



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

CLONACIÓN DE ÁRBOLES SELECTOS DEL HÍBRIDO *Pinus elliotii* var. *elliotii* x *Pinus* *caribaea* var. *hondurensis*

ROSMERI CABRERA RAMÍREZ

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: "**Clonación de árboles selectos del híbrido *Pinus elliotii* var. *elliottii* x *Pinus caribaea* var. *caribaea***" realizada por la alumna: "**Rosmeri Cabrera Ramírez**" 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
CIENCIAS FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO (A)



DR. MARCOS JIMENEZ CASAS

ASESOR (A)



DR. MIGUEL ANGEL LÓPEZ LÓPEZ

ASESOR (A)



M.C. JOSE PASTOR PARRA PIEDRA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, enero 2021

CLONACIÓN DE ÁRBOLES SELECTOS DEL HÍBRIDO *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis*

Rosmeri Cabrera Ramírez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2021

RESUMEN

El híbrido *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis* es rentable para establecer plantaciones comerciales en México. La propagación vegetativa de los mejores árboles apoyaría el establecimiento de plantaciones con genotipos de calidad. Este estudio busca aportar conocimientos para desarrollar protocolos de propagación clonal de árboles selectos del híbrido, establecidos en una plantación ubicada en Lázaro Cárdenas, Puebla. Se enfatizó en el manejo de los árboles donadores a través de la fertilización. En el primer capítulo, se analizó la importancia que tiene el estado nutricional del árbol donador de cuatro años sobre la producción de los mini-esquejes (estacas). En el segundo, se evaluó el efecto del manejo nutrimental de los árboles y del ácido indolbutírico (AIB) en la promoción de raíces adventicias en las estacas. En el tercer capítulo, se determinó el efecto del (AIB) y la fertilización en el enraizamiento de acodos aéreos de árboles selectos del híbrido, para producción de plantas madre clonadas. Se encontró que los tratamientos de fertilización compensaron el déficit nutricional de los árboles del híbrido, mejorando su crecimiento y producción de brotes para obtención de estacas juveniles. Por otro lado, el uso del AIB y la fertilización incrementaron la supervivencia, enraizamiento de las estacas y la morfología de las raíces formadas. Finalmente, el enraizamiento de los acodos fue favorecido con la fertilización en complemento con la aplicación del AIB. Concluimos que la fertilización, basada en nitrógeno y fósforo, debe ser adoptada como un sistema de manejo en la plantación para clonar árboles del híbrido a través de las técnicas de enraizamiento de estacas y acodos aéreos. Aunque la dosis óptima de AIB se debe optimizar para incrementar los porcentajes de enraizamiento obtenidos.

Palabras clave: Híbrido, propagación asexual, enraizamiento, clon, pinos tropicales.

CLONING OF SELECTED TREES FROM THE HYBRID *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis*

Rosmeri Cabrera Ramírez, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2021

ABSTRACT

The hybrid *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis* is profitable to establish commercial plantations in Mexico. The vegetative propagation of the best trees would support the establishment of plantations with quality genotypes. This study seeks to provide knowledge to develop clonal propagation protocols of select trees of the hybrid established in a plantation located in Lázaro Cárdenas, Puebla. Emphasis was placed on the management of donor trees through fertilization. In the first chapter, the importance of the nutritional status of the four-year-old donor tree on the production of mini-cuttings (cuttings) was analyzed. In the second, it was evaluated the effect of the nutritional management of the trees and of indole butyric acid (IBA) in the promotion of adventitious roots in the cuttings. In the third and last chapter, the effect of IBA and fertilization on the rooting of aerial layers of select hybrid trees was determined, for the production of cloned mother plants. It was found that the fertilization treatments compensated the nutritional deficit of the hybrid trees, improving their growth and production of shoots to obtain juvenile cuttings. On the other hand, the use of IBA and fertilization increased survival, morphology and rooting of the cuttings. Finally, the rooting of the layers was favored with the fertilization of the trees in addition to the application of the IBA. We conclude that fertilization, based on nitrogen and phosphorus, should be adopted as a management system in the plantation to clone hybrid trees through cuttings and aerial layering techniques. Although the optimal dose of IBA should continue to be studied to increase the rooting percentages obtained.

Keywords: Hybrid, asexual propagation, rooting, clone, tropical pines.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** (CONACYT) quien fue la fuente de subsidio durante mi período de la maestría.

Al **Colegio de postgraduados y al postgrado forestal** por permitirme culminar un grado más.

Al **Dr. Marcos Jiménez Casas** por la confianza, el apoyo y el asesoramiento para la realización y conclusión de este trabajo.

Al **Dr. Miguel ángel López López** por sus valiosas observaciones y aportaciones que ayudaron a enriquecer y mejorar este trabajo.

Al **M.C. José Pastor Parra Piedra** por sus recomendaciones y atinadas observaciones.

Al **Dr. Arnulfo Aldrete** por su participación como sinodal.

A los **alumnos** del Instituto Tecnológico Superior de Venustiano Carranza por su ayuda en el establecimiento del experimento.

DEDICATORIA

A mis padres

A mi hermana

Sobre todo, a mi persona favorita

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
Objetivo General	3
Objetivos específicos	3
CAPITULO I. EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN EN EL DESARROLLO Y FENOLOGÍA DE BROTES DE UNA PLANTACIÓN DEL HÍBRIDO <i>Pinus elliotii</i> var. <i>elliotii</i> x <i>Pinus caribaea</i> var. <i>hondurensis</i>	5
1.1.RESUMEN	5
1.2.ABSTRACT	6
1.3.INTRODUCCIÓN	7
1.4.MATERIALES Y MÉTODOS	9
1.4.1.Ubicación del experimento.....	9
1.4.2.Análisis del estado nutrimental para la definición de tratamientos experimentales	10
1.4.3.Tratamientos de fertilización y diseño experimental	11
1.4.4.Evaluación de variables	11
1.4.5.Análisis estadístico	12
1.5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
1.5.1.Análisis foliares y respuesta en crecimiento	13
1.5.2.Fenología del brote	16
1.5.3.Producción brotos.....	de 18
1.5.4.Longitud de brotes	21
1.6.CONCLUSIONES	21
1.7.LITERATURA CITADA.....	22
CAPITULO II. ENRAIZAMIENTO DE MINI-ESQUEJES PROVENIENTES DE ÁRBOLES DEL <i>Pinus elliotii</i> X <i>Pinus caribaea</i>	25

2.1.	RESUMEN	25
2.2.	ABSTRACT	26
2.3.	INTRODUCCIÓN	27
2.4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
2.4.1.	Localización del experimento	29
2.4.2.	Material vegetal	29
2.4.3.	Recolecta de estacas	30
2.4.4.	Preparación de los mini-esquejes	31
2.4.5.	Aplicación del ácido indol butírico (AIB)	31
2.4.6.	Siembra	31
2.4.7.	Diseño experimental y establecimiento de los tratamientos	32
2.4.8.	Variables evaluadas	33
2.4.9.	Análisis de datos	34
2.5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
2.5.1.	Análisis de varianza	34
2.5.2.	Efecto del AIB.....	35
2.5.3.	Efecto de Fertilizante.....	39
2.5.4.	Interacción Fertilizante X AIB	43
2.6.	CONCLUSIONES	45
2.7.	LITERATURA CITADA	45
CAPÍTULO III. MUTIPlicación CLONAL POR ACODOS AÉREOS DEL		
HÍBRIDO <i>Pinus elliotii</i> x <i>Pinus caribaea</i>		52
3.1.	RESUMEN	52
3.2.	ABSTRACT	53
3.3.	INTRODUCCIÓN	54
3.4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	55
3.4.1.	Selección de la planta madre.....	55
3.4.2.	Aplicación de tratamientos.....	56
3.4.3.	Evaluación de los acodos aéreos	57

3.4.4.Diseño experimental	57
3.4.5.Análisis de datos.....	58
3.5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
3.5.1.Efecto de la fertilización	59
3.5.2.Efecto del AIB	61
3.5.3.Interacción Fertilización X AIB	64
3.6.CONCLUSIONES	66
3.7.REFERENCIAS.....	66
CONCLUSIONES GENERALES.....	73

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.1. Concentraciones nutrimentales foliares en los árboles de *Pinus elliottii* X *Pinus caribaea* en Villa Lázaro Cárdenas, Puebla; y concentraciones críticas foliares para *Pinus elliottii* y para el híbrido en estudio 13
- Cuadro 1.2. Valores de F y P para la altura y diámetro a la altura del pecho de árboles de *Pinus elliottii* X *Pinus caribaea*, bajo tratamientos de fertilización, en Villa Lázaro Cárdenas, Venustiano Carranza, Puebla. ... 14
- Cuadro 1.3. Análisis de varianza (valores de P) para la fenología vegetativa del esqueje (brote) en días, para los árboles del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* con diferentes tratamientos de fertilización. 16
- Cuadro 1.4. Valores promedio de los días para los eventos fenológicos de la fase de inicio de brote (aparición de yema) y fin de crecimiento de brote para la producción de esquejes en árboles de del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* sujetos a diferentes tratamientos de fertilización. Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($\alpha= 0.05$), n=5. 17
- Cuadro 1.5. Análisis de varianza (valores de F y P) para la producción de brotes para esquejes generados en los árboles del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* con diferentes tratamientos de fertilización. 18
- Cuadro 1.6. Valores promedio de la producción de brotes generados en los árboles del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* con diferentes tratamientos de fertilización. n=5 \pm error estándar..... 19

Cuadro 2.1. Tratamientos aplicados en el experimento de enraizamiento de mini-esquejes del híbrido del <i>Pinus elliottii</i> x <i>Pinus caribaea</i>	33
Cuadro 2.2. Valores de P del análisis de varianza de las variables relacionadas con el enraizamiento de los mini-esquejes del híbrido de <i>Pinus elliottii</i> x <i>Pinus caribaea</i>	35
Cuadro 2.3. Valores medios por dosis de ácido Indolbutírico (AIB) de las variables evaluadas en el experimento de enraizamiento del híbrido de <i>Pinus elliottii</i> x <i>Pinus caribaea</i>	35
Cuadro 2.4. Valores promedio de supervivencia, miniesquejes enraizados y presencia de callo en estacas del híbrido de <i>Pinus elliottii</i> x <i>Pinus caribaea</i> generadas por árboles de 4 años de edad tratados con diferentes fertilizantes.	40

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1. Etapas fenológicas de la producción de mini-esquejes, registradas en el experimento: a) y b) inicial y c) finalización de crecimiento (alargamiento del brote). 12
- Figura 1.2. Valores promedio de los incrementos en A) altura y B) diámetro de los árboles del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* sujetos a diferentes tratamientos de fertilización en Villa Lázaro Cárdenas, Venustiano Carranza, Puebla. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas, $n=5 \pm$ error estándar. 15
- Figura 2.1. Mini-esquejes del híbrido *Pinus elliottii* & *Pinus caribaea* establecidas en cámaras de enraizamiento con mezcla de peat moss, perlita y vermiculita (3:1:1). 32
- Figura 2.2. Efecto de la dosis de Ácido Indolbutírico (AIB) en la producción de raíces en las estacas del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea*: a). Longitud de raíces primarias, b) Número de raíces primarias y secundarias. Dentro de un grupo de raíces, letras diferentes en las barras de error indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey, $\alpha=0.05$). 38
- Figura 2.3. Efecto de la fertilización de árboles donadores del híbrido sobre: a) Número de raíces primarias y secundarias presentes en las estacas, b) Longitud de raíces primarias de las estacas. Dentro de un grupo de raíces, letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos. 42

Figura 2.4. Interacción del tratamiento de fertilización de los árboles donadores y la dosis de AIB en estacas enraizadas. Promedios de cada tratamiento.....	44
Figura 3.1. Primeras raíces visibles a los 45 días de haberse establecido los acodos aéreos del híbrido <i>Pinus elliottii</i> & <i>Pinus caribaea</i>	64

INTRODUCCIÓN GENERAL

La clonación ha sido integrada en los esquemas de los programas de mejoramiento genético, ya que permite propagar masivamente individuos con características deseables (Ortiz Novoa & Koch, 2011). Los sistemas de macropropagación como enraizamiento de estacas y acodos aéreos son métodos eficientes para la propagación vegetativa de muchas especies forestales, en ambos casos en enraizamiento es factor común. En la actualidad, la producción comercial de plantas a gran escala usa principalmente el enraizamiento de estacas para *Pinus radiata* D. y *Picea abies* (Ritchie, 1991); aunque en menor grado los acodos aéreos también son considerados. No existe un protocolo estándar para la propagación por enraizamiento de cualquier pino. Cada especie presenta diferente capacidad de enraizamiento, por lo que es necesario estudiar en cada especie el punto óptimo de cada factor involucrados en la promoción de raíces adventicias. Factores como el genotipo, la edad y el manejo de la planta madre; así como sustancias promotoras de raíces y las condiciones ambientales determinan el enraizamiento (Rocha y Niella, 2003).

Existen varios trabajos en donde se demuestra que la capacidad de enraizamiento de en especies leñosas puede ser mejorada mediante un manejo adecuado de las estacas y acodos con la aplicación de tratamientos inductivos para el desarrollo de raíces adventicias (Land y Cunningham, 1994). Existe un amplio rango de tratamientos que pueden aplicarse para incrementar su capacidad de enraizamiento. Dentro de los tratamientos aplicados en estacas de coníferas se pueden mencionar a las auxinas (polvo o líquida), fungicidas y retardantes de crecimiento de brotes (Wise y Caldwell, 1992; Greenwood *et al*; 1980 y 1995). En general los resultados para el género *Pinus*

han sido variables según la especie. Un protocolo de enraizamiento de estacas con promedios de enraizamiento no menores al 70 % y genotipo independiente es necesario si se quiere implementar esta técnica a escala comercial.

Por otro lado, la producción y manejo de plantas madre es medular para los sistemas de macropropagación (A. Hernández & Rubilar, 2012). La fertilización en las plantas madre juega un papel importante. Los propágulos procedentes de una planta vigorosa y bien nutrida tendrán mayor respuesta para generar raíces adventicias, ya que la formación de raíces adventicias está relacionada con los carbohidratos y sustancias de reserva presentes en los tejidos (Hernández & Rubilar, 2012).

La hibridación asistida busca encontrar genotipos con mayor rendimiento, adaptabilidad, tolerancia a plagas y enfermedades; así como alta calidad de productos que el de sus progenitores (vigor híbrido). El híbrido *Pinus elliottii* var. *elliottii* X *Pinus caribaea* var. *hondurensis*, desarrollado en Australia, esta siendo plantado en Australia, Sudáfrica, Sudamerica y en México con excelente productividad en diferentes ambientes. La clonación de estos genotipos es deseable para incrementar la productividad en plantaciones comerciales.

En este trabajo se estudió la clonación en árboles bien conformados y con los mejores crecimientos del híbrido *Pinus elliottii* var. *elliottii* X *Pinus caribaea* var. *hondurensis* de cuatro años de edad establecidos en un ensayo de procedencias localizada en el sitio experimental del Instituto Tecnológico Superior de Venustiano Carranza, Municipio de Venustiano Carranza, Puebla; utilizando los sistemas de macropropagación por enraizamiento de estacas y acodos aéreos. En el estudio se analiza el uso de fertilizantes como parte del manejo de la planta madre o donadora (árbol a clonar) para mejorar la

producción de estacas y predisponer al árbol para el establecimiento de acodos. Por otro lado, conocer la importancia del uso de la auxina sintética, ácido indolbutírico (AIB), en la promoción de raíces adventicias, tanto en las estacas como en los acodos aéreos, en complemento con el efecto del fertilizante.

Objetivo General

Analizar el potencial de las técnicas de macropropagación de enraizamiento de estacas y acodos aéreos en la clonación de árboles selectos del híbrido, para el establecimiento de plantaciones comerciales. Considerando a la fertilización y al AIB como elementos importantes para lograr la clonación.

Objetivos específicos

Analizar la influencia que tiene el estado nutricional del árbol donador de *Pinus elliotii* var *elliotii* X *Pinus caribaea* Var *hondurensis* de cuatro años de edad, sobre la producción de los mini-esquejes.

Analizar el efecto del manejo nutrimental, de los árboles donadores de cuatro años de edad del híbrido *P. elliotii* x *P. caribaea*, y del AIB en el enraizamiento de las estacas, para propagar vegetativamente los mejores genotipos de la plantación y establecer plantaciones clonales de la especie.

Evaluar el efecto del ácido indolbutírico y la fertilización en el enraizamiento de acodos aéreos de árboles selectos del híbrido de *Pinus elliotii* x *caribaea*,

Para lograr concretar los objetivos planteados, esta investigación se dividió en tres capítulos: I) Producción de brotes adventicios del híbrido *Pinus elliottii x caribaea*, mediante la fertilización y podas, II) Propagación asexual de los árboles selectos del híbrido *Pinus elliottii x caribaea*, mediante el enraizamiento de estacas, y III) Propagación asexual del *Pinus elliotti x caribaea* a través de acodos aéreos.

**CAPITULO I. EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN EN EL DESARROLLO Y
FENOLOGÍA DE BROTES DE UNA PLANTACIÓN DEL HÍBRIDO *Pinus elliottii* var.
elliottii x *Pinus caribaea* var. *hondurensis***

1.1. RESUMEN

Con el objetivo de determinar el efecto de la fertilización sobre el desarrollo, producción y crecimiento fenológico de los brotes de los árboles del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea*, se estudió el desarrollo y fenología de tales brotes en árboles sometidos a distintos fertilizantes (Testigo, nitrógeno, fósforo, magnesio y nitrógeno más fósforo). Se realizaron mediciones de elongación ($\pm 0,1$ cm) y diámetro ($\pm 0,1$ mm) de brotes cada tercer día por tres meses. Durante los primeros días, después de la poda de ramas, aparecieron las yemas adventicias alrededor de la zona de corte; las cuales sufrieron un hinchamiento y posteriormente rompieron para iniciar su crecimiento. El tratamiento con nitrógeno más fósforo aceleró la fenología (aparición) de los brotes, seguido del T2 (nitrógeno), T3 (fósforo) y T4 (magnesio), siendo el testigo el tratamiento que no mostró respuesta. Los árboles de *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* tratados con el T5 (nitrógeno + fósforo) tuvieron 60% más brotes y el doble del número de brotes por rama, que los árboles no fertilizados (T1). Además, en todas las ramas podadas de los árboles del T5 se generaron brotes, lo que contrasta con las del T1, donde menos del 50% de las ramas tuvieron brotes

Palabras clave: Híbrido, *Pinus elliottii* & *caribaea*, fertilización, poda, enraizamiento, brote

1.2.ABSTRACT

In order to determine the effect of fertilization on the development, production and phenological growth of the shoots of the hybrid *Pinus elliotti x Pinus caribaea* trees, the development and phenology of such shoots in trees submitted to different fertilizers (every one, nitrogen, phosphorus, magnesium and nitrogen plus phosphorus) were studied. Elongation (± 0.1 cm) and sprout diameter (± 0.1 mm) measurements were made every third day for three months.

During the first few days after pruning of the branches, the adventitious buds appeared around the cutting area; they showed a swelling and later they broke to start their growth. Treatment with nitrogen plus phosphorus accelerated the phenology (appearance) of the shoots, followed by T2 (nitrogen), T3 (phosphor) and T4 (magnesium), being the control the treatment that did not show response.

T5 (N+P) treated *Pinus elliotti x Pinus caribaea* trees had 60% more shoots and twice the number of shoots per branch than unfertilized trees (T1). In addition, all pruned branches in T5 generated buds, which contrasts with those in T1, where less than 50% of the branches had buds.

Keywords: Hybrid, *Pinus elliottii & caribaea*, fertilization, pruning, rooting, shoot

1.3. INTRODUCCIÓN

La mayor parte de las plantaciones forestales maderables del sureste de México han sido establecidas con especies introducidas, como es el caso del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea*; el cual se caracteriza por su crecimiento rápido, buena forma y resistencia a factores bióticos adversos (Nikles, 1967, Shepherd *et al.*, 2002).

En una plantación de este híbrido, localizada en el municipio de Venustiano Carranza, Puebla; los árboles rebasaron los 3 metros de altura, después de cuatro años de su establecimiento. Varios genotipos de la plantación han sido detectados como superiores, por su crecimiento y buena forma de fuste; pero debido a su edad juvenil, todavía no desarrollan estróbilos productores de semilla. Una alternativa para acelerar el proceso de producción de planta procedente de genotipos fenotípicamente superiores es usar la técnica de propagación vegetativa por enraizamiento de mini-esquejes. Se le denomina mini-esqueje a una ramilla separada de la planta de aproximadamente seis centímetros de longitud, provista de hojas y yemas caulinares, la cual es inducida a formar raíces y brotes por medio de manipulaciones químicas, mecánicas y/o ambientales (Gárate, 2010).

Los mini-esquejes son generados a partir rebrotes inducidos a base de podas, en plantas madre o donadoras que son conformadas en setos. En coníferas, árboles mayores a tres años de edad, pierden parte importante de la capacidad para rebrotar (Mitchell, Zwolinski, & Jones, 2004a, Zabala, Lasuen, Guijo, Urkiri, & Duñabeitia, 2008), aunque dentro del género *Pinus* existen algunas especies que conservan esta capacidad durante todo su ciclo de vida.

La inducción y producción de brotes adventicios se ven reflejados cuando se realiza un manejo previo en las plantas madre a través de la realización de podas y fertilización. La realización de podas constantes permite la formación de setos, estimulando el crecimiento y manteniendo un estado juvenil en la producción de brotes. Esta práctica incrementa el nivel de fitohormonas promotoras del crecimiento en tallos y savia, xilema y floema (Grochowska, Karaszewska, Jankowska & Maksymiuk, 1984). También se ve beneficiado el vigor de los brotes ya que incrementa en la medida que la intensidad de poda aumenta y el crecimiento de nuevas ramas generalmente es mayor (Hansen, 1987).

Además de la poda es necesario realizar una fertilización a la planta madre con la finalidad de ampliar la producción de brotes. Se han reportado varios estudios que indican que los carbohidratos son responsables de apoyar el crecimiento y proliferación de brotes (Del Tredici, 2001). La fertilización con nitrógeno, magnesio y probablemente fósforo suelen estimular el contenido de clorofilas a y b, que incrementan la eficiencia fotosintética, lo cual se refleja en el contenido de carbohidratos y proteínas solubles totales en los tejidos (Latsague, Sáez & Mora, 2014). Además, el nitrógeno es uno de los elementos que están involucrados en el crecimiento a través de la expansión celular (Lázaro *et al.*, 2012).

En plantas de dos años establecidas como setos, la fertilización y el manejo a base de podas favorece una mayor producción de mini-esquejes de tejido juvenil (Hartmann & Kester, 1999), pero poco se sabe de la respuesta en árboles jóvenes ya establecidos en campo.

Desbalances nutrimentales son comunes en árboles jóvenes de plantaciones forestales, por lo que su capacidad de rebrote para producción de mini-esquejes podría ser limitada, si es que su uso como planta donadora es requerido. La aplicación de fertilizantes ha compensado ese desbalance, incrementando el vigor y crecimiento de los árboles (Cañellas, Finat, Bachiller & Montero, 1999).

Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue analizar la influencia que tiene el estado nutricional del árbol donador de *Pinus elliotii* var. *elliottii* X *Pinus caribaea* var. *hondurensis* de cuatro años de edad, sobre la producción de los mini-esquejes. Se considera que los árboles con deficiencias nutritivas compensadas, a través de los nutrientes proporcionados, tendrán mayor producción y calidad de mini-esquejes.

1.4. MATERIALES Y MÉTODOS

1.4.1. Ubicación del experimento

El experimento se llevó a cabo en los árboles de una plantación de *P. elliotii* var. *elliottii* y *Pinus caribaea* var. *hondurensis* de cuatro años de edad, establecida en Villa Lázaro Cárdenas, Municipio de Venustiano Carranza, Puebla, ubicado en las coordenadas 20°28'19.6" latitud y 97°41'56.4" longitud, a una altitud de 333 m. El sitio presenta una temperatura media anual de 20 °C y una precipitación media anual de 750 mm. La edafología corresponde a suelos de tipo Vertisol pélico, Feozem haplico y Regosol Calcaríco (INEGI, 2009).

Esta plantación fue establecida en octubre del 2016 con 240 árboles del híbrido (con procedencias de Argentina). En julio del 2019, se seleccionaron 25 árboles, en el mes de mayo 2018, considerando su rectitud del fuste, ausencia de plagas y enfermedades y con suficientes ramas, esto último para obtener de cada rama los mini-esquejes

requeridos. Una vez realizada la selección, se registró el diámetro basal, diámetro normal, altura total y número de verticilos de cada uno de los árboles.

1.4.2. Análisis del estado nutrimental para la definición de tratamientos experimentales

Antes de establecer los experimentos, dentro de la plantación se realizó la limpieza de toda vegetación arbustiva o herbácea, para evitar la competencia por nutrientes que pudieran afectar el experimento. Para el análisis del estado nutricional, se tomó una muestra del follaje de los 25 árboles seleccionados, considerando las acículas de las ramas ubicadas en el tercio superior de la copa de cada árbol. Enseguida, las muestras fueron colocadas en bolsas de papel y trasladadas al laboratorio Salvador Alcalde Blanco del Postgrado en Edafología del Colegio de Postgraduados. Posteriormente, las acículas se lavaron con agua corriente y agua destilada y se secaron en estufa por 48 horas a 72 °C. Una vez secas se hicieron tres muestras compuestas del follaje. Es decir, las 25 muestras se dividieron en tres grupos, el primer grupo con ocho muestras, el segundo y tercer grupo con nueve y ocho muestras, respectivamente.

Para formar una muestra compuesta se tomó igual cantidad de acículas de cada una de las muestras simples. Una vez formadas las muestras compuestas, se procedió a molerlas en un mortero. Finalmente, las muestras se enviaron al laboratorio para su análisis nutrimental. En cada muestra se determinó las concentraciones de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre, zinc, manganeso y boro.

Los análisis foliares fueron interpretados mediante las concentraciones críticas reportadas por Dickens *et al.* (2016) para *Pinus elliottii* y las sugeridas por Xu *et al.* (2000) para *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea*.

1.4.3. Tratamientos de fertilización y diseño experimental

De acuerdo con en el análisis nutrimental, en noviembre del 2019, se realizó la aplicación de cinco tratamientos, basados en soluciones preparadas con agua corriente: (T1) testigo (sólo agua), (T2) nitrógeno (80 g), (T3) fósforo (20 g) (T4) magnesio (10 g) y (T5) nitrógeno + fósforo (80, 20 g respectivamente). El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar (DECA), donde cada tratamiento fue aplicado aleatoriamente a cinco árboles y la unidad experimental constituida por un árbol.

Para facilitar la aplicación y penetración de las soluciones de los tratamientos, a cada árbol previamente se les realizó un cajete de aproximadamente 1 m de diámetro.

Las podas se realizaron después de 1 mes de haber sido aplicado el tratamiento de fertilización. La poda consistió en la eliminación de ocho ramas por árbol. Las ramas que se podaron con unas tijeras con mango telescópico fueron de la parte superior del árbol, 15-20 cm por abajo de la yema apical.

Durante el experimento se realizaron deshierbes continuos, procurando que la vegetación competidora no proliferara.

1.4.4. Evaluación de variables

Las variables respuesta a medir fueron: diámetro basal y normal, altura total de los árboles; así como producción y longitud de brotes por árbol y ramas.

El diámetro basal y normal fueron medidos con una cinta diamétrica ($\pm 1\text{mm}$) y la altura con un clinómetro ($\pm 2^\circ$), las mediciones se tomaron al inicio del experimento y, una vez que se realizaron los tratamientos las variables se registraron cada 30 días.

Para el caso de la fenología de los brotes, los datos se empezaron a tomar después de una semana de haber sido realizada la poda de ramas. Lo cual consistió en registrar,

cada tercer día, las fases de: 1) iniciación (aparición y rompimiento de yema) y 2) finalización de crecimiento de brote (alargamiento y cese de crecimiento) (Figura 1.1). Una vez emitidos los brotes se prosiguió con contar y medir el número de brotes por árbol y rama.



Figura 1.1. Etapas fenológicas de la producción de mini-esquejes, registradas en el experimento: a) y b) inicial y c) finalización de crecimiento (alargamiento del brote).

1.4.5. Análisis estadístico

Con los datos de la fenología de la yema registrados en las ramas de cada árbol se estimó la fecha de inicio de la aparición y rompimiento de yema (a partir del 28 de noviembre); así como la finalización del crecimiento del brote. Los árboles se consideraron como repeticiones. Para cada tratamiento se determinaron las fechas promedio en que se alcanzó el inicio y finalización de la fenología del brote.

Para el análisis de las variables de fenología y producción de brotes se consideraron los valores promedio de cada árbol, obtenidos a partir de los valores promedio de las ramas podadas. Se utilizó el siguiente modelo estadístico, a través del procedimiento GLM de SAS, después de analizar la normalidad de los datos:

$$Y_{ij} = \mu + t_i + \varepsilon_{ij}$$

En donde:

Y_{ij} Variable respuesta de la ij -ésima unidad experimental

μ Efecto de la media general

t_i Efecto del i -ésimo tratamiento

ε_{ij} Efecto del error experimental asociado a la i -ésima unidad experimental

La separación de medias se realizó mediante la prueba Tukey ($\alpha=0.05$).

1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.5.1. Análisis foliares y respuesta en crecimiento

De acuerdo con las concentraciones críticas existentes para el híbrido *Pinus elliotii* x *Pinus caribaea* (Xu et al 2000) y *P. elliotii* Engelm (Dickens et al 2016), y considerando siempre los valores más altos que cualquiera de los conjuntos de concentraciones críticas presentes para un nutrimento particular, el análisis foliar reveló deficiencias de N (0.817 %), y Mg (0.097 ppm) (Cuadro 1.1).

Cuadro 1.1. Concentraciones nutrimentales foliares en los árboles de *Pinus elliotii* X *Pinus caribaea* en Villa Lázaro Cárdenas, Puebla; y concentraciones críticas foliares para *Pinus elliotii* y para el híbrido en estudio

Elementos	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn	B
	%				ppm					
CF SE	0.82	0.14	0.44	0.25	0.10	59.6	2.50	18.2	88.3	6.4
CC PE *	1.00	0.09	0.25	0.08	0.06	15.0	1.50	10.0	20.0	4.0
CC PE X PC**	0.96	0.06	0.06	0.10	0.11	-	2.24	16.1	55.0	-

CF: concentración foliar; SE: Sitio experimental CC: Concentración crítica; PE: *Pinus elliotii*; PC: *Pinus caribaea**: Dickens et al. (2016); ** Xu et al. (2000).

Después de 6 meses de aplicados los tratamientos de fertilización, de acuerdo con los nutrimentos detectados como deficientes en el análisis foliar más un tratamiento con P, se registró que los tratamientos T5 (N+P) y T3 (N) tuvieron un efecto significativo sobre la altura y diámetro de los árboles de *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* de la plantación de cuatro años de edad (Cuadro 1.2).

Cuadro 1.2. Valores de F y P para la altura y diámetro a la altura del pecho de árboles de *Pinus elliottii* X *Pinus caribaea*, bajo tratamientos de fertilización, en Villa Lázaro Cárdenas, Venustiano Carranza, Puebla.

F.V.	G.L.	Altura		Diámetro normal	
		F	P	F	P
Fertilización	4	3.43	0.0273*	3.37	0.0291*

*Con diferencias significativas ($P \leq 0.05$). F.V. Fuente de variación; G.L.: grado de libertad.

En general, los árboles fertilizados con los tratamientos correspondientes mejoraron su crecimiento. Con excepción de los árboles que recibieron el T4 (Mg), los árboles respondieron positivamente en el incremento en altura a los tratamientos de fertilización, especialmente aquellos que recibieron los tratamientos T3 (P) y T5 (N+P), mismos que duplicaron el incremento con respecto al tratamiento testigo sin fertilizar (T1) (Figura 1.2 A). Resultados similares se observaron para el incremento en diámetro, donde el T3 y T5 también mostraron los mejores incrementos, respecto al T1 (Figura 1.2 B).

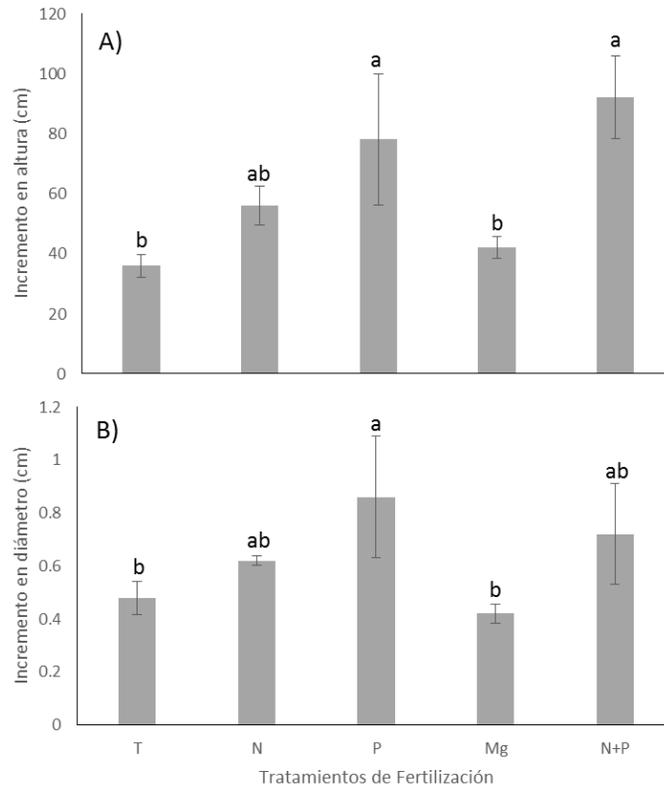


Figura 1.2. Valores promedio de los incrementos en A) altura y B) diámetro de los árboles del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* sujetos a diferentes tratamientos de fertilización en Villa Lázaro Cárdenas, Venustiano Carranza, Puebla. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas, $n=5 \pm$ error estándar.

Estos resultados señalan que con los tratamientos se logró compensar las deficiencias nutrimentales en la plantación, lo que confirma lo diagnosticado mediante el análisis foliar, en el sentido de que en el sitio existen deficiencias de nitrógeno, magnesio y probablemente fósforo. Resultados similares se registraron en el crecimiento de árboles en plantaciones de *Pinus caribaea* de 35 y 41 años de edad, cuando fueron tratadas con fertilizantes conteniendo nutrimentos deficientes (NPK) (León, Reyes, Herrero, & Pérez, 2016). Estos macroelementos participan directamente en procesos del crecimiento, ya

que la eficiencia relativa del uso del nitrógeno en la fotosíntesis depende directamente de la disponibilidad del fósforo, induciendo en conjunto un incremento en el crecimiento de la planta (Hernández & Rubilar, 2012). Chang, 2003, indica que un mayor crecimiento de los árboles se logra cuando la disponibilidad de fósforo y nitrógeno se encuentra en concentración adecuada, tanto en árboles establecidos en campo como en condiciones artificiales. Por lo que el análisis nutrimental es importante para aplicar dosis óptimas y evitar crear desequilibrios nutrimentales y consecuentemente menores crecimientos (Hernández-Valera, López-López & Flores Nieves, 2018; López-López & Estañol-Botello, 2007; Park, Park & Bae, 2015).

1.5.2. Fenología del brote

Los tratamientos de fertilización afectaron significativamente la fenología del brote en el tiempo (días), desde su inicio hasta la finalización (Cuadro 1.3).

Cuadro 1.3. Análisis de varianza (valores de P) para la fenología vegetativa del esqueje (brote) en días, para los árboles del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* con diferentes tratamientos de fertilización.

F.V.	G.L.	Fenología vegetativa del brote (días)	
		Inicio crecimiento	Fin crecimiento
Fertilización	4	<.0001*	<.0001*

*Con diferencias significativas ($P \leq 0.05$). F.V.: Fuente de variación; G.L.: grados de libertad.

Durante los primeros días, después de la poda de ramas, aparecieron las yemas adventicias alrededor de la zona de corte; las cuales sufrieron un hinchamiento y posteriormente rompieron para iniciar su crecimiento. Este evento primero tuvo lugar en

los árboles que fueron tratados con el T5 (N + P), seguidos por los del T2, T3 y T4. Los últimos árboles en registrar este inicio fueron los del T1 (Testigo). De tal manera que la diferencia en tiempo para el inicio del crecimiento del brote entre el T5 y T1 fue de 23 días (Cuadro 4). La finalización del crecimiento del brote mostró un comportamiento similar. Los brotes del T5 concluyeron su crecimiento 33 días antes que los del T1. Al final, los brotes del T5 completaron su ciclo en 10 días antes que los del T1; mientras los otros tratamientos siempre mostraron valores intermedios entre T5 y T1 (Cuadro 1.4).

Cuadro 1.4. Valores promedio de los días para los eventos fenológicos de la fase de inicio de brote (aparición de yema) y fin de crecimiento de brote para la producción de esquejes en árboles de del híbrido *Pinus elliottii x Pinus caribaea* sujetos a diferentes tratamientos de fertilización. Letras diferentes indican diferencias estadísticas ($\alpha= 0.05$), n=5.

Tratamiento	Fenología vegetativa del brote (días)		
	Inicio crecimiento	Fin crecimiento	Duración (Días)
T	34 a	105 a	71
N	19 c	82 c	63
F	22 bc	88 bc	66
Mg	25 b	93 b	68
N+P	11 d	72 d	61

Letras iguales significan ausencia de diferencias entre tratamientos ($\alpha=0.05$).

En coincidencia con los resultados de la presente investigación, algunos estudios similares han mostrado que la aplicación de fertilizantes tiene un efecto importante en la fenología vegetativa; tal es el caso de las plantas de *Pseudotsuga* sp. tratadas con fertilizante, donde se encontró que la fertilización benefició y adelantó las fases fenológicas

de la yema (Acevedo-Rodríguez, Vargas-Hernández, López-Upton, & Velázquez-Mendoza, 2006). Particularmente, se ha señalado que el nitrógeno, que se encuentra presente en muchos compuestos esenciales dentro de la planta, acelera el crecimiento (Salisbury, Ross & Alonso, 2000).

1.5.3. Producción de brotes

Tres meses después de efectuar la poda en ramas seleccionadas de los veinticinco árboles del híbrido *Pinus elliotti x Pinus caribaea*, brotes de diferentes tamaños se observaron en las ramas podadas. El número de brotes por árbol (BPA), el porcentaje de ramas con brotes (RB) y el número de brotes por rama (NBR) varió significativamente según el tratamiento de fertilización aplicado (Cuadro 1.5).

Cuadro 1.5. Análisis de varianza (valores de F y P) para la producción de brotes para esquejes generados en los árboles del híbrido *Pinus elliottii x Pinus caribaea* con diferentes tratamientos de fertilización.

Tratamiento	BPA		RB(%)		NBR		LB (cm)	
	F	P	F	P	F	P	F	P
Fertilización	2.90	0.048*	3.37	0.029*	2.89	0.047*	13.09	0.0001

*Con diferencias significativas ($P \leq 0.05$). BPA: Número de brotes por árbol; RB: Ramas con brotes; NBR: Número de brotes por rama; LB: Longitud de brote.

Los árboles de *Pinus elliotti x Pinus caribaea* tratados con el T5 (N+P) tuvieron 60% más brotes y el doble del número de brotes por rama que los árboles no fertilizados (T1). Además, en todas las ramas podadas de los árboles del T5 se generaron brotes, lo que contrasta con los del T1, donde menos del 50% de las ramas tuvieron brotes (Cuadro 1.6).

Cuadro 1.6. Valores promedio de la producción de brotes generados en los árboles del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* con diferentes tratamientos de fertilización. n=5 ± error estándar.

Tratamiento	BPA	RB (%)	NBR	LB (cm)
T	17.8 ± 14.6 b	46.4 ± 0.7 b	2.2 ± 0.86 b	6.2 ± 0.14 b
N	27.4 ± 4.8 ab	85.0 ± 10.02 ab	3.4 ± 0.59 ab	6.6 ± 0.07 c
P	18.8 ± 7.5 ab	70.0 ± 18.4 ab	2.4 ± 0.94 ab	6.4 ± 0.02 c
Mg	17.2 ± 7.5 ab	42.5 ± 18.0 ab	2.1 ± 0.94 ab	6.3 ± 0.06 b
N+P	40.2 ± 1.7 a	100.0 ± 0.0 a	5.0 ± 0.21 a	6.9 ± 0.09 a

BPA: Número de brotes por árbol; RB: Ramas con brotes; NBR: Número de brotes por rama; LB: Longitud de brote. Letras iguales significan ausencia de diferencias entre tratamientos ($\alpha=0.05$).

La diferencia en la producción de brotes refleja el beneficio de la fertilización para solventar la deficiencia de un elemento importante, como el nitrógeno en combinación con fósforo, para amplificar la capacidad de producción de brotes en cada árbol. En los árboles sin fertilizante (T1) fue muy poca la producción de brotes y éstos; además, fueron inicialmente muy pequeños (menores de 1 cm de longitud), mientras que otros no lograron crecer ni desarrollarse, permaneciendo como rebrote sin crecimiento.

Algunas investigaciones han reportado que cuando se solventa el déficit de algún elemento requerido a través de la fertilización; particularmente la de nitrógeno, se estimula considerablemente la producción de los brotes. La fertilización con nitrógeno incrementa los niveles de carbohidratos en los tejidos (Navarro-Sandoval, Vargas-Hernández, Gómez-Guerrero, Ruíz-Posadas & Sánchez-García, 2013), necesarios para

aplicar la estimulación de yemas adventicias latentes en especies arbóreas con alta capacidad de rebrote (Del Tredici, 2001).

La presencia de nitrógeno en el tejido promueve la expansión y crecimiento celular; en consecuencia, al incremento de agua en el protoplasma (Monsalve, Escobar, Acevedo & Sánchez 2009). El suministro de fertilizantes incrementa la eficiencia fotosintética y el contenido de carbohidratos en la planta. La cantidad de brotes por árbol muestra una relación directa con la concentración de nitrógeno y fósforo aplicado a los árboles deficientes de ese nutrimento, reflejando la alta sensibilidad de los árboles del híbrido a la aplicación de nitrógeno y fósforo en la plantación. Esto mejora la elongación y desarrollo del brote al fertilizar con nitrógeno.

Además, la producción de brotes por efecto del nitrógeno, indica que se compensó la deficiencia nutrimental de este elemento. Resultados similares fueron registrados en *Pinus radiata*, en donde los tratamientos de mayor concentración de nitrógeno en la solución nutritiva mostraron el mayor número de brotes, con longitud ≥ 5 cm, presentando un efecto lineal positivo a medida que aumentaron las concentraciones de nitrógeno ($R^2 = 0.84$, $P < 0,0001$) (Hernández & Rubilar, 2012).

De acuerdo con (Rowe, Blazich, & Raper, 2002), el aumentar los niveles de nitrógeno a los setos de *Pinus taeda* fomentó 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, pero las altas concentraciones de nitrógeno en los tejidos no necesariamente correspondieron a un alto porcentaje de enraizamiento en brotes.

Por otro lado, los resultados muestran la capacidad que tiene el híbrido, a pesar de su edad y estado de madurez, para desarrollar y producir brotes para la propagación asexual de genotipos con características deseables.

1.5.4. Longitud de brotes

Al final del experimento, diferencias en longitud de brotes entre los tratamientos fueron detectadas (Cuadro 1.5). Los brotes de todos los tratamientos alcanzaron una longitud promedio por arriba de los 6 cm (Cuadro 1.6).

El alargamiento del brote siguió la misma tendencia que los parámetros señalados anteriormente, donde los mejores valores de longitud correspondieron a los del T5 con brotes que resultaron 10% más largos que los del T1 (Cuadro 1.6). Este resultado confirma lo señalado por Hernández & Rubilar (2012), quienes encontraron que *Pinus radiata* incrementa significativamente la elongación de brotes en concentraciones de nitrógeno adecuadas, incrementando hasta más de 90 % el crecimiento del brote. El efecto del nitrógeno y fósforo en el crecimiento celular permite mayor acumulación de agua en el protoplasma causando un incremento en el volumen celular (Monsalve, Escobar, Acevedo, Sánchez & Coopman, 2009).

En el presente trabajo de investigación, con la aplicación del nitrógeno y fósforo se resolvió el déficit nutricional y se logró obtener un elevado número de brotes de tamaño adecuado, como los recomendados para la propagación vegetativa por enraizamiento de esquejes (brotes).

1.6. CONCLUSIONES

Los tratamientos de fertilización compensaron el déficit nutricional de los árboles del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea*, mejorando su crecimiento y producción de brotes destinados para su multiplicación vegetativa a través de enraizamiento de esquejes.

En la plantación de *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* se recomienda la fertilización con N+P; combinación que produce los mejores resultados para acelerar la fenología del brote; desde la estimulación de yemas adventicias hasta la obtención del tamaño adecuado del brote.

Árboles de *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* con más de tres metros de altura y de 4 años de edad, tienen capacidad de rebrotar en respuesta a la poda de ramas programada y esa capacidad es amplificada con la fertilización para fines de clonación de genotipos fenotípicamente superiores.

1.7. LITERATURA CITADA

- Acevedo-Rodríguez, R., Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., & Velázquez Mendoza, J. (2006). Efecto de la procedencia geográfica y de la fertilización en la fenología del brote terminal en plántulas de *Pseudotsuga* sp. *Agrociencia*, 40(1), 125-137.
- Cañellas, I., Finat, L., Bachiller, A., & Montero, G. (1999). Behaviour of *Pinus pinea* plants in nursery and field: Trials of plant production, fertilisation and herbicides. *Forest Systems*, 8(2), 335-359.
- Chang, S. X. (2003). Seedling sweetgum (*Liquidambar styraciflua* L.) half-sib family response to N and P fertilization: growth, leaf area, net photosynthesis and nutrient uptake. *Forest ecology and management*, 173(1-3), 281-291.
- Del Tredici, P. (2001). Sprouting in temperate trees: a morphological and ecological review. *The botanical review*, 67(2), 121-140.
- Gárate, M. (2010). Técnicas de propagación por estacas. *Monografía Ing. Pucallpa, Ucayali, Perú, Universidad Nacional de Ucayali*.
- Grochowska, M., Karaszewska, A., Jankowska, B., & Maksymiuk, J. (1984). Dormant pruning influence on auxin, gibberellin, and cytokinin levels in apple trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109(3), 312-318.
- Hansen, P. (1987). Source-sink relations in fruits. I: Effects of pruning in apple. *Gartenbauwissenschaft*, 52(5), 193-195.
- Hartmann, H., & Kester, D. (1999). Propagación de Plantas: principios y prácticas. 7ta. México: MX. CECSA.

- Hernández, A., & Rubilar, R. (2012). Efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en el desarrollo y fenología de brotes de setos de *Pinus radiata*. *Bosque (Valdivia)*, 33(1), 53-61.
- Hernández Valera, R. R., López López, M. Á., & Flores Nieves, P. (2018). Crecimiento y estado nutrimental de una plantación de *Pinus cooperi* Blanco fertilizada con NPK. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 9(48), 115-134.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. *Puebla, Xochitlán de Vicente Suárez, 21202*.
- Latsague, M., Sáez, P., & Mora, M. (2014). Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio, sobre el contenido foliar de carbohidratos, proteínas y pigmentos fotosintéticos en plantas de *Berberidopsis corallina* Hook. f. *Gayana. Botánica*, 71(1), 37-42.
- Lázaro, D. M. O., Velázquez, M. J., Vargas, H. J. J., Gómez, G. A., Álvarez, S. M. E., & López, L. M. A. (2012). Fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio en un latizal de *Pinus patula* Schl. et Cham. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 18(1), 33-42.
- León, S. M. A., Reyes, P. J. L., Herrero, E. G., & Pérez, L. V. E. (2016). Efecto de la fertilización sobre el crecimiento en diámetro y altura de *Pinus caribaea* en plantaciones del occidente de Cuba. *Madera y Bosques*, 22(3), 87-101.
- López-López, M. Á., & Estañol-Botello, E. (2007). Detección de deficiencias de hierro en *Pinus leiophylla* a partir de los efectos de dilución y concentración nutrimental. *Terra Latinoamericana*, 25(1), 9-15.
- Mitchell, R., Zwolinski, J., & Jones, N. (2004). The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula*-Part 1: nursery performance. *The Southern African Forestry Journal*, 202(1), 29-36.
- Monsalve, J., Escobar, R., Acevedo, M., Sánchez, M., & Coopman, R. (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 (Valdivia)*, 30(2), 88-94.
- Navarro-Sandoval, J. L., Vargas-Hernández, J. J., Gómez-Guerrero, A., Ruíz-Posadas, L. d. M., & Sánchez-García, P. (2013). Morfología, biomasa y contenido nutrimental en *Abies religiosa* con regímenes diferentes de fertilización en vivero. *Agrociencia*, 47(7), 707-721.
- Nikles, D. G. (1967). Comparative variability and relationship of *Caribbean Pine (Pinus caribaea* Mor.) and *Slash Pine (Pinus elliottii)* Engelm. *Comparative variability and relationship of Caribbean Pine (Pinus caribaea* Mor.) and *Slash Pine (Pinus elliottii)* Engelm.(11).

- Park, B. B., Park, G. E., & Bae, K. (2015). Diagnosis of plant nutrient and growth responses on fertilization with vector analysis and morphological index. *Forest Science and Technology*, 11(1), 1-10.
- Rowe, D. B., Blazich, F. A., & Raper, C. D. (2002). Nitrogen nutrition of hedged stock plants of *loblolly pine*. I. Tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. *New Forests*, 24(1), 39-51.
- Salisbury, F. B., Ross, C., & Alonso, J. M. (2000). Fisiología de las plantas. Grupo editorial Iberoamérica. 296-315
- Shepherd, M., Cross, M., Maguire, T., Dieters, M., Williams, C., & Henry, R. (2002). Transpecific microsatellites for hard pines. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(5), 819-827.
- Zabala, J. S., Lasuen, U. O., Guijo, J. P. M., Urkiri, K. T., & Duñabeitia, M. K. (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.

CAPITULO II. ENRAIZAMIENTO DE MINI-ESQUEJES PROVENIENTES DE ÁRBOLES DEL *Pinus elliottii* X *Pinus caribaea*

2.1. RESUMEN

La propagación masiva de materiales mejorados de esta especie mediante el enraizado de estacas proporciona la oportunidad para aumentar y uniformar su productividad. Se comparó la dosis de AIB (0 vs. 3 000 ppm), fertilización (testigo, nitrógeno, fósforo, magnesio y nitrógeno +fosforo) en el enraizado de estacas del híbrido *Pinus elliotti* x *Pinus caribaea* mediante un arreglo factorial en diseño experimental de bloques completos al azar. La supervivencia, enraizado, número y longitud de raíces, presencia de raíces secundarias y desarrollo de callo se evaluaron después de 14 semanas. Las estacas tratadas con AIB presentaron el mayor porcentaje de supervivencia y estacas enraizadas comparadas con el testigo (70 % vs. 54.3 %), el AIB no tuvo efecto significativo sobre el número de raíces primarias, pero sí influyó en la producción de raíces secundarias y en la longitud de la raíz primaria, fue evidente el efecto de la dosis de AIB.

Los tratamientos de fertilización promovieron la formación de raíces. El mayor número de estacas enraizadas se generó con el tratamiento de N+P, el cual incrementó en más de 80% el enraizamiento, respecto al testigo; similar incremento se registró con el tratamiento de fósforo. Las plantas donadoras tratadas con N+P generaron estacas que tuvieron una supervivencia mayor a 85%; mientras que las de plantas testigo no alcanzaron el 40%. Los otros tratamientos de fertilización mantuvieron la supervivencia de las estacas por arriba del 50%.

Palabras clave: enraizamiento, estaca, sustrato, fertilizante, auxinas.

2.2.ABSTRACT

The massive propagation of improved materials of this species by rooting cuttings provides the opportunity to increase and standardize their productivity. The IBA dose (0 vs. 3 000 ppm), fertilization (control, nitrogen, phosphorus, magnesium and nitrogen + phosphorus) in the rooting of cuttings of the hybrid *Pinus elliotti x Pinus caribaea* was compared by means of a factorial arrangement in experimental complete random block design. Survival, rooting, number and length of roots, presence of secondary roots and callus development were evaluated after 14 weeks. Cuttings treated with IBA showed the highest percentage of survival and rooted cuttings compared to the control (70% vs. 54.3%). IBA did not have a significant effect on the number of primary roots, but it did influence the production of secondary roots and the length of the primary root. The effect of the IBA dose was evident. Fertilization treatments promoted root formation. The highest number of rooted cuttings was generated with the N + P treatment, which increased rooting by more than 80%, compared to the control; A similar increase was registered with the phosphorus treatment. The donor plants treated with N+P generated cuttings that had a survival higher than 85%; while those of control plants did not reach 40%. The other fertilization treatments kept cuttings survival above 50%

Keywords: rooting, cutting, substrate, fertilizer, auxinas.

2.3. INTRODUCCIÓN

En una plantación de cuatro años edad del híbrido *Pinus elliottii* (Engelm.) x *Pinus caribaea* (Sénécl.) se detectaron genotipos sobresalientes de rápido crecimiento y buena forma. Su clonación es deseable para acelerar el proceso de producción de planta, pero el estado de madurez de los árboles puede ser un obstáculo para su propagación vegetativa (de Feria et al., 2008). La propagación por enraizamiento de mini-esquejes o estacas podría ser una alternativa, dado que esta técnica incluye el rejuvenecimiento para la obtención de las estacas; además es una técnica eficiente y de baja inversión (Mitchell, Zwolinski & Jones, 2004b).

La capacidad regenerativa de las plantas para desarrollar órganos adventicios, por rebrote de yemas, es una característica juvenil que se pierde con la edad (Majada et al., 2011). En pinos, pocas especies mantienen esta capacidad durante todo su ciclo de vida. Los rebrotes pueden ser estimulados a través de podas programadas en la planta donadora (Mitchell et al., 2004a). *Pinus caribaea* var. *caribaea* ha demostrado tener capacidad de rebrote, lo cual ha sido aprovechado para su propagación *in vitro* (de Feria et al., 2008).

La cantidad y calidad de rebrotes para generar las estacas depende del estado de la planta donadora, particularmente de su condición nutricional. Una planta en buen estado nutricional y saludable tendrá mayor capacidad de respuesta a la poda para producir estacas vigorosas y juveniles con mayor capacidad de enraizar (Hernández & Rubilar, 2012). Se ha señalado que las estacas tendrán el vigor requerido para su óptimo desarrollo y con mayor capacidad de enraizamiento, si los niveles nutricionales de la planta donadora son óptimos (Hernández & Rubilar, 2012). Así se ha demostrado en estudios con setos de *Pinus taeda* L. bien fertilizados; donde los niveles de carbohidratos

incrementaron, mejorando la producción de brotes y su enraizamiento (Rowe et al., 2002). En otras investigaciones también se reportó que la fertilización con cantidades adecuadas de nitrógeno y fósforo influyen en la producción de brotes y en su rápido enraizamiento adventicio (Moe & Andersen, 1988; Rowe et al., 2002).

La mayoría de los propágulos de las especies del género *Pinus* son de difícil enraizamiento. Por lo que se ha recurrido al uso de auxinas sintéticas (Cordeiro, Lameira, Oliveira & Wendling, 2016). La auxina mayormente utilizada es el Ácido Indol Butírico (AIB), debido a su estabilidad y solubilidad (Tilahun, Manahlie, Abebe & Negash, 2019). Su utilización en pinos mexicanos ha dado buen resultado, incrementando los porcentajes de enraizamiento de estacas en más de 45% para *Pinus leiophylla* (Cuevas et al., 2015) y en 90% para *Pinus jaliscana* (Aparicio-Rentería, Jimenez & Ruiz, 2008).

Con base en lo anterior, el objetivo del trabajo fue analizar el efecto del manejo nutrimental, de los árboles donadores de cuatro años de edad del híbrido *P. eliottii* x *P. caribaea*, y del AIB en el enraizamiento de las estacas, para propagar vegetativamente los mejores genotipos de la plantación y establecer plantaciones clonales de la especie. Como hipótesis, se considera que los árboles donadores con deficiencias nutritivas compensadas, a través de la fertilización con los nutrientes proporcionados, producirán estacas con mayor capacidad de respuesta al enraizamiento con el estímulo del AIB, dado que plantas donadoras bien fertilizadas producen estacas vigorosas y de calidad con compuestos metabólicos importantes para la rizogénesis.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1. Localización del experimento

El experimento de enraizamiento de mini-esquejes se estableció en el invernadero de la jefatura de la Ingeniería Forestal del Instituto Tecnológico Superior de Venustiano Carranza, ubicado entre las coordenadas geográficas 20°28'19.6" N y 97°41'56.4" O, a una altitud de 333 msnm, en Venustiano Carranza, Estado de Puebla.

2.4.2. Material vegetal

En la plantación de cuatro años de edad del híbrido *P. eliottii* x *P. caribaea*, localizada junto al invernadero previamente señalado, en Julio de 2019 se seleccionaron 25 árboles bajo los criterios de mejor crecimiento, ausencia de plagas y rectitud de fuste. Una vez seleccionados los árboles, se procedió a tomar una muestra de su follaje, considerando las acículas de las ramas ubicadas en el tercio superior de la copa, para el análisis del estado nutricional. Enseguida, las muestras se colocaron en bolsas de papel para su traslado al Colegio de Postgraduados. Entonces, las acículas se lavaron con agua corriente y agua destilada y se secaron en estufa por 48 horas a 72 °C. Posteriormente, se hicieron tres muestras compuestas del follaje. Para formar una muestra compuesta se tomó igual cantidad de acículas de cada una de las muestras simples. Formadas las muestras compuestas, se procedió a molerlas en un mortero. Finalmente, las muestras se enviaron al laboratorio del Postgrado de Edafología del Colegio de Posgraduados para su análisis nutrimental. En cada muestra se determinaron las concentraciones de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre, zinc, manganeso y boro.

Los análisis foliares fueron interpretados mediante las concentraciones críticas reportadas por Dickens *et al.* (2016) para *Pinus eliottii* y las sugeridas por Xu *et al.* (2000) para *Pinus eliottii* x *Pinus caribaea*.

Con base en el análisis nutrimental, se determinó la aplicación de cinco tratamientos de fertilización, basados en soluciones preparadas con agua corriente: T1 testigo (sólo agua), T2 nitrógeno (80 g de urea), T3 fósforo (20 g de ácido fosfórico), T4 magnesio (10 g de sulfato de magnesio) y T5 nitrógeno + fósforo (80 y 20 g de urea y ácido fosfórico, respectivamente).

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar (DECA), donde cada tratamiento fue aplicado aleatoriamente a cinco árboles y la unidad experimental estuvo constituida por un árbol. La aplicación y penetración de las soluciones de los tratamientos en campo se realizó en un cajete de aproximadamente 1 m de diámetro previamente realizado alrededor de la base del tronco.

Después de un mes de realizada la fertilización, todos los árboles fueron podados. La poda consistió en cortar ocho ramas por árbol. Las ramas que se podaron fueron de la parte superior del árbol, 15-20 cm desde la yema apical; esto se realizó con unas tijeras con mango telescópico; la poda tuvo la finalidad de inducir la producción de brotes adventicios.

Durante el experimento se realizaron deshierbes continuos, para evitar competencia por nutrientes.

2.4.3. Recolecta de estacas

Durante la semana del 21 al 24 de febrero del 2020, los rebrotes convertidos a estacas ya alcanzaban la longitud requerida, por lo que estas fueron recolectadas de cada rama podada en el árbol donador respectivo. Estacas de seis cm de longitud, desde el meristemo apical hasta la base, fueron consideradas y con una navaja a cada estaca se le retiraron las acículas ubicadas en los dos centímetros a partir de la base.

2.4.4. Preparación de los mini-esquejes

En la base de cada estaca se hizo un corte en bisel mediante un bisturí desinfectado con alcohol. Enseguida, los mini-esquejes se colocaron en una solución de captan (2 mg/L), donde permanecieron sumergidas por 5 minutos.

2.4.5. Aplicación del ácido indol butírico (AIB)

La sección basal (dos cm) de cada estaca fue sumergida en la solución del AIB en forma líquida (Radix® 3,000) por un lapso de 20 segundos; para el testigo, solo se sumergieron en agua corriente y enseguida se colocaron en el sustrato.

2.4.6. Siembra

Previo a la siembra, la mezcla preparada de peat moss, perlita y vermiculita (3:1:1) se llevó a capacidad de campo, utilizando agua corriente. El sustrato se colocó en las cámaras de enraizamiento. Estas cámaras fueron construidas con tablas de madera y láminas de policarbonato, las cámaras de enraizamiento tuvieron 120 cm de largo x 60 cm de ancho y 15 cm de alto (Figura 2.1).

Para enterrar los mini-esquejes en el sustrato, primero se realizó un hoyo con una profundidad de dos centímetros y un diámetro poco mayor al diámetro de la estaca (con la finalidad de evitar daño al enterrar el mini-esqueje en el sustrato). Luego, se introdujo la estaca dentro del agujero y se compactó levemente el sustrato. Después de colocada la estaca en la cámara de enraizamiento se procedió a identificar cada unidad experimental con base en cada uno de los tratamientos aplicados a los árboles.



Figura 2.1. Mini-esquejes del híbrido *Pinus elliottii* & *Pinus caribaea* establecidas en cámaras de enraizamiento con mezcla de peat moss, perlita y vermiculita (3:1:1).

2.4.7. Diseño experimental y establecimiento de los tratamientos

El experimento se estableció bajo un diseño experimental en bloques completos al azar con arreglo factorial. Como factor A se consideró al ácido indolbutírico con dos niveles (0 y 3,000 ppm); mientras que el factor B fue la fertilización con cinco niveles; esto de acuerdo con el manejo de fertilización de los árboles donadores según requerimientos de nutrientes (Cuadro 2.1).

Los tratamientos se replicaron cuatro veces y cada unidad experimental estuvo constituida por ocho mini-esquejes, generándose un total de 382 mini-esquejes en el experimento.

Cuadro 2.1. Tratamientos aplicados en el experimento de enraizamiento de mini-esquejes del híbrido del *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea*.

Tratamiento	Símbolo	Fertilizante	AIB (ppm)
1	T1 (F0,A0)	Sin	0
2	T2 (F0+A)	Sin	3000
3	T3 (N+A0)	Nitrógeno	0
4	T4 (N+A)	Nitrógeno	3 000
5	T5 (P+A0)	Fósforo	0
6	T6 (P+A)	Fósforo	3 000
7	T7 (Mg+A0)	Magnesio	0
8	T8 (Mg+A)	Magnesio	3 000
9	T9 (NP+A0)	Nitrógeno más fósforo	0
10	T10 NP+A)	Nitrógeno más fósforo	3 000

A0: sin auxina; A: con auxina; F0: sin fertilizante; N: nitrógeno; P: fósforo; Mg: magnesio; NP: nitrógeno más fósforo

2.4.8. Variables evaluadas

Se evaluó supervivencia, número de mini-esquejes con raíces, número de raíces primarias y secundarias, longitud de raíces primarias y mini-esquejes con desarrollo de callo. En la supervivencia, el mini-esqueje se consideró muerta cuando tuvo más de la mitad de tejido necrótico a partir de la base.

Se consideró como estaca enraizada cuando el mini-esqueje presentó una o más raíces. En cuanto al número de raíces primarias y secundarias, se contó el número de raíces por estaca y la presencia de raíces secundarias por estaca.

Longitud de raíces primarias (cm). En los mini-esquejes se generan más de una raíz primaria, por lo que se midió la longitud de la raíz primaria más larga.

2.4.9. Análisis de datos

Previo el análisis de datos, se obtuvieron porcentajes de enraizamiento, callo y supervivencia, a los cuales se les realizó un análisis de normalidad y luego el de varianza, empleando el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

para $i = 1, \dots, a$ y $j = 1, \dots, b$, siendo:

μ el efecto medio global

α_i el efecto incremental sobre la media causado por el nivel i del factor A

β_j el efecto incremental sobre la media causado por el nivel j del bloque B

$\alpha\beta_{ij}$ = efecto de la interacción entre el j valor de A y el k valor de B.

ε_{ijk} el término de error

Además, cuando se detectó efecto significativo en los factores estudiados, se realizó una comparación de medias mediante la prueba Tukey ($P \leq 0.05$).

2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.5.1. Análisis de varianza

Los tratamientos de AIB y fertilización, así como su interacción afectaron significativamente la supervivencia y el enraizamiento de mini-esquejes del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* de acuerdo con el análisis estadístico de los datos (Cuadro 2.2). Aunque con cierta frecuencia en el experimento también se observó el desarrollo de callo en la base de los mini-esquejes, la formación de esta estructura no resultó estadísticamente significativa.

Cuadro 2.2. Valores de P del análisis de varianza de las variables relacionadas con el enraizamiento de los mini-esquejes del híbrido de *Pinus elliottii x Pinus caribaea*.

Fuente de variación	Sup	Callo	MEE	LRP	NRP	NRS
AIB	0.0091**	0.2369	0.0001**	0.0022**	0.0512	0.0055
Fertilizante	0.0001**	0.8170	0.0001**	0.001**	0.0001**	0.0001
AIB+Fertilizante	0.0511	0.7549	0.0085**	0.1104	0.0920	0.0599

**Con diferencias significativas ($P \leq 0.05$). Sup: supervivencia, MEE: mini-esquejes en raizados, LRP: Longitud de raíces primarias, NRP: Número de raíces primarias, NRS: Número de raíces secundarias.

2.5.2. Efecto del AIB

El AIB tuvo efecto significativo en la supervivencia y el número de mini-esquejes enraizados, pero no en la formación de callo durante el enraizamiento de mini-esquejes del híbrido *Pinus elliottii x Pinus caribaea* (Cuadro 2.3).

Cuadro 2.3. Valores medios por dosis de ácido Indolbutírico (AIB) de las variables evaluadas en el experimento de enraizamiento del híbrido de *Pinus elliottii x Pinus caribaea*.

AIB	Supervivencia (%)	Mini-esquejes enraizados (%)	Callo (%)
0	52.5b	32.8b	15.0a
3000	70 ^a	53.6a	21.2 ^a

Dentro de una variables de respuesta, letras diferentes indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

Supervivencia. En general, las estacas mantuvieron una supervivencia por arriba del 50%, lo cual es un porcentaje aceptable para la propagación por mini-esquejes. Entonces el AIB evitó la muerte de las estacas durante el proceso de enraizamiento, ya que la supervivencia de los mini-esquejes testigo se redujo en 25%, respecto a las tratadas con AIB. Este resultado va da acuerdo con los señalamientos de algunos autores, quienes mencionan que la supervivencia de los mini-esquejes no sólo depende de su calidad (estado nutricional, vigor y juvenilidad), sino también de la rápida formación de raíces adventicias, encargadas de proveer agua y nutrientes (Fachinello, Hoffmann & Nachtigal, 2005). En este caso el AIB promovió en mayor grado la formación de raíces adventicias, lo cual influyó en la supervivencia de mini-esquejes.

Se debe mencionar que la incidencia de hongos en la cámara de enraizamiento también influyó negativamente la supervivencia de las estacas, por lo que se recomienda un mayor monitoreo en la humedad relativa y aplicar fungicidas de manera programada.

Mini-esquejes enraizados. Como se señaló anteriormente, el AIB promovió la generación de raíces adventicias en los mini-esquejes, incrementando el número de mini-esquejes enraizados en más de 60% con respecto al testigo. La producción de raíces les proporcionó mayor capacidad para sobrevivir (Cuadro 2.3). El uso de AIB en la promoción de raíces adventicias en propágulos está bien documentada; esta hormona acelera los procesos de inducción para que la raíz se forme y desarrolle en el menor tiempo posible, con lo cual se asegura la supervivencia de mini-esquejes (Endres, Marroquim, Santos &

Souza, 2007; Gratieri-Sossella, Petry & Nienow, 2008; Latsague-Vidal, Sáez-Delgado, Hauenstein-Barra & Peña-Cortés, 2010).

Formación de callo. Un mínimo porcentaje de mini-esquejes presentó formación de callo, efecto indeseable ya que afecta negativamente la formación de raíces adventicias. Sin embargo, esta formación no se debió a los tratamientos (Cuadro 2.3). La formación de callo es poco frecuente y depende de la especie, en sequoia ha sido reportada como un evento común donde se atribuye a factores genéticos y ambientales (Navroski et al., 2014). Las células que no diferenciaron a raíces son las que forman el callo, que es una estructura celular no deseada. Esta estructura tiene pérdida de conexión con tejido conductor, fragilidad y no tiene definición hacia una estructura radicular; aunque para algunas especies como la sequoia la formación de callo se considera como una fase inicial indispensable para la posterior formación de raíces (García, Gamboa & Krauskopf, 2019). En el presente trabajo de investigación no se encontró ningún factor que evidenciara la producción de callo en los mini-esquejes, pero el ambiente pudo jugar un papel relevante en este proceso.

Número de raíces primarias y secundarias y longitud de raíces primarias. El AIB no tuvo efecto significativo sobre el número de raíces primarias, pero sí influyó en la producción de raíces secundarias y en la longitud de la raíz primaria (Figura 2.2). Las estacas tratadas con AIB incrementaron la producción de raíces secundarias más de 30%; mientras que la longitud de la raíz principal lo hizo en 35%, ambos casos respecto su testigo (Figura 2.2).

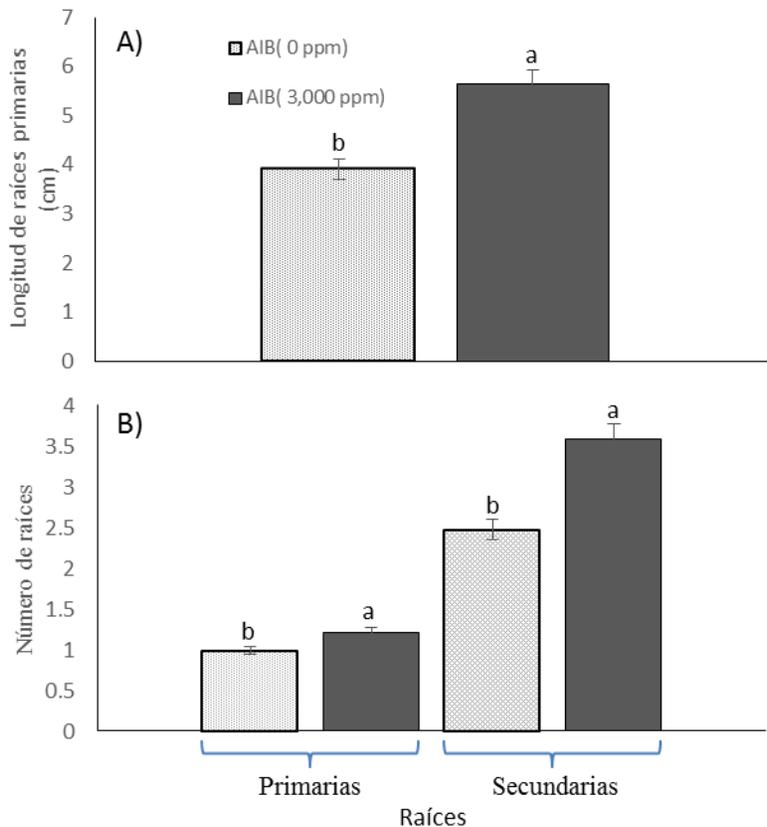


Figura 2.2. Efecto de la dosis de Ácido Indolbutírico (AIB) en la producción de raíces en las estacas del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea*: a). Longitud de raíces primarias, b) Número de raíces primarias y secundarias. Dentro de un grupo de raíces, letras diferentes en las barras de error indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey, $\alpha=0.05$).

En coníferas de difícil enraizamiento, el AIB es un excelente promotor de raíces adventicias. En estacas de *Pinus leiophylla* se señaló que el AIB no sólo induce el enraizamiento de las estacas, sino también alargan las raíces primarias e incrementa el número de raíces primarias y secundarias (Cuevas et al., 2015); lo cual se pudo comprobar en presente estudio con las estacas del híbrido. En el enraizamiento de estaquillas de *Caryocar brasiliense* Camb., se concluyó que la producción del número de

raíces depende de la dosis de AIB (Santos et al., 2006). Las auxinas facilitan el enraizamiento ya que estimulan la actividad del cambium y la movilización de reservas hacia el sitio de iniciación de raíces, donde las células se dividen y diferencian para generar los primordios de raíces (Brondani et al., 2012; Dhillon, Hooda, Pundeer, Ahlawat & Chopra, 2011). Entonces, la aplicación del AIB en las estacas es deseable para mejorar la morfología y calidad de las raíces; ya que las raíces primarias y secundarias son caracteres importantes para el desarrollo y crecimiento de planta, incrementando el área de absorción de nutrientes y agua (Davis & Jacobs, 2005).

2.5.3. Efecto de Fertilizante

Los tratamientos con fertilizante tuvieron efecto significativo en todas las variables consideradas, excepto en la formación de callo (Cuadro 2.2).

Supervivencia. Los tratamientos de fertilización favorecieron la supervivencia de los mini-esquejes en diferentes porcentajes. Las plantas donadoras tratadas con N+P generaron estacas que tuvieron una supervivencia mayor del 85%; mientras que las de plantas testigo no alcanzaron el 40%. Los otros tratamientos de fertilización mantuvieron la supervivencia de los mini-esquejes por arriba del 50% (Cuadro 2.4). Estos resultados demuestran la importancia de tener una planta donadora en buena condición nutritiva para producir estacas de calidad, por los resultados del presente estudio confirman lo señalado por otros autores (Latsague et al., 2014; León et al., 2016; Rivera, Vargas, López, Villegas & Jiménez, 2016). La fertilización adecuada de la planta donadora influye en el nivel de carbohidratos, auxinas y otros compuestos en los tejidos de las estacas, los cuales mantienen viva a la estaca mientras inicia el proceso de rizogénesis (Kanmegne et al., 2017).

Cuadro 2.4. Valores promedio de supervivencia, miniesquejes enraizados y presencia de callo en estacas del híbrido de *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* generadas por árboles de 4 años de edad tratados con diferentes fertilizantes.

Fertilizante	Supervivencia (%)	Estacas enraizadas (%)	Callo (%)
T	34.5d	12.5d	18.7a
N	54.7bc	42.2bc	12.5a
P	76.6ab	62.6ab	17.2a
Mg	51.6bc	31.5dc	20.3a
N+P	89.1 ^a	67.2a	21.8a

Valores promedio dentro de una variable de respuesta, seguidos por letras diferentes que indican diferencias ($P \leq 0.05$) entre ellos.

Estacas enraizadas y formación de callo. Los tratamientos de fertilización promovieron la formación de raíces. El mayor número de estacas enraizadas se generó con el tratamiento de N+P, el cual incrementó en más de 80% el enraizamiento, respecto al testigo; similar incremento se registró con el tratamiento de fósforo (Cuadro 2.4).

En *Pinus radiata* la fertilización de los setos basada en nitrógeno tuvo un efecto positivo en la inducción de raíces adventicias en los mini-esquejes (Hernández y Rubilar, 2012). Se sabe que el nitrógeno es un constituyente de las proteínas y ácidos nucleicos; además, su participación en el crecimiento de las plantas es esencial. Cuando éste es absorbido por la planta en forma de nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+), se incorpora a los meristemos para el crecimiento y desarrollo de las plantas; en el cambium de las estacas es requerido para la formación de raíces adventicias (Emer et al., 2019). Por otro lado,

el fósforo es un elemento que potencia el metabolismo de la planta y favorece la absorción, combinado con el nitrógeno y una dosis óptima de auxina favorece una mejor absorción de nutrientes y desarrollo de raíces en las estacas (Guizado, 2015). Además, se ha observado una relación significativa entre la concentración de fósforo y el potencial de enraizamiento, lo que refuerza la hipótesis del papel del fósforo en la supervivencia postrasplante, vía promoción de la extensión radical en campo, tal y como se señala en algunos trabajos con otras especies (Oliet, Planelles, Artero & Jacobs, 2005; Planelles, 2004). En general, el estado nutricional de la planta afecta la producción de nuevas raíces (Oliet, Dema, Simón & Domenech, 2006; Villar, Planelles, Enriquez & Rubira, 2004), pero se debe tener cuidado ya que altas concentraciones de algunos elementos como el nitrógeno pueden reducir el enraizamiento (Cereghino, 2004). En el presente estudio, los tratamientos de fertilización, con excepción del tratamiento con fósforo, correspondieron a nutrimentos que se encontraron en niveles de deficiencia en el tejido foliar de los árboles.

Longitud de raíces primarias, número de raíces primarias y secundarias. Estas variables también fueron afectadas significativamente por los tratamientos de fertilización (Cuadro 2.2). En particular el tratamiento con N+P mejoró considerablemente el número de raíces primarias y secundarias de las estacas en más de 80%; mientras los otros tratamientos de fertilización lo hicieron por arriba de 35%, con respecto a las testigos (sin fertilización) (Figura 2.3 B). Incrementos similares con los tratamientos de fertilización se obtuvieron en la longitud de la raíz primaria de las estacas (Figura 2.3 A)

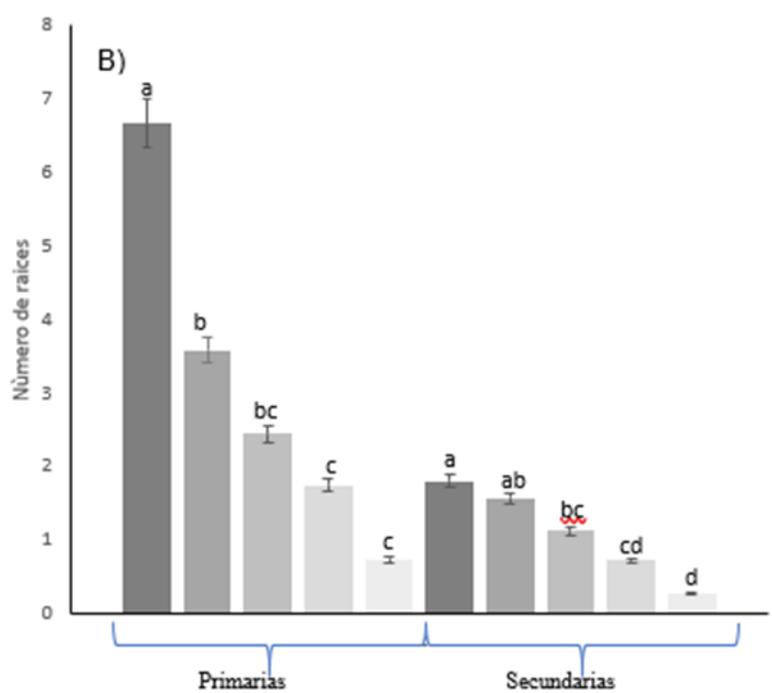
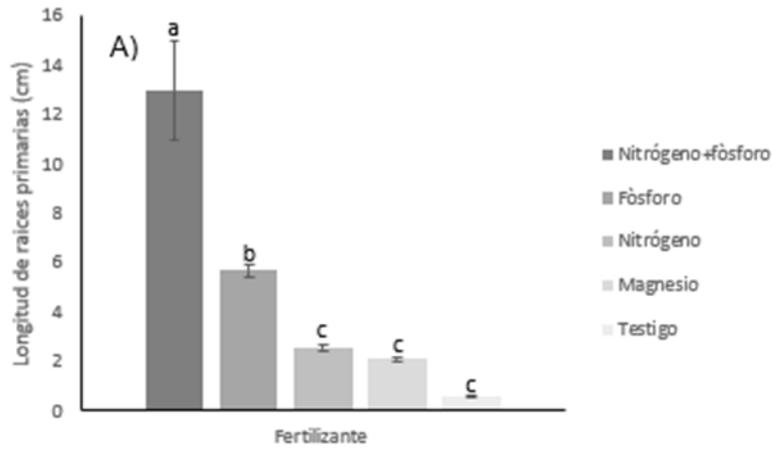


Figura 2.3. Efecto de la fertilización de árboles donadores del híbrido sobre: a) Número de raíces primarias y secundarias presentes en las estacas, b) Longitud de raíces primarias de las estacas. Dentro de un grupo de raíces, letras iguales indican diferencias no significativas entre tratamientos.

La longitud de la raíz principal y el número de raíces primarias y secundarias conforman la arquitectura del sistema radicular de la planta, por lo que son parámetros importantes para la planta producida por estaca. En este trabajo la fertilización mejoró estos parámetros considerablemente. La fertilización contribuye en el contenido de carbohidratos de las estacas, las cuales tienen alta demanda durante la formación de raíces adventicias (Otiende, Nyabundi, Ngamau & Opala, 2017). En las estacas no tratadas, probablemente los carbohidratos presentes no cubrieron la demanda; y es que la fotosíntesis en las estacas no genera suficiente cantidad de carbohidratos demandados por los procesos involucrados en la rizogénesis de la estaca (Kanmegne, Mbouobda, Mbakop & Omokolo, 2017), por lo que la fertilización previa en la planta donadora es recomendable.

2.5.4. Interacción Fertilizante X AIB

De las interacciones de dosis de AIB y tratamientos de fertilización por el tipo de fertilizante solo se encontraron diferencias significativas ($P < 0,05$) para el porcentaje de estacas enraizadas (Cuadro 2.2). El porcentaje de estacas enraizadas generadas por los árboles tratados con fertilizante incrementó con el tratamiento de auxina; mientras que las procedentes de árboles no tratados (testigo) tuvieron un efecto ligeramente contrario con el AIB (Figura 2.4). interacción similar entre la hormona y los tratamientos de fertilización se reportaron en un trabajo de propagación por estacas de *Acer negundo* (González Pulido, Rodríguez Trejo, Corona Ambríz, & Gil Vera Castillo, 2019).

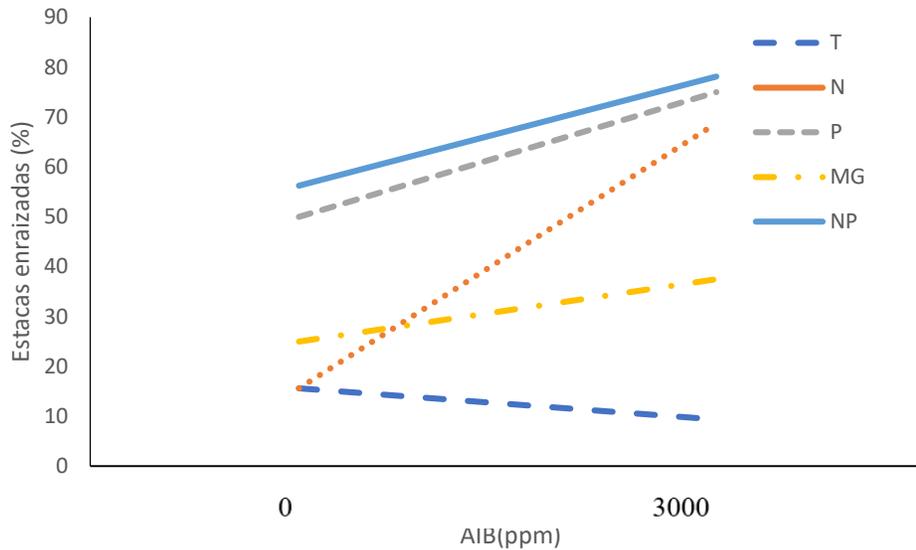


Figura 2.4. Interacción del tratamiento de fertilización de los árboles donadores y la dosis de AIB en estacas enraizadas. Promedios de cada tratamiento.

Esta interacción implica que la capacidad de enraizar no sólo depende de la aplicación exógena de AIB; sino también de la calidad y vigor de la estaca, por lo que el estatus nutricional de la estaca es de primordial importancia en el proceso de rizogénesis para el híbrido en cuestión. Se sabe que la movilización de nutrientes dentro de la estaca se ve limitada durante la fase de iniciación de raíces, no así durante el crecimiento y desarrollo de estas. En este caso las estacas procedentes de árboles no fertilizadas no fueron potencializadas con la auxina, como sucedió con las procedentes de árboles fertilizados. Probablemente en estacas no fertilizadas el bajo nivel de carbohidratos u otros compuestos metabólicos en el tejido limitó el proceso de rizogénesis y disminuyó la capacidad de enraizamiento. De esta manera, desde el punto de vista nutricional, la iniciación de raíces depende grandemente de los niveles iniciales de nutrientes que se encuentran en la porción de la estaca, donde se formarán las futuras raíces. Justamente

por el papel fundamental que tiene la nutrición de las “plantas madre” sobre el enraizamiento subsecuente de estacas (Leakey, 2014; Mesén, Leakey & Newton, 2001).

La formación de raíces adventicias es un proceso dirigido por reguladores de crecimiento, pero afectado por múltiples factores, que incluyen; entre otros el estado nutricional del propágulo, por lo que la nutrición mineral es importante en la conformación de estructuras orgánicas, activación de reacciones enzimáticas y de osmorregulación, entre otras (Geiss, Gutierrez & Bellini, 2018).

2.6. CONCLUSIONES

Los resultados evidencian que preparar la planta madre (árboles) del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea* para la técnica de mini-esquejes, tiene un alto potencial para la clonación de la especie.

El uso de hormonas y fertilizantes, en los mini-esquejes y árboles madre, respectivamente, incrementan la supervivencia y el porcentaje de enraizamiento.

La fertilización de los árboles madre actúa en forma sinérgica con el uso de ácido indolbutírico en los mini-esquejes para aumentar el porcentaje de enraizamiento.

La propagación vegetativa del híbrido es factible mediante el enraizamiento de estacas, y es más exitosa en estacas obtenidas de plantas madre fertilizadas.

2.7. LITERATURA CITADA

- Acevedo-Rodríguez, R., Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., & Velázquez Mendoza, J. (2006). Efecto de la procedencia geográfica y de la fertilización en la fenología del brote terminal en plántulas de *Pseudotsuga* sp. *Agrociencia*, 40(1), 125-137.
- Albany, N., Vilchez, J., Gadea, J., Vilorio, Z., & de Rincón, C. C. (1995). Propagación asexual de *Psidium guajava* L., mediante la técnica de acodo aéreo con diferentes reguladores de crecimiento, anillado y sustraro. *VI Jornadas Científico Técnicas. Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia*, 1.

- Aparicio-Rentería, A., Jimenez, H. C., & Ruiz, O. C. M. (2008). Multiplicación clonal de pinos a través del uso de estacas: una alternativa para mantener ganancias genéticas forestales. *Foresta Veracruzana*, 10(1), 53-58.
- Brondani, G. E., Wendling, I., Brondani, A. E., Araujo, M. A., Silva, A. L. L. d., & Gonçalves, A. N. (2012). Dynamics of adventitious rooting in mini-cuttings of *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 34(2), 169-178.
- Calderón, G. 1992. El cultivo de la guayaba. In: Becerra Ochoa, L. A. Fruticultura Tropical. Federación Nacional de Cafetaleros de Colombia. 3^{era} Ed. Bogotá, Colombia. 303 p.
- Cañellas, I., Finat, L., Bachiller, A., & Montero, G. (1999). Behaviour of *Pinus pinea* plants in nursery and field: Trials of plant production, fertilisation and herbicides. *Forest Systems*, 8(2), 335-359.
- Cereghino, P. R. (2004). *Growth response of three native shrubs planted as un-rooted cuttings across a wetland elevation gradient: Symphoricarpos albus, Rubus spectabilis, and Cornus sericea*. University of Washington, College of Forest Resources. 62 p.
- Chang, S. X. (2003). Seedling sweetgum (*Liquidambar styraciflua* L.) half-sib family response to N and P fertilization: growth, leaf area, net photosynthesis and nutrient uptake. *Forest Ecology and Management*, 173(1-3), 281-291.
- Cordeiro, I. M., Lameira, O. A., Oliveira, F. d. A., & Wendling, I. (2016). Enraizamiento de estacas juveniles de *Bertholletia excelsa* con diferentes concentraciones de ácido indol-butírico. *Agrociencia*, 50(2), 227-238.
- Cuevas, C. J. C., Jiménez, C. M., Jasso, M. J., Pérez, R. P., López, U. J., & Villegas, M. Á. (2015). Propagación asexual de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 21(1), 81-95.
- Davis, A. S., & Jacobs, D. F. (2005). Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. *New Forests*, 30(2-3), 295-311.
- de Fera, M., Chávez, M., Barbón, R., La, M., Pérez, M., Jiménez, T. F., Agramonte, D. (2008). Establecimiento in vitro de brotes apicales de *Pinus caribaea* var. *caribaea*. *Biotecnología Vegetal*, 8(1).
- Del Tredici, P. (2001). Sprouting in temperate trees: a morphological and ecological review. *The Botanical Review*, 67(2), 121-140.
- Dhillon, R., Hooda, M., Pundeer, J., Ahlawat, K., & Chopra, I. (2011). Effects of auxins and thiamine on the efficacy of techniques of clonal propagation in *Jatropha curcas* L. *Biomass and Bioenergy*, 35(4), 1502-1510.

- Eganathan, P., Rao, C. S., & Anand, A. (2000). Vegetative propagation of three mangrove tree species by cuttings and air layering. *Wetlands Ecology and Management*, 8(4), 281-286.
- Endres, L., Marroquim, P. M. G., Santos, C. M. d., & Souza, N. N. F. d. (2007). Enraizamento de estacas de Pau-Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) tratadas com ácido indol butírico e ácido naftaleno acético. *Ciência Rural*, 37(3), 886-889.
- Fachinello, J. C., Hoffmann, A., & Nachtigal, J. C. (2005). *Propagação de plantas frutíferas*: Embrapa informação tecnológica Brasília.
- Gárate, M. (2010). Técnicas de propagação por estacas. *Monografía Ing. Pucallpa, Ucayali, Perú, Universidad Nacional de Ucayali*.
- García, X., Gamboa, M. C., & Krauskopf, E. (2019). Expresión molecular del gen NHX1 en respuesta al estrés hídrico y salino en plantas jóvenes de *Eucalyptus grandis*. *Bosque (Valdivia)*, 40(3), 249-256.
- Geiss, G., Gutierrez, L., & Bellini, C. (2018). Adventitious root formation: new insights and perspectives. *Annual Plant Reviews online*, 127-156.
- Gilani, S. A. Q., Shah, K., Ahmed, I., Basit, A., Sajid, M., Bano, A. S., . . . Shahid, U. (2019). 37. Influence of indole butyric acid (IBA) concentrations on air layerage in guava (*Psidium guajava* L.) cv. Sufeda. *Pure and Applied Biology (PAB)*, 8(1), 355-362.
- González Pulido, A., Rodríguez Trejo, D. A., Corona Ambríz, A., & Gil Vera Castillo, J. A. (2019). Propagación por estacas y calidad de planta en *Acer negundo* L. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(51), 224-243.
- Gratieri-Sossella, A., Petry, C., & Nienow, A. A. (2008). Propagação da corticeira do banhado (*Erythrina crista-galli* L.)(Fabaceae) pelo processo de estaquia. *Revista Árvore*, 32(1), 163-171.
- Grochowska, M., Karaszewska, A., Jankowska, B., & Maksymiuk, J. (1984). Dormant pruning influence on auxin, gibberellin, and cytokinin levels in apple trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109(3), 312-318.
- Guizado, O. C. D. (2015). Enraizamiento de estaca basal de los clones de cacao (*Theobroma cacao* L), ICS-95, CCN-51, ICS-1, CMP-15 y porcelana; utilizando ácido indol butírico (AIB) en el centro poblado de Valle Esmeralda-Rio Ene.
- Hansen, P. (1987). Source-sink relations in fruits. I: Effects of pruning in apple. *Gartenbauwissenschaft*, 52(5), 193-195.
- Hartmann, H., & Kester, D. (1999). Propagación de Plantas: principios y prácticas. 7ta. *México: MX. CECSA*.
- Hartmann, H., & Kester, D. (2001). Propagación de plantas. Principios y prácticas. Octava reimpresión. *Continental. México*.

- Hernández, A., & Rubilar, R. (2012). Efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en el desarrollo y fenología de brotes de setos de *Pinus radiata*. *Bosque (Valdivia)*, 33(1), 53-61.
- Hernández, C. S., Carmona, D. G., Ávila, B. C. H., & Mendoza, M. G. D. (2012). Propagación vegetativa de tres especies de mangle por acodos aéreos en el manglar de sontecomapan, catemaco, veracruz, meXICO. *Polibotánica*(33), 193-205.
- Hernández Valera, R. R., López López, M. Á., & Flores Nieves, P. (2018). Crecimiento y estado nutrimental de una plantación de *Pinus cooperi* Blanco fertilizada con NPK. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 9(48), 115-134.
- Hunt, M. A., Trueman, S. J., & Rasmussen, A. (2011). Indole-3-butyric acid accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliotii* var. *elliottii* P. *caribaea* var. *hondurensis* cuttings. *New Forests*, 41(3), 349-360.
- Kamila, P., & Panda, P. (2019). Large-scale Vegetative Propagation of *Lasiococca comberi* by Air Layering. *Journal of Tropical Forest Science*, 31(1), 37-42.
- Kanmegne, G., Mbouobda, H. D., Mbakop, C. N., & Omokolo, D. N. (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 anomala* K. Schum (Malvaceae). *New forests*, 48(1), 17-31.
- Latsague, M., Sáez, P., & Mora, M. (2014). Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio, sobre el contenido foliar de carbohidratos, proteínas y pigmentos fotosintéticos en plantas de *Berberidopsis corallina* Hook. f. *Gayana. Botánica*, 71(1), 37-42.
- Latsague Vidal, M., Sáez Delgado, P., Hauenstein Barra, E., & Peña-Cortés, F. (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 (Valdivia)*, 31(3), 247-251.
- Lázaro, D. M. O., Velázquez, M. J., Vargas, H. J. J., Gómez, G. A., Álvarez, S. M. E., & López, L. M. A. (2012). Fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio en un latizal de *Pinus patula* Schl. et Cham. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 18(1), 33-42.
- Leakey, R. (2014). Plant cloning: Macropropagation (Clonación de plantas: Macropropagación) *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 4, 349-359. In.
- Leite, G. L. D., Veloso, R. d. S., Castro, A. d., Lopes, P. S. N., & Fernandes, G. W. (2007). Efeito do AIB sobre a qualidade e fitossanidade dos alporques de influência da *Caryocar brasiliense* Camb (Caryocaraceae). *Revista Árvore*, 31(2), 315-320.

- León, S. M. A., Reyes, P. J. L., Herrero, E. G., & Pérez, L. V. E. (2016). Efecto de la fertilización sobre el crecimiento en diámetro y altura de *Pinus caribaea* en plantaciones del occidente de Cuba. *Madera y Bosques*, 22(3), 87-101.
- López-López, M. Á., & Estañol-Botello, E. (2007). Detección de deficiencias de hierro en *Pinus leiophylla* a partir de los efectos de dilución y concentración nutrimental. *Terra Latinoamericana*, 25(1), 9-15.
- Majada, J., Martínez, A. C., Feito, I., Kidelman, A., Aranda, I., & Alía, R. (2011). Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests*, 41(3), 399-412.
- Mantovani, N. C., Grando, M. F., Xavier, A., & Otoni, W. C. (2010). Vegetative rescue of adult genotypes of annatto (*Bixa orellana* L.) by air layering. *Ciência Florestal*, 20(3), 403-410.
- Mesén, F., Leakey, R., & Newton, A. (2001). The influence of stockplant environment on morphology, physiology and rooting of leafy stem cuttings of *Albizia guachapele*. *New Forests*, 22(3), 213-227.
- Mitchell, R., Zwolinski, J., & Jones, N. (2004a). The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula*-Part 1: nursery performance. *The Southern African Forestry Journal*, 202(1), 29-36.
- Mitchell, R., Zwolinski, J., & Jones, N. (2004b). A review on the effects of donor maturation on rooting and field performance of conifer cuttings. *The Southern African Forestry Journal*, 201(1), 53-63.
- Moe, R., & Andersen, A. S. (1988). Stock plant environment and subsequent adventitious rooting. *Advances in plant sciences series (USA)*.
- Monsalve, J., Escobar, R., Acevedo, M., Sánchez, M., & Coopman, R. (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 (Valdivia)*, 30(2), 88-94.
- Navarro-Sandoval, J. L., Vargas-Hernández, J. J., Gómez-Guerrero, A., Ruíz-Posadas, L. d. M., & Sánchez-García, P. (2013). Morfología, biomasa y contenido nutrimental en *Abies religiosa* con regímenes diferentes de fertilización en vivero. *Agrociencia*, 47(7), 707-721.
- Navroski, M. C., de Oliveira Pereira, M., Hess, A. F., Silvestre, R., Ângelo, A. C., Fazzini, A. J., & Alvarenga, A. A. (2014). Resgate e propagação vegetativa de *Sequoia sempervirens*. *Floresta*, 45(2), 383-392.
- Nikles, D. G. (1967). Comparative variability and relationship of Caribbean Pine (*Pinus caribaea* Mor.) and Slash Pine (*Pinus elliottii*) Engelm. Comparative variability and relationship of Caribbean Pine (*Pinus caribaea* Mor.) and Slash Pine (*Pinus elliottii*) Engelm.(11).

- Oliet, J. A., Planelles, R., Artero, F., & Jacobs, D. F. (2005). Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl. planted in Mediterranean semiarid conditions. *Forest Ecology and Management*, 215(1-3), 339-351.
- Oliet, J. P., Dema, A. V., Simón, J. P., & Domenech, R. T. (2006). *Influencia del estado nutricional y el contenido en carbohidratos en el establecimiento de las plantaciones*. Paper presented at the Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos: estado actual de conocimientos.
- Otiende, M. A., Nyabundi, J. O., Ngamau, K., & Opala, P. (2017). Effects of cutting position of rose rootstock cultivars on rooting and its relationship with mineral nutrient content and endogenous carbohydrates. *Scientia Horticulturae*, 225, 204-212.
- Park, B. B., Park, G. E., & Bae, K. (2015). Diagnosis of plant nutrient and growth responses on fertilization with vector analysis and morphological index. *Forest Science and Technology*, 11(1), 1-10.
- Planelles, G. R. (2004). Efectos de la fertilización NPK en vivero sobre la calidad funcional de plantas de *Ceratonia siliqua* L. Universidad Politécnica de Madrid,
- Ramírez, V. M. d. C., & Segundo, U. F. A. (2017). Efecto de tratamientos auxínicos en el enraizamiento de dos especies de *Malpighia* mediante la técnica de acodo aéreo. *Pastos y Forrajes*, 40(2), 96-101.
- Rogel, C. I., Muñoz, P. R., & Cruz, C. J. (2000). Propagación de aguacatero por acodo utilizando etiolación, ácido indolbutírico, y obstrucción de savia. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 6(1), 101-104.
- Rowe, D. B., Blazich, F. A., & Raper, C. D. (2002). Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine. I. Tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. *New Forests*, 24(1), 39-51.
- Ruiz, R. G., Vargas, J. J. H., Cetina, V. M. A., & Villegas, Á. M. (2005). Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista fitotecnia mexicana*, 28(4), 319-326.
- Salisbury, F., & Ross, C. (2000). Fisiología de las plantas. 2. Bioquímica vegetal. *International Thomson Editores, Madrid, España*. Ed. Paraninfo. 523 pp
- Sánchez, U. A. B., Suárez, E., González, M. R., Amaya, Y., Colmenares, C. B., & Alcalá, J. O. (2009). Efecto del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de acodos aéreos de guayabo (*Psidium guajava* L.) en el municipio Baralt, Venezuela. Evaluación preliminar. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(1), 113-120.
- Sanclemente, M. A., & Peña, E. J. (2008). Crecimiento y eficiencia fotosintética de *Ludwigia decurrens* Walter (Onagraceae) bajo diferentes concentraciones de nitrógeno. *Acta biológica colombiana*, 13(1), 175-185.

- Santos, B. R., Paiva, R., Nogueira, R. C., Oliveira, L. M. d., Silva, D. P. C. d., Martinotto, C., . . . Paiva, P. D. d. O. (2006). Micropropagação de pequiheiro (Caryocar brasiliense Camb.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28(2), 293-296.
- Shepherd, M., Cross, M., Maguire, T., Dieters, M., Williams, C., & Henry, R. (2002). Transpecific microsatellites for hard pines. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(5), 819-827.
- Tilahun, A., Manahlie, B., Abebe, G., & Negash, G. (2019). Effect of cutting position and indole butyric acid (auxin) concentration on rooting response of *Araucaria heterophylla*. *African Journal of Biotechnology*, 18(4), 86-91.
- Villar, S. P., Planelles, R., Enriquez, E., & Rubira, J. P. (2004). Nursery cultivation regimes, plant functional attributes, and field performance relationships in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L. *Forest ecology and management*, 196(2-3), 257-266.
- Zabala, J. S., Lasuen, U. O., Guijo, J. P. M., Urkiri, K. T., & Duñabeitia, M. K. (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.

CAPÍTULO III. MUTIPLICACIÓN CLONAL POR ACODOS AÉREOS DEL HÍBRIDO

Pinus elliottii x Pinus caribaea

3.1. RESUMEN

El acodo aéreo representa una alternativa para la propagación vegetativa de plantas, a través del cual se obtienen individuos uniformes; asegurando de esta manera la propagación clonal. La presente investigación se realizó en el vivero del Instituto Tecnológico Superior de Venustiano Carranza; ubicado en la localidad de Villa Lázaro Cárdenas, Puebla, en las coordenadas geográficas 20°28'19.6" latitud N y 97°41'56.4" longitud O. El área experimental se encuentra a una altitud de 333 m. El estudio tuvo por objetivo evaluar el efecto del ácido indolbutírico y la fertilización química en el enraizamiento de acodos aéreos de árboles selectos del híbrido de *Pinus elliottii x Pinus caribaea*. El diseño experimental fue un completamente al azar con arreglo factorial 2 x 5 (dos niveles de auxina 0 y 10000 ppm y cinco niveles de fertilización) con cinco réplicas. Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 95%. Las variables evaluadas fueron: supervivencia de los acodos, y enraizamiento de los mismos, lográndose obtener mayor supervivencia y enraizamiento con la utilización del ácido indolbutírico (AIB) a una concentración de 10 000 ppm; el nitrógeno fue el nutrimento que tuvo efecto significativo ($p \leq 0.05$) en el enraizamiento de acodos del híbrido del *P. elliottii x P. caribaea*; mientras que la interacción entre ambos factores sólo fue estadísticamente significativa para el enraizamiento.

Palabras clave: Híbrido, *Pinus elliottii & caribaea*, propagación asexual, enraizamiento, clon.

3.2. ABSTRACT

Aerial layering represents an alternative to the vegetative spread of plants, through which uniform individuals are obtained, thus ensuring clonal propagation. This research was carried out in the nursery of the Instituto Tecnológico de Venustiano Carranza; Located in the town of Villa Lázaro Cárdenas, Puebla, in the geographical coordinates of 20-28-19.6' latitude N and 97-41-56.4' longitude W. The experimental area is located at an altitude of 333 meters above sea level, the study aimed to evaluate the effect of indobutyric acid and chemical fertilization on the rooting of aerial layering on selected trees of the *Pinus elliotii* x *Pinus caribaea* hybrid. The experimental design was a complete randomized 2 x 5 factorial arrangement (two auxin levels 0 and 10,000 ppm and five levels of fertilization) with five replicates. For the comparison of means, the Tukey test was used with a significance level of 95%. The variables evaluated were: survival of the aerial layers, and rooting thereof, achieving greater survival and rooting with the use of indole butyric acid (IBA) at a concentration of 10,000 ppm; nitrogen was the nutrient that had a significant effect ($p \leq 0.05$) on the rooting of layers of the hybrid of *P. elliotii* x *P. caribaea*; while the interaction between both factors was only statistically significant for rooting.

Keywords: Hybrid, *Pinus elliotii* x *caribaea*, asexual propagation, rooting, clon.

3.3. INTRODUCCIÓN

El híbrido *Pinus elliotti & caribaea* ha sido ampliamente utilizado para establecer plantaciones comerciales en el sureste del México. Árboles con características deseables como alto rendimiento, tolerancia a plagas y enfermedades son requeridos en estas plantaciones. La propagación vegetativa permite la clonación de esos individuos de manera masiva, pero la edad de los árboles es una limitante ya que la juvenilidad del tejido es una condición para la propagación vegetativa. La técnica de acodos aéreos resulta una opción para clonar árboles de más de 5 años de edad y de difícil enraizamiento (Hernández, Carmona, Ávila & Mendoza, 2012).

Los acodos aéreos permiten obtener una planta de gran desarrollo y buen tamaño para su manejo y establecimiento. Además, las plantas obtenidas por acodo pueden ser convertidas a setos para obtener propágulos juveniles para su propagación por enraizamiento (Eganathan, Rao & Anand 2000; Hernández et al., 2012).

Hartmann *et al.* (2002) mencionan que a través del acodado se induce el enraizamiento en una rama que se encuentra unida a la planta madre, asegurando un mayor éxito que con el estacado, pero con un menor número de plantas hijas. Para obtener un alto porcentaje de enraizamiento en acodos aéreos es necesario que la planta a acodar tenga buena calidad y vigor, lo cual se puede lograr a través de un manejo basado en la fertilización química; sin dejar de considerar las hormonas de enraizamiento.

Las hormonas que más se han utilizado en el proceso de enraizamiento son las auxinas como el ácido indolbutírico (AIB) y el ácido naftalenacético (ANA) (Hartmann & Kester, 2001). Estas auxinas incrementan la cantidad y longitud de las raíces adventicias con mayor uniformidad en los acodos (Ramírez & Segundo, 2017).

Además de las auxinas, la fertilización de la planta a acodar también juega un papel importante en la producción de raíces; ya que con la fertilización se obtienen plantas vigorosas con mayor capacidad de enraizamiento en los acodos (Leite, Veloso, Castro, Lopes & Fernandes, 2007). En los acodos, la promoción de raíces adventicias puede ser limitada por la falta de nutrientes requeridos por las células del cambium, particularmente durante los procesos de división y rediferenciación celular que originan los primordios radicales en la región acodada (Latsague-Vidal et al., 2010).

En algunas coníferas se ha comprobado que la fertilización con nitrógeno incrementa los niveles de carbohidratos en los tejidos de tallo y hojas de las plantas lo cual tiene un impacto positivo en el enraizamiento de los esquejes producidos por esas plantas (Monsalve et al., 2009).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del ácido indolbutírico y la fertilización química en el enraizamiento de acodos aéreos de árboles selectos del híbrido de *Pinus elliotti x Pinus caribaea*, bajo el supuesto de que la interacción de ácido indol butírico y la fertilización de los árboles del híbrido promueve mayor número de raíces adventicias en los acodos aéreos.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1. Selección de la planta madre

Se seleccionaron 25 árboles superiores en una plantación del híbrido *Pinus elliotti x Pinus caribaea*, localizada en Villa Lázaro Cárdenas, Puebla ubicada entre las coordenadas geográficas 20°28'19.6" latitud N y 97°41'56.4" longitud O, a una altitud de 333 m, en las instalaciones del Instituto Tecnológico Superior de Venustiano Carranza. Los criterios de selección fueron la abundante ramificación, ausencia de enfermedades

y/o plagas y rectitud de fuste. Las ramas afectadas por insectos o con algún tipo de daño fueron descartadas.

3.4.2. Aplicación de tratamientos

Fertilizante, de acuerdo con un análisis nutrimental de follaje, en julio del 2019, se realizó la aplicación de cinco tratamientos, basados en soluciones preparadas con agua corriente: 1) testigo (sólo agua), 2) Nitrógeno (80 g), 3) Fósforo (20 g) 4) Magnesio (10g) y 5) Nitrógeno + fósforo (80, 20 g, respectivamente). Cada tratamiento fue aplicado aleatoriamente a 5 árboles y la unidad experimental estuvo constituida por un árbol. Para facilitar la aplicación y penetración de las soluciones nutritivas a cada árbol, previamente se les realizó un cajete de aproximadamente 1 m de diámetro.

Ácido indolbutírico, un mes después de la fertilización de árboles, se procedió a aplicar los tratamientos de AIB. Previamente, ramas localizadas en el tercio medio de la copa, de fácil acceso y con más de 60 cm de longitud fueron seleccionadas para realizar el anillo de los acodos. Los cuales se establecieron a 30 cm del extremo terminal de cada rama.

El anillado para los acodos se llevó a cabo con una navaja de injertar, se realizó una incisión circular (anillo) de dos cm de ancho aproximadamente en las ramas seleccionadas. Este procedimiento se realizó en ramas con un diámetro aproximado de dos a cuatro cm (base de la incisión), donde primero se desprendió la corteza (epidermis) con la finalidad de dejar el xilema directamente en contacto con el medio exterior. Después de retirar la epidermis (corteza), se procedió a colocar el AIB en polvo, Radix® (a una concentración de 0 ppm ó 10,000 ppm según el tratamiento. Esto se realizó con ayuda de un pincel, directamente sobre el anillado, saturando completamente el contorno

del anillado. Enseguida, el anillado se cubrió con el sustrato en una envoltura hecha con polietileno transparente. Finalmente, se hizo un amarre en cada extremo de la envoltura para evitar la salida del sustrato. El sustrato utilizado para realizar el acodo fue turba de musgo (peat-moss) el cual previamente fue humedecido con agua corriente hasta punto de saturación.

3.4.3. Evaluación de los acodos aéreos

Los acodos fueron evaluados cada 30 días por tres meses; una vez enraizados fueron cosechados del árbol y trasplantados a macetas de 10 litros llenadas con la misma mezcla de sustrato usada para los acodos.

En los acodos se registró supervivencia, presencia de callo y enraizamiento. Para la supervivencia, el acodo fue considerado muerto cuando tuvo más de la mitad de las acículas secas. Un acodo se consideró enraizado cuando contó con al menos dos raíces.

3.4.4. Diseño experimental

El experimento se realizó bajo un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 5 (dos niveles de auxina, 0 y 10,000 ppm y cinco niveles de fertilización; sin fertilización, nitrógeno, magnesio, y nitrógeno + fosforo (Cuadro 3.1)) con cinco réplicas. La unidad experimental fue un árbol, en el cual se realizó acodo en cuatro ramas; dos por cada nivel de auxina. En total, el estudio utilizó 25 árboles y 50 acodos.

De acuerdo con el diseño experimental, para el análisis se utilizó el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + D_j + CD_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

μ : Efecto de la media global

C_i : Efecto fijo del i-esimo factor auxina (a)

D_j : Efecto fijo del i-esimo factor fertilizante (b)

CD_{ij}: Efecto fijo de la interacción entre el enésimo factor a y el factor b

ϵ_{ijk} : Error aleatorio correspondiente a la observación

Cuadro 3.1. Tratamientos probados en el experimento de enraizamiento de acodos aéreos del híbrido del *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea*.

Tratamiento	Fertilizante	AIB (Ppm)
1	0	0
2	0	10,000
3	Nitrógeno (N)	0
4	Nitrógeno (N)	10,000
5	Fósforo (P)	0
6	Fósforo (P)	10,000
7	Magnesio (Mg)	0
8	Magnesio (Mg)	10,000
9	N + P	0
10	N + P	10,000

3.4.5. Análisis de datos

Previo al análisis de varianza, se realizó la prueba de normalidad a los datos de todas las variables evaluadas. Al no presentar normalidad, entonces el análisis de datos se realizó aplicando el GLIMMIX PROC de SAS (SAS, 2013). Cuando el análisis de varianza detectó significancia para las variables, se realizó la separación de medias por Tukey.

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto la fertilización como la dosis de AIB tuvieron efecto significativo ($p \leq 0.05$) en la supervivencia y enraizamiento de acodos del híbrido del *P. elliotii* x *P. caribaea*; mientras que la interacción entre ambos factores sólo fue estadísticamente significativa para el enraizamiento (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2. Valores de F y P del análisis de varianza para la supervivencia y enraizamiento en los acodos aéreos del híbrido del *Pinus elliotii* x *Pinus caribaea*.

Fuente de variación	Supervivencia (%)		Acodos enraizados (%)	
	F	P	F	P
Fertilización (F)	10.86	0.0001*	6.17	0.0006*
AIB (A)	34.86	0.0001*	30.36	0.0001*
F X A	1.02	0.4079 ns	2.91	0.035*

*Con diferencias significativas ($p \leq 0.05$); ns= no significativo. AIB: ácido indolbutírico.

3.5.1. Efecto de la fertilización

Supervivencia. En general la supervivencia de los acodos fue muy afectada, ya que estuvo por debajo del 50%; sin embargo, la fertilización con cualquiera de los elementos aplicados a los árboles del híbrido incrementó la supervivencia de los acodos en más del 40% con respecto a los acodos testigo (Cuadro 3.3).

El acodo se establece a partir de un daño generado en la rama del árbol, para generar el anillado. En el árbol este daño se traduce en un estrés mecánico. Entonces si el árbol no presenta deficiencias nutritivas, lo más probable es que responda al estrés de manera favorable; mientras se generan las raíces en el acodo. Se sabe que una planta vigorosa tendrá mayores recursos metabólicos para sobrevivir a factores ambientales

desfavorables (estrés); mientras se inicia el proceso de rizogénesis en los acodos (Amissah y Bassuk, 2004). Es probable que, por esta razón, los acodos generados en árboles fertilizados hayan registrado mayores porcentajes de supervivencia.

También se debe considerar otros factores, ya que varias son las causas que pudieron provocar la muerte de la rama acodada. Es muy probable que la técnica usada para realizar el anillado para acodar haya dañado el tejido vascular en esa zona, causando la muerte de la rama. Tanto en la supervivencia como en el enraizamiento de los acodos, es importante considerar también la época del año, ya que tanto el clima como la fisiología del árbol influyen en el proceso (Rogel, Muñoz & Cruz, 2000). Por lo que en futuros experimentos, se considera realizar los acodos en otras temporadas del año.

Cuadro 3.3. Efecto de los tratamientos de fertilización en los porcentajes promedio de la supervivencia y acodos enraizados del híbrido *Pinus elliotti & caribaea*.

Fertilizante	Supervivencia (%)	Acodos enraizados (%)
T	20.1 b	15.3 b
N	45.4 a	30.2 a
P	35.7 a	20.6 ab
Mg	40.6 a	15.6 b
N+P	40.2 a	21 ab

T: Testigo, N: Nitrógeno, P: Fósforo, Mg: Magnesio, N+P: Nitrógeno más Fósforo. Dentro de una variable de respuesta, diferentes letras asociadas a los promedios indican significancia estadística ($\alpha=0.05$).

Acodos enraizados. La fertilización también mejoró el enraizamiento de las estacas. Con excepción del Mg, los demás elementos probados incrementaron el porcentaje de

acodos enraizados en aproximadamente 50%, respecto al testigo, particularmente el tratamiento de nitrógeno (Cuadro 3.3). El nitrógeno es un componente importante de la clorofila, fundamental para la síntesis de proteínas y los ácidos nucleicos; además su presencia en los tejidos de las plantas se correlaciona con el contenido de carbohidratos (Sanclemente & Peña, 2008). Estos elementos son necesarios para que la planta lleve a cabo los procesos de organogénesis, cuando son requeridos, como lo es la formación de raíces adventicias (Emer et al., 2019).

A pesar del efecto positivo de la fertilización en el enraizamiento de los acodos de los árboles del híbrido, en general el porcentaje de acodos enraizados es muy bajo. Por lo anterior, se requiere realizar más estudios e involucrar otras concentraciones y combinación de elementos en la fertilización de los árboles; ya que los acodos, en cierto grado, respondieron y generaron raíces adventicias a pesar de la edad del árbol acodado.

3.5.2. Efecto del AIB

Supervivencia. La aplicación de AIB en los acodos incrementó su supervivencia en más de 30%, en relación al testigo (Cuadro 3.4). Resultados similares con el uso de AIB en la supervivencia de acodos se han reportado en otras especies (Kamila & Panda, 2019). De acuerdo con los autores mencionados, es muy posible que el AIB haya acelerado el inicio de las raíces, lo que generó ciertas ventajas fisiológicas que le permitieron salir del estrés causado por el acodado, evitando la muerte. Aunque se deben considerar otros factores que pudieron influir en la mortalidad del acodo, como se señaló anteriormente, la aplicación en exceso de AIB sobre la zona del acodo pudo haber resultado tóxica, por lo que se debe trabajar en estandarizar la técnica de aplicación del

AIB para evitar saturar con auxina la zona del anillado (Sánchez et al., 2009). Por otro lado, es importante considerar tanto factores bióticos como abióticos que pudieran afectar la supervivencia del acodo. La humedad y temperatura son factores involucrados en varios procesos fisiológicos de las plantas que pueden afectar el efecto del AIB y la formación de las raíces adventicias (Eganathan et al., 2000). Algunas plagas también pueden influir negativamente en el enraizamiento del acodo. En ciertos acodos del experimento se detectó la presencia abundante de hormigas, las cuales pudieron haber propiciado la muerte de los acodos aéreos, ya que sustrajeron el sustrato y modificaron la estructura del acodo.

Cuadro 3.4. Efecto del AIB en los porcentajes promedio de la supervivencia y enraizamiento de acodos del híbrido *Pinus elliottii* x *Pinus caribaea*.

AIB (ppm)	Supervivencia (%)	Acodos enraizados (%)
0	28.6 a	14.5 a
3,000	44.2 b	26.5 b

AIB: Ácido indolbutírico. Dentro de una variable de respuesta, diferentes letras asociadas a una variable respuesta indican significancia estadística ($\alpha=0.05$).

Acodos enraizados. El AIB influyó en el enraizamiento de los acodos al incrementar en más de 40 % los valores de esta variable de respuesta en relación a los acodos no tratados con AIB, (testigo; Cuadro 3.4). El efecto del AIB en la inducción de raíces adventicias está comprobado, no sólo para la propagación de coníferas, sino también en latifoliadas (Hunt, Trueman & Rasmussen, 2011; Mantovani, Grando, Xavier & Otoni, 2010; Ruiz, Vargas, Cetina & Villegas, 2005).

El enraizamiento en respuesta al AIB de los acodos del híbrido es similar a lo encontrado en investigaciones con otras especies, donde se concluye que el AIB debe ser usado en acodos aéreos para incrementar su enraizamiento y obtener raíces más homogéneas en número y tamaño (Kamila & Panda, 2019); además, de mejorar algunos aspectos morfológicos de la raíz que determinan la supervivencia de la planta durante su trasplante a contenedor y posterior establecimiento en condiciones de campo. En el presente trabajo se registraron bajos porcentajes de enraizamiento, independientemente del tratamiento de AIB, por lo que es necesario continuar estudiando los factores que permitan incrementar los porcentajes de enraizamiento.

En particular, es importante estudiar a detalle las interacciones del AIB con la época del año. Probando más dosis de AIB, dado que en este trabajo sólo se analizó con una sola concentración de AIB y en una época del año (verano). Se sabe que la fisiología y componentes metabólicos varían en los tejidos de la planta según la época del año, lo cual debe influir en los procesos de enraizamiento del acodo. En próximos trabajos para enraizar acodos de este híbrido, se recomienda incluir otras dosis de AIB. Acosta *et al.*, (2000) señalan que la respuesta al enraizamiento depende en gran medida de la óptima concentración de la auxina aplicada al acodo de la especie en cuestión. En *Pinus caribaea* se encontraron los mejores resultados de enraizamiento en acodos tratados con ácido indolacético (AIA) y cinetina (Kompen & Torres, 1987).

Cabe señalar que en el presente estudio los primeros registros de emisión de raíces se observaron a los 45 días en los acodos del híbrido *Pinus elliotti x Pinus caribaea*. La apariencia que presentaron las raíces al inicio fue de colores blanquecinos, así como otras en color marrón y mucho más finas (Figura 3.1).



Figura 3.1. Primeras raíces visibles a los 45 días de haberse establecido los acodos aéreos del híbrido *Pinus elliottii* & *Pinus caribaea*.

3.5.3. Interacción Fertilización X AIB

La interacción entre los factores probados fue significativa para el porcentaje de acodos enraizados. Principalmente la combinación de N+P, Mg y N con el AIB incrementó el porcentaje de acodos enraizados en más de 70%, en relación con el testigo (Cuadro 3.5).

Cuadro 3.5. Interacción de los nutrientes aplicados con el ácido indolbutírico (AIB) en el porcentaje de acodos del híbrido *Pinus elliotti* x *Pinus caribaea*.

Fertilizante	AIB (ppm)	Enraizamiento de acodos (%)
N+P	3000	50.4 a
Mg	3000	50.2 a
N	3000	49.6 ab
N	0	41.2 ab
P	3000	40.6 ab
Mg	0	31.0 ab
P	0	30.8 ab
T	3000	30.2 b
N+P	0	30.0 b
T	0	10.0 c

Dentro de una variable de respuesta, diferentes letras asociadas a los promedios indican significancia estadística ($\alpha=0.05$).

Lo anterior demuestra que la fertilización mejora la calidad y vigor de los tejidos los cuales tienen mejor disposición a responder al estímulo del AIB para promover el enraizamiento de los acodos. En la zona del cambium del anillado del acodo, la actividad de la auxina con los compuestos metabólicos en niveles óptimos generados por la fertilización, permite la inmediata división y diferenciación celular que dan lugar a los primordios radicales (Gilani et al., 2019). Entonces si la planta a acodar no presenta un balance nutrimental adecuado, los compuestos metabólicos requeridos serán limitados y el proceso de rizogénesis en el acodo será deficiente.

Finalmente, es menester mencionar que en varios acodos se observó la presencia de callo, estructura indeseable que retrasa e inhibe el enraizamiento (Albany, Vilchez, Gadea, Vilorio, & de Rincón, 1995). La formación de callo se debe evitar, con la finalidad de inducir el enraizamiento, probablemente con la manipulación de las dosis de AIB la formación de callo se pueda limitar (Calderón, 1992). Aunque, se ha considerado que la aparición de callo es parte del proceso de formación de raíces adventicias, por lo que se podría decir que los acodos con presencia de callo pudieron haber emitido raíces en un periodo de tiempo más largo. Se ha demostrado que en la mayoría de las plantas la formación de callo es independiente de la formación de raíces adventicias y si ocurren simultáneamente es debido a que ambos están condicionados por los mismos factores ambientales que los rodean (Acosta *et al.*, 2000). Si se reduce la relación citocinina/auxina, se estimula la formación de raíces (Salisbury & Ross, 2000).

3.6. CONCLUSIONES

La fertilización de los árboles del híbrido *Pinus elliottii x Pinus caribaea* con cualquiera de los nutrimentos deficientes y con fósforo, favorece la supervivencia y el enraizamiento de los acodos. En la plantación de *Pinus elliottii x Pinus caribaea* ubicada en Villa Lázaro Cárdenas, Puebla, se recomienda implementar un programa de fertilización, considerando al nitrógeno y al fósforo como elementos principales, para facilitar los trabajos de clonación mediante la técnica de acodos.

La aplicación del AIB complementa el efecto del fertilizante al incrementar el porcentaje de enraizamiento en los acodos. Sin embargo, se debe probar con concentraciones menores para determinar y descartar sus probables efectos tóxicos en los acodos.

La fertilización de los árboles y la aplicación de AIB presentan un efecto sinérgico sobre el enraizamiento de los acodos.

A pesar los bajos porcentajes de enraizamiento obtenidos en el presente estudio, se reconoce que tanto la fertilización como la aplicación de AIB afectan positivamente la capacidad de árboles del híbrido *Pinus elliottii x Pinus caribaea* para emitir raíces adventicias en tejidos no juveniles. Se recomienda continuar mejorando la técnica de clonación de este híbrido hasta conformar un protocolo que permita incrementar el porcentaje de enraizamiento.

3.7. REFERENCIAS

- Acosta, E.; M. J. Sánchez B. y M. Bañón A. 2000. Auxinas. *In*: J. Azcón-Bieto y M. Talón (Eds.). Fundamentos de fisiología vegetal. Segunda Edición. McGraw-Hill. Interamericana de España, S.A. Barcelona, España. pp: 305-323.
- Acevedo-Rodríguez, R., Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., & Velázquez Mendoza, J. (2006). Efecto de la procedencia geográfica y de la fertilización en la

- fenología del brote terminal en plántulas de *Pseudotsuga* sp. *Agrociencia*, 40(1), 125-137.
- Albany, N., Vilchez, J., Gadea, J., Vilorio, Z., & de Rincón, C. C. (1995). Propagación asexual de *Psidium guajava* L., mediante la técnica de acodo aéreo con diferentes reguladores de crecimiento, anillado y sustraro. *VI Jornadas Científico Técnicas. Facultad de Agronomía, Universidad del Zulia*, 1.
- Aparicio-Rentería, A., Jimenez, H. C., & Ruiz, O. C. M. (2008). Multiplicación clonal de pinos a través del uso de estacas: una alternativa para mantener ganancias genéticas forestales. *Foresta Veracruzana*, 10(1), 53-58.
- Brondani, G. E., Wendling, I., Brondani, A. E., Araujo, M. A., Silva, A. L. L. d., & Gonçalves, A. N. (2012). Dynamics of adventitious rooting in mini-cuttings of *Eucalyptus benthamii* x *Eucalyptus dunnii*. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 34(2), 169-178.
- Calderón, G. (1992). *El cultivo de la guayaba*. Retrieved from
- Cañellas, I., Finat, L., Bachiller, A., & Montero, G. (1999). Behaviour of *Pinus pinea* plants in nursery and field: Trials of plant production, fertilisation and herbicides. *Forest Systems*, 8(2), 335-359.
- Cereghino, P. R. (2004). Growth response of three native shrubs planted as un-rooted cuttings across a wetland elevation gradient: *Symphoricarpos albus*, *Rubus spectabilis*, and *Cornus sericea*. University of Washington.
- Chang, S. X. (2003). Seedling sweetgum (*Liquidambar styraciflua* L.) half-sib family response to N and P fertilization: growth, leaf area, net photosynthesis and nutrient uptake. *Forest ecology and management*, 173(1-3), 281-291.
- Cordeiro, I. M., Lameira, O. A., Oliveira, F. d. A., & Wendling, I. (2016). Enraizamiento de estacas juveniles de *Bertholletia excelsa* con diferentes concentraciones de ácido indol-butírico. *Agrociencia*, 50(2), 227-238.
- Cuevas, C. J. C., Jiménez, C. M., Jasso, M. J., Pérez, R. P., López, U. J., & Villegas, M. Á. (2015). Propagación asexual de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 21(1), 81-95.
- Davis, A. S., & Jacobs, D. F. (2005). Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. *New forests*, 30(2-3), 295-311.
- de Fera, M., Chávez, M., Barbón, R., La, M., Pérez, M., Jiménez, T. F., . . . Agramonte, D. (2008). Establecimiento in vitro de brotes apicales de *Pinus caribaea* var. *caribaea*. *Biotecnología vegetal*, 8(1).
- Del Tredici, P. (2001). Sprouting in temperate trees: a morphological and ecological review. *The botanical review*, 67(2), 121-140.

- Dhillon, R., Hooda, M., Pundeer, J., Ahlawat, K., & Chopra, I. (2011). Effects of auxins and thiamine on the efficacy of techniques of clonal propagation in *Jatropha curcas* L. *Biomass and bioenergy*, 35(4), 1502-1510.
- Eganathan, P., Rao, C. S., & Anand, A. (2000). Vegetative propagation of three mangrove tree species by cuttings and air layering. *Wetlands Ecology and Management*, 8(4), 281-286.
- Endres, L., Marroquim, P. M. G., Santos, C. M. d., & Souza, N. N. F. d. (2007). Enraizamento de estacas de Pau-Brasil (*Caesalpinia echinata* Lam.) tratadas com ácido indol butírico e ácido naftaleno acético. *Ciência Rural*, 37(3), 886-889.
- Fachinello, J. C., Hoffmann, A., & Nachtigal, J. C. (2005). *Propagação de plantas frutíferas*: Embrapa informação tecnológica Brasília.
- Gárate, M. (2010). Técnicas de propagación por estacas. *Monografía Ing. Pucallpa, Ucayali, Perú, Universidad Nacional de Ucayali*.
- García, X., Gamboa, M. C., & Krauskopf, E. (2019). Expresión molecular del gen NHX1 en respuesta al estrés hídrico y salino en plantas jóvenes de *Eucalyptus grandis*. *Bosque (Valdivia)*, 40(3), 249-256.
- Geiss, G., Gutierrez, L., & Bellini, C. (2018). Adventitious root formation: new insights and perspectives. *Annual Plant Reviews online*, 127-156.
- Gilani, S. A. Q., Shah, K., Ahmed, I., Basit, A., Sajid, M., Bano, A. S., . . . Shahid, U. (2019). 37. Influence of indole butyric acid (IBA) concentrations on air layerage in guava (*Psidium guajava* L.) cv. Sufeda. *Pure and Applied Biology (PAB)*, 8(1), 355-362.
- González Pulido, A., Rodríguez Trejo, D. A., Corona Ambríz, A., & Gil Vera Castillo, J. A. (2019). Propagación por estacas y calidad de planta en *Acer negundo* L. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 10(51), 224-243.
- Gratieri-Sossella, A., Petry, C., & Nienow, A. A. (2008). Propagação da corticeira do banhado (*Erythrina crista-galli* L.)(Fabaceae) pelo processo de estaquia. *Revista Árvore*, 32(1), 163-171.
- Grochowska, M., Karaszewska, A., Jankowska, B., & Maksymiuk, J. (1984). Dormant pruning influence on auxin, gibberellin, and cytokinin levels in apple trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109(3), 312-318.
- Guizado, O. C. D. (2015). Enraizamiento de estaca basal de los clones de cacao (*Theobroma cacao* L), ICS-95, CCN-51, ICS-1, CMP-15 y porcelana; utilizando ácido indol butírico (AIB) en el centro poblado de Valle Esmeralda-Rio Ene.
- Hansen, P. (1987). Source-sink relations in fruits. I: Effects of pruning in apple. *Gartenbauwissenschaft*, 52(5), 193-195.

- Hartmann, H., & Kester, D. (1999). Propagación de Plantas: principios y prácticas. 7ta. México: MX. CECOSA.
- Hartmann, H., & Kester, D. (2001). Propagación de plantas. Principios y prácticas. Octava reimpresión. Continental. México.
- Hernández, A., & Rubilar, R. (2012). Efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en el desarrollo y fenología de brotes de setos de *Pinus radiata*. *Bosque (Valdivia)*, 33(1), 53-61.
- Hernández, C. S., Carmona, D. G., Ávila, B. C. H., & Mendoza, M. G. D. (2012). Propagación vegetativa de tres especies de mangle por acodos aéreos en el manglar de sontecomapan, catemaco, veracruz, meXICO. *Polibotánica*(33), 193-205.
- Hernández Valera, R. R., López López, M. Á., & Flores Nieves, P. (2018). Crecimiento y estado nutrimental de una plantación de *Pinus cooperi* Blanco fertilizada con NPK. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 9(48), 115-134.
- Hunt, M. A., Trueman, S. J., & Rasmussen, A. (2011). Indole-3-butyric acid accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliottii* var. *elliottii* P. *caribaea* var. *hondurensis* cuttings. *New forests*, 41(3), 349-360.
- Kamila, P., & Panda, P. (2019). Large-scale Vegetative Propagation of *Lasiococca comberi* by Air Layering. *Journal of Tropical Forest Science*, 31(1), 37-42.
- Kanmegne, G., Mbouobda, H. D., Mbakop, C. N., & Omokolo, D. N. (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 anomala* K. Schum (Malvaceae). *New forests*, 48(1), 17-31.
- Latsague, M., Sáez, P., & Mora, M. (2014). Efecto de la fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio, sobre el contenido foliar de carbohidratos, proteínas y pigmentos fotosintéticos en plantas de *Berberidopsis corallina* Hook. f. *Gayana. Botánica*, 71(1), 37-42.
- Latsague Vidal, M., Sáez Delgado, P., Hauenstein Barra, E., & Peña-Cortés, F. (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 (Valdivia)*, 31(3), 247-251.
- Lázaro, D. M. O., Velázquez, M. J., Vargas, H. J. J., Gómez, G. A., Álvarez, S. M. E., & López, L. M. A. (2012). Fertilización con nitrógeno, fósforo y potasio en un latizal de *Pinus patula* Schl. et Cham. *Revista Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente*, 18(1), 33-42.
- Leakey, R. (2014). Plant cloning: Macropropagation (Clonación de plantas: Macropropagación) *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*, 4, 349-359. In.

- Leite, G. L. D., Veloso, R. d. S., Castro, A. d., Lopes, P. S. N., & Fernandes, G. W. (2007). Efeito do AIB sobre a qualidade e fitossanidade dos alporques de influência da *Caryocar brasiliense* Camb (Caryocaraceae). *Revista Árvore*, 31(2), 315-320.
- León, S. M. A., Reyes, P. J. L., Herrero, E. G., & Pérez, L. V. E. (2016). Efecto de la fertilización sobre el crecimiento en diámetro y altura de *Pinus caribaea* en plantaciones del occidente de Cuba. *Madera y bosques*, 22(3), 87-101.
- López-López, M. Á., & Estañol-Botello, E. (2007). Detección de deficiencias de hierro en *Pinus leiophylla* a partir de los efectos de dilución y concentración nutrimental. *Terra Latinoamericana*, 25(1), 9-15.
- Majada, J., Martínez, A. C., Feito, I., Kidelman, A., Aranda, I., & Alía, R. (2011). Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New forests*, 41(3), 399-412.
- Mantovani, N. C., Grando, M. F., Xavier, A., & Otoni, W. C. (2010). Vegetative rescue of adult genotypes of annatto (*Bixa orellana* L.) by air layering. *Ciência Florestal*, 20(3), 403-410.
- Mesén, F., Leakey, R., & Newton, A. (2001). The influence of stockplant environment on morphology, physiology and rooting of leafy stem cuttings of *Albizia guachapele*. *New forests*, 22(3), 213-227.
- Mitchell, R., Zwolinski, J., & Jones, N. (2004a). The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula*-Part 1: nursery performance. *The Southern African Forestry Journal*, 202(1), 29-36.
- Mitchell, R., Zwolinski, J., & Jones, N. (2004b). A review on the effects of donor maturation on rooting and field performance of conifer cuttings. *The Southern African Forestry Journal*, 201(1), 53-63.
- Moe, R., & Andersen, A. S. (1988). Stock plant environment and subsequent adventitious rooting. *Advances in plant sciences series (USA)*.
- Monsalve, J., Escobar, R., Acevedo, M., Sánchez, M., & Coopman, R. (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 (Valdivia)*, 30(2), 88-94.
- Navarro-Sandoval, J. L., Vargas-Hernández, J. J., Gómez-Guerrero, A., Ruíz-Posadas, L. D. M., & Sánchez-García, P. (2013). Morfología, biomasa y contenido nutrimental en *Abies religiosa* con regímenes diferentes de fertilización en vivero. *Agrociencia*, 47(7), 707-721.
- Navroski, M. C., de Oliveira Pereira, M., Hess, A. F., Silvestre, R., Ângelo, A. C., Fazzini, A. J., & Alvarenga, A. A. (2014). Resgate e propagação vegetativa de *Sequoia sempervirens*. *Floresta*, 45(2), 383-392.

- Nikles, D. G. (1967). Comparative variability and relationship of Caribbean Pine (*Pinus caribaea* Mor.) and Slash Pine (*Pinus elliottii*) Engelm. *Comparative variability and relationship of Caribbean Pine (Pinus caribaea Mor.) and Slash Pine (Pinus elliottii) Engelm.*(11).
- Oliet, J. A., Planelles, R., Artero, F., & Jacobs, D. F. (2005). Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl. planted in Mediterranean semiarid conditions. *Forest ecology and management*, 215(1-3), 339-351.
- Oliet, J. P., Dema, A. V., Simón, J. P., & Domenech, R. T. (2006). *Influencia del estado nutricional y el contenido en carbohidratos en el establecimiento de las plantaciones*. Paper presented at the Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos: estado actual de conocimientos.
- Ortiz Novoa, O., & Koch, Z. (2011). Masificación clonal de genotipos forestales.
- Otiende, M. A., Nyabundi, J. O., Ngamau, K., & Opala, P. (2017). Effects of cutting position of rose rootstock cultivars on rooting and its relationship with mineral nutrient content and endogenous carbohydrates. *Scientia Horticulturae*, 225, 204-212.
- Park, B. B., Park, G. E., & Bae, K. (2015). Diagnosis of plant nutrient and growth responses on fertilization with vector analysis and morphological index. *Forest science and technology*, 11(1), 1-10.
- Planelles, G. R. (2004). *Efectos de la fertilización NPK en vivero sobre la calidad funcional de plantas de Ceratonia siliqua L.* Universidad Politécnica de Madrid,
- Ramírez, V. M. d. C., & Segundo, U. F. A. (2017). Efecto de tratamientos auxínicos en el enraizamiento de dos especies de Malpighia mediante la técnica de acodo aéreo. *Pastos y forrajes*, 40(2), 96-101.
- Rivera, R. M. O., Vargas, H. J. J., López, U. J., Villegas, M. Á., & Jiménez, C. M. (2016). Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. *Revista fitotecnia mexicana*, 39(4), 385-392.
- Rogel, C. I., Muñoz, P. R., & Cruz, C. J. (2000). Propagación de aguacatero por acodo utilizando etiolación, ácido indolbutírico, y obstrucción de savia. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 6(1), 101-104.
- Rowe, D. B., Blazich, F. A., & Raper, C. D. (2002). Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine. I. Tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. *New forests*, 24(1), 39-51.
- Ruiz, R. G., Vargas, J. J. H., Cetina, V. M. A., & Villegas, Á. M. (2005). Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista fitotecnia mexicana*, 28(4), 319-326.

- Salisbury, F., & Ross, C. (2000). Fisiología de las plantas. 2. Bioquímica vegetal. *International Thomson Editores, Madrid, España.*
- Salisbury, F. B., Ross, C., & Alonso, J. M. (2000). *Fisiología de las plantas.*
- Sánchez, U. A. B., Suárez, E., González, M. R., Amaya, Y., Colmenares, C. B., & Alcalá, J. O. (2009). Efecto del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de acodos aéreos de guayabo (*Psidium guajava* L.) en el municipio Baralt, Venezuela. Evaluación preliminar. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(1), 113-120.
- Sanclemente, M. A., & Peña, E. J. (2008). Crecimiento y eficiencia fotosintética de *Ludwigia decurrens* Walter (Onagraceae) bajo diferentes concentraciones de nitrógeno. *Acta biológica colombiana*, 13(1), 175-185.
- Santos, B. R., Paiva, R., Nogueira, R. C., Oliveira, L. M. d., Silva, D. P. C. d., Martinotto, C., . . . Paiva, P. D. d. O. (2006). Micropropagação de pequi (Caryocar brasiliense Camb.). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 28(2), 293-296.
- Shepherd, M., Cross, M., Maguire, T., Dieters, M., Williams, C., & Henry, R. (2002). Transpecific microsatellites for hard pines. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(5), 819-827.
- Tilahun, A., Manahlie, B., Abebe, G., & Negash, G. (2019). Effect of cutting position and indole butyric acid (auxin) concentration on rooting response of *Araucaria heterophylla*. *African Journal of Biotechnology*, 18(4), 86-91.
- Villar, S. P., Planelles, R., Enriquez, E., & Rubira, J. P. (2004). Nursery cultivation regimes, plant functional attributes, and field performance relationships in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L. *Forest ecology and management*, 196(2-3), 257-266.
- Zabala, J. S., Lasuen, U. O., Guijo, J. P. M., Urkiri, K. T., & Duñabeitia, M. K. (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.

CONCLUSIONES GENERALES

La fertilización como parte del manejo de planta donadora debe ser incluido en los sistemas de propagación vegetativa por mini-esquejes y acodos, ya que mejoró el crecimiento y vigor de los árboles del híbrido *P. elliotii* x *P. caribaea*. Este efecto aceleró la fenología y crecimiento del brote, por lo que se pueden obtener mini-esquejes en menor tiempo. Además, también influyó en el incremento de producción de mini-esquejes; particularmente en los árboles fertilizados con nitrógeno más fósforo.

El enraizamiento de las estacas del híbrido fue mejor con el AIB y la fertilización. Sin embargo, se debe continuar trabajando para incrementar los bajos porcentajes de enraizamiento obtenidos. Además de probar más dosis y modos de aplicación del AIB, se recomienda modificar los niveles de humedad relativa y de la temperatura que se generaron en las cámaras de enraizamiento, ya la contaminación por hongos se hizo presente e influyó, en cierta manera, en los resultados.

El acodo de las ramas de los árboles de *P. elliotii* x *P. caribaea* tiene mayor éxito de ser enraizado con la fertilización en complemento con la aplicación de AIB. No obstante, se debe seguir investigando con menores concentraciones de AIB para determinar y descartar sus probables efectos tóxicos en los acodos.

Los árboles del híbrido *P. elliotii* x *P. caribaea* tienen alta capacidad de producir mini-esquejes, respuesta que puede ser amplificada con la fertilización; los cuales respondieron al enraizar favorablemente con el AIB, a pesar de la edad fisiológica del árbol donador. Por lo que la clonación del híbrido se puede realizar a través de los sistemas de macropropagación probados en este trabajo; aunque se debe continuar investigando para mejorar los protocolos.