue similar aun aplicando los tratamientos de fertilización durante tres meses (Cuadro 1.1). Mientras que la variable diámetro si las hubo.

Cuadro 1.1. Valores de P en el análisis de varianza para el crecimiento en altura y diámetro de plantas madre de siete meses de edad de *Pinus ayacahuite* Ehren.

Fuente de Variación	Variable	GL	P
Tratamientos de fertilizante	Altura	3	0.2930
	Diámetro†	3	0.0001*

† Diámetro: Prueba de Kruskal Wallis. GL: Grados de libertad para el error. P : significancia estadística. Las diferencias significativas ($P \leq 0.05$) se indican con*.

A pesar de la inexistencia de diferencias significativas para la altura, las plantas tratadas con 1.0 g L^{-1} de fertilizante resultaron 18.68 % más bajas que las de mayor altura, 0.5 g L^{-1} (Figura 1.7 A). El efecto del fertilizante para incrementar el crecimiento de las plantas ha sido bien documentado (Albaugh *et al.*, 2004; Escobar, 2007; Grossnickle, 2012); sin embargo, en este estudio el incremento en altura de las plantas no se vio afectado. Se reconocen cuatro principales patrones de crecimiento anual en altura de las especies forestales, clasificadas en: crecimiento libre, crecimiento fijo, crecimiento fijo-libre y crecimiento fijo-fijo (Lanner, 1976); el crecimiento de especies forestales está influenciado por un fenómeno fisiológico denominado letargo, el cual está asociado a fotoperiodos cortos y temperaturas bajas. El patrón general para las especies de clima templado establece que en otoño entran en quiescencia o pre-letargo debido a factores ambientales; en invierno se acentúa el letargo entrando en receso debido al ambiente interno de la yema (baja actividad mitótica) y a finales del invierno y principios de primavera las plantas entran de nuevo en una etapa de quiescencia post-letargo (Viveros y Vargas, 2007) en

donde reactivan su crecimiento; este estudio de fertilización se realizó en los meses de septiembre a diciembre, por lo que a pesar de que las plantas fueron tratadas con fertilizantes no se observó un crecimiento significativo.

A diferencia de la altura, el crecimiento del diámetro de las plantas se incrementó, por efecto del tratamiento de fertilización de manera significativa ($P= 0.001$), con diferencias entre al menos un tratamiento (Cuadro 1.1). Los mejores resultados se obtuvieron con los tratamientos 1.0 y 2.0 g L^{-1} , al presentar incrementos mayores de 41 % respecto del tratamiento testigo; además, el diámetro de las plantas decreció conforme las dosis de fertilizante disminuyeron (Figura 1.7 B).

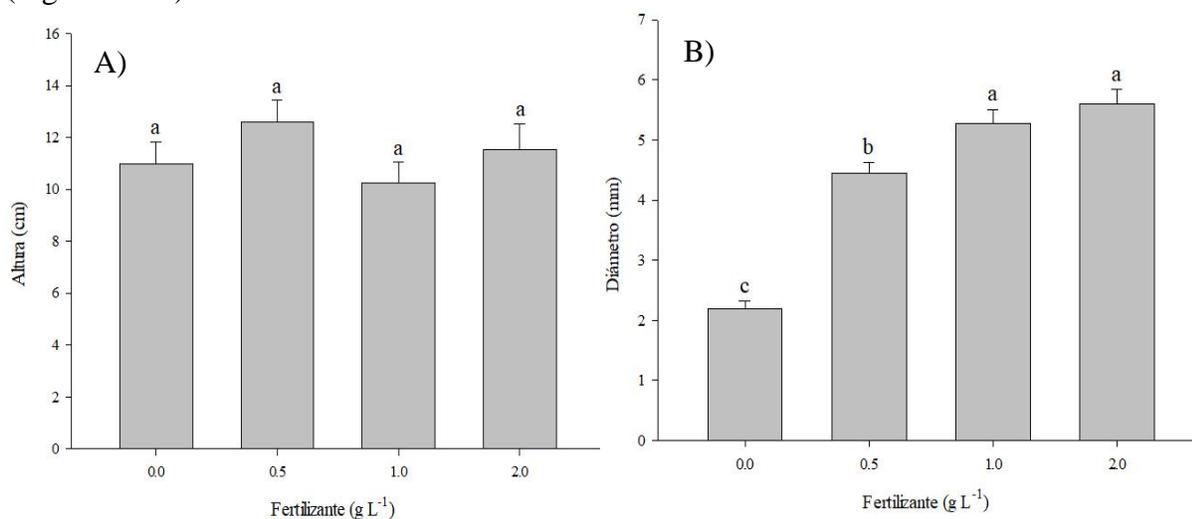


Figura 1.7. Incremento en altura y diámetro de plantas madre de *Pinus ayacahuite* tratadas con diferentes dosis de fertilizante por tres meses. A) Incremento en altura, B) Incremento en diámetro, las letras sobre las barras indican diferencias significativas al 5 %, $n=24$.

El diámetro a la base del cuello de raíz es un indicador de la capacidad de transporte de agua hacia la parte aérea, de la resistencia mecánica y de la capacidad relativa de tolerar altas temperaturas de la planta, además de ser una característica morfológica principal que determina la adaptación de las plantas en el sitio de plantación (Tsakaldimi *et al.*, 2013). El fertilizante mejora la producción de tejido verde (clorofila), importante para la fotosíntesis y producción de azúcares o sustancias de reserva los cuales se acumulan en la zona del cuello de raíz, por lo que

influye en ese incremento en diámetro y en parte apoya al crecimiento radical. Particularmente el almacenamiento de estos compuestos ocurre durante la época invernal; en nuestro trabajo esto fue evidente, particularmente en las plantas tratadas con fertilizante.

La fertilización es una de las prácticas culturales con mayor influencia en la calidad de la planta producida: estimula el desarrollo, especialmente de sus raíces, optimiza el uso eficiente del agua con la captación de nutrientes de manera eficaz para asegurar su supervivencia y crecimiento inicial (Albaugh *et al.*, 2004), además de que las plantas adquieren mayor vigor, resistencia a plagas (Pérez-Camacho *et al.*, 2013) y se incrementa el almacenamiento de sustancias de reserva (Smaill, Clinton y Greenfield, 2008).

El crecimiento y desarrollo de la planta dependen tanto del genotipo, como de la etapa de crecimiento, por lo que la fertilización debe responder a requerimientos específicos del vegetal, (Jackson *et al.*, 2012). En el presente estudio, las plantas fertilizadas de *P. ayacahuite* se encontraban en la etapa de crecimiento, por lo que se puede utilizar el tratamiento 1.0 g L⁻¹ de fertilizante Peters Profesional® (20-20-20, N-P-K) con una frecuencia de aplicación de dos veces por semana, para reducir costos de producción.

1.5.2. Enraizamiento de estacas apicales

Al final de experimento se observó una alta supervivencia de las estacas apicales de *Pinus ayacahuite*, independientemente del enraizamiento, lo cual se puede atribuir a las condiciones ambientales al interior de la cámara de enraizamiento. La humedad relativa (70 a 85 %) y la temperatura de la cámara (18 a 28 °C) evitaron la pérdida excesiva de agua y mantuvieron la turgencia de las células en las estacas, durante el proceso de rizogénesis. Consecuentemente, un alto porcentaje de estacas que no formaron raíces (40 %), se mantuvieron viables en la cámara durante 120 días (Figura 8). Se ha señalado que, durante el proceso de enraizamiento, las condiciones de humedad relativa y disponibilidad de agua deben ser máximas, debido a que los esquejes de tallo no tienen raíces; de no ser así, se produce deshidratación, y en consecuencia la muerte (Hartmann *et al.*, 2013). En el presente experimento la viabilidad de las estacas permite considerar, si estas pudieron haber requerido de más tiempo para enraizar; ya que después de 120

días solo el 21 % había enraizado (Figura 1.8). En otros estudios con estacas de coníferas el enraizamiento lleva de dos a tres meses en promedio (Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016). Probablemente esta especie pudiera requerir de más tiempo. Además, se debe analizar la mezcla de sustrato usada, sus características físicas como porosidad, aireación, drenaje y pH influyen en la producción de raíces (Saranga y Cameron, 2007). En el experimento la mezcla incluyó vermiculita y turba, compuestos que ayudan a obtener mayor capacidad de retención de agua (Cabrera, 1999; Ragonezi *et al.*, 2010); sin embargo, el exceso de humedad también reduce el oxígeno e inhibe la formación de raíz (Murthy y Goldfarb, 2001).

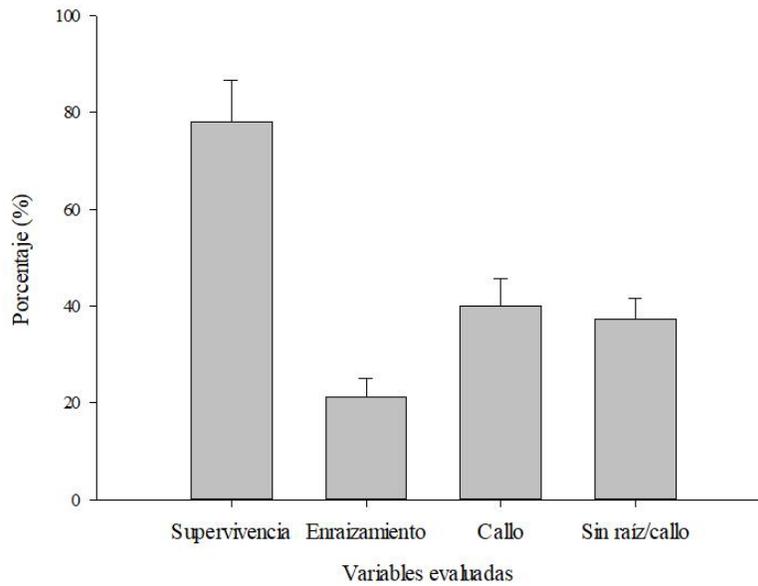


Figura 1.8. Porcentajes promedio de supervivencia, enraizamiento y formación de callo registrados después de 120 días en las estacas apicales de *Pinus ayacahuite*. En cada barra, los errores estándar son indicados ($n= 96 \pm$ error estándar).

1.5.2.1. Efecto del fertilizante en enraizamiento

Los tratamientos de fertilización, no afectaron significativamente ($P \leq 0.05$) la supervivencia, el enraizado de estacas (Cuadro 1.2), pero si afectaron la formación de callo, el número de raíces secundarias y número y longitud de la raíz primaria (Cuadro 1.3).

Cuadro 1.2. Valores de probabilidad (P) para la supervivencia, enraizamiento y producción de callo (%) en el enraizamiento de estacas de *Pinus ayacahuite*.

Fuente de variación	Supervivencia (%)	Enraizamiento (%)	Formación de callo (%)
Fertilizante (A)	0.4444	0.4619	0.0095*
AIB (B)	0.7727	0.0770	0.4042
A × B	0.9732	0.3336	0.9697

† Las diferencias significativas ($P \leq 0.05$) se indican con*.

En general, la supervivencia de estacas resultó mayor al 78 %, de las cuales poco más del 21.33 % enraizó. El bajo porcentaje de enraizamiento, posiblemente se debió a la formación de callo (40 %); variable que fue afectada significativamente por los tratamientos de fertilización en las estacas de *P. ayacahuite* (Cuadro 1.2).

La formación de callo resulta indeseable para el enraizamiento de estacas, ya que interfiere negativamente con la rizogénesis. En el presente estudio el 40 % de las estacas apicales formaron callo como consecuencia de las altas concentraciones de fertilizante (Figura 1.9). El callo es una proliferación de células que se forma en la base de la estaca, esta proliferación causada por división celular puede obedecer a la acumulación excesiva de auxinas, tanto exógenas como endógenas y a las propiedades de la pared celular del cambium determinadas por la edad y posición de la estaca (Eliyahu *et al.*, 2020). La fertilización pudo modificar en cierto grado las propiedades de la pared celular y amplificar los procesos de división celular para la formación de callos en la base de las estacas (Hartmann *et al.*, 2013).

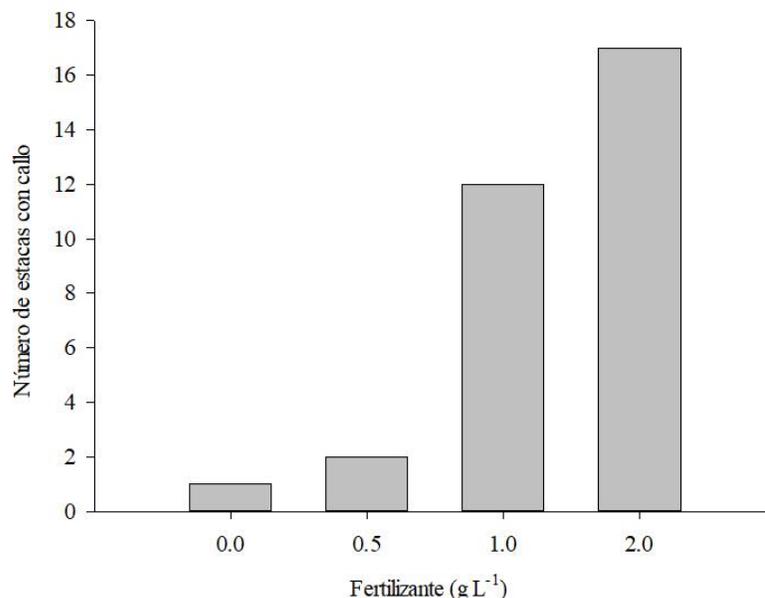


Figura 1.9. Número de estacas con callo de *Pinus ayacahuite* provenientes de plantas madres tratadas con diferentes dosis de fertilizante. (n=24).

Cuadro 1.3. Valores de probabilidad (*P*) para las variables incluidas en la morfología de raíces generadas en el enraizamiento de estacas de *Pinus ayacahuite*.

Fuente de variación	Número de raíces primarias	Número de raíces secundarias	Longitud raíces primarias (cm)
Fertilizante (A)	0.0578	0.0437*	0.0482*
AIB (B)	0.0219*	0.0196*	0.0197*

† Las diferencias significativas ($p \leq 0.05$) se indican con*

Un mayor número de raíces primarias, secundarias y longitud de raíces primarias, se registraron con el tratamiento testigo (Figura 1.10). Hernández y Rubilar (2012) mencionan que altas concentraciones de nitrógeno en los tejidos no necesariamente corresponden a un alto porcentaje de enraizamiento en brotes. Contrario a lo encontrado por Rowe *et al.* (2002), quienes verifican que la fertilización con nitrógeno en setos de *Pinus taeda* L. aumenta los niveles de carbohidratos, mejorando el enraizamiento adventicio.

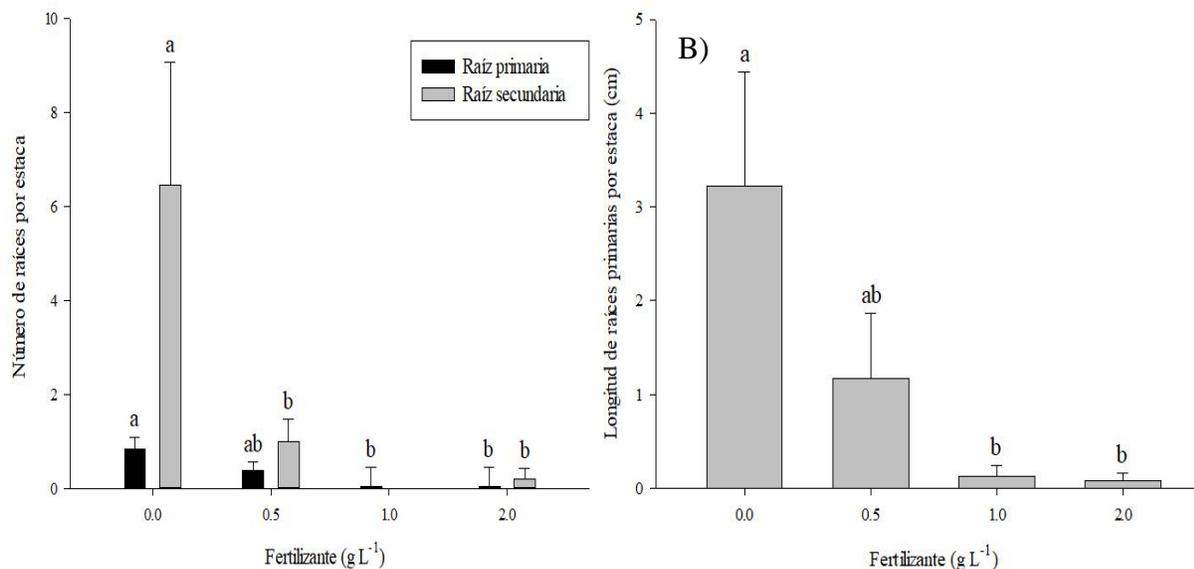


Figura 1.10. Efecto de los tratamientos de fertilización sobre las variables morfológicas de la raíz en el enraizado de estacas apicales de *Pinus ayacahuite*. A) Número de raíces primarias y secundarias, B) Longitud de raíces primarias. (n= 24 ± error estándar).

1.5.2.2. Efecto de las concentraciones de AIB

En general, las concentraciones de AIB no tuvieron efectos significativos en el enraizamiento, supervivencia ni en la formación de callo (Cuadro 1.2); sin embargo, en el caso del número de raíces primarias, número de raíces secundarias y longitud de raíces primarias, si se encontraron diferencias significativas (Cuadro 1.3).

Es muy probable que la concentración de auxinas endógenas haya sido alta en las estacas apicales; ya que en ellas se localiza el meristemo apical de la planta, que es el lugar principal de síntesis de auxina. En el presente trabajo, además se aplicaron auxinas exógenas; por tanto, el exceso de auxinas en la zona de enraizamiento pudo ocurrir, causando inhibición en la iniciación de las raíces adventicias; efecto señalado por algunos autores (Dias *et al.*, 2012b; Lopes *et al.*, 2011). En el enraizamiento de estacas juveniles de *Bertholletia excelsa*, tratadas con altas concentraciones de AIB, las estacas apicales tuvieron el menor porcentaje de enraizamiento (Castro *et at.*, 2016). Similares resultados se observaron en *P. leiophylla*, en donde el mayor

enraizamiento (3.5 veces mayor) se obtuvo con la estaca de tipo basal, respecto a la apical (Cuevas *et al.*, 2015).

Por otro lado, se observó que a pesar de que el 37 % de las estacas apicales no presentó la formación de raíces adventicias, ni de callo (Figura 1.11 D), mostrando una buena apariencia, (sin hongos, hojas verdes y buen vigor), similar a lo encontrado por (Castrillón, 2011) quien mencionó que la auxina exógena incrementó la viabilidad de las estacas, aún sin tener raíces (Figura 1.11).



Figura 1.11. Morfología de raíces en estacas de *P. ayacahuite*. A) Testigo sin raíces primarias ni secundarias, B) 2500, con raíces secundarias, C) 7500, con raíces secundarias, D) 10000 mg L⁻¹ de AIB, con raíces primarias.

Aunque el AIB no fue un factor importante en la promoción del enraizamiento, en las estacas que enraizaron, el AIB incrementó el número y longitud de raíces primarias, así como el número de raíces secundarias (Cuadro 1.3). Con dosis de 2500 y 7500 mg L⁻¹ de AIB, el número de raíces secundarias y longitud de raíces primarias, fueron mayores al tratamiento testigo, mientras que con 7500 mg L⁻¹ se obtuvo un mayor número de raíces primarias, siendo 3.7 veces mayor que con el tratamiento testigo; Con el tratamiento testigo se obtuvo un enraizamiento nulo, lo cual se ve reflejado en las tres variables mencionadas (Figura 1.12).

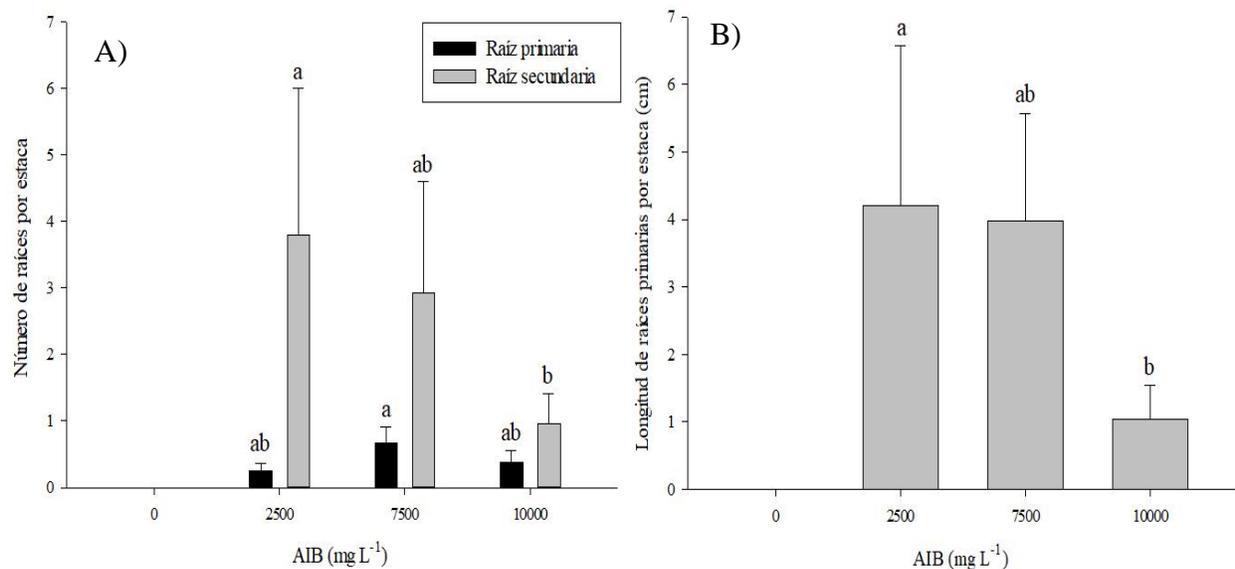


Figura 1.12. Efecto de los tratamientos de AIB sobre las variables morfológicas de la raíz en el enraizado de estacas apicales de *Pinus ayacahuite*. A) Número de raíces primarias y secundarias, B) Longitud de raíces primarias. (n= 24 ± error estándar).

En *Abies religiosa*, el número y la longitud de las raíces formadas estuvo influida por la edad de la estaca y la hormona AIB (Castillo-Flores *et al.*, 2013), similar a lo encontrado por Santelices y Cabello (2006), quienes informan que estacas de *N. glauca* aumentan significativamente el número de raíces al ser tratadas con AIB respecto del control. De lo anterior se deduce que el AIB promueve el incremento en el número de raíces (Salmi and Hesami, 2016). Esto es importante, debido a que el establecimiento exitoso de plántulas depende en gran medida de la capacidad para formar nuevas raíces; la abundancia de nuevas raíces puede mitigar los efectos del trasplante (Grossnickle 2012).

La presencia de tejidos no organizados denominados callos (Fachinello *et al.*, 2005) en las secciones de cortes tuvo lugar independientemente de la presencia del regulador de crecimiento, en 55 % de las estacas, mostrando mayor porcentaje de formación de callo con el tratamiento testigo (Figura 1.13). Hernández *et al.* (2013), encontraron que en la propagación vegetativa por estacas de *Cariniana estrellensis*, la presencia de callo se produce con o sin la presencia de AIB, tanto en estacas apicales como intermedias.

Janick (1996) menciona que la auxina natural producida en las hojas y en los brotes se mueve hacia la parte inferior de las estacas estimulando el enraizamiento; al realizar el corte, estas se acumulan en la base, donde junto con azúcares y otros nutrientes actúan como sustancias inhibitoras en la iniciación de las raíces adventicias preformadas y potencializan la formación de callos en la base de las estacas.



Figura 1.13. Diferentes tipos de callo formados en estacas de *P. ayacahuite* tratadas con diferentes concentraciones de AIB. A) Tratamiento testigo, sin la aplicación de auxina, B) 2500 mg L⁻¹, C) 7500 mg L⁻¹, D) 10000 mg L⁻¹.

Finalmente, los tratamientos de fertilización y los de auxina no mostraron interacción significativa para las variables evaluadas.

1.6 CONCLUSIONES

El efecto positivo de la fertilización en el crecimiento de plantas de *Pinus ayacahuite*, es una práctica de manejo durante la formación y preparación de plantas madre o setos. Sin embargo, la aplicación de altas concentraciones de fertilizante, no es recomendable, debido a que aumenta la producción de callos en los esquejes y afecta negativamente el enraizamiento. Por otro lado, el AIB y su interacción con el fertilizante no mejoran el enraizamiento de los esquejes apicales. Se considera que las concentraciones de AIB usadas no son óptimas para esta especie, particularmente por tratarse de esquejes apicales. La respuesta al AIB en la morfología de las raíces en las plantas, en particular sobre el incremento en longitud de la raíz principal y en el aumento de la producción de raíces secundarias, demuestra que el AIB mejora el desarrollo y crecimiento de las raíces adventicias de los esquejes que logran promover el enraizamiento.

1.7 LITERATURA CITADA

- Albaugh, T. J., Rubilar R., J. Alvarez, y Allen H. 2004. *Radiata pine* response to tillage, fertilization and weed control in Chile. *Bosque* 25(2): 5-15.
- Álvarez-Moctezuma, J. G., I. Alia-Tejacal, M. T. Colinas-León and J. Sahagún-Castellanos. (2007). Interspecific differences in postharvest quality on Mexican Christmas trees. *Silvae Genetica* 56(2):65-73.
- Bellini, C., D. Pacurar and I. Perrone. 2014. Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences. *Annual Review of Plant Biology* 65:639-666.
- Bielenin, M. 2003. Rooting and gas exchange of conifer cuttings treated with indolbutyric acid. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*. 11:99-105.
- Cabrera, I. R. 1999. Propiedades, uso y manejo de sustratos de cultivo para la producción de plantas en maceta. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5(1): 5-11. DOI: 10.5154/r.rchsh.1998.03.025
- Castillo-Flores, J. D., M. A. López-López, J. López-Upton., V. M. Cetina-Alcalá, y T. Hernández-Tejeda. 2013. Factores de influencia en el enraizamiento de estacas de *Abies religiosa* (Kunth) Schldtl. *et* Cham. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 19(1): 175-184.
- Castrillón, J. C., E. Carvajal, G. Ligarreto, S. Magnitskiy. 2008. "El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes sustratos." *Agronomía Colombiana* 26(1): 16-22
- Celestino, C., I. Hernández, E. Carneros, D. Lopez-Vela y M. Toribio. 2005. La embriogénesis somática como elemento central de la biotecnología forestal. *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales* 14(3):345-357.
- CONAFOR. 2011. Comisión Nacional Forestal. Manual para la producción de árboles de Navidad [En línea] Disponible: <http://www.conafor.gob.mx:8080/biblioteca/ver.aspx?articulo=507> [Fecha de consulta 20 de julio de 2020].
- Cuevas-Cruz, J. C., M. Jiménez-Casas, J. Jasso-Mata, P. Pérez-Rodríguez, J. López-Upton and A. Villegas-Monter. 2015. Asexual propagation of *Pinus leiophylla* Schiede ex Schldtl. *et* Cham. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 21:81-95.
- Davis, Anthony y Jacobs, Douglass. (2005). Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. *New Forests*. 30. 295-311. Doi: 10.1007/s11056-005-7480-y.

- Dias, P. C., A. Xavier, L. S. Oliveira, H. N. de Paiva, e A. C. G. de Correia. 2012b. Propagação vegetativa de progenies de meios-irmãos de angico-vermelho (*Anadenanthera amacrocarpa* Benth Brenan) por miniestaquia. *Revista Árvore* 36: 389-399.
- Douglass, J., K. Francis and J. R. Seifert. 2005. Growth and nutritional response of hardwood seedlings to controlled-release fertilization at outplanting. *Forest Ecology and Management* 214:28-39.
- Dumroese, R. K., T. Luna and T. Landis. 2009. *Nursery Manual of Native Plants: A guide for Tribal Nurseries (Vol.1)*, Nursery Management. Department of Agriculture, Forest Service. Washington, D.C.
- Eguiluz P., T. 1982. Clima y distribución del género *Pinus* en México. *Ciencia Forestal* 38: 30–44.
- Eliyahu, A., Z. Duman, S. Sherf, O. Genin, Y. Cinnamon, M. Abu-Abied... E. Sadot. 2020. Vegetative propagation of elite *Eucalyptus* clones as food source for honeybees (*Apis mellifera*); adventitious roots versus callus formation, *Israel. Journal of Plant Sciences* 67(1-2), 83-97. <https://doi.org/10.1163/22238980-20191112>.
- Escobar, R. 2007. *Manual de Viverización en Eucalyptus globulus a Raíz Cubierta*. Proyecto Innova Chile – INFOR. Instituto Forestal. Concepción, Chile. 229 p.
- Fachinello, J. C., A. Hoffmann, y J. C. Nachtigal. (2005). *Propagação de Plantas Frutíferas*. Embrapa Informações Tecnológicas. Brasília. 221 p.
- Farfán, E. G., J. Jasso, J. López, J. J. Vargas, C. Ramírez. 2002. Parámetros genéticos y eficiencia de la selección temprana en *Pinus ayacahuite* Ehren var. *ayacahuite*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25:239-246.
- Farjon, A. y Styles, B. (1997). *Flora Neotropica: Pinus (Pinaceae)*. New York Botanical Garden. Nueva York, EUA. 293 pp
- Ferriani, A. P., M. F. Bortolini, K. C. Zuffellato-Ribas e H. S. Koehler. 2006. Propagação vegetativa de estaquia de azaléia arbórea (*Rhododendron Thomsonii* HOOK. f.). *Semina: Ciências Agrárias*, v. 27, n. 1, p. 35-42.
- Garay-Arroyo, A., M. de la Paz Sánchez, B. García-Ponce, E. Álvarez-Bulla y C. Gutiérrez. 2014. La Homeostasis de las Auxinas y su Importancia en el Desarrollo de *Arabidopsis thaliana*. *Revista de educación bioquímica* 33(1): 13-22.
- Grossnickle, S. C. 2012. Why seedlings survive: influence of plant attributes. *New Forests* 43: 711–738. Doi:10.1007/s11056-012-9336-6.

- Guan, L., A. S. Murphy, W. A. Peer, L. Gan, Y. Li and Z. M. Cheng. 2015. Physiological and Molecular Regulation of adventitious root formation. *Critical Reviews in Plant Sciences* 34:506-521.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies, and R. L. Geneve. (2013). *Plant Propagation: Principles and Practices*. 8th ed. Pearson Education Limited, New Jersey, USA. 913 p.
- Hernández, C. A., y R. P. Rubilar. 2012 Efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en el desarrollo y fenología de brotes de setos de *Pinus radiata*. *Bosque* 33(1), 53-54.
- Hernández, G., (1990). Variación genética isoenzimática en *Pinus ayacahuite* y sus dos variedades de México y Centroamérica. Tesis Maestría. Universidad Autónoma Chapingo 103 p.
- Hernández, W., A. Xavier, H. N. de Paiva, e I. Wendling. (2013). Propagação vegetativa do jequitibá-rosa (*Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze) por estaquia. *Revista Árvore* 37: 955-967.
- Hunt, M. A., S. J. Trueman and A. Rasmussen. 2011. Indole-3-butyric and accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliottii* var. *elliottii* × *P. caribaea* var. *hondurensis* cuttings. *New Forests* 41:349-360.
- Husen, A. 2012. Changes of soluble sugars and enzymatic activities during adventitious rooting in cuttings of *Grewia optiva* as affected by age. *American Journal of Plant Physiology* 7 (1): 1-16.
- Iglesias, A. L. y G. Y. Tivo. 2006. Caracterización morfométrica de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Ra Ximhai* 2: 449-468. Doi:10.35197/rx.02.02.2006.08.li.
- Itoh, A., T. Yamakura, M. Kanzaki, T. Ohkubo, P. A. Palmiotto, J. V. LaFrankie, J. J. Kendawang, and H. S. Lee. 2002. Rooting ability of cuttings relates to phylogeny, hábitat preference and growth characteristics of tropical rainforest trees. *Forest Ecology and Management* 168: 275-287.
- Jackson, D. P., R. K. Dumroese y J. P. Barnett. 2012. Nursery response of container *Pinus palustris* seedlings to nitrogen supply and subsequent effects on outplanting performance. *Forest Ecology and Management* 265: 1-12. <http://doi.org/10.1016/j.foreco.2011.10.018>.
- Janick, J. 1996. Orientação do crescimento da planta. *In*: Janick, J (ed.) *A Ciência da Horticultura*. 2 ed. Rio de Janeiro: USAID. pp: 202-237.
- Jordan, M. y J. Casaretto. 2006. Hormonas y reguladores del crecimiento: auxinas, giberelinas y citocininas. *En*: *Fisiología Vegetal*. F. A. Squeo y L. Cardemil (eds.). Ed. Universidad de La Serena. La Serena, Chile. pp:1-28.

- Klopotek, Y., E. George, U. Druege, and H. P. Klaering. 2012. Carbon assimilation of petunia cuttings in a non-disturbed rooting environment: Response to environmental key factors and adventitious root formation. *Science Horticulturae* 145: 118-126.
- Kruskal, W. H. and A. Wallis W. 1952. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association* 47:583-621. <http://doi.10.2307/2280779>
- Lanner, R. M. 1976. Patterns of shoot development in *Pinus* and their relationship to growth potential. En M. G. R. Canell y F. T. Last (Eds.), *Tree physiology and yield improvement* (pp. 223-243). New York: Academic Press.7
- Latsague, M., P. Sáez Delgado, E Hauenstein Barra, F Peña-Cortés. 2010. Propagación vegetativa de *Myrceugenia exsucca* y *Blepharocalyx cruckshanksii*, especies dominantes del bosque pantanoso de la Depresión Intermedia de la región de La Araucanía, Chile. *Bosque* 31(3): 247-251 <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002010000300009>
- Little, E. L., and W. B. Critchfield. 1969. Subdivisions of the genus *Pinus*. U.S. Forest Serv. Misc. Publ. 1444. Washington, D. C. 51 p.
- Lopes, V. R., C. de S. Mudry, M. M. Bettoni y K. C. Zuffellato- Ribas. 2011. Enraizamento de estacas caulinares de *Ficus benjamina* L. sob diferentes concentrações de ácido indolbutírico. *Scientia Agraria* 12: 179-183. Doi:10.5380/rsa.v12i3.34109
- Martínez-Alonso, C., A. Kidelman, I. Feito, T. Velasco, R. Alía, M. J. Gaspar... J. Majada. 2012. Optimization of seasonality and mother plant nutrition for vegetative propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 43: 651–663.
- Martínez, M. 1948. Los Pinos Mexicanos. Ediciones Botas. México.
- Miranda, C. S., N. N. J. Chalfun, A. Hoffmann, L. F. Dutra, G. V. A. Coelho. 2004. Enxertia recíproca e AIB como fatores indutores do enraizamento de estacas lenhosas dos porta-enxertos de pessegueiro ‘okinawa’ e umezeiro. *Ciência e Agrotecnologia* 28 (4): 778-784
- Mirov, N.T. 1967. The genus *Pinus*. Ronald Press, New York.
- Mitchell, R. G., J. Zwolinski and N. B. Jones. 2004b. The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula* - Part 1: nursery performance. *Southern African Forestry Journal* 202:29-36.
- Murthy, R. and B. Goldfarb. 2001. Effect of handling and water stress on water status and rooting of loblolly pine stem cuttings. *New Forests* 21:217-230.
- Musálem, M. A., Ramírez A. (2003). Monografía de *Pinus ayacahuite* Edición: INIFAP CONABIO-SAGARPA.

- Pérez-Camacho, M., M. Á. López-López, A. Equihua-Martínez, V. M. Cetina-Alcalá and J. T. Méndez-Montiel. 2013. Relationships between site factors and bark beetle attack on pine trees. *Journal of Biological Sciences* 13(7): 621-627. Doi: 10.3923/jbs.2013.621.627.
- Pérez de la Rosa, J. A. 1993. *Taxonomía de Pinus ayacahuite y Pinus strobiformis*. Tesis Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillos, Méx, México. 100 pp.
- Perry, J. Jr. 1991. *The Pines of Mexico and Central America*. Timber Press. Portlad, Or. U.S.A. pp: 52-54.
- Radke, P. y A. Radke. 2004. Plantation improvement using clonal propagation –an overview of the latest technology in Australia. With an appendix on: Variation in tree species, and improvement and propagation options– an explanation. Prospects for high-value hardwood timber plantations in the “dry” tropics of Northern Australia, Mareeba. 14 p.
- Ragonezi, C., Klimaszewska, K., Castro, M. R., Lima, M., de Oliveira, P., y Zavattieri, M.A. 2010. Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors. *Trees* 24: 975:992.
- Ramírez, L. A. 1999. Estado del conocimiento de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* Shaw. Tesis. Chapingo, Texcoco, Edo. de México.
- Rivera-Rodríguez, M. O., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, A. Villegas-Monter y M. Jiménez-Casas. 2016. Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. *Revista fitotecnia mexicana* 39(4), 385-392.
- Rowe, D., F. Blazich, C. Raper. 2002. Nitrogen nutrition of hedged stock plants of Loblolly pine I. Tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. *New Forest* 24: 39–51.
- Ruiz-García, R., J. J. Vargas-Hernández, V. M. Cetina-Alcalá y A. Villegas-Monter. 2005. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28:319-326.
- Salmi, M. S. y Hesami M. (2016) Time of collection, cuttingages, auxin types and concentrations influence rooting *Ficus religiosa* L. stem cuttings. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences* 6(1): 124–132.
- Santelices, R. y C. Garcia. 2003. Efecto del ácido indolbutírico y la ubicación de la estaca en el rebrote de tocón sobre la rizogénesis de *Nothofagus alessandrii* Espinosa. *Bosque (Valdivia)*, 24(2), 53-61.
- Saranga, J., and R. Cameron. 2007. Adventitious root formation in *Anacardium occidentale* L. in response to phytohormones and removal of roots. *Science Horticulturae* 111: 164-172.

- SEMARNAT. 2011. Manual para la producción de árboles de Navidad. Jalisco.
- Smaill, S., P. Clinton y L. Greenfield. 2008. Nitrogen fertiliser effects on litter fall, FH layer and mineral soil characteristics in New Zealand *Pinus radiata* plantations. *Forest Ecology and Management* 256, 564-569.
- Torres, C. G. y V. D. Carvajal. 2012. Árboles de navidad: Estado de la reforestación en Costa Rica [En línea]. Disponible: <http://repositoriotec.tec.ac.cr/handle/2238/6290> [Fecha de consulta 18 de julio de 2020].
- Van Den Driessche, R. 1992. Changes in drought resistance and root grow the capacity of container seedlings in response to nursery drought, nitrogen and potassium treatments. *Canadian Journal Forest Research* 22:740-749.
- Villar-Salvador P, J. Puértolas, J. L. Peñuelas, R. Planelles R. 2005. Effect of nitrogen fertilization in the nursery on the drought and frost resistance of Mediterranean forest species. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales* 14(3):408–418.
- Viveros-Viveros, H. y J. J. Vargas-Hernández. 2007. Dormancia en yemas de especies forestales. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 13(2), 131-135.
- Zobel, B. and J. Talbert (1988). *Applied Forest Tree Improvement*. The Blackburn Press. Caldwell, New Jersey, USA. México. 545 p.

CAPITULO II. INFLUENCIA DE LA FERTILIZACIÓN EN LA PROPAGACIÓN POR MINI-ESTACAS DE *Pinus ayacahuite* EHREN.

2.1 RESUMEN

Una abundante producción de estacas y su enraizamiento son determinantes para la propagación de especies comerciales con características deseadas. Una planta donadora bien nutrida genera mayor número de estacas, con capacidad para enraizar en respuesta a las auxinas. En este trabajo se evaluó el efecto del fertilizante en la producción de estacas de plantas de *Pinus ayacahuite* Ehren y la capacidad de enraizamiento de las estacas en respuesta a las auxinas. En un diseño experimental completamente al azar, se probaron cuatro tratamientos de fertilizante Peters 20-20-20 (0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 g L⁻¹) con 24 repeticiones. Se evaluó el número, longitud y diámetro de estacas. Posteriormente, las estacas de cada nivel de fertilización, excepto el nivel 0.0 g L⁻¹ fueron tratadas con cuatro concentraciones de ácido indolbutírico (AIB) (0, 2500, 5000 y 7500 mg L⁻¹), en un diseño bloques completos al azar con arreglo factorial 3×4. Los resultados mostraron que la fertilización mejoró los atributos morfológicos de la planta donadora e incrementó significativamente el número de estacas, pero no afectó su enraizamiento. La combinación con el AIB tampoco registró efecto positivo sobre el enraizamiento, pero redujo la producción de callo, considerado indeseable para el enraizamiento de estacas. Esto indica que la fertilización debe adoptarse como una práctica de manejo de la planta madre para incrementar la producción de estacas, aspecto necesario para la propagación por estacas; aunque es necesario probar otras dosis y fórmulas de fertilizante y AIB para mejorar el enraizamiento de las estacas de *P. ayacahuite*.

Palabras clave: *Pinus ayacahuite*, auxina, brotes, elongación de brotes, plantas madre, propagación vegetativa, AIB.

2.2 ABSTRACT

An abundant production of cuttings and their rooting are decisive for the propagation of commercial species with desired characteristics. A well-nourished donor plant generates a greater number of cuttings, with the ability to root in response to auxins. In this work, the effect of fertilizer on the production of *Pinus ayacahuite* Ehren plant cuttings and the rooting capacity of the cuttings in response to auxins were evaluated. In a completely randomized experimental design, four treatments of Peters 20-20-20 fertilizer (0.0, 0.5, 1.0 and 2.0 g L⁻¹) were tested with 24 repetitions. The number, length and diameter of cuttings were evaluated. Subsequently, the cuttings of each fertilization level, except the 0.0 g L⁻¹ level, were treated with four concentrations of indole butyric acid (IBA) (0, 2500, 5000 and 7500 mg L⁻¹), in a randomized complete blocks design. with 3×4 factorial arrangement. The results showed that fertilization improved the morphological attributes of the donor plant and significantly increased the number of cuttings, but did not affect their rooting. The combination with AIB also did not register a positive effect on rooting, but reduced callus production, considered undesirable for rooting cuttings. This indicates that fertilization should be adopted as a management practice of the mother plant to increase the production of cuttings, a necessary aspect for propagation by cuttings; although it is necessary to test other doses and formulas of fertilizer and IBA to improve the rooting of the cuttings of *P. ayacahuite*.

Keywords: *Pinus ayacahuite*, auxin, sprouts, shoot elongation, vegetative propagation, IBA.

2.3 INTRODUCCIÓN

Pinus ayacahuite Ehren. se localiza en varios estados del centro de México y se extiende hacia el Sur, continuando a Honduras y El Salvador. Crece en condiciones ecológicas restringidas donde el suelo es profundo y húmedo, a elevaciones entre los 1,800 y 3,200 msnm (Mirov, 1997). Las características de rápido crecimiento, buena geometría de ramificación, color, tamaño de las acículas y la tolerancia a plagas y enfermedades presentes en esta especie han hecho que se considere como una especie ideal para árbol de navidad. Por lo que es uno de los pinos más utilizados en México en plantaciones forestales de árboles de navidad (Farfán *et al.*, 2002; Zamora, 2015).

Pinus ayacahuite es uno de los pinos blancos más utilizados en México como fuente de madera (Farjon y Styles 1997) y en plantaciones comerciales de árboles de navidad (Farfán *et al.*, 2002; SEMARNAT, 2003) junto con *P. cembroides* Zucc., *P. greggii* Englem., *Pseudotsuga menziesii* y *Abies religiosa* (Kunth Schltdl. et Cham.) (Carrillo *et al.*, 2000; Merlín y Prieto, 2002; Zamora, 2015), estableciéndose plantaciones con densidades de hasta 7 000 árboles ha⁻¹ (Álvarez *et al.*, 2009).

En plantaciones forestales comerciales, el enraizado de estacas es una técnica de propagación vegetativa más utilizada, la cual permite clonar masivamente individuos con características deseables y así maximizar la productividad, calidad y uniformidad (Bettinger *et al.*, 2009), además de ser un método de bajo costo, y con resultados en el corto plazo (Husen, 2012; Tarragó *et al.*, 2005).

La macro-propagación vegetativa a escala comercial del género *Pinus* se ha implementado con éxito en *P. radiata* en Nueva Zelanda, Australia y Chile (Menzies *et al.*, 2000); en *P. taeda* L. en Estados Unidos y Argentina, *P. pinaster* Aiton. en España, Portugal, Francia y Australia (Majada *et al.*, 2011), y *P. elliottii* × *P. caribaea* var. *hondurensis* en Sudáfrica y Australia (Trueman, 2006).

La propagación por estacas es una técnica que depende de la inducción y desarrollo de las raíces adventicias. En especies de difícil enraizamiento, es necesario recurrir al uso de auxinas sintéticas, como los ácidos indol-3-acético (AIA), naftalenacético (ANA) e indolbutírico (AIB) (Couvillon, 1988). Sin embargo, la auxina más utilizada para un gran número de especies y en una amplia gama de concentraciones es el ácido indolbutírico (AIB) (Ruíz-García *et al.*, 2005; Cordeiro *et al.*, 2016). Esto debido a que no es tóxica, de acción localizada y menos sensible a la degradación biológica, además de ser químicamente más estable que el AIA al contacto con el sustrato de propagación (Husen, 2012). Entre los métodos más comunes para la aplicación de auxinas en el enraizado de estacas, se encuentran: el remojo prolongado en la solución (2 h), la inmersión por cinco segundos y el tratado de la base de la estaca con una hormona mezclada con un portador inerte, como talco, que mantiene la sustancia enraizadora por más tiempo en contacto con la estaca (Hartmann *et al.*, 2014).

Las auxinas son más efectivas cuando se utiliza material vegetal fisiológicamente joven, que tiene mayor capacidad de respuesta y facilidad de formar raíces adventicias; por lo que se debe dar manejo adecuado a la planta donadora, tal como aplicación de podas, para obtener estacas juveniles (Castillo *et al.*, 2013).

La capacidad de enraizado depende de diversos factores tanto fisiológicos como ambientales, siendo un aspecto importante del manejo de la planta madre la fertilización a base de Nitrógeno (N) (Rowe *et al.*, 2002); la nutrición de la planta donadora es relevante para que las estacas se formen rápidamente y tengan producción de raíces, ya que con la fertilización se modifica favorablemente la cantidad relativa de nitrógeno y carbohidratos, induciendo el enraizamiento adventicio y producción de brotes (Villar-Salvador *et al.*, 2005, Kanmegne *et al.*, 2017). La calidad del brote en cuanto a su vigor, tamaño, juvenilidad y condición nutricional es importante para lograr la producción de raíces adventicias.

En estudios con *P. radiata* D. Don se reportó que la elongación de los brotes responde a diferencias en la calidad del sitio y a niveles nutricionales de las plantas (Hernández y Rubilar 2012). Martínez-Alonso *et al.* (2012), también hacen referencia a la nutrición de la planta

donadora, como factor clave que afecta la predisposición de enraizamiento debido a que determina la respuesta morfogénica. El nitrógeno es de particular importancia porque es esencial en grandes cantidades y porque los cambios en su disponibilidad inducen grandes variaciones en el crecimiento y desarrollo de las plántulas (Villar Salvador *et al.*, 2005).

Debido a lo anterior, el objetivo de esta investigación es analizar el efecto de diferentes dosis de fertilizante suministradas a plantas donadoras (setos) de *P. ayacahuite* sobre el desarrollo y producción de brotes (estacas), así como en su enraizamiento, con diferentes concentraciones de AIB. La hipótesis plantea que las plantas sujetas a las mayores dosis de fertilizante, tendrán mayor producción de brotes con alta capacidad de responder a las auxinas en la formación y desarrollo de raíces adventicias. Lo anterior, bajo el supuesto de que los nutrientes y sustancias de reserva (carbohidratos) son requeridos para la formación de brotes y además determinan la supervivencia de las estacas, mientras las células responden a los estímulos aplicados (auxinas) para la generación de raíces.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Localización y material vegetal

El experimento se estableció en el invernadero del Posgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicado en las coordenadas geográficas 19° 27' 34.8'' LN y 98° 54' 15.8'' LO, a una altitud de 2 250 m en Texcoco, Estado de México. El clima del área es templado con lluvias en verano y con precipitación media anual de 659 mm (Gómez *et al.*, 2010).

La producción de la planta madre, inició en febrero de 2019. La semilla recolectada en un rodal de *P. ayacahuite* del ejido de Carbonero de Jacales, Huayacocotla, Veracruz; fue germinada en tubete forestal de 1 L, conteniendo una mezcla de turba (Kekila®), perlita (agrolita®) y vermiculita® en relación 3:1:1. Las plantas producidas se mantuvieron bajo condiciones de invernadero, con 30-70 % de humedad relativa (HR) y a 25 ± 2 ° C durante el día, mientras que, en la noche, la temperatura mínima fue de 10 ° C.

2.4.2 Producción de brotes

Cuando las plantas madre alcanzaron los cuatro meses de edad fueron sometidas a tratamientos de fertilización, usando el fertilizante hidrosoluble Peters Profesional® (20-20-20 N-P-K), en cuatro dosis (tratamientos); 1) 0.0 (testigo), 2) 0.5, 3) 1.0 y 4) 2.0 g L⁻¹. A cada planta se le aplicaron 250 ml de la solución correspondiente dos veces por semana. La solución siempre se ajustó a pH de 5.5.

A los siete meses de edad, a todas las plantas se les realizó una poda apical para inducir el rebrote, la cual consistió en cortar con tijera de mano, un segmento de la yema principal, considerando el corte a una altura de 8 cm desde el cuello de raíz.

2.4.3 Enraizado de mini-estacas

Después de seis meses y medio de la poda, los brotes (estacas) alcanzaron un mínimo de 6 cm de longitud, por lo que se procedió a su cosecha. Enseguida, las estacas se sometieron a un tratamiento de desinfección, con una solución de Captan[®] (1 g L⁻¹) durante 15 minutos (Figura 2.1 A). Después, a cada estaca se le realizó un corte transversal en la base y se le removieron las acículas de los dos centímetros inferiores. Entonces, la base de la estaca fue sumergida en el enraizador en polvo (Radix-10 000[®]), eliminando el exceso de éste con un pincel previamente desinfectado; para el tratamiento testigo (0 mg L⁻¹ de AIB) solo se agregó talco industrial (Figura 2.1 B). Finalmente, las estacas fueron colocadas en el sustrato, compuesto por una mezcla de perlita (agrolita[®]), vermiculita[®] y turba (Kekila[®]) en proporción 3:1:1, previamente colocado en las cámaras de enraizamiento y humectado con agua destilada. Las estacas se colocaron a 4 cm de profundidad a una distancia de 4×4 cm (Figura 2.1 C). Las cámaras de enraizamiento de madera (120 × 60 × 15 cm) se diseñaron de tal forma que la humedad se mantuviera dentro de las cajas (80 %). Cada 15 días, se aplicó una solución de fungicida Captan[®] (1 g L⁻¹) para prevenir la infección por hongos.



Figura 2.1. Enraizamiento de estacas de *P. ayacahuite*. A) Colecta de mini-estacas y desinfección, B) Preparación de tratamientos (concentraciones de AIB), C) Colocación de las estacas en las cámaras de enraizamiento.

Al final del experimento, las estacas enraizadas se trasplantaron a contenedores individuales de 310 cm³, conteniendo la misma mezcla de sustrato usada para germinar las semillas que incluyó un fertilizante de liberación controlada de 8-9 meses de acción (osmocote ®) con la fórmula 15-9-12. La planta fue crecida en condiciones de invernadero con riegos intermedios.

2.4.4 Variables evaluadas

2.4.4.1 Producción de brotes

Seis meses y medio posteriores a la poda se realizó un conteo final de número, longitud y diámetro de brotes de cada planta madre (Figura 2.2).

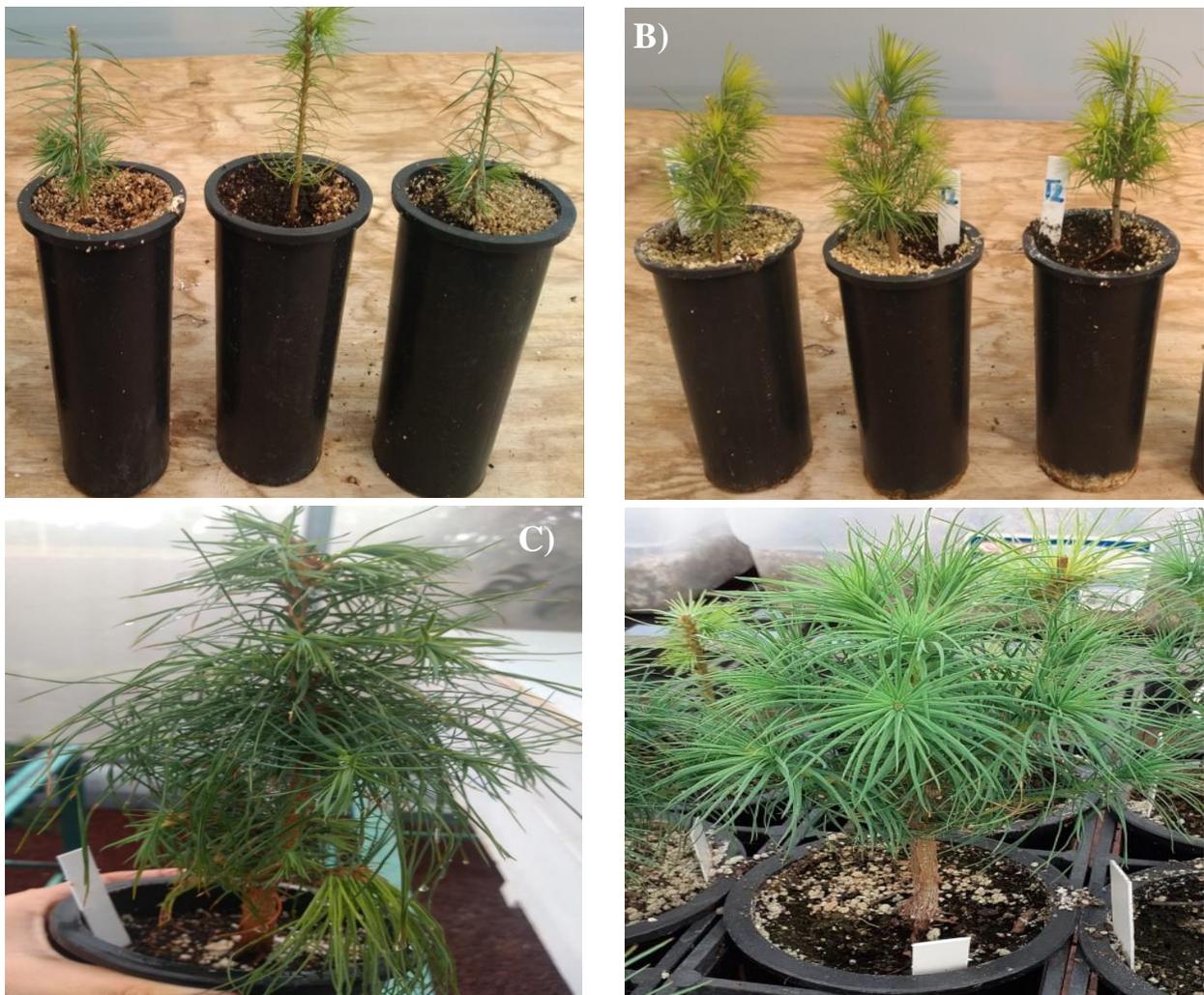


Figura 2.2. Tratamientos de fertilización en la producción de estacas para enraizado de *Pinus ayacahuite*. A) Tratamiento testigo, B) Dosis 0.5 g L⁻¹, C) Dosis 1.0 g L⁻¹, D) Dosis 2.0 g L⁻¹.

2.4.4.2 Enraizamiento

Las variables evaluadas fueron: supervivencia (%), formación de callo (%), estacas enraizadas (%), número de raíces primarias y secundarias, longitud de raíces primarias (Figura 2.3).

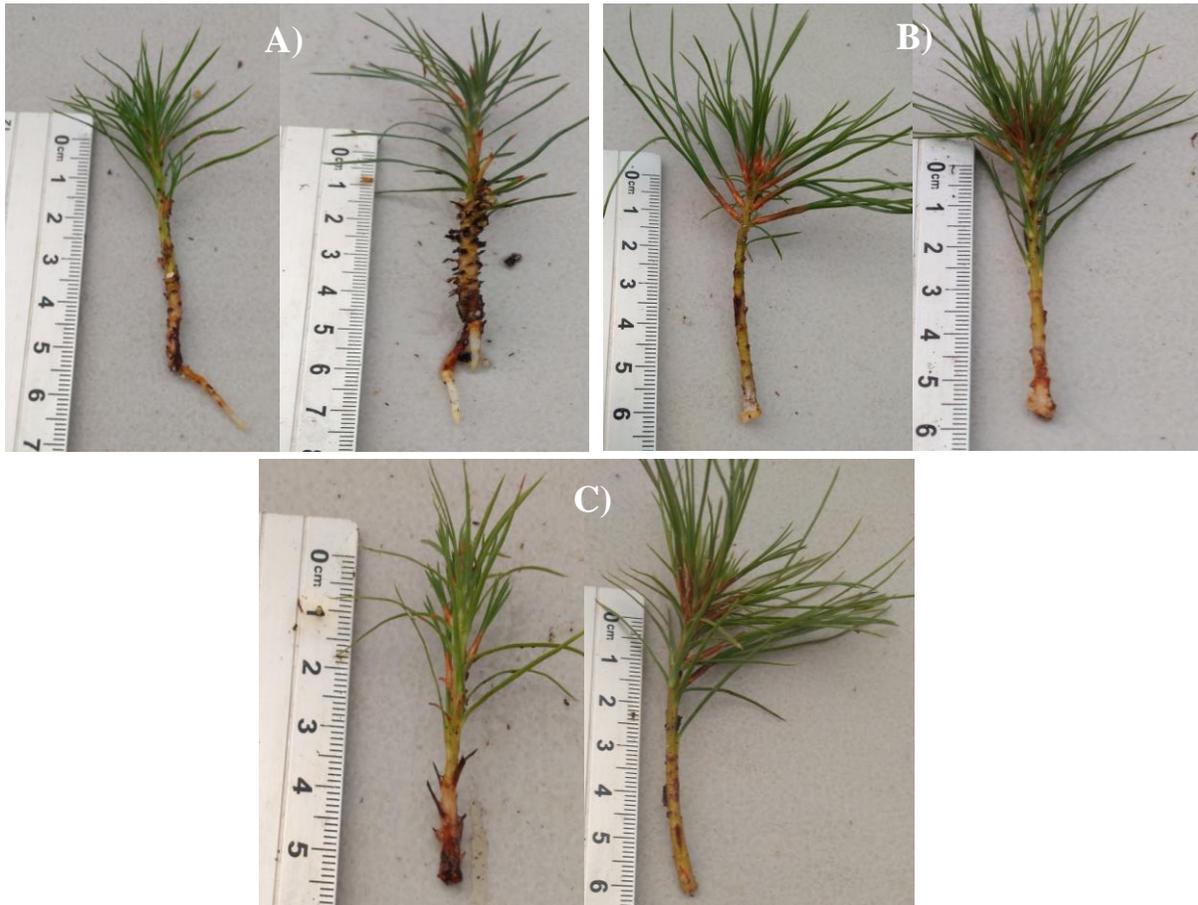


Figura 2.3. Variables evaluadas en el enraizado de mini-estacas de *Pinus ayacahuite*. A) Estacas con presencia de raíz, B) Estacas con formación de callo, C) Estacas sin presencia de raíz ni callo a los 75 días.

2.4.5 Diseño experimental

Para la producción de brotes, se utilizó un diseño experimental completamente al azar (DECA): con cuatro tratamientos: 0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 g L⁻¹ de fertilizante, con un total de 24 plantas por tratamiento y cada planta como la unidad experimental. Previo al análisis de varianza,

se hicieron pruebas de normalidad y homogeneidad de varianzas determinándose que el número, longitud y diámetro de brotes, no cumplieron con tales supuestos, por lo que se realizó la transformación raíz cuadrada sobre los datos. Posteriormente se hizo el análisis de varianza de un factor con el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS, versión 9.3, seguido de esto los valores promedio de las variables se transformaron nuevamente, mostrando los datos originales. Las medias se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), en el programa estadístico (R). El modelo estadístico utilizado fue:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Dónde: $i = 1, 2, \dots, t$; $j = 1, 2, \dots, r$; t = número de tratamientos, r = número de repeticiones; y_{ij} = la variable aleatoria (v.a.) correspondiente al tratamiento i en su repetición j ; μ = media general; τ_i = efecto del tratamiento i ; ε_{ij} = error experimental correspondiente al tratamiento i en su repetición j .

Para el enraizamiento de estacas, se omitió el tratamiento testigo de fertilización, debido a que los brotes producidos, no fueron suficientes. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 3×4 ; el factor fertilizante con tres dosis (0.5, 1.0 y 2.0 g L⁻¹), el factor auxina con cuatro concentraciones (0, 2 500, 5 000 y 7 500 mg L⁻¹) y cuatro repeticiones (la unidad experimental estuvo conformada por seis estacas por tratamiento, usando 288 estacas en total).

En el análisis estadístico se utilizaron los valores promedio por unidad experimental de la supervivencia y enraizamiento (%) con el procedimiento GLIMMIX del paquete estadístico SAS, versión 9.3, el cual ajusta modelos estadísticos a datos con correlaciones o variabilidad no constante y donde la respuesta no necesariamente se distribuye normalmente. Las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), utilizando el siguiente modelo lineal:

$$y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

Donde, $i=1, 2, \dots, a$ número de niveles del factor A, $j=1, 2, \dots, b$ número de niveles del factor B, $k=1, 2, \dots, r$ número de repeticiones de cada combinación A*B, y_{ijk} = valor de la variable respuesta correspondiente a la repetición k del nivel i de A al nivel j de B, μ = media general, A_i efecto del nivel i de A (Auxina), B_j efecto del nivel j de B (Fertilizante), AB_{ij} interacción A*B, correspondiente al nivel i de A y nivel j de B, ε_{ijk} = error experimental correspondiente a la repetición k del nivel i de A al nivel j de B; Debe cumplirse que $\varepsilon_{ijk} \sim NID(0, \sigma^2)$.

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1 Producción de brotes

La fertilización tuvo un efecto estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$) en el número, longitud y diámetro de brotes de las plantas de *P. ayacahuite* (Cuadro 2.1).

Cuadro 2.1. Valores de significancia para las variables de plantas madre de 15 meses de edad de *Pinus ayacahuite*.

Fuente de variación	GL	Número de brotes	Longitud de brotes (cm)	Diámetro de brotes (mm)
Fertilizante	3	1.2e-05 ***	1.24e-14 ***	7.73e-09 ***

† GL= Grados de libertad para el error. Las diferencias significativas ($p \leq 0,05$) se indican con*.

Producción de brotes. Las plantas tratadas con fertilizante generaron 49 % más brotes que el testigo, sin fertilizante (Figura 2.4 A), similar a lo encontrado en *P. taeda*, Rowe *et al.* (2002), en donde el número de brotes producidos por seto aumentó conforme incrementaron de las tasas de N aplicadas. En *P. pinaster* Martínez-Alonso *et al.* (2012), encontraron 7 brotes por seto de entre 3-5 cm de longitud con alto contenido de N. El rebrote es una característica común en algunas plantas, en respuesta al daño causado en la biomasa por factores físicos; lo que le permite recuperarse y sobrevivir (Clarke *et al.*, 2013). Se ha documentado que los carbohidratos en el tejido de las plantas determinan la activación, desarrollo y crecimiento de nuevos brotes (Smith *et al.*, 2018). En este trabajo, la poda realizada simuló un daño en la biomasa aérea de la planta para estimular el rebrote, el cual se incrementó cuando las plantas fueron fertilizadas. Por lo tanto, para incrementar la producción de estacas generadas por rebrotes, la fertilización es recomendable para *P. ayacahuite*.

Longitud y diámetro de brote. La longitud y diámetro de los brotes incrementaron significativamente ($P \leq 0.05$) durante el periodo de evaluación (9 meses) conforme aumentó la dosis de fertilizante. Las plantas tratadas con la concentración de 2.0 g L⁻¹ generaron estacas 25 % más largas que las del testigo, el diámetro de brotes se comportó de manera similar con los

tratamientos de fertilizante (Figura 2.4 B, C), similar a lo que reportan en *P. radiata*, Zas *et al.* (2006), en donde obtuvieron brotes de hasta 8.7 cm de longitud al fertilizar con 400 mg L⁻¹ de N.

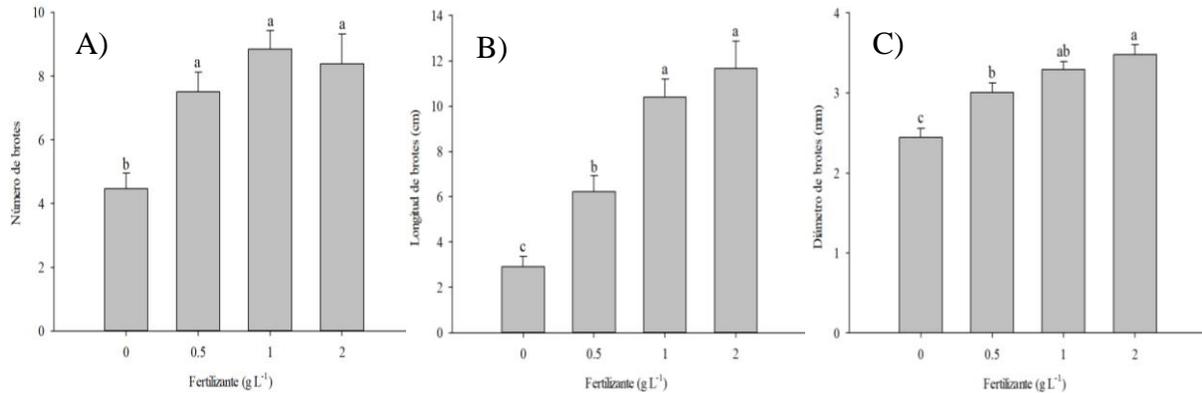


Figura 2.4. Medias de tratamientos de fertilización de plantas madre. A) Número de brotes, B) Longitud de brotes, C) diámetro de brotes. Las letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas al 5 %, de acuerdo con la prueba de Tukey.

La calidad de los brotes producidos se encuentra en función de la especie y el genotipo; pero el desarrollo y crecimiento de la planta donadora es un factor clave y mucho depende de su manejo a base de la fertilización y riegos programados. En un estudio con plantas donadoras de *Pinus radiata* se reportó que la elongación de brotes está relacionada con su condición nutricional, particularmente con nitrógeno (Hernández y Rubilar, 2012).

Los niveles de nitrógeno en el follaje, producto del aumento de las concentraciones de nitrógeno, provocan un incremento en el crecimiento de los brotes y por lo tanto en la biomasa total (Dewald *et al.*, 1992). De acuerdo con algunos autores, altos niveles de nitrógeno en los tejidos promueven una rápida división y elongación celular (Elliott y White, 1994).

Las prácticas relacionadas al manejo nutricional de los setos son realizadas para optimizar el enraizamiento adventicio de los brotes producidos. Según Rowe *et al.* (2002), el aumentar los niveles de nitrógeno a los setos de *Pinus taeda* fomenta un aumento en el número de brotes durante el periodo de primavera desde 22 brotes para 10 mg L⁻¹ de nitrógeno hasta 50 brotes para 55 mg L⁻¹ de nitrógeno. Aunque el crecimiento de las plantas forestales es afectado tanto por el volumen del contenedor como por la aplicación de fertilizantes; se debe considerar las necesidades particulares de cada especie para el manejo de plantas donadoras.

2.5.2 Enraizamiento adventicio

Al final del experimento más de 76 % de las estacas establecidas sobrevivieron; sin embargo, sólo el 33 % lograron enraizar y más de 33 % desarrollaron callo. Asimismo, más de 9 % de las estacas vivas no desarrollaron raíz, ni callo (Figura 2.5).

Los tratamientos de fertilización no tuvieron efecto estadísticamente significativo ($P \leq 0.05$) en las variables evaluadas para el enraizamiento de estacas; mientras que las dosis de AIB afectaron significativamente ($P \leq 0.05$) la supervivencia y formación de callo entre las variables evaluadas (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2. Valores de probabilidad (P) para el análisis de varianza de las variables de enraizamiento en estacas de *Pinus ayacahuite* a las 10 semanas.

Fuente de variación	Supervivencia (%)	Enraizamiento (%)	Callo (%)	Número de raíces		Longitud RP
				Prim.	Sec.	
Fertilizante (F)	0.2142	0.2211	0.1903	0.0730	0.6718	0.6588
AIB (A)	0.0098 *	0.9833	0.0128 *	0.8866	0.4190	0.9599
F × A	0.8978	0.6491	0.4643	0.6788	0.5700	0.4575

† AIB: ácido indolbutírico, Prim: Primarias, Sec: Secundarias, Long RP: Longitud de la raíz principal. Las diferencias significativas ($p \leq 0.05$) se indican con*

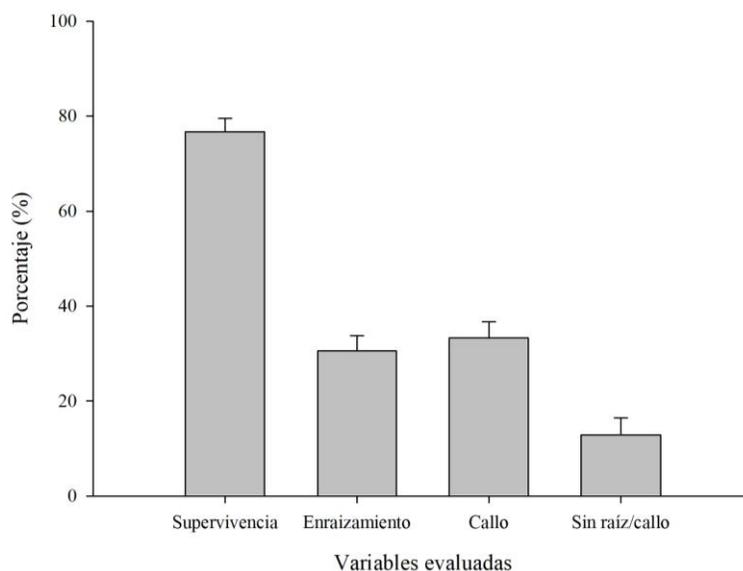


Figura 2.5. Porcentajes promedio de supervivencia, enraizamiento y formación de callo registrados después de 75 días en estacas de *Pinus ayacahuite*. En cada barra, los errores estándar son indicados ($n=48 \pm$ error estándar).

2.5.2.1 Efecto del fertilizante

Supervivencia de estacas. Para los tres tratamientos de fertilización se obtuvieron porcentajes por arriba de 70 % (Cuadro 2.3). Las sustancias nutritivas de reserva determinan la supervivencia de las estacas mientras aparecen las raíces adventicias. En los tejidos de varias especies los niveles de carbohidratos y de otros elementos nutritivos se han incrementado con tratamientos de fertilización programados; generando plantas con mayor probabilidad de sobrevivir (Wu *et al.*, 2019).

Enraizamiento. A pesar de que el fertilizante no mostró efectos estadísticamente significativos en el enraizamiento de estacas; el enraizado de estacas estuvo por arriba de 30 % en todas las dosis de fertilización (Cuadro 2.3). En otras especies de *Pinus*, como *P. taeda* y *P. pinaster*, se alcanzaron porcentajes de enraizamiento de estacas por arriba de 70 % como resultado de la fertilización que incrementó el contenido de nitrógeno en los tejidos de las estacas, lo cual fue determinante según Rowe *et al.* (2002) y Martínez-Alonso *et al.* (2012). Es probable que, en nuestro estudio, con los tratamientos de fertilización probados no se alcanzaron

los niveles de nitrógeno adecuados para causar algún efecto positivo. Como se ha señalado el nitrógeno modifica favorablemente la concentración de sustancias de reserva, las cuales facilitan la promoción de las raíces adventicias en las estacas (Álvarez *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2019). Los estándares nutricionales reportados en las plantas, están enfocados en optimizar el crecimiento en diámetro y altura, pero también influyen en los procesos de enraizamiento de estacas (Monsalve *et al.*, 2009).

Longitud de raíz primaria y producción de raíces primarias y secundarias. A pesar de que las estacas provenientes de plantas madre tratadas con diferentes dosis de fertilizante no registraron diferencias en las variables correspondientes a la morfología de raíz: número y longitud de raíces (Cuadro 2.2); algunas tendencias se observaron. Las estacas de plantas tratadas con dosis de 2.0 g L⁻¹ de fertilizante incrementaron ligeramente, en relación a las otras dosis, el número y longitud de raíces primarias (Cuadro 2.3). El incremento en la longitud y el número de raíces en las estacas es deseable, ya que define la calidad de raíz y se refleja en el crecimiento y desarrollo de la planta (Rowe *et al.*, 2002).

Cuadro 2.3. Valores medios (\pm error estándar) por dosis de fertilizante en las variables evaluadas en el experimento de enraizamiento de estacas de *Pinus ayacahuite*.

Fertilizante (g L ⁻¹)	Supervivencia (%)	Enraizamiento (%)	Callo (%)	Número de raíces		Longitud RP (cm)
				Prim.	Sec.	
0.5	75.00 \pm 5.04 a	30.94 \pm 6.89 a	36.04 \pm 6.23 a	1.09 \pm 0.21 a	1.24 \pm 0.52 a	1.34 \pm 0.45 a
1	72.92 \pm 5.67 a	23.33 \pm 4.30 a	37.40 \pm 7.02 a	1.59 \pm 0.35 a	3.13 \pm 2.38 a	2.06 \pm 0.65 a
2	82.29 \pm 3.87 a	37.60 \pm 4.59 a	26.35 \pm 5.41 a	2.15 \pm 0.32 a	1.94 \pm 0.82 a	2.21 \pm 0.90 a

† Prim: primarias, Sec: secundarias, RP: raíz primaria. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

Formación de callo. La fertilización no influyó en la formación de callo observado en las estacas, algún otro factor, quizá ambiental o genético, tuvo que ver. Se considera que el desarrollo de callo evita la formación de raíces adventicias. Sin embargo, también se dice que la formación de callo antecede a la emisión de raíces adventicias (Dumroese *et al.*, 2009). En el presente trabajo se considera que el callo en las estacas limitó la emisión de las raíces, por lo que se debe estudiar el origen de esta estructura celular para mejorar el enraizamiento de las estacas de *P. ayacahuite*.

2.5.2.2 Efecto del AIB

Supervivencia de estacas. Las altas concentraciones de AIB afectaron negativamente la supervivencia de las mini-estacas. En particular, la concentración de 7500 mg L⁻¹ de AIB redujo en más de 12 % la supervivencia, con respecto al tratamiento testigo, el cual presentó la mayor supervivencia (Cuadro 2.4). La toxicidad de la auxina en los tejidos de las plantas puede generarse cuando se utiliza en concentraciones elevadas; aunque el AIB es la auxina sintética más usada por su baja toxicidad (Tilahun *et al.*, 2018). Es posible que las estacas de *P. ayacahuite* sean más sensibles al AIB que otras especies. Por otro lado, la aplicación en polvo de la auxina permite que la auxina permanezca por un tiempo prolongado en la región de promoción de raíces de la estaca, generando daño al tejido y muerte de la estaca. A pesar de esto, la supervivencia de las mini-estacas de *P. ayacahuite* fue relativamente alta y similar al de otras especies de *Eucalyptus* (Brondani *et al.*, 2008), *Tectona grandis* L. F. (Meza *et al.*, 2015), *Pinus patula* Schl. et Cham (Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016) y *Myrceugenia exsucca* (Muñoz y Molina, 2016); las cuales alcanzaron valores por arriba del 80 % de supervivencia. Se considera que los factores ambientales dentro de las cámaras de enraizamiento fueron determinantes para la supervivencia de las estacas independientemente de la formación de raíz.

Estacas enraizadas. Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0.05$), en el enraizado de mini-estacas de *P. ayacahuite* respecto a las dosis de AIB, se observó una leve tendencia en el porcentaje de estacas enraizadas relacionado con la concentración de auxina (Cuadro 2.4). Es probable que las concentraciones de AIB hayan resultado muy altas para las estacas de *P. ayacahuite*.

Cuadro 2.4. Valores medios (\pm error estándar) por concentraciones de AIB en las variables evaluadas en el experimento de enraizamiento de estacas de *Pinus ayacahuite* a las 10 semanas.

AIB (mg L ⁻¹)	Supervivencia (%)	Enraizamiento (%)	Callo (%)	Número de raíces		Longitud RP (cm)
				Prim	Sec	
0	86.11 \pm 2.78 a	31.80 \pm 5.04 a	40.83 \pm 6.30 a	1.70 \pm 0.34 a	0.96 \pm 0.95 a	2.22 \pm 1.28 a
2500	76.39 \pm 3.22 ab	32.36 \pm 5.52 a	43.89 \pm 7.11 a	1.71 \pm 0.41 a	4.57 \pm 3.10 a	1.68 \pm 0.67 a
5000	74.99 \pm 6.32 ab	34.72 \pm 5.56 a	26.67 \pm 5.38 ab	2.13 \pm 0.38 a	1.92 \pm 0.84 a	1.66 \pm 0.51 a
7500	63.89 \pm 8.85 b	31.94 \pm 7.93 a	21.67 \pm 7.23 b	1.42 \pm 0.31 a	0.96 \pm 0.42 a	1.91 \pm 0.56 a

† Prim: primarias, Sec: secundarias, RP: raíz primaria. Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

El efecto del AIB en la inducción de raíces se ha comprobado exitosamente en la propagación vegetativa de varias especies forestales maderables (Ruiz-García *et al.*, 2005; Sampayo *et al.*, 2016), pero también se han reportado bajos porcentajes (Navarrete-Luna y Vargas-Hernández, 2005; Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016). Lo que demuestra que cada especie responde de manera diferente a la concentración de AIB usada. Además, el enraizamiento de las estacas depende también de factores, fisiológicos y ambientales (Zhao *et al.*, 2014). Por lo que se deben analizar otros factores que pudieron influir y afectar el enraizamiento, como la calidad y estado fenológico de la estaca (Sánchez-Zabala *et al.*, 2008; Amri *et al.*, 2010; Majada *et al.*, 2011).

El enraizamiento de las estacas depende también de otros factores, tanto fisiológicos como ambientales; entre los que cabe destacar: la concentración endógena de fitohormonas, las reservas de carbohidratos y el grado de lignificación del tallo, en el que se aumenta la producción de inhibidores de enraizamiento (Zhao *et al.*, 2014). En este estudio, las mini-estacas se establecieron en el mes de marzo, por lo que la fenología de la estaca pudo no ser la adecuada; debido a que el estado de lignificación estaba poco avanzado en las estacas. Este aspecto coincide con lo señalado en trabajos con *Pinus patula* (Mitchell *et al.*, 2004b), *P. radiata* (Sánchez-Zabala *et al.*, 2008), *P. pinaster* (Majada *et al.*, 2011) y *Dalbergia melanoxylon* Guill. & Perr. (Amri *et al.*, 2010) donde la pérdida en capacidad de enraizado se atribuye al grado de maduración de los propágulos.

Producción de callo en estacas. El desarrollo de callo en las secciones de cortes de las estacas se inhibió, en cierto grado, con la aplicación de altas concentraciones de AIB. Las estacas tratadas con 5000 y 7500 mg L⁻¹ de AIB disminuyeron en más de 50 % la formación de callo, respecto a la concentración de 2500 de AIB y al testigo (Cuadro 2.4). Se puede observar una relación muy clara entre el AIB y la formación de callo, siendo la concentración de 2500 mg L⁻¹ de AIB la que promueve la mayor formación de éste; el callo es una proliferación de células que se forma en la base de la estaca, esta proliferación causada por división celular puede obedecer a la acumulación excesiva de auxinas, tanto exógenas como endógenas y a las propiedades de la pared celular del cambium determinadas por la edad y posición de la estaca (Eliyahu *et al.*, 2020). El callo se forma desde una masa de células parenquimatosas y desorganizadas, como resultado de las lesiones de los tejidos de la xilema y el floema durante la preparación de la estaca (Rasmussen *et al.*, 2009).

Longitud de raíz primaria y producción de raíces primarias y secundarias. Para estas tres variables no hubo diferencias estadísticamente significativas. No obstante, se ha comprobado que el AIB contribuye en la formación de un mayor número de raíces primarias y secundarias, así como de otros atributos relacionados con la morfología de la raíz (Alcántara *et al.*, 2008; Majada *et al.*, 2011; King *et al.*, 2011). La producción de este tipo de raíces determina la calidad del sistema radical de las estacas, el cual a su vez determina el establecimiento en suelo de las plantas producidas por esta técnica (Bielenin, 2003). Una buena calidad del sistema de raíces en la planta permitirá contar con una mayor área para absorción de agua y nutrientes que impactará en la supervivencia y rendimiento de la planta en condiciones de campo (Wendling y Xavier, 2005).

Interacción entre factores. Los tratamientos de fertilización y los de auxina no mostraron interacción significativa para las variables evaluadas.

Es importante resaltar que, a pesar del bajo porcentaje de enraizamiento registrado en las estacas, estas tuvieron altos porcentajes de supervivencia. Cuando la estaca no enraíza su vigor decrece y la probabilidad de sobrevivir disminuye con el tiempo. Esto no sucedió en las estacas de *P. ayacahuite*, las cuales hasta el final del experimento mostraron un buen vigor (Figura 2.6). Se puede señalar que el tratamiento de fertilización en las plantas donadoras generó estacas de calidad y de buen vigor; lo cual determinó su supervivencia dentro de las cámaras de enraizamiento. Por otro lado, el alto porcentaje de estacas vivas, pero sin raíces, obliga a considerar que estas estacas pudieron requerir más tiempo en la cámara para desarrollar raíces. En promedio, para las estacas de especies de *Pinus*, el enraizamiento se logra en tres meses. Por lo que valdría la pena considerar mantener por más tiempo las estacas de *P. ayacahuite* dentro de la cámara de enraizamiento.



Figura 2.6. Vigor de las estacas en la cámara de enraizamiento. A) Al momento de ser cosechadas, B) Estacas vivas, pero sin raíces.

2.6 CONCLUSIONES

Utilizar fertilizante favorece la producción de brotes en setos de *P. ayacahuite*, pero no la formación de raíces adventicias. Por lo que para producir un gran número de estacas se recomienda incluir la fertilización como parte del manejo de las plantas madre, en particular en concentraciones de 2 g L^{-1} , pero se deben probar otras dosis y frecuencia de aplicación para incrementar el enraizamiento de estacas. La aplicación de AIB no influyó en la formación de raíces adventicias, ni tuvo efecto en combinación con el fertilizante. Sin embargo, se debe probar con otras dosis y tipos de aplicación de la auxina para mejorar el enraizamiento para establecer un protocolo de propagación vegetativa a través de la técnica de enraizamiento de estacas.

2.7 LITERATURA CITADA

- Alcántara, G. B., L. Lopes, A. Rioyei, and K. Zufellato. 2008. Effect of indolbutyric acid (IBA) and the collection of shoots in different seasons of the year on minicutting rooting of *Pinus taeda* L. *Scientia Forestalis Piracicaba* 36:151-156.
- Álvarez, C., L. Valledor, P. Sáenz, M. Sánchez-Olate and D. Ríos. 2016. Proteomic analysis thought adventitious rooting of *Pinus radiata* stem cuttings with different rooting capabilities. *American Journal of Plant Sciencs* 14:1888-1904.
- Amri, E., H. V. M. Lyaruu, A. S. Nyomora and Z. L. Kanyeka. 2010. Vegetative propagation of African Blackwood (*Dalbergia melanoxylon* Guill. & Perr.): effects of age of donor plant, IBA treatment and cutting position on rooting ability of stem cuttings. *New Forests* 39:183-194.
- Bettinger, M., M. Clutter, J. Siry, K. Pait, and J. Pait. 2009. Broad implications of southern United States pine clonal forestry on planning and managment of forests. *International Forestry Review* 11:331-345.
- Bielenin, M. 2003. Rooting and gas exchange of conifer cuttings treated with indolbutyric acid. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 11:99-105.
- Brondani, G., M. A. Araujo, I. Wendling, y D. Kratz. 2008. Micropropagation of an *Eucalyptus hybrid* (*Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunni*). *Acta Scientiarum Agronomy* 33(4), 655-663. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v33i4.8317>.
- Carrillo, A. F., C. G. Vera y T. O. S. Magaña. 2000. Producción de árboles de navidad en contenedores. Folleto de investigación del CEVAMEX. SAGARPA-INIFAP.
- Castillo-Flores, J. D., M. A. López-López, J. López-Upton., V. M. Cetina-Alcalá, y T. Hernández-Tejeda. 2013. Factores de influencia en el enraizamiento de estacas de *Abies religiosa* (Kunth) Schltld. et Cham. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 19(1): 175-184.
- Clarke, P. J., M. J. Lawes, J. J. Midgley, B. B. Lamont, F. Ojeda, G. E. Burrows... K. J. E. Knox. 2013. Resprouting as a key functional trait: how buds, protection and resources drive persistence after fire. *New Phytologist* 197:19–35.
- Cordeiro, I. M., C. Castro, Lameira, O. Alves, Oliveira, Francisco de Assis e I. Wendling .2016. Enraizamiento de estacas juveniles de *Bertholletia excelsa* con diferentes concentraciones de ácido indol-butírico. *Agrociencia* 50(2), 227-238.
- Couvillon, G. A. 1988. Rooting response to different treaments. *Acta Horticulturae*, 227:187-196.
- Dewald, L., T. White, M. Duryea. 1992. Growth and phenology of seedlings of four contrasting slash pine families in ten nitrogen regimes. *Tree Physiology* 11(·): 255-69 Doi:10.1093/treephys/11.3.255

- Dumroese, R. K., T. Luna and T. Landis. 2009. Nursery Manual of Native Plants: A guide for Tribal Nurseries (Vol.1), Nursery Management. Department of Agriculture, Forest Service. Washington, D.C.
- Elliott, K. and A. S. White. 1994. Effects of light, nitrogen, and phosphorus on red pine seedling growth and nutrient use efficiency. *Forest Science* 40(1): 47-58.
- Eliyahu, A., Z. Duman, S. Sherf, O. Genin, Y. Cinnamon, M. Abu-Abied... E. Sadot. 2020. Vegetative propagation of elite *Eucalyptus* clones as food source for honeybees (*Apis mellifera*); adventitious roots versus callus formation. *Israel Journal of Plant Sciences* 67(1-2):83-97, <https://doi.org/10.1163/22238980-20191112>.
- Farfán, E. G., J. Jasso, J. López, J. J. Vargas, C. Ramírez. 2002. Parámetros genéticos y eficiencia de la selección temprana en *Pinus ayacahuite* Ehren var. *ayacahuite*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25:239-246.
- Farjon, A., J. A. Pérez de la Rosa and B. T. Styles. 1997. Field Guide to the Pines of Mexico and Central America. Royal Botanic Gardens, Kew, Oxford, England 147 p.
- Gómez, J. D. M., H. C. Ramírez, M. J. Jasso y L. U. López. 2010. Variación en características reproductivas y germinación de semillas de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schldl. & Cham. *Revista fitotecnia mexicana* 33(4):297-304.
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve. 2014. Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice-Hall. 8a Edición. New Jersey, USA. 880 p.
- Hernández, C. A., y R. P. Rubilar. 2012. Efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en el desarrollo y fenología de brotes de setos de *Pinus radiata*. *Bosque* 33(1), 53-54.
- Husen, A. 2012. Changes of soluble sugars and enzymatic activities during adventitious rooting in cuttings of *Grewia optiva* as affected by age. *American Journal of Plant Physiology* 7 (1): 1-16.
- Kanmegne, G., H. D. Mbouobda, Fotso, C. N. Mbakop and D. N. Omokolo. 2017. The influence of stockplant fertilization on tissue concentrations of nitrogen, carbohydrates and amino acids and on the rooting of leafy stem cuttings of *Cola onamala* K. Schum (Malvaceae). *New Forest* 48: 17-31.
- King, A. R., M. A. Arnold, D. F. Welsh and W. T. Watson. 2011. Substrates, wounding, and growth regulator concentrations alter adventitious rooting of Baldcypress cuttings. *Science Horticulturae* 46:1387- 1393.
- Majada, J., C. Martínez-Alonso, I. Feito, A. Kidelman, I. Aranda and R. Alía. 2011. Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 41:399-412.
- Martínez-Alonso, C., A. Kidelman, I. Feito, T. Velasco, R. Alía, M. J. Gaspar... J. Majada. 2012. Optimization of seasonality and mother plant nutrition for vegetative propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 43: 651–663.

- Menzies, M. I., M. J. Dibley, T. Faulds, J. Aimers-Halliday and D. G. Holden. 2000. Morphological markers of physiological age for *Pinus radiata*. *New Zealand Journal of Forestry Science* 30: 359-364.
- Merlín, B. E. y R. J. Prieto. 2002. Producción de árboles de navidad en regiones semiáridas del Norte de México. INIFAP-SAGARPA. Folleto técnico No.17. Campo Experimental Valle de Guadiana. Durango. p. 26.
- Meza, A., J. Rodríguez, K. C. Gatti, y E. Espinoza. 2015. Propagación de árboles de teca *Tectona grandis* L. f. por miniestacas. *Revista Temas Agrarios*, 20(2), 43-48. <https://doi.org/10.21897/rta.v20i2.757>.
- Mirov, N. T 1997. *The Genus Pinus Chemical Geography*, The Roland Press Company. New York. pp. 505-519.
- Mitchell, R. G., J. Zwolinski and N. B. Jones. 2004b. The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula* - Part 1: nursery performance. *Southern African Forestry Journal* 202:29-36. <http://doi.org/10.1080/20702620.2004.10431787>
- Monsalve, J., R. Escobar, M. Acevedo, M. Sánchez, R. Coopman. 2009. Efecto de la concentración de nitrógeno sobre atributos morfológicos, potencial de crecimiento radical y estatus nutricional en plantas de *Eucalyptus globulus* producidas a raíz cubierta. *Bosque* 30(2): 88-94.
- Muñoz, M. y R. Molina. 2016. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y edad de las estacas en el enraizamiento de *Myrceugenia exsucca*. *Bosque* 37(3): 637-641.
- Navarrete-Luna, M. y J. J. Vargas-Hernández. 2005. Propagación asexual de clones de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, utilizando radix en diferentes concentraciones. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 11:111-116.
- Ruiz-García, R., J. J. Vargas-Hernández, V. M. Cetina-Alcalá y A. Villegas-Monter. 2005. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28:319-326.
- Rivera-Rodríguez, M. O., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, A. Villegas-Monter y M. Jiménez-Casas. 2016. Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. *Revista fitotecnia mexicana* 39(4), 385-392.
- Rowe, D., F. Blazich, C. Raper. 2002. Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine I. Tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. *New Forest* 24: 39–51.
- Sampayo-Maldonado, S., M. Jiménez-Casas, J. López-Upton, V. Sánchez-Monsalvo, y J. Jasso-Mata, A. Equihua-Martínez... C. R. Castillo-Martínez. 2016. Enraizado de miniestacas de *Cedrela odorata* L. *Agrociencia* 50 (7): 919-929.
- Sánchez-Zabala, J., U. Ortega-Lasuen, J. Majad-Guijo, K. Txarterina-Urkiri y M. Duñabeitia-Aurrekoetxea. 2008. Optimización de la propagación vegetativa por estaquillado de

genotipos de interés comercial de *Pinus radiata*. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales 28:201-205.

Smith, M. G., S. K. Arndt, R. E. Miller, S. Kasel, L. T. Bennett. 2018. Trees use more non-structural carbohydrate reserves during epicormic than basal resprouting. *Tree Physiology* 38(12): 1779–1791. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpy099>.

SEMARNAT. 2003. Pino Ayacahuite, El árbol de navidad mexicano. Unidad de Comunicación Social.

Tarragó, J., P. Sansberro, R. Filip, P. Lopez, A. Gonzalez, C. Luna... L. Mroginski. 2005. Effect of leaf retention and flavonoids on rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings. *Scientia Horticulturae* 103: 479-488.

Tilahun, A., B. Manahlie, G. Abebe and G. Negash. 2018. The response of cutting position and auxin concentration on rooting and shooting of *Araucaria heterophylla*. *Journal of Applied Horticulture* 20(3): 233-236.

Trueman, S. J. 2006. Clonal propagation and storage of subtropical pines in Queensland, Australia. *Southern African Forestry Journal* 208: 49–52, <http://doi:10.2989/10295920609505261>.

Villar-Salvador, P., J. Puértolas, J. L. Peñuelas, R. Planelles. 2005. Effect of nitrogen fertilization in the nursery on the drought and frost resistance of Mediterranean forest species. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales* 14(3):408–418.

Wendling, I., y A. Xavier. 2005 Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. *Revista Árvore* 29: 921-930.

Wu, J., H. Lin, L. Guo, J. Dong, L. Zhang and W. Fu. 2019. Biomasa and nutrients variation of Chinese fir rooted cuttings under conventional and exponential fertilizations regimes of nitrogen. *Forests* 10:615, <http://doi.org/10.3390/f10080615>

Zamora, M. M. C. 2015. Producción de árboles de Navidad. *Revista mexicana de ciencias forestales*, Vol. 6, 4-6 pp.

Zas, R., F. Pichel, P. Martíns, J. Fernández-López. 2006. Fertilization × genotype interaction in *Pinus radiata* open pollinated families planted in three locations in Galicia (Northwest Spain). *New Forest* 32 (3):253–263.

Zhao, K., H. Zheng, S. Li, C. Yang, J. Jiang and G. Lui. 2014. The rooting of poplar cuttings: A review. *New Forest* 45:21-34.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES GENERALES

El enraizamiento de estacas de *Pinus ayacahuite* no ha sido documentado, por lo que se buscó establecer un protocolo de enraizamiento para dicha especie.

En el capítulo I, se fertilizaron las plantas madre y se enraizaron estacas apicales, adicionando diferentes concentraciones de AIB; la supervivencia de estacas resultó mayor al 78 %, de las cuales poco más del 18 % enraizó. El bajo porcentaje de enraizamiento, posiblemente se debió a la formación de callo; variable que fue afectada significativamente por los tratamientos de fertilización en las estacas de *P. ayacahuite*. La aplicación de altas concentraciones de fertilizante, no es recomendable, debido a que aumenta la producción de callos en los esquejes y afecta negativamente su enraizamiento.

Las concentraciones de AIB usadas no son óptimas para esta especie, particularmente por tratarse de esquejes apicales. Se observó una respuesta importante al AIB en la morfología de las raíces en las estacas, en particular sobre el incremento en longitud de la raíz principal y en el aumento de la producción de raíces secundarias, demostrando que el AIB mejora el desarrollo y crecimiento de las raíces adventicias de los esquejes que lograron promover el enraizamiento. Esto es importante ya que los esquejes con raíces mejor conformadas tendrán mayor capacidad para la absorción de agua y por lo tanto de sobrevivir durante su establecimiento.

El crecimiento en diámetro de las plantas incrementó, por efecto de las dosis de fertilización. Los mejores resultados se obtuvieron con los tratamientos 1.0 y 2.0 g L⁻¹, con los que se tuvieron incrementos mayores de 39.35 % respecto del tratamiento testigo; además, el diámetro de las plantas decreció conforme las dosis de fertilizante disminuyeron.

Según el capítulo II, las plantas tratadas con fertilizante generaron 49 % más brotes que las plantas testigo. Además de la producción de estacas, también la longitud y diámetro de los brotes incrementó conforme aumentaron las concentraciones de fertilizante. Las plantas tratadas con la concentración 2.0 g L⁻¹ generaron estacas 25 % más largas que las del testigo, el diámetro de brotes se comportó de manera similar. El tamaño en longitud y diámetro refleja el vigor del rebrote y el efecto de la fertilización. Esto comprueba la importancia de la fertilización en el manejo de la planta donadora, por lo tanto, para la producción de estacas

generadas por rebrotes, la fertilización debe ser considerada dentro de las prácticas de manejo de las plantas donadoras de *P. ayacahuite*.

Se observó una leve tendencia en el porcentaje de estacas enraizadas relacionado con la concentración de auxina. El porcentaje de enraizamiento fue 8.4 % superior en el tratamiento con 5000 mg L⁻¹ de AIB, que en el tratamiento testigo, sin embargo, los bajos porcentajes de enraizamiento sugieren probar concentraciones más bajas.

Altas concentraciones de AIB afectaron negativamente la supervivencia de las estacas. Es posible que éstas sean sensibles al AIB y, por otro lado, que la aplicación en polvo de la auxina haya dejado un exceso de la misma por tiempo prolongado en la región de la estaca, generando daño al tejido, además que el AIB en polvo puede permanecer durante todo el proceso de formación de raíces adventicias, inhibiendo la aparición y elongación de éstas, en cambio el AIB líquida solo estará presente en la fase de inducción. Por lo anterior, se recomienda trabajar con menores concentraciones y eliminar el exceso de la auxina aplicada en polvo, o bien probar el AIB en solución para evitar el contacto prolongado del ácido en el tejido.

Se recomienda utilizar fertilizante para el manejo de plantas madre de *P. ayacahuite*, ya que se observan incrementos en diámetro, así como alta producción de estacas, a pesar de no obtener efecto significativo en la aparición de raíces adventicias de los brotes producidos.

Sin embargo, en futuras investigaciones, se recomienda probar diferentes dosis de fertilizante, aumentando las cantidades de N, así como concentraciones más bajas de AIB, incluso en forma líquida y un mayor tiempo de duración de las estacas en las cámaras de enraizamiento.