



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

**PROPAGACIÓN DE *Pinus hartwegii*  
Lindl. POR ENRAIZAMIENTO DE  
ESTACAS**

FRANCISCO RIVERA MELO

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

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: **Propagación de *Pinus hartwegii* Lindl. por enraizamiento de estacas** realizada por el alumno: Francisco Rivera Melo bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS  
EN CIENCIAS FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



---

Dr. Marcos Jiménez Casas

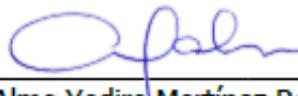
ASESOR



---

Dr. Carlos Ramírez Herrera

ASESORA



---

M. C. Alma Yadira Martínez Rendón

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero de 2021

# PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE *Pinus hartwegii* Lindl. POR

## ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS

Francisco Rivera Melo, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2021

### RESUMEN

El enraizamiento de estacas es una técnica de propagación asexual que puede ayudar con la propagación masiva de planta en aquellas especies con baja o limitada producción de semilla, como es el caso de *Pinus hartwegii*. Nada se sabe de la capacidad de *P. hartwegii* para producir y enraizar estacas. En la primera parte de este trabajo se estudió el efecto del Ácido Indolbutírico (AIB: 0, 5000 y 10 000 ppm), en la promoción de raíces adventicias, en estacas *P. hartwegii* obtenidas de plantas madre de tres poblaciones (Cofre de Perote, Nevado de Toluca y Monte Tláloc). En la segunda parte, se analizó el efecto del fertilizante en plantas de *Pinus hartwegii* provenientes de una población del Cofre de Perote en la promoción e incremento del número de estacas y su efecto en la capacidad de enraizamiento, en complemento con el uso del AIB (0 y 5000). Las estacas de *P. hartwegii* mostraron una alta capacidad de generar raíces adventicias, con y sin la aplicación de AIB; aunque el uso de auxina, en concentración de 5 000 ppm, amplificó y mejoró la respuesta al enraizamiento. Sin embargo, en esta especie se debe tener cuidado el uso de AIB en concentración de 10 000 ppm por su efecto negativo causado en la supervivencia de las estacas. Se encontró que las estacas de *P. hartwegii* tienen alta capacidad de enraizar, la cual mejora con el AIB, sin importar su población de origen. También se observó que la producción morfológica de raíces, producción de raíces secundarias, responde diferencialmente según la interacción del nivel de AIB y procedencia. Por otro lado, la fertilización en dosis de 1.0 y 2.0 g L<sup>-1</sup> afectó positivamente la producción de estacas con mayor capacidad de enraizamiento. Utilizar la concentración 5000 ppm de AIB incrementó los porcentajes de enraizamiento, así como las características morfológicas de las raíces. El alto porcentaje de enraizamiento (arriba del 65 %) observado en los experimentos, indica que la técnica de propagación puede ser empleada para la producción masiva de *P. hartwegii*.

**Palabras clave:** Propagación asexual, fertilización, enraizamiento, planta madre, estacas.

# PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE *Pinus hartwegii* Lindl. POR

## ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS traducir a inglés

Francisco Rivera Melo, M. C.

Colegio de Postgraduados, 2021

### ABSTRACT

Cuttings rooting is an asexual propagation technique that can help with massive plant propagation in those species with low or limited seed production, as is the case with *Pinus hartwegii*. Nothing is known about the ability of *P. hartwegii* to produce and root cuttings. In the first part of this work, the effect of Indole Butyric Acid (IBA: 0, 5000 and 10,000 ppm) on the promotion of adventitious roots was studied, in *P. hartwegii* cuttings obtained from mother plants of three populations (Cofre de Perote, Nevado de Toluca and Monte Tlálloc). In the second part, the effect of the fertilizer on *P. hartwegii* plants from a population of the pearl chest in promoting and increasing the number of cuttings and its effect on the rooting capacity was analyzed, in addition to the use of IBA (0 and 5000 ppm). The cuttings of *P. hartwegii* showed a high capacity to generate adventitious roots, with and without the application of IBA; although the use of auxin, at a concentration of 5000 ppm, amplified and improved the response to rooting. However, in this species care must be taken to use IBA in a concentration of 10 000 ppm, due to its negative effect on the survival of the cuttings. It was found that the cuttings of *P. hartwegii* have high rooting capacity, which improves with AIB, regardless of their population of origin. It was also observed that root morphology production, production of secondary roots, responds differentially according to the interaction of the IBA doses and origin. On the other hand, fertilization in doses of 1.0 and 2.0 g L<sup>-1</sup> positively affected the production of cuttings with greater rooting capacity. Using the 5000 ppm concentration of IBA increased the rooting percentages, as well as the morphological characteristics of the roots. The high percentage of rooting (above 65%) observed in the experiments indicates that the propagation technique can be used for the massive production of *P. hartwegii*.

**Keywords:** Asexual propagation, fertilization, rooting, mother plant, cuttings.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante un periodo de dos años que fue de gran ayuda para concluir con la investigación.

Al Colegio de Postgraduados (COLPOS) por haberme recibido con los brazos abiertos y permitirme ser parte de una Institución de tal magnitud, donde estudiantes, académicos y trabajadores me impulsaron en la búsqueda de mis objetivos y me facilitaron las herramientas para concluir la maestría en ciencias forestales.

A mi consejo Particular quienes, con paciencia, perseverancia y entrega, me dieron los consejos más acertados y apoyo incondicional para concluir con los objetivos.

Al Dr. Marcos Jiménez Casas mi consejero, la persona más paciente que conozco, un gran profesor, mejor amigo y sobre todo una persona con mucha calidad moral, que estuvo a mi lado trabajando hombro a hombro en la etapa de los cursos, el experimento y la escritura de tesis, siempre tratando de hacer las cosas cada vez mejor, quien supo guiarme y atender todas y cada una de mis dudas durante esta etapa, muchas gracias.

Al Dr. Carlos Ramírez Herrera quien estuvo conmigo trabajando y que gran parte de los resultados obtenidos en la investigación son gracias a él.

A la M. en C. Alma Yadira Martínez Rendón, por los consejos, empeño y constancia a lo largo de toda la maestría.

A la Dra. Patricia Hernández de la Rosa por aceptar ser mi sinodal y los consejos tan acertados durante la revisión de tesis.

A mis amigos y demás familiares quienes directa o indirectamente estuvieron apoyándome y deseándome el mayor de los éxitos.

## **DEDICATORIA**

A mis abuelos Ismael Melo Montiel y Celia García Ramírez que me brindaron su amor sin medida, quienes me arrullaron cuando tenía frío, me levantaron cuando me caí, me corrigieron cuando estaba equivocado y me supieron felicitar cuando acertaba, desde el fondo de mi corazón, los amo, esto es por ustedes.

A mi madre Glorilú Melo García y a mi padre Francisco Rivera Hernández, este pequeño gran logro es para ustedes, estoy seguro que hoy estarán muy orgullosos de mí.

A mi Hermana Celia Julissa Melo García, esto también es por ti hermanita.

A mi Sobrino Gareth Antonio Melo que desde que llegó a nuestras vidas me ha impulsado para ser mejor persona.

A mi novia Montserrat, quién ha sido mi motor, mi fuerza, mi alegría, quien me ha sabido guiar cuando por momentos perdía el camino.

A mi consejo particular dentro del Colegio de Postgraduados.

A mis compañeros y amigos dentro y fuera del Colegio de Postgraduados.

## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iv</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>ix</b>
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	<b>xi</b>
<b>INTRODUCCIÓN GENERAL</b> .....	<b>1</b>
<b>CAPÍTULO I. ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS DE <i>Pinus hartwegii</i> DE TRES POBLACIONES NATURALES</b> .....	<b>3</b>
1.1 RESUMEN .....	3
1.2 ABSTRACT .....	4
1.3 INTRODUCCIÓN.....	5
1.4 MATERIALES Y MÉTODOS .....	7
1.4.1 Producción de planta.....	7
1.4.2 Producción y manejo de planta madre .....	8
1.4.3 Establecimiento del experimento.....	9
1.4.4 Diseño experimental. ....	10
1.4.5 Análisis estadístico .....	12
1.5 RESULTADOS .....	13
1.5.1 Efecto de la concentración de auxina.....	13
1.5.2 Efecto de la procedencia .....	16
1.5.3 Interacción entre AIB y procedencia.....	17
1.5.4 Trasplante de estacas enraizadas.....	19
1.6 CONCLUSIONES.....	20
1.7 LITERATURA CITADA .....	21
<b>CAPÍTULO II. EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN DE PLANTAS DONADORAS EN LA PRODUCCIÓN Y ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS DE <i>Pinus hartwegii</i> LINDL.</b> .....	<b>25</b>
2.1 RESUMEN.....	25
2.2 ABSTRAC .....	26
2.3 INTRODUCCIÓN.....	27
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS .....	29
2.4.2 Producción de planta.....	29

2.4.3 Establecimiento y diseño del experimento de fertilización .....	30
2.4.3.1 Producción y recolección de esquejes .....	31
2.4.3.2 Variables evaluadas .....	32
2.4.4 Establecimiento y diseño del experimento de enraizamiento .....	33
2.4.4.1 Establecimiento .....	33
2.4.4.2 Diseño experimental .....	35
2.4.4.3 Variables evaluadas .....	35
2.4.5 Análisis de datos .....	36
<b>2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>38</b>
2.5.1 Fertilización (morfología y producción de brotes).....	38
2.5.1.1 Altura y diámetro .....	38
2.5.1.2 Producción de brotes .....	39
2.5.2 Enraizamiento .....	41
2.5.2.1 Efecto de la auxina .....	41
2.5.2.1 Efecto del fertilizante.....	47
2.5.3 Interacción concentración de ácido indolbutírico con la dosis de fertilizante	50
<b>2.6 CONCLUSIONES .....</b>	<b>52</b>
<b>LITERATURA CITADA.....</b>	<b>53</b>
<b>CONCLUSIONES GENERALES .....</b>	<b>57</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Preparación de solución nutritiva en plantas madre de <i>P. hartwegii</i> .....	8
Figura 1.2. Trasplante de plantas madre de <i>P. hartwegii</i> a tubete forestal de 1 L de capacidad.....	9
Figura 1.3. Establecimiento del enraizado de estacas de <i>P. hartwegii</i> . a) Preparación de las concentraciones de auxina, b) Corte a las estacas para la aplicación de los tratamientos de AIB, c) Aplicación de (Captan® 1 g L <sup>-1</sup> ) a las estacas establecidas en cajas de enraizado de <i>P. hartwegii</i> .....	10
Figura 1.4. Experimento de enraizamiento de estacas de <i>Pinus hartwegii</i> , probando concentraciones de AIB en estacas de tres poblaciones. a) Cosecha de estacas después de 3 meses en cámara de enraizamiento, b) Estaca enraizada con varias raíces adventicias consideradas como principales en este experimento. ....	11
Figura 1.5. Estacas de <i>Pinus hartwegii</i> al final del experimento, probando concentraciones de AIB en estacas de tres poblaciones, con tres tipos de enraizamiento observados. a) Estaca viva, pero sin raíces, b) Estaca con raíz incipiente (flecha roja), c) Estaca enraizada. ....	12
Figura 1.6. Interacción entre las poblaciones y los niveles de auxina para la producción en número de raíces adventicias de <i>Pinus hartwegii</i> . CP= Cofré de Perote, Veracruz, MT= Monte Tláloc, Edo. de México, NT= Nevado de Toluca, Edo. de México, AIB= Ácido Indolbutírico. ....	18
Figura 2.1. Preparación de soluciones de fertilizante y fertilización por hidroponía a plantas madre de <i>P. hartwegii</i> .....	30
Figura 2.2. Poda basal en plantas madre de <i>P. hartwegii</i> a los ocho meses de edad. a) Brotes basales, b) Corte de brotes basales. ....	31
Figura 2.3. Poda apical de plantas madre de <i>P. hartwegii</i> para la obtención de brotes para el enraizado de estacas. ....	31
Figura 2.4. Establecimiento del experimento de enraizado de estacas de <i>P. hartwegii</i> , a partir de los brotes producidos por planta madre.....	32
Figura 2.5. Variables evaluadas en plantas madre de <i>P. hartwegii</i> . a) Medición de altura, b) Medición de diámetro, c) Brotes producidos por planta.....	33

Figura 2.6. Cosecha de brotes de plantas madre de <i>P. hartwegii</i> , desinfección y corte para su posterior enraizamiento. ....	34
Figura 2.7. Establecimiento de las estacas en las cámaras de enraizamiento.....	35
Figura 2.8. Variables evaluadas en el enraizado de estacas de <i>P. hartwegii</i> . a) Estaca enraizada con presencia de raíces secundarias, b) Estaca con presencia de raíz $\leq$ a 1 mm de longitud (círculo rojo), c) Estaca viva, sin presencia de raíz. ....	36
Figura 2.9. Altura (a) y Diámetro a base (b) de plantas madre de <i>Pinus hartwegii</i> tratadas con diferentes dosis de fertilizante durante un periodo de tres meses, las letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Las barras indican error estándar $\pm N= 24$ . ....	39
Figura 2.10. Producción de brotes de plantas madre de <i>Pinus hartwegii</i> tratadas con diferentes dosis de fertilizante durante un periodo de tres meses, las letras sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Las barras indican error estándar $\pm N= 24$ .....	40
Figura 2.11. Supervivencia de estacas de <i>Pinus hartwegii</i> con la aplicación de AIB con respecto al testigo. Las letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). ....	43
Figura 2.12. Estacas enraizadas de <i>Pinus hartwegii</i> con diferentes concentraciones de AIB. Las letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ )......	44
Figura 2.13. Estacas con callo de <i>Pinus hartwegii</i> con diferentes concentraciones de AIB. Las letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ )......	46
Figura 2.14. Estacas enraizadas de <i>Pinus hartwegii</i> con diferentes concentraciones de AIB. a) Número de raíces primarias y secundarias, b) Longitud de raíces secundarias. Las letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). ....	47
Figura 2.15. Interacción entre concentraciones de AIB y dosis de fertilizante en la longitud de raíces por estaca de <i>P. hartwegii</i> . AIB: Ácido indolbutírico. 50	

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.1. Ubicación geográfica de las tres poblaciones muestreadas de <i>Pinus hartwegii</i> .	7
Cuadro 1.2. Valores de significancia ( <i>P</i> ) obtenidos en el análisis de varianza para las variables registradas en el experimento de enraizamiento de estacas de tres poblaciones de <i>Pinus hartwegii</i> .	13
Cuadro 1.3. Valores medios ( $\pm$ error estándar) por dosis de AIB en las variables evaluadas en el experimento de enraizamiento de estacas de <i>Pinus hartwegii</i> .	14
Cuadro 1.4. Valores medios ( $\pm$ error estándar) de acuerdo con la procedencia en las variables evaluadas en el experimento de enraizamiento de estacas de <i>Pinus hartwegii</i> .	16
Cuadro 2.1. Valores de probabilidad ( <i>P</i> ) en el análisis de varianza en el enraizamiento de estacas de <i>Pinus hartwegii</i> .	38
Cuadro 2.2. Valores de significancia ( <i>P</i> ) en el análisis de varianza para las variables en el enraizamiento de estacas de <i>Pinus hartwegii</i> .	42
Cuadro 2.3. Valores medios (error estándar) por dosis de fertilizante para las variables en el enraizamiento de estacas de <i>Pinus hartwegii</i> .	49

## INTRODUCCIÓN GENERAL

*Pinus hartwegii* es una de las pocas especies que crecen en las mayores elevaciones sobre el nivel del mar, de hecho, estos bosques establecen el límite altitudinal de la vegetación arbórea en México a una altura que va desde los 2 500 a los 4 300 m (Campos, 1993). Estas poblaciones naturales se encuentran seriamente afectadas por factores naturales y antropogénicos, constituyendo hoy en día poblaciones reducidas, fragmentadas y aisladas entre sí (López, 1993; Iglesias-Andreu y Tivo-Fernández, 2006). Debido a la reducción de estas poblaciones se ha señalado que en algunas poblaciones hay alto porcentaje de semillas vacías y baja germinación (Iglesias *et al.*, 1999; Tivo e Iglesias, 2004; Iglesias *et al.*, 2005). Es importante resaltar que la especie presenta ciclos semilleros largos que van desde los cuatro a los siete años. *Pinus hartwegii* también cuenta con una etapa muy particular que se conoce como estado cespitoso, durante esta etapa al momento de germinar, las plantas se caracterizan por el desarrollo abundante de acículas primarias y secundarias sin la elongación internodal de la yema apical (Mirov, 1967; Caballero, 1967). Esta etapa puede prolongarse de tres a siete años, por lo que entran en competencia directa con el zacate y herbáceas anuales de rápido crecimiento y se nulifica su desarrollo.

Para los problemas antes mencionados existe la alternativa de propagar vegetativamente a la especie, esta técnica resulta viable ante la evidente escasez de semilla y abundantes semillas vacías. La propagación vegetativa es la producción de una planta nueva, a partir de una célula, un tejido, un órgano o parte de una planta a la cual se le denomina planta madre y se basa en el principio de totipotencia de las células, es decir, la capacidad de reproducir un organismo completo, gracias a que cada una de ellas contiene la totalidad de la información genética del individuo original (Liu *et al.*, 2012; Hartman *et al.*, 2014).

Existen distintas técnicas de propagación vegetativa que van desde diferentes técnicas de injerto, acodos, enraizamiento de estacas hasta cultivos de tejido *in vitro* en laboratorio (Henrique *et al.*, 2006; Martínez-Alonso *et al.*, 2012). En este contexto la técnica de enraizamiento de estacas resulta importante por su bajo costo (Capuana *et al.*, 2000), además que permite transferir características deseables como volumen, calidad de madera, rectitud de fuste y resistencia a plagas y enfermedades, que no se transmiten eficientemente a la descendencia por la vía sexual (Zobel y Talbert, 1984; Bettinger *et al.*, 2009).

Sin embargo, las especies de coníferas resultan difíciles de propagar por la vía del enraizamiento de estacas y más específicamente las especies de pinos debido a: estado de madurez de la planta madre, época de colecta de las estacas, tamaño de la estaca y diferentes condiciones ambientales, de sanidad y condiciones de crecimiento como la temperatura, luz, humedad, nutrientes (Regonezi *et al.*, 2010).

Uno de los factores a estudiar es la aplicación de reguladores de crecimiento. Se ha observado que el enraizado de estacas en coníferas y otras leñosas se favorece con la aplicación de auxinas exógenas, la auxina más utilizada para especies de difícil enraizamiento es el ácido indolbutírico (AIB), (Henrique *et al.*, 2006; Hunt *et al.*, 2011; Ruiz-García *et al.*, 2005), debido a que no es tóxico en una amplia gama de concentraciones; aunque no en todas las especies se requieren (Trueman y Rodger, 2006).

Otro aspecto fundamental es la nutrición de la planta madre, debido a que permite obtener mayor cantidad y calidad de brotes, afectando la predisposición al enraizamiento (Martínez-Alonso *et al.*, 2012; Kanmegne *et al.*, 2017). El nitrógeno es esencial en grandes cantidades porque los cambios en su disponibilidad inducen grandes variaciones en el rendimiento de las plántulas (Villar Salvador *et al.*, 2005). Sin embargo, estudios en coníferas se han enfocado en el efecto de la fertilización en el crecimiento en diámetro y altura de las plántulas en vivero (Oliet *et al.*, 2005; Hunt *et al.*, 2011; Lazcano *et al.* 2010) y poco se ha informado cómo influye en los procesos de enraizamiento de estacas (Monsalve *et al.*, 2009).

Por lo anterior, el presente trabajo se desarrolló en dos experimentos. En el primero, se evaluó el efecto del ácido indolbutírico (AIB) en el enraizamiento de estacas de tres poblaciones (Cofre de Perote, Monte Tláloc y Nevado de Toluca) de *Pinus hartwegii*. En el segundo capítulo, se determinó el efecto de la fertilización de las plantas donadoras de *Pinus hartwegii* en la producción de brotes, así como conocer la capacidad de respuesta al enraizamiento de las estacas cuando son tratadas con ácido indolbutírico (AIB).

# CAPÍTULO I. ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS DE *Pinus hartwegii* DE TRES POBLACIONES NATURALES

## 1.1 RESUMEN

La limitada producción de semilla de *Pinus hartwegii* requiere del uso de técnicas de propagación vegetativa para producir planta demandada para la reforestación y recuperación de sus muy reducidas poblaciones. Nada sobre propagación vegetativa de la especie se ha hecho, por lo que su capacidad para enraizar propágulos es desconocida. En este estudio se evaluó el enraizamiento de estacas de tres poblaciones de *P. hartwegii* (Nevado de Toluca, Monte Tláloc y Cofre de Perote), probando tres concentraciones de Ácido Indolbutírico (AIB) (0, 5 000 y 10 000 ppm). Estas se establecieron en cámaras de enraizamiento bajo un diseño de bloques al azar con arreglo factorial. La supervivencia, el número de estacas enraizadas, longitud y número de raíces primarias y secundarias se evaluaron después de 12 semanas. Independientemente del tratamiento de auxinas, altos porcentajes de estacas enraizadas se registraron. Con baja concentración de auxinas se amplificó y mejoró la respuesta al enraizamiento (96.6 %); mientras que la mayor concentración (10 000 ppm) causó toxicidad, reflejada en el decremento de supervivencia de las estacas 63.5 %. Aunque en supervivencia y enraizamiento no hubo variación entre poblaciones; las estacas del Nevado de Toluca tuvieron mayor supervivencia (> 90%) y mejor respuesta al enraizamiento (> 80 %), que las otras dos (Monte Tláloc y Cofre de Perote). Al final, el 100% de las estacas enraizadas sobrevivieron al trasplante. Se demostró que la multiplicación masiva a través del enraizamiento de estacas es factible para *P. hartwegii*, independientemente del genotipo y con apoyo de la aplicación de auxinas exógenas.

**Palabras clave:** Acido indolbutírico; propagación vegetativa; raíces adventicias; Pinos de alta montaña.

## 1.2 ABSTRACT

The limited seed production of *Pinus hartwegii* requires the use of vegetative propagation techniques to produce a plant demanded for reforestation and recovery of its very small populations. Nothing about vegetative propagation of the species has been done, so its ability to root propagules is unknown. In this study, the rooting of cuttings of three populations of *P. hartwegii* (Nevado de Toluca, Monte Tláloc and Cofre de Perote) was evaluated, testing three concentrations of Indolebutyric Acid (IBA) (0, 5 000 and 10 000 ppm). These were established in rooting chambers under a random block design with factorial arrangement. Survival, number of rooted cuttings, length and number of primary and secondary roots were evaluated after 12 weeks. Regardless of the auxin treatment, high percentages of rooted cuttings were recorded. With a low concentration of auxins, the response to rooting was amplified and improved (96.6%); while the higher concentration (10 000 ppm) caused toxicity, reflected in the decrease in survival of the cuttings 63.5%. Although in survival and rooting there was no variation between populations; the Nevado de Toluca cuttings had higher survival (> 90%) and better response to rooting (> 80%), than the other two (Monte Tláloc and Cofre de Perote). In the end, 100% of the rooted cuttings survived the transplant. Mass multiplication through cuttings rooting was shown to be feasible for *P. harwegii*, regardless of genotype and supported by the application of exogenous auxins.

**Keywords:** Indolebutyric acid; vegetative propagation; adventitious roots; High mountain pines.

### 1.3 INTRODUCCIÓN

*Pinus hartwegii* Lindl es una especie típica de las zonas templadas, confinada a los límites altitudinales (2 800 a 4 300 m) de la vegetación arbórea en México y muy importante en los servicios ecosistémicos de regulación (Farjón *et al.*, 1997). La especie tiene ciclos semilleros hasta de cinco años y en las últimas décadas su producción de semilla ha decrecido dramáticamente, lo cual se refleja en una limitada regeneración natural (Iglesias y Tivo, 2006). Algunos estudios señalan que la especie tendrá una disminución en su área de distribución de hasta el 80 %, con impacto negativo para su ecosistema (Gutiérrez y Trejo, 2014). Por lo que es necesario generar sistemas de producción de planta, en el corto plazo, para apoyar a los programas de reforestación y contribuir en su regeneración artificial.

La propagación vegetativa es una alternativa para incrementar el número de plantas producidas por semilla. El enraizamiento de mini-estacas es un método de propagación que ha dado buenos resultados en las especies de pino, pero es importante contar con buena producción de mini-estacas juveniles en la planta madre y adecuar el protocolo según la especie en cuestión (Majada *et al.*, 2011).

A pesar de su estado cespitoso, las plántulas de *P. hartwegii* desarrollan naturalmente ramillas basales con características juveniles y que pueden aprovecharse como mini-estacas. Además, estas ramillas también pueden ser inducidas en la plántula a través de podas periódicas programadas. Sin embargo, la capacidad de enraizamiento de estas ramillas es desconocida. En general, las especies del género *Pinus* son consideradas de difícil enraizamiento (Husen, 2004; Tarragó *et al.*, 2005).

Es deseable propagar genotipos de varias poblaciones de *P. hartwegii* y contar con germoplasma de cada localidad, ya que la variación genética entre poblaciones se debe considerar para evitar movimiento geográfico entre genotipos y afecte el éxito de la reforestación. Sin embargo, la respuesta al enraizamiento puede ser variable entre los propágulos de cada población, desde que se ha señalado que la inducción de las raíces adventicias depende en gran medida del genotipo, aun siendo de la misma especie (Hakamata *et al.*, 2015). Factores fisiológicos, genéticos y ambientales han sido estudiados en especies difíciles de enraizar (Wise y Caldwell, 1994; Thomas y Schiefelbein, 2002; Castrillón *et al.*,

2008), y se ha concluido que las auxinas exógenas incrementan la capacidad de enraizamiento de las estacas y que este incremento es variable según la concentración de la auxina usada en el genotipo o especie (Majada *et al.*, 2011; Sharma y Verma, 2011).

Aunque las auxinas endógenas participan directamente en la iniciación de la morfogénesis de las raíces adventicias (Ruíz-García *et al.*, 2005; Hunt *et al.*, 2011), en especies de difícil enraizamiento no es suficiente. Por lo que es necesario recurrir a la aplicación de auxinas sintéticas (Henrique *et al.*, 2006; Husen y Pal, 2007; Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016). El ácido indolbutírico (AIB) es la auxina más usada para inducir el enraizamiento de mini-estacas en especies forestales maderables (Husen, 2012; Cordeiro *et al.*, 2016). En pinos mexicanos, la efectividad del AIB en el enraizamiento de estacas fue comprobada en investigaciones realizadas con *Pinus leiophylla* (Schiede ex Schltdl. *et* Cham.) y *Pinus patula* (Schiede ex Schltdl. *et* Cham.), pero la concentración óptima de AIB dependió de la especie (Cuevas-Cruz *et al.*, 2015; Aparicio-Rentería *et al.*, 2014).

Para *P. hartwegii* no existe información sobre propagación vegetativa, por lo que es importante investigar su capacidad de respuesta al enraizamiento de estacas y proponer estrategias de producción de planta para reforestación y conservación de las poblaciones de esta especie. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del ácido indolbutírico (AIB) en el enraizamiento de estacas procedentes de tres poblaciones (Cofre de Perote, Monte Tláloc y Nevado de Toluca) de *Pinus hartwegii*. Con la hipótesis de que el AIB incrementará el enraizamiento de manera similar en las estacas de las tres poblaciones consideradas, desde que el AIB ha sido la auxina más efectiva para enraizar estacas en las especies forestales maderables hasta ahora probadas, particularmente en especies de pino.

## 1.4 MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó en el invernadero del Posgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicado entre las coordenadas geográficas 19° 27' 34.8" LN y 98° 54' 15.8" LO, a una altitud de 2249 m, en el Municipio de Texcoco, Estado de México.

Las semillas utilizadas en este experimento para la producción de la planta madre fue recolectada en tres poblaciones naturales de *Pinus hartwegii*: 1) Monte Tlálloc, Estado de México; 2) Nevado de Toluca, Estado de México y 3) Cofre de Perote, Veracruz (Tabla 1.1).

**Cuadro 1.1.** Ubicación geográfica de las tres poblaciones muestreadas de *Pinus hartwegii*.

Población	Altitud (msnm)	Coordenadas
Monte Tlálloc	3 700	19°24' 52.11'' LN 98°44' 29.66'' LO
Nevado de Toluca	4 000	19°07' 25.66'' LN 99°46' 43.77'' LO
Cofre de Perote	3 800	19°30' 19.42'' LN 97°09' 31.37'' LO

La recolección se realizó durante diferentes periodos de tiempo, en árboles libres de plagas y enfermedades, pero sin considerar la distancia entre árboles, debido a los pocos individuos con presencia de conos en los rodales muestreados. Los conos fueron trasladados al laboratorio para la extracción y separación de las semillas llenas y vacías.

### 1.4.1 Producción de planta

Previo a su recolección, las semillas fueron sometidas a un tratamiento pre-germinativo y de desinfección, esto con propósito de estimular y homogeneizar la germinación, así como eliminar posibles barreras naturales presentes. En este tratamiento, las semillas se

sumergieron, en una solución elaborada con agua oxigenada al 0.3 % e hipoclorito de sodio comercial (Cloralex®) al 2 %, durante un periodo de 24 horas.

#### 1.4.2 Producción y manejo de planta madre

La siembra se realizó en contenedores de 310 ml, colocando una semilla por tubete en sustrato previamente esterilizado, conformado por peat moss, agrolita y vermiculita (3:1:1 v/v) al cual se agregó un fertilizante de liberación controlada, Multicote™ utilizando 4 g L<sup>-1</sup> de sustrato y con un periodo de efecto de cuatro meses. Semanalmente se realizaron aplicaciones de fungicida (Captan® 2 g L<sup>-1</sup>) para evitar la contaminación de la planta madre.

Las plantas se mantuvieron en condiciones de invernadero, con riegos proporcionados tres veces por semana y fertilizadas con el fertilizante comercial Peters™ (macro y micro nutrientes a base de nitrógeno, fósforo y potasio en proporciones de 10-30-20, respectivamente, aplicado cada 15 días, en una concentración de 1 g L<sup>-1</sup> y ajustando a pH de 5.5 (Figura 1.1).



**Figura 1.1.** Preparación de solución nutritiva en plantas madre de *P. hartwegii*

Pasados los cuatro meses, los setos se trasplantaron a contenedores de 1 L para permitir un mejor desarrollo y crecimiento de la raíz y de la planta en general (Figura 1.2). La frecuencia de riego y fertilización fue la misma, pero para este caso se usó la proporción 20-20-20, del

mismo fertilizante, recomendada para la fase de desarrollo de la planta, con una concentración de  $1.5 \text{ g L}^{-1}$  y pH de 5.5.



**Figura 1.2.** Trasplante de plantas madre de *P. hartwegii* a tubete forestal de 1 L de capacidad.

### 1.4.3 Establecimiento del experimento

El experimento de enraizado de estacas se inició el 15 de octubre de 2019 cuando las plantas madre o donadoras de estacas cumplieron los 9 meses de edad y presentaban un promedio de 6 ramas basales con longitud mayor a 5 cm.

Las ramas basales consideradas como esquejes, se recolectaron con un bisturí, evitando dañar la planta. Enseguida, la zona de corte de la planta madre fue limpiada con la aspersión de una solución de fungicida (Captan®  $1 \text{ g L}^{-1}$ ), con el fin de evitar contaminaciones. Una vez obtenidas, las estacas se sumergieron en la misma solución de Captan® ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ) y permanecieron en agitación manual constante durante cinco minutos. Finalmente, las estacas fueron extraídas de la solución y se les realizó un corte de forma diagonal en la base, donde se aplicó la auxina, ácido indolbutírico Radix® (producto comercial en polvo) (Figura 1.3 a). Cada estaca tuvo una longitud de entre 5 y 8 cm, teniendo área disponible para ser enterrada en el sustrato, a profundidad de 3 cm desde la base de la estaca (Figura 1.3 b).



**Figura 1.3.** Establecimiento del enraizado de estacas de *P. hartwegii*. a) Preparación de las concentraciones de auxina, b) Corte a las estacas para la aplicación de los tratamientos de AIB, c) Aplicación de (Captan® 1 g L<sup>-1</sup>) a las estacas establecidas en cajas de enraizado de *P. hartwegii*.

El sustrato empleado para el enraizamiento consistió en una mezcla de agrolita, vermiculita y peat moss en relación 3:1:1; previamente fue esterilizado en una cámara de vapor. El sustrato fue colocado en una cámara de enraizado, construida con madera y láminas de polietileno, las cuales fueron lavadas y asperjadas previamente con fungicida Captan® (1 g L<sup>-1</sup>). Antes de enterrar las estacas, el sustrato fue regado por aspersión hasta saturación y la humedad relativa de la cámara se monitoreo eventualmente con un sensor data logger HOBO®, registrando intervalos entre 80 y 90 % durante todo el experimento.

Posteriormente al establecimiento de las estacas se aplicó fungicida (Captan® 1 g L<sup>-1</sup>) e insecticida (Engeo® 1 ml L<sup>-1</sup>) periódicamente para evitar contaminación o ataque de plagas en los esquejes (Figura 1.3 c).

#### 1.4.4 Diseño experimental.

Para este estudio se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con arreglo factorial 3×3; el factor auxina con tres niveles (0, 5 000 y 10 000 ppm) y el factor población con niveles (Cofre de Perote, Monte Tláloc y Nevado de Toluca), el experimento

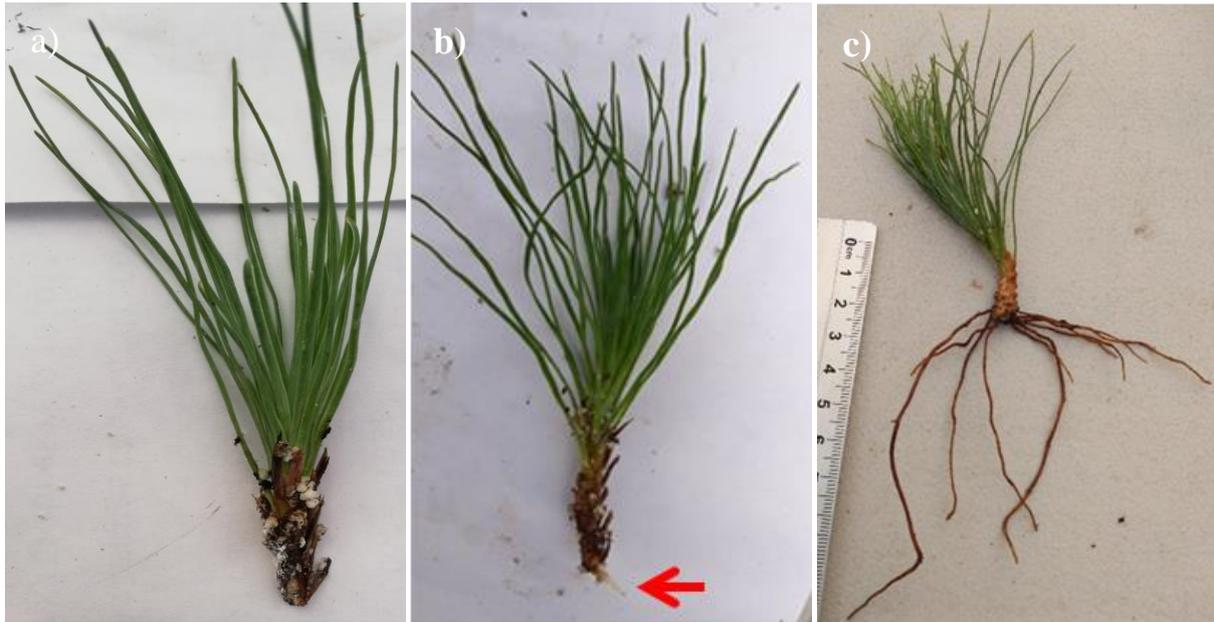
fue replicado cuatro veces y se tuvieron 8 estacas por unidad experimental, por lo que se usaron un total de 288 estacas.

La evaluación se realizó a las 12 semanas después de haber establecido el experimento (Figura 1.1 a), las variables a evaluar fueron: estacas vivas (%), estacas enraizadas (%), número y longitud de raíces primarias y número de raíces secundarias (Figura 1.1 b). Se consideró como una estaca enraizada cuando había presencia de raíz mayor o igual a 1 mm de longitud; mientras que la estaca muerta se consideró cuando había necrosis (color negro), sin presencia alguna de raíz.



**Figura 1.4.** Experimento de enraizamiento de estacas de *Pinus hartwegii*, probando concentraciones de AIB en estacas de tres poblaciones. a) Cosecha de estacas después de 3 meses en cámara de enraizamiento, b) Estaca enraizada con varias raíces adventicias consideradas como principales en este experimento.

A cada estaca enraizada se le contó el número y longitud de raíces primarias y el número de raíces secundarias (Figura 1.2 b y c); mientras que las estacas que no enraizaron, pero no sufrieron desecación se le consideró como estacas vivas sin raíces (Figura 1.2 a).



**Figura 1.5.** Estacas de *Pinus hartwegii* al final del experimento, probando concentraciones de AIB en estacas de tres poblaciones, con tres tipos de enraizamiento observados. a) Estaca viva, pero sin raíces, b) Estaca con raíz incipiente (flecha roja), c) Estaca enraizada.

#### 1.4.5 Análisis estadístico

En el análisis estadístico se utilizaron los valores promedio por unidad experimental de la supervivencia y enraizamiento (%) con el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS, versión 9.3. Las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el siguiente modelo lineal:

$$y_{ijk} = \mu + \beta_k + A_i + P_j + AP_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde,  $\mu$  es la media general,  $\beta_k$  es el efecto del bloque,  $A_i$  es el efecto concentración de  $i$  en el factor auxina (tres niveles),  $P_j$  es el efecto del nivel de  $j$  en el factor procedencia (tres niveles),  $AP_{ij}$  es interacción A\*P, correspondiente al nivel  $i$  de A y nivel  $j$  de P,  $\varepsilon_{ijk}$  error experimental correspondiente al bloque  $k$  del nivel  $i$  de A al nivel  $j$  de P,  $i=1, 2, \dots, a$  número de niveles del factor A,  $j=1, 2, \dots, b$  número de niveles del factor P,  $k=1, 2, \dots, r$  número de bloques para cada A\*P.

## 1.5 RESULTADOS

El análisis de varianza mostró efecto significativo del AIB ( $P < 0.05$ ) para todas las variables consideradas, excepto para la longitud de raíces primarias; mientras que el factor procedencia únicamente mostró diferencias para el número de raíces primarias y secundarias. Por otro lado, la interacción entre los dos factores probados solo fue significativa para el número de raíces secundarias (Cuadro 1.2).

**Cuadro 1.2.** Valores de significancia ( $P$ ) obtenidos en el análisis de varianza para las variables registradas en el experimento de enraizamiento de estacas de tres poblaciones de *Pinus hartwegii*.

FV	Supervivencia (%)	Enraizamiento (%)	Número de raíces		Longitud RP
			Prim.	Sec.	
AIB	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*	0.0005*	0.0950 ns
Proc	0.2625 ns	0.1333 ns	0.0004*	0.0239*	0.7822 ns
AIB*Proc	0.1166 ns	0.9841 ns	0.3761 ns	0.005968*	0.3876 ns

\*Con diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ). ns= No significativo, FV= Fuente de variación, Proc= Procedencia, AIB= Ácido indolbutírico, Prim= Primarias, Sec= Secundarias, RP= Raíces primarias.

### 1.5.1 Efecto de la concentración de auxina

El tratamiento con la concentración de 10 000 ppm de AIB causó un decremento en la supervivencia de las estacas de aproximadamente 35 %, con respecto a las estacas tratadas con concentraciones de 5 000 y 0 ppm de AIB; las cuales mostraron similares porcentajes de supervivencia, con solo una mortalidad menor al 5 % (Cuadro 1.3).

Respecto a la inducción y producción de raíces adventicias, las estacas sometidas al tratamiento 5 000 ppm de AIB tuvieron la mejor respuesta a la generación de raíces, ya que incrementaron significativamente el porcentaje de estacas con raíz en más del 47 %, respecto al tratamiento testigo; y aunque sin significancia estadística en 8 % en relación con las tratadas con 10 000 ppm de AIB (Cuadro 1.3).

Por otro lado, la presencia de AIB en las estacas promovió de manera importante la formación de raíces de primer y segundo orden. Las de primer orden tuvieron la mayor producción con 10 000 ppm de AIB, incrementando en 25 y 70 % la producción, en relación a las del tratamiento de 5 000 y 0 de AIB, respectivamente. La producción de las de segundo orden fue similar entre los tratamientos de auxina, los cuales registraron 46 % más raíces que las estacas testigo (Cuadro 1.3).

La longitud de la raíz principal no fue afectada por los tratamientos; aunque ligera reducción, no significativa, de aproximadamente 14 % se observó en las estacas tratadas con 10 000 ppm de AIB, respecto a las de los otros dos tratamientos (Cuadro 1.3). En general las raíces presentaron un buen vigor, forma y tamaño (mayor de 7 cm) requeridos para su trasplante a contenedor.

**Cuadro 1.3.** Valores medios ( $\pm$  error estándar) por dosis de AIB en las variables evaluadas en el experimento de enraizamiento de estacas de *Pinus hartwegii*.

AIB (ppm)	Supervivencia (%)	Enraizamiento (%)	Número de raíces		Longitud RP (cm)
			Prim.	Sec.	
0	98.9 $\pm$ 1.0 a	49.4 $\pm$ 3.81 b	2.7 $\pm$ 0.4 c	19.5 $\pm$ 2.9 b	9.4 $\pm$ 0.7 a
5 000	96.9 $\pm$ 2.2 a	93.3 $\pm$ 2.99 a	7.3 $\pm$ 0.8 b	36.7 $\pm$ 4.7 a	9.2 $\pm$ 0.4 a
10 000	64.6 $\pm$ 6.5 b	85.3 $\pm$ 6.7 a	9.8 $\pm$ 0.63 a	31.7 $\pm$ 2.1 a	7.1 $\pm$ 0.4 a

AIB= Ácido Indolbutírico, Prim= Primarias, Sec= Secundarias, Longitud RP= Longitud de raíces primarias.

El decremento en la supervivencia en las estacas de *P. hartwegii* indicó cierto grado de sensibilidad a altas concentraciones de AIB; ya que en otras especies como *Pinus patula*, las concentraciones mayores de 8 000 ppm de esta auxina no afectaron la supervivencia de las estacas y respondieron favorablemente con la formación de raíces (Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016). Aunque el AIB es la auxina sintética ideal para trabajos de enraizamiento, por su baja movilidad, estabilidad y sobre todo baja toxicidad (Tilahun *et al.*, 2018); también puede resultar tóxica en concentraciones altas para algunas especies y tipo de propágulo (De Bona *et al.*, 2012). De acuerdo con nuestros resultados, para evitar daño y muerte de las estacas de *P. hartwegii* no se recomienda el uso de concentraciones de AIB de 10 000 ppm.

Sin embargo, la capacidad promotora del AIB en la inducción de raíces adventicias en las estacas fue evidente con el tratamiento de 5 000 ppm de AIB. Concentración ideal para la especie ya que no se afectó la supervivencia y se logró amplificar la repuesta de las estacas durante la morfogénesis de las raíces adventicias. Al margen de la respuesta al AIB, se debe señalar que las estacas de *P. hartwegii* mostraron tener buena capacidad para enraizar sin el uso de auxinas, lo cual contrasta con otros pinos, como en *Pinus halepensis* (Miller) que reportaron porcentajes de solo 4 % cuando las estacas no son tratadas con AIB (Riov *et al.*, 2020); mientras que para otros pinos mexicanos no han alcanzado más del 30 % (Cuevas-Cruz *et al.*, 2015; Rivera *et al.*, 2016). Aun así, considerando la adecuada concentración, el uso de AIB se debe implementar en los trabajos de enraizamiento de estacas de *P. hartwegii*.

Además, en este trabajo se confirmó que el AIB mejora la producción de raíces primarias y secundarias; efecto que ha sido consistente en las estacas de varias especies forestales maderables, tanto en coníferas como en latifoliadas (Bielenin, 2003). En investigaciones con especies de pino y eucalipto, el AIB estimuló la producción de mayor número de raíces y de otros atributos relacionados con la morfología de la raíz (Navarrete-Luna y Vargas-Hernández, 2005; Majada *et al.*, 2011). Se ha mencionado que el AIB incrementa y mejora el transporte basipétalo de asimilados, hacia sitios de alta demanda, promoviendo el incremento en el número de raíces (Salmi y Hesami, 2016). La producción de raíces de primer y segundo orden en las estacas es muy importante ya que le proporciona mayor superficie de captación de agua y translocación de nutrientes, lo que evita que mueran y mejora el crecimiento y desarrollo de la planta (Davis y Jacobs, 2005). Por tanto, entre más pronto se formen las raíces más oportunidad tendrán las estacas de sobrevivir y conformar una planta completa.

Aunque en algunos trabajos, sobre enraizamiento de estacas, se ha señalado que el AIB si influye en el crecimiento en longitud de la raíz principal (Santelices y García, 2003); en el presente trabajo no hubo diferencias para esta variable en ninguno de los tratamientos de AIB aplicados. Sin embargo, las estacas que lograron enraizar presentan una raíz bien formada y con tamaño óptimo (mayor de 9 cm), para desarrollar las funciones que le permitan a la planta sobrevivir durante la fase de vivero y el establecimiento inicial en condiciones de campo. Es común que las estacas desarrollen más de tres raíces adventicias, de las cuales ninguna adquiere el papel de raíz principal (Cuevas-Cruz *et al.*, 2015). Ventajas o desventajas de este

aspecto debe ser evaluado tanto después del trasplante de la estaca enraizada a contenedor como en la plantación en campo a mediano y largo plazo.

### 1.5.2 Efecto de la procedencia

La supervivencia, enraizamiento y longitud de la raíz principal de las estacas no tuvieron variación estadísticamente significativa entre las tres poblaciones; a diferencia de la producción de raíces de primer y segundo orden (Cuadro 1.4). Entre las procedencias la supervivencia de las estacas estuvo arriba del 80 %, con los mayores porcentajes para la del Nevado de Toluca. De manera similar para las estacas enraizadas que alcanzaron porcentajes por arriba del 75 %; y también para la longitud de raíz que siempre mantuvieron un tamaño mayor a los 8 cm (Cuadro 1.4).

En la producción de raíces de primer y segundo, las estacas del Cofre de Perote incrementaron la producción de las de primer orden en más de 30 %, pero disminuyeron su producción en las de segundo orden en más del 25 %, con respecto a las otras dos procedencias (Cuadro 1.4).

**Cuadro 1.4.** Valores medios ( $\pm$  error estándar) de acuerdo con la procedencia en las variables evaluadas en el experimento de enraizamiento de estacas de *Pinus hartwegii*.

Proc.	Supervivencia (%)	Enraizamiento (%)	Número de raíces		Longitud RP (cm)
			Prim.	Sec.	
NT	91.7 $\pm$ 3.8 a	80.3 $\pm$ 6.2 a	6.0 $\pm$ 0.8 b	32.8 $\pm$ 4.2 a	8.3 $\pm$ 0.6 a
MT	83.3 $\pm$ 6.9 a	80.7 $\pm$ 6.0 a	5.3 $\pm$ 0.9 b	32.3 $\pm$ 4.1 ab	8.9 $\pm$ 0.8 a
CP	85.4 $\pm$ 7.0 a	66.9 $\pm$ 9.0 a	8.5 $\pm$ 1.3 a	22.8 $\pm$ 2.9 b	8.5 $\pm$ 0.6 a

Proc= Procedencia, NT= Nevado de Toluca, MT= Monte Tláloc, CP= Cofre de Perote, Prim= Primarias, Sec= Secundarias, RP= Raíces primarias.

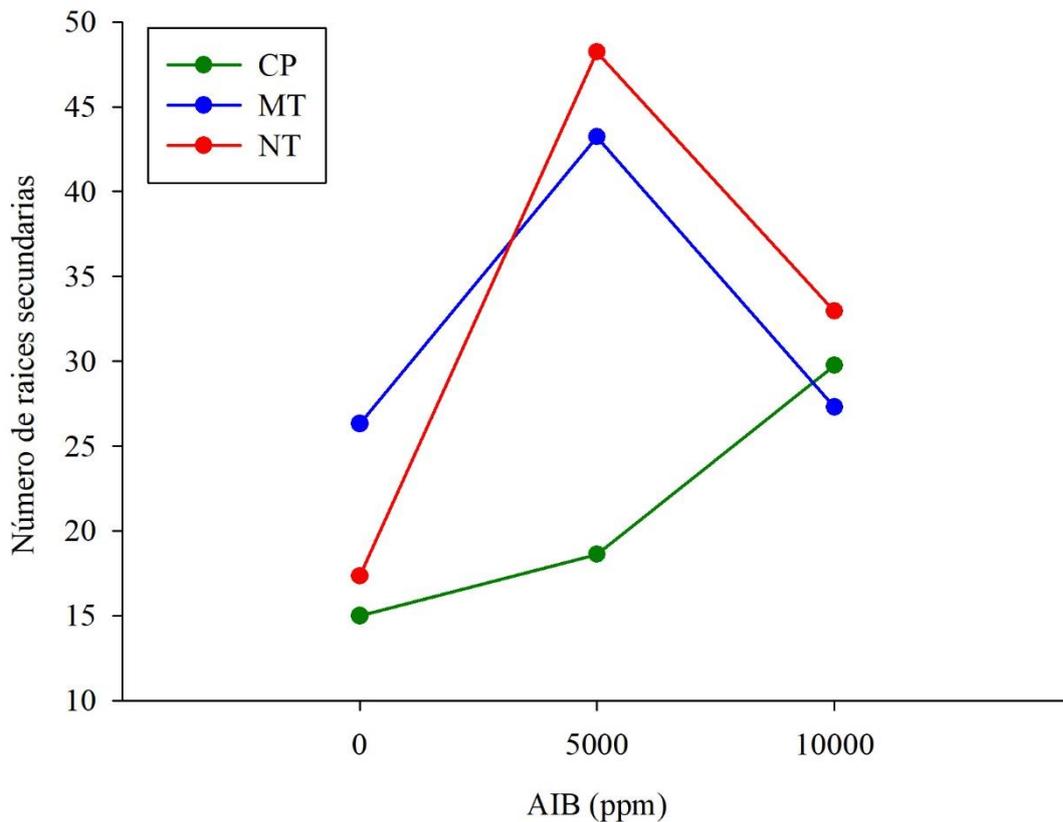
La falta de variación entre las poblaciones, respecto a los porcentajes de supervivencia y de estacas enraizadas, probablemente se debe a la calidad de las estacas producidas en las plantas donadoras. Todas las plantas fueron manejadas con el mismo régimen de riegos y fertilización. Por lo que la calidad de la estaca estaría determinando el éxito en el enraizamiento y en consecuencia de su supervivencia. Es altamente deseable que el proceso

de enraizamiento se lleve a cabo lo más rápido posible, ya que entre más tiempo permanezca la estaca sin raíz, existe mayor probabilidad de morir. Por otro lado, *Pinus hartwegii* presenta un marcado estado cespitoso durante su ontogenia temprana, como adaptación a los incendios. Se ha documentado ampliamente que las especies de pino que presentan este estado, acumulan gran cantidad de sustancias de reserva, particularmente en la zona del cuello de raíz (Paula *et al.*, 2016). Durante el proceso de enraizamiento, la supervivencia de la estaca depende de los factores ambientales y de las sustancias de reserva, como los carbohidratos. Para este estudio, estacas basales cercanas al cuello de raíz fueron usadas. Por lo que es muy probable que tanto el manejo y el origen de las estacas en la planta donadora hayan influido en la concentración de carbohidratos contenidos en los tejidos de las estacas, beneficiando su supervivencia y enraizamiento, independientemente del efecto de la procedencia. Sin embargo, es necesario hacer más investigación sobre la presencia de carbohidratos en las estacas y su relación con el desarrollo las raíces adventicias en esta especie.

Por otro lado, la variación observada en la formación de raíces primarias y secundarias entre poblaciones podría ser una compensación de la planta, ya que con menor número de raíces primarias se desarrollan más raíces secundarias y viceversa (Nascimento *et al.*, 2019). Las estacas de la población del Cofre de Perote tuvieron mejor respuesta en la producción de raíces primarias; mientras que las del Nevado de Toluca y Monte Tláloc lo fueron para las raíces secundarias. Algunos estudios han señalado que la producción de raíces en las estacas es muy variable y depende de la calidad de la estaca y del genotipo, inclusive la variación es común entre estacas provenientes de la misma población (Aparicio-Rentería *et al.*, 2014). Esta respuesta se ha mencionado en otras coníferas, incluso entre clones; donde se argumenta que se debe a los diferentes niveles de recalcitrancia al enraizamiento existentes entre genotipos (De Oliveira *et al.*, 2019).

### **1.5.3 Interacción entre AIB y procedencia**

Solo en la producción de raíces secundarias se presentó interacción entre los dos factores. Las estacas de las tres poblaciones tratadas con 10 000 ppm de AIB tuvieron una respuesta contrastante en su producción de raíces secundarias. Las correspondientes al Monte Tláloc y Nevado de Toluca decrecieron; mientras que las de Cofre de Perote incrementaron (Figura 1.6).



**Figura 1.6.** Interacción entre las poblaciones y los niveles de auxina para la producción en número de raíces adventicias de *Pinus hartwegii*. CP= Cofré de Perote, Veracruz, MT= Monte Tlálloc, Edo. de México, NT= Nevado de Toluca, Edo. de México, AIB= Ácido Indolbutírico.

La interacción detectada entre factores para la producción de raíces secundarias demuestra la variación en sensibilidad al AIB (10 000 ppm) entre poblaciones. Algunos autores han indicado que el uso de altas concentraciones de AIB induce la síntesis de etileno, el cual puede inhibir el desarrollo de raíces adventicias; dependiendo de la especie, genotipo y sensibilidad del tejido (Veloccia *et al.*, 2016; Ritterbusch *et al.*, 2020). Esto puede explicar en parte la causa del decremento observado en las raíces secundarias de las estacas del Monte Tlálloc y Nevado de Toluca, con respecto al efecto contrario de las del Cofre de Perote. No obstante, el número de raíces secundarias alcanzado, con la concentración de 10 000 ppm de AIB, fue similar entre las poblaciones.

Sin embargo, es probable que esta diferencia cambie y no afecte el desarrollo y crecimiento de la planta durante su permanencia en el contenedor (tubete o bolsa), previo a su establecimiento en condiciones de campo. Por lo que se considera continuar la evaluación de las plantas en las fases siguientes, ya que este sistema de raíces tiene gran relevancia en la aclimatación a los sitios con nuevas condiciones de crecimiento para las plántulas durante la reforestación (Pernot, *et al.*, 2019).

#### **1.5.4 Trasplante de estacas enraizadas.**

A pesar de las diferencias señaladas en la morfología de la raíz de las estacas a causa del AIB y la población; a los dos meses del trasplante a tubete las plántulas mostraron el 100 % de supervivencia y en los siguientes tres meses solo una mortalidad de 3 % se registró, sin que estuviera relacionada con las características de la raíz.

Las diferencias en la morfología de la raíz de las estacas no influyeron en la supervivencia de la plántula durante los primeros 6 meses. Lo cual indica la buena calidad y funcionalidad de las raíces adventicias formadas en las estacas. Sin embargo, es necesario, continuar la evaluación de su crecimiento y sobre todo analizar su establecimiento y desempeño en condiciones de campo, para complementar la información y proponer el uso de esta técnica en la producción de planta de *P. hartwegii*.

## 1.6 CONCLUSIONES

Las estacas de *P. hartwegii* mostraron una alta capacidad de generar raíces adventicias, con y sin la aplicación de AIB; aunque el uso de auxina, en concentración de 5 000 ppm, amplificó y mejoró la respuesta al enraizamiento. Sin embargo, en esta especie se debe tener cuidado el uso de AIB en concentración de 10 000 ppm, por su efecto negativo causado en la supervivencia de las estacas.

La capacidad de enraizamiento de las estacas de *P. hartwegii* es similar entre las procedencias (población) probadas, por lo que el origen de la estaca no es determinante para el desarrollo y crecimiento de la raíz; aunque se hayan encontrado ligeras diferencias en la producción de raíces primarias y secundarias. En particular, la producción de raíces secundarias responde diferencialmente según la interacción del nivel de AIB y procedencia.

La propagación a través del enraizado de estacas es posible en *P. hartwegii*. Sin embargo, la evaluación en campo de la planta producida vegetativamente será importante para determinar la factibilidad de la técnica y apoyar la producción de planta de *Pinus hartwegii* de manera masiva.

## 1.7 LITERATURA CITADA

- Aparicio-Rentería A., S. F. Juárez-Cerrillo y L. R. Sánchez-Velásquez. (2014). Propagación por enraizamiento de estacas y conservación de árboles plus extintos de *Pinus patula* procedentes del norte de Veracruz, México. *Madera y Bosques* 20:85-96.
- Arriaga L., L Gómez. (2004). Posibles efectos del cambio climático en algunos componentes de la biodiversidad de México. In: Martínez J. y A. Fernández-Bremauntz (comps.). Cambio Climático: una Visión desde México. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT. México, D. F. pp: 255-265.
- Bielenin M. (2003). Rooting and gas exchange of conifer cuttings treated with indolbutyric acid. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 11:99-105.
- Caballero, D M. (1967). Efectos del tamaño de semilla y de tres tipos de sustrato en la germinación y desarrollo inicial de *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana* (Mtz.) IINIF. Bol. Téc. No. 23. 27 p.
- Campos J L. (1993). Claves para la determinación de los pinos mexicanos. Universidad Autónoma Chapingo, México 22:70 p.
- Castrillon J C., E Carvajal, G Ligarreto, S Magnitskiy. (2008). El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes sustratos. *Agronomia. Colombiana*. 26: 16-22.
- Cordeiro I M., O. Lameira, F. Oliveira, I. Wendling. (2016). Enraizamiento de estacas juveniles de *Bertholletia excelsa* con diferentes concentraciones de ácido Indolbutírico. *Agrociencia*, 50(2), 227-238. Consultado 10 de jun. 2020. Disponible en [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S140531952016000200227&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140531952016000200227&lng=es&tlng=es).
- Cuevas-Cruz J C, Jiménez-Casas M, Jasso-Mata J, Pérez-Rodríguez P, López-Uptón J, y Villegas-Monter A. (2015). Asexual propagation of *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 21(1), 81–95. doi: 10.5154/r.rchscfa.2014.08.033
- Davis AS, Jacobs, DF (2005). Cuantificación de la calidad del sistema de raíces de las plántulas de vivero y la relación con el rendimiento de la plantación. *Nuevos bosques*, 30, 295-311. doi: 10.1007 / s11056-005-7480-y.
- Farjon A, Pérez de la Rosa J A, Styles BT. 1997. Una guía de campo de los pinos de México y Centroamérica Kew Publishing, Royal Botanical Garden, Oxford.
- Gutiérrez E, Trejo I. (2014). Efecto del cambio climático en la distribución potencial de cinco especies arbóreas de bosque templado en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 179–188.

- Henrique A, E Nogueira C, E Orika O, S Zambello de P. (2006). Effect of plant growth regulators in the rooting of *Pinus* cuttings. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49:189-196.
- Hunt M A, S J Trueman, A Rasmussen. (2011). Indole-3-butyric acid accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliottii* var. *elliottii* and *P. caribaea* var. *hondurensis* cuttings. *New Forests* 41:349-360.
- Husen A. (2004). Clonal propagation of *Dalbergia sissoo* Roxb. By softwood nodal cuttings: Effects of genotypes, application of IBA and position of cuttings on shoots. *Silvae Genetica*. 53:50-55.
- Husen A, Pal M. (2007). Effect of branch position and auxin treatment on clonal propagation of *Tectona grandis* Linn. f. *New Forests* 34, 223-233
- Husen A. (2012). Changes of soluble sugars and enzymatic activities during adventitious rooting in cuttings of *Grewia optiva* as affected by age of donor plants and auxin treatments. *Am. J. Plant. Physiology*. 7: 1-16.
- Iglesias L, Tivo F Y. (2005). Contribución al manejo de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote. *Agroentorno*. Funprover, Fundación Produce Veracruz. 61(8):16–17.
- Iglesias A L G, Tivo F Y. (2006). Caracterización morfométrica de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Ra Ximhai*, 2, 449–468. Consultado 5 de jun. 2020. Disponible en <http://www.revistas.unam.mx/index.php/rxm/article/view/6883>.
- Kórner, C. y Paulsen, J. (2004). Un estudio mundial de las temperaturas de la línea de árboles a gran altitud. *Journal of Biogeography*, 31, págs. 713 – 732
- López, J. (1993). Variación de características morfológicas en conos y semillas de *Pinus greggii*. *Agrociencia*. Serie Recursos Naturales Renovables. Montecillo, México. 1(3):81-95.
- Majada J, C Martínez-Alonso, I Feito, A Kidelman, I Aranda, R. Alia. (2011). Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 41:399-412.
- Mirov N T. (1967). The genus *Pinus*. New York: The Ronald Press Company. 602 p.
- Navarrete-Luna M, Vargas-Hernández J J. (2005). Propagación asexual de clones de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. utilizando radix en diferentes concentraciones. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 11(2), 111–116. Consultado 25 de may. 2020. Disponible en <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62911206>

- Pernot C, Thiffault N, DesRochers A. (2019). Influence of Root System Characteristics on Black Spruce Seedling Responses to Limiting Conditions. *Plants*, 8 (70) 1-17.
- Perry J P. (1991). *The Pines of Mexico and Central America*. Timber Press. Portland, Oregon, USA. 231 p.
- Ricker M, G Gutiérrez-García, D C Daly. (2007). Modeling long-term tree growth curves in response to warming climate: test cases from a subtropical mountain forest and a tropical rainforest in México. *Canadian Journal of Forest Research* 37: 977-989.
- Rivera-Rodríguez Moisés O, J J Vargas-Hernández, J López-Upton, A Villegas-Monter y M Jiménez-Casas. (2016). Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, vol.39, n.4, pp.385-392. ISSN 0187-7380
- Ruiz-García R, J J Vargas-Hernández, V M Cetina-Alcalá y A Villegas-Monter. (2005). Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28:319-326.
- Sáenz-Romero C, G E Rehfeldt, N L Crookston, P Duval, R St-Amant, J Beaulieu, B A Richardson. (2010). Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climates for Mexico and their use in understanding climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change* 102: 595-623.
- Salmi M S, Hesami M. (2016). Time of collection, cuttingages, auxin types and concentrations influence rooting *Ficus religiosa* L. stem cuttings. *J. Appl. Environ. Biological Sciences*. 6: 124–132.
- Sampayo-Maldonado S, M Jiménez-Casas, J López-Upton, V Sánchez-Monsalvo, J Jasso-Mata, A Equihua-Martínez, C R Castillo-Martínez. (2016). ENRAIZADO DE MINIESTACAS DE *Cedrela odorata* L. *Agrociencia*, 50 (7), 919-929. ISSN: 1405-3195. Consultado 20 de may. 2020. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=302/30248292011>
- Santelices, Romulo, Garcia, Cecilia. (2003). Efecto del ácido indolbutírico y la ubicación de la estaca en el rebrote de tocón sobre la rizogénesis de *Nothofagus alessandrii* Espinosa. *Bosque* (Valdivia), 24(2), 53-61.
- Sharma S K, Verma S K. (2011). Seasonal influences on the rooting response of Chir pine (*Pinus roxburghii* Sarg.). *Annals of Forest Research*, 54(2), 241–247.
- Tarrago J, P Sansberro, R Filip, P López, A González, C Luna, L Mroginski. (2005). Effect of leaf retention and flavonoids on rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings. *Scientia Horticulturae* 103: 479-488.
- Thomas P, J Schiefelbein. (2002). Cloning and characterization of an actin depolymerizing factor gene from grape (*Vitis vinifera* L.) expressed during rooting in stem cuttings. *Plant Science* 162: 283-288.

- Trueman S J, F P Rodger. (2006). Propagation of Wollemi pine from tip cuttings and lower segment cuttings does not require rooting hormones. *Scientia Horticulturae* 109:394-397.
- Viveros-Viveros H, C Sáenz-Romero, J J Vargas-Hernández, J López-Upton, G Ramírez-Valverde, A Santacruz-Varela. (2009). Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl: I. Height growth, shoot phenology and cold damage in seedlings. *Forest Ecology and Management*. 257: 836-842.
- Viveros-Viveros H, Tapia-Olivares B, Sáenz-Romero C, Vargas-Hernández, J, López-Upton J, Santacruz-Varela A. (2010). Variación isoenzimática de *Pinus hartwegii* Lindl. en un gradiente altitudinal en Michoacán, México. *Agrociencia*, 44, 723–733.
- Wise F C, T D Caldwell. (1994). Macropropagation of coniferas by stem cuttings. In: G.S. Foster y A.M. Diner, eds. Proceedings of the Southern Regional Information Exchange Group Biennial Symposium on Forest Genetics: "Applications of Vegetative Propagation in Forestry". U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. Huntsville, Alabama. p:51-73.

## CAPÍTULO II. EFECTO DE LA FERTILIZACIÓN DE PLANTAS DONADORAS EN LA PRODUCCIÓN Y ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS DE *Pinus hartwegii* LINDL.

### 2.1 RESUMEN

*Pinus hartwegii* es una especie típica de las montañas más altas de México, crece en elevaciones que van desde los 2800 a los 4200 msnm. La propagación masiva de esta especie mediante el enraizamiento de estacas permite incrementar la producción de plantas, que tienen escasa producción de semilla y aportar ante la evidente reducción y fragmentación de las poblaciones naturales de esta especie. Por ello, se evaluó el efecto de la fertilización y concentración de ácido indolbutírico en la producción de brotes, así como la capacidad de enraizamiento de dichos brotes. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con un tratamiento testigo y tres dosis de fertilizante Peters Profesional® 20-20-20 (0.0, 0.5, 1.0 y 2.0 g L<sup>-1</sup>) con 24 repeticiones para evaluar producción de brotes, incremento en altura y diámetro y la capacidad de enraizado, adicionando un tratamiento testigo y una concentración de ácido indolbutírico (0 y 5 000 ppm). Las plantas fertilizadas resultaron 18 % más altas y 26 % más anchas, en diámetro a la base, que las plantas testigo, sin embargo, se observó que la producción de brotes se vio afectada negativamente por el fertilizante, con un decremento en el número de brotes de 34 %, con respecto a las plantas testigo. La evaluación del enraizamiento de estacas se realizó después de tres meses de fertilización. El fertilizante únicamente tuvo efecto significativo en la longitud de raíces primarias 33.94 cm ± 5.90 con 1.5 g L<sup>-1</sup> vs 21.94 cm ± 3.40 b con el testigo y en la interacción con el AIB. El AIB afectó significativamente la supervivencia, formación de callo, número de raíces primarias, secundarias y longitud de raíces primarias. Por su parte para los tratamientos de auxina se observó un decremento en la variable supervivencia, donde había aplicación de auxina, sin embargo, la aplicación de auxina favoreció la longitud de raíces. Aunque no hubo efectos significativos para la variable estacas enraizadas, de acuerdo a la concentración de auxina que se aplicó, el porcentaje estuvo arriba del 65 % tanto en el tratamiento testigo como en la concentración de auxina de 5 000 ppm.

**Palabras clave:** Propagación vegetativa, auxina, estacas, raíces adventicias.

## 2.2 ABSTRAC

*Pinus hartwegii* is a typical species of the highest mountains in Mexico, it grows at elevations ranging from 2800 to 4200 meters above sea level. The massive propagation of this species through the rooting of cuttings allows increasing the production of plants, which have low seed production and contribute to the evident reduction and fragmentation of the natural populations of this species. Therefore, the effect of fertilization and indolebutyric acid concentration on the production of shoots was evaluated, as well as the rooting capacity of said shoots. A completely randomized experimental design was used, four treatments of Peters Professional® 20-20-20 fertilizer (0.0, 0.5, 1.0 and 2.0 g L<sup>-1</sup>) with 24 repetitions to evaluate shoot production, increase in height and diameter and the rooting capacity, adding two concentrations of indole butyric acid (0 and 5 000 ppm). The fertilized plants were 18% taller and 26% wider, in diameter at the base, than the control plants, however, it was observed that the production of shoots was negatively affected by the fertilizer, with a decrease in the number of shoots of 34%, with respect to the control plants. The evaluation of cuttings rooting was carried out after three months. The fertilizer only had a significant effect on the length of primary roots 33.94 cm with 1.5 g L<sup>-1</sup> vs 21.94 cm with the control and on the interaction with the IBA. IBA significantly affected survival, callus formation, number of primary and secondary roots and length of primary roots. A decrease was observed in the survival variable where there was auxin application and although there were no significant effects for the rooted cuttings variable, the percentage was above 65%.

**Keywords:** Vegetative propagation, auxin, cuttings, adventitious roots, nutrition.

## 2.3 INTRODUCCIÓN

*Pinus hartwegii* Lindl. se localiza en los límites altitudinales (2800 a 4300 m) de la vegetación arbórea en México y contribuye con los servicios ecosistémicos de regulación (Farjón *et al.*, 1997). La especie tiene largos ciclos semilleros y en algunas poblaciones su producción de semilla es muy limitada y de baja calidad, lo cual limita el proceso de regeneración natural (Iglesias y Tivo 2006). Se estima que las condiciones generadas por el cambio climático reducirán sus poblaciones (Gutiérrez y Trejo 2014), por lo que es necesario generar sistemas de producción de planta, en el corto plazo, para apoyar a los programas de reforestación y contribuir en la recuperación y conservación de los ecosistemas de *P. hartwegii*.

La propagación vegetativa es uno de los métodos más empleados para la multiplicación de árboles seleccionados, con rasgos deseables, sobre todo cuando la producción de semilla es limitada (Burdon y Aimers Holliday, 2003). Sin embargo, las coníferas son especies consideradas de difícil enraizamiento (Tarragó *et al.* 2005). Por lo que es necesario desarrollar protocolos de enraizamiento para determinar los requerimientos necesarios de cada especie.

*P. hartwegii* tiene varios caracteres adaptativos al fuego, entre ellos está la capacidad de rebrote a partir del cuello de raíz (Rodríguez-Trejo, 2001); los brotes se pueden producir de manera cíclica a través de podas programadas en plantas madre (setos). Ruiz *et al.* 2005; Trobec *et al.*, 2005; Castillo *et al.*, 2013). Por lo que estos brotes serían muy útiles como propágulos para ser usados como mini-esquejes o estacas en la producción de planta, mediante el enraizamiento. Sin embargo, nada se conoce sobre la capacidad de enraizamiento que podrían tener las estacas de esta especie.

Reguladores de crecimiento (fitohormonas), condiciones ambientales, y estado fisiológico de los mini-esquejes han sido estudiados en los procesos de inducción y formación de raíces adventicias (Zhao *et al.*, 2014). El ácido indolbutírico (AIB) es la fitohormona más usada en el enraizamiento de estacas de especies forestales maderables, pero su efectividad en ocasiones es baja y no resuelve la alta tasa de mortalidad de las estacas de algunas especies (Hunt *et al.*, 2011; Cordeiro *et al.*, 2016). Por otro lado, algunos autores señalan que el estado

fisiológico de la planta donadora tiene un papel importante en la supervivencia y el enraizamiento de las estacas (Castillo *et al.*, 2013).

La fertilización programada es una técnica que modifica el estado fisiológico de la planta, incrementando su vigor y crecimiento (Kanmegne *et al.*, 2017). El tejido de las estacas procedentes de una planta bien nutrida presenta mejor predisposición al enraizamiento (Villar-Salvador *et al.*, 2005). La aplicación de fertilizantes induce un incremento en los niveles de nitrógeno del tejido, lo cual a su vez genera una mayor disponibilidad de azúcares que promueven la formación de raíces adventicias. (Rowe *et al.*, 2002).

Por lo que el objetivo del presente trabajo fue: 1) determinar el efecto de la fertilización de las plantas donadoras de *Pinus hartwegii* en la producción y calidad de brotes basales para considerarlos como estacas potenciales y 2) conocer la capacidad de respuesta al enraizamiento de las estacas cuando son tratadas con ácido indolbutírico (AIB). Lo anterior bajo la hipótesis de que plantas bien fertilizadas generarán un mayor número de estacas con mejor respuesta a promotores de enraizamiento como el AIB.

## 2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el invernadero del Posgrado en Ciencias Forestales, ubicado entre las coordenadas geográficas 19° 27' 34.8" LN y 98° 54' 15.8" LO, a una altitud de 2,249 m en el Colegio de Postgraduados, campus Montecillo, Texcoco, Estado de México.

### 2.4.2 Producción de planta

Semillas de *P. hartwegii* fueron recolectadas en una población del Cofre de Perote, Veracruz, localizada a una altitud de 3,800 msnm, entre las coordenadas 19°30' 19.42" LN y 97°09' 31.37" LO.

El 21 de enero de 2019, a las semillas se le aplicó un tratamiento pregerminativo con el fin de estimular y generar una germinación homogénea, reducir posibles inhibidores naturales y evitar la pérdida de semillas viables durante un periodo de 24 horas. En este tratamiento se preparó una solución de agua oxigenada al 0.4 % y agua destilada, en la cual las semillas se sumergieron durante un periodo de 24 horas. Enseguida, las semillas fueron sembradas en tubetes de 310 ml, una semilla por tubete. El sustrato usado en los tubetes fue elaborado con una mezcla de turba (peat moss), agrolita y vermiculita en una proporción de 3:1:1 v/v adicionado con fertilizante de lenta liberación, Multicote™ de 8-9 meses de acción, agregando 4 g L<sup>-1</sup>. Se utilizaron rejillas con capacidad de 54 tubetes, las cuales se colocaron en mesas para facilitar los riegos aplicados en una frecuencia de tres veces por semana con insecticidas (Azaním 2 ml L<sup>-1</sup>) y fungicidas (Captan 2 g L<sup>-1</sup>) incluidos. Para complementar e incrementar la disponibilidad de nutrientes proporcionada por el fertilizante de liberación lenta, previamente señalado; de acuerdo a la experiencia de trabajos en nuestro vivero forestal, las plantas fueron fertilizadas cada 15 días durante los primeros cinco meses, con el fertilizante comercial Peters Profesional® (1g L<sup>-1</sup>) de macro y micro nutrientes a base de nitrógeno, fósforo y potasio en proporción de 10-30-20 durante los primeros cinco meses de edad de la planta madre. Cabe mencionar que desde la germinación de las semillas el experimento se mantuvo en condiciones de invernadero en todo momento.

### 2.4.3 Establecimiento y diseño del experimento de fertilización

Los tratamientos de fertilización se iniciaron y modificaron el 25 de junio de 2019 cuando las plantas alcanzaron los cinco meses de edad. Para lo que se utilizó un diseño completamente al azar con un tratamiento testigo y tres tratamientos de fertilizante (Peters Profesional® 20-20-20): 0.0, 1.0, 1.5 y 2.0 g L<sup>-1</sup>, aplicados tres veces por semana durante un periodo de nueve meses (Figura 2.1), hasta que se realizó la evaluación de incremento en altura y diámetro; y la producción de brotes por seto. Cada tratamiento tuvo 24 repeticiones y la unidad experimental, se consideró a la planta que recibió el tratamiento. El total de plantas usadas en el experimento fue de 96.



**Figura 2.1.** Preparación de soluciones de fertilizante y fertilización por hidroponía a plantas madre de *P. hartwegii*.

En septiembre de 2019 se eliminaron todos los brotes basales de cada planta, esto con el fin promover el incremento de la yema principal, evitar competencia por nutrientes y permitir la formación y desarrollo de nuevos brotes (Figura 2.2).

De igual manera las plantas fueron trasplantadas a tubetes de mayor capacidad (1 L), con misma mezcla de sustrato usada anteriormente. Esto para dar mayor espacio al crecimiento de raíces y en consecuencia a la parte aérea de la planta.



**Figura 2.2.** Poda basal en plantas madre de *P. hartwegii* a los ocho meses de edad. a) Brotes basales, b) Corte de brotes basales.

#### 2.4.3.1 Producción y recolección de esquejes

En noviembre del 2019, se realizó una poda apical a todas las plantas. Práctica utilizada para estimular el desarrollo y crecimiento de rebrotes en setos o plantas madre, estimando un periodo de cuatro meses para la producción de brotes listos para colocar en cámaras de enraizado. (Figura 2.3).



**Figura 2.3.** Poda apical de plantas madre de *P. hartwegii* para la obtención de brotes para el enraizado de estacas.

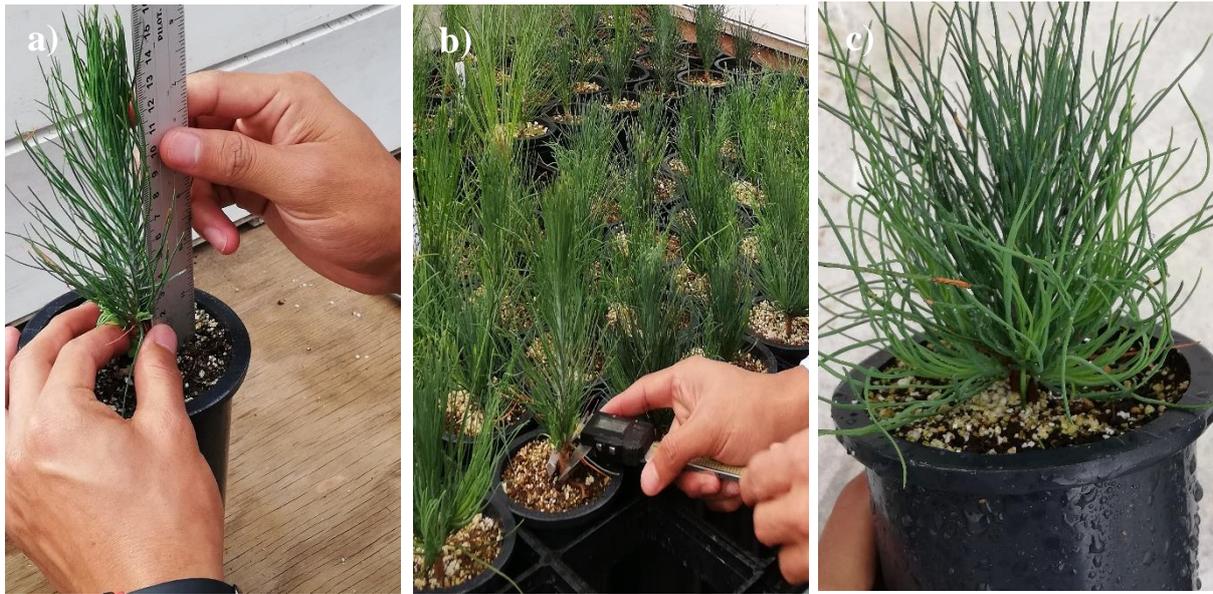
En la última semana de marzo del 2020, los brotes obtenidos tanto de podas basales como apicales se recolectaron para establecerlos en cámaras de enraizamiento (Figura 2.4).



**Figura 2.4.** Establecimiento del experimento de enraizado de estacas de *P. hartwegii*, a partir de los brotes producidos por planta madre.

#### 2.4.3.2 Variables evaluadas

Las variables se evaluaron a los nueve meses después de haber iniciado el experimento de fertilización y fueron: Incremento en altura (Figura 2.5 a) se midió con una regla graduada (cm), desde el nivel del suelo hasta el ápice de la yema apical; diámetro a la base del tallo (Figura 2.5 b), medido con un vernier digital (mm), un centímetro por arriba del cuello de raíz de las plantas madre, cabe mencionar que tanto para la variable altura como para diámetro, se realizaron dos mediciones, una al momento de la primera aplicación del fertilizante y otra final cuando se finalizó con los tratamientos de fertilización y se realizó un conteo único de la producción de brotes por seto (Figura 2.5 c).



**Figura 2.5.** Variables evaluadas en plantas madre de *P. hartwegii*. a) Medición de altura, b) Medición de diámetro, c) Brotes producidos por planta.

## 2.4.4 Establecimiento y diseño del experimento de enraizamiento

### 2.4.4.1 Establecimiento

Las estacas de 3 a 5 cm de longitud fueron recolectadas con una navaja de bisturí, cortando desde la base de la misma y evitando daño a la planta madre (Figura 2.6 a). Enseguida, la zona de corte de la planta madre fue limpiada con la aspersión de una solución de fungicida (Captan® 1 g L<sup>-1</sup>), para evitar contaminación. Una vez obtenidas, las estacas se sumergieron en la solución de Captan® (1 g L<sup>-1</sup>) y permanecieron en agitación manual constante durante cinco minutos. Finalmente, las estacas fueron extraídas de la solución y se les realizó un corte de forma diagonal en la base, donde se aplicó la auxina: AIB (Radix®, producto comercial en polvo). Pevio a la aplicación de la auxina, en la base de cada estaca se eliminaron las hojas primarias para dejar esta sección disponible para ser enterrada en el sustrato, a profundidad de 3 cm desde la base de la estaca (Figura 2.6 b).



**Figura 2.6.** Cosecha de brotes de plantas madre de *P. hartwegii*, desinfección y corte para su posterior enraizamiento.

El sustrato empleado para el enraizamiento consistió en una mezcla de agrolita, vermiculita y peat moss en relación 3:1:1; previamente esterilizado en una cámara de vapor. El sustrato fue colocado en una cámara de enraizado, construida con madera y láminas de polietileno, las cuales fueron lavadas y asperjadas previamente con fungicida Captan® ( $1 \text{ g L}^{-1}$ ). Antes de enterrar las estacas, el sustrato fue regado por aspersion hasta saturación y la humedad relativa de la cámara se monitoreo eventualmente con un sensor data logger HOBO®, registrando intervalos entre 80 y 90 % durante todo el experimento. Posteriormente al establecimiento de las estacas se aplicó fungicida (Captan®  $1 \text{ g L}^{-1}$ ) e insecticida (Engeo®  $1 \text{ ml L}^{-1}$ ) periódicamente para evitar contaminación o ataque de plagas en los esquejes.



**Figura 2.7.** Establecimiento de las estacas en las cámaras de enraizamiento.

#### **2.4.4.2 Diseño experimental**

Para el enraizamiento de estacas se estableció un diseño en bloques completamente al azar con arreglo factorial  $4 \times 2$ ; el factor fertilizante con un tratamiento testigo y tres niveles de fertilizante (0.0, 1.0, 1.5 y  $2.0 \text{ g L}^{-1}$ ) y el factor auxina con un tratamiento testigo y una concentración de auxina (0 y 5,000 ppm), el experimento se replicó cuatro veces. La unidad experimental estuvo conformada de ocho estacas por tratamiento, generando un total de 256 en el experimento.

#### **2.4.4.3 Variables evaluadas**

La evaluación de enraizamiento de estacas se realizó después de tres meses, las variables fueron: supervivencia (%), formación de callo (%), estacas enraizadas (%) (Figura 2.8 a), número de raíces primarias y secundarias, longitud de raíces primarias; se consideró como una estaca enraizada cuando había presencia de raíz  $\leq$  a 1 mm de longitud (Figura 2.8 b); mientras que la estaca muerta se consideró cuando había necrosis (color negro), sin presencia de raíz. Las estacas que no enraizaron, pero no sufrieron desecación se le consideró como estacas vivas sin raíces (Figura 2.8 c).



**Figura 2.8.** Variables evaluadas en el enraizado de estacas de *P. hartwegii*. a) Estaca enraizada con presencia de raíces secundarias, b) Estaca con presencia de raíz  $\leq$  a 1 mm de longitud (círculo rojo), c) Estaca viva, sin presencia de raíz.

#### 2.4.5 Análisis de datos

*Experimento de fertilización*, posterior al análisis de varianza se comprobó la normalidad y homogeneidad de varianza, encontrando que las variables no cumplieron con los supuestos, por lo que se realizó la transformación a raíz cuadrada sobre los datos. Entonces los datos fueron analizados con procedimiento GLM del paquete estadístico SAS utilizando el siguiente modelo:

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

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

*Experimento de enraizamiento*, en el análisis estadístico se utilizaron los valores promedio por unidad experimental de las variables y con las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey, 0.05, utilizando el siguiente modelo lineal:

$$y_{ijk} = \mu + \beta_k + F_i + A_j + FA_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde,  $\mu$  es la media general,  $\beta_k$  es el efecto del bloque,  $F_i$  es el efecto concentración de  $i$  en el factor fertilizante (tres niveles),  $A_j$  es el efecto del nivel de  $j$  en el factor auxina (cuatro niveles),  $FA_{ij}$  es interacción F\*A, correspondiente al nivel  $i$  de F y nivel  $j$  de A,  $\varepsilon_{ijk}$  error experimental correspondiente al bloque  $k$  del nivel  $i$  de F al nivel  $j$  de A,  $i=1, 2, \dots, a$  número de niveles del factor F,  $j=1, 2, \dots, b$  número de niveles del factor A,  $k=1, 2, \dots, r$  número de bloques para cada F\*A.

El procedimiento GLIMMIX del paquete estadístico SAS, versión 9.3. fue usado en los dos modelos señalados, debido a que no se encontró normalidad en los datos. Este procedimiento permite el ajuste de modelos estadísticos a datos con correlaciones o variabilidad no constante y donde la respuesta no necesariamente se distribuye normalmente.

## 2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 2.5.1 Fertilización (morfología y producción de brotes)

El tratamiento de fertilización aplicado a las plantas de *Pinus hartwegii* tuvo un efecto estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ ) en la altura, diámetro a base y número de brotes (Cuadro 2.1).

**Cuadro 2.1.** Valores de probabilidad ( $P$ ) en el análisis de varianza en el enraizamiento de estacas de *Pinus hartwegii*.

Fuente de variación	GL	Altura (cm)	Diámetro (mm)	Número de brotes
Fertilizante	3	0.00012 *	1.7e-06 *	1.68e-07 *

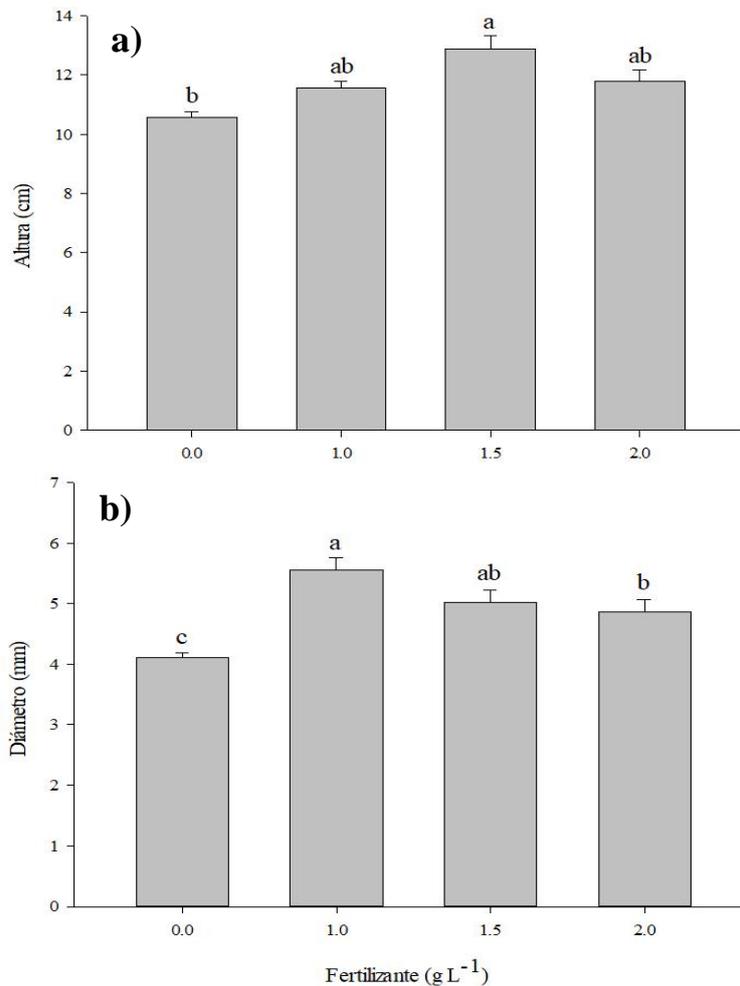
Las diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) se indican con\*

#### 2.5.1.1 Altura y diámetro

En este trabajo las plantas fertilizadas resultaron 18 % más altas y 26 % más anchas, en diámetro a base, que las plantas testigo (Figura 9). Lo cual muestra el efecto de la fertilización sobre la morfología de la planta madre. Esto es deseable, ya que la planta madre debe tener un tamaño adecuado para la producción de estacas. El efecto y la importancia del fertilizante sobre la morfología de las plantas donadoras ha sido bien documentado (Escobar, 2007; Grossnickle, 2012). El uso de fertilizante como estrategia de manejo de las plantas donadoras es recomendable para obtener plantas que permitan incrementar la producción de estacas con fines de propagación vegetativa (Villar-Salvador *et al.*, 2005). Una planta de mayor dimensión permitirá mayor desarrollo y producción de ramas, con uso potencial para estacas, que una planta pequeña (Chang, 2003).

Por otro lado, el fertilizante mejora la producción de tejido verde (clorofilas), importante para la fotosíntesis y producción de azúcares o sustancias de reserva los cuales se acumulan en la zona del cuello de raíz, por lo que influye en ese incremento en diámetro y en parte apoya al crecimiento radical. La fertilización es una de las prácticas culturales con mayor influencia en la calidad de la planta producida: estimula el desarrollo, especialmente de sus

raíces, optimiza el uso eficiente del agua con la captación de nutrientes de manera eficaz para asegurar su supervivencia y crecimiento inicial (Albaugh *et al.*, 2004), además de que las plantas adquieren mayor vigor, resistencia a plagas (Pérez-Camacho *et al.*, 2013) y se incrementa el almacenamiento de sustancias de reserva (Smaill *et al.*, 2008).

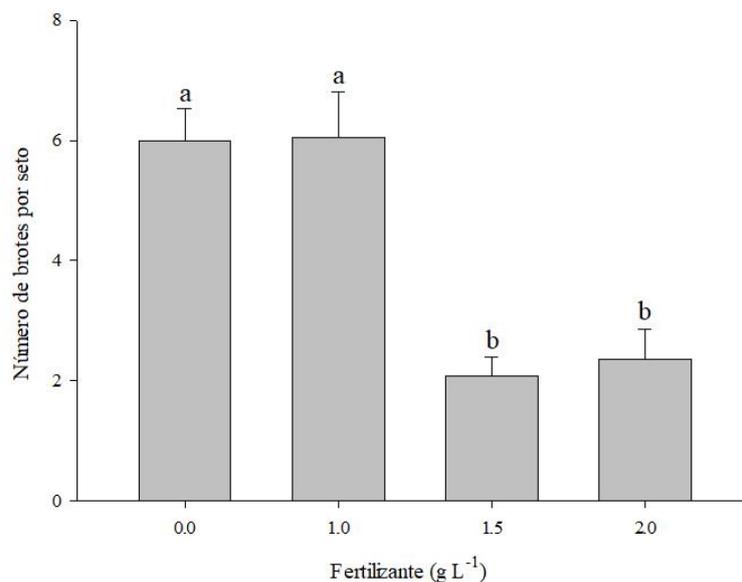


**Figura 2.9.** Altura (a) y Diámetro a base (b) de plantas madre de *Pinus hartwegii* tratadas con diferentes dosis de fertilizante durante un periodo de tres meses, las letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Las barras indican error estándar  $\pm N=24$ .

### 2.5.1.2 Producción de brotes

La producción de brotes se vio afectada negativamente por el fertilizante, con un decremento en el número de brotes de 34 %, con respecto a las plantas testigo (Figura 2.10).

Estos resultados contrastan con los de Hernández y Rubilar (2012), quienes en setos de *Pinus radiata* tratados con fertilizante obtuvieron el mayor número de brotes ( $\geq 5$  cm en longitud), presentando un efecto lineal positivo a medida que aumentaron las concentraciones de nitrógeno. Por su parte Salisbury y Ross (2000) plantean que el nitrógeno se encuentra presente en muchos compuestos esenciales de las plantas, pero los requerimientos de este compuesto y de otros elementos nutritivos varían según la especie, la ontogenia y el estado fisiológico de la planta. Por lo que es necesario estudiar la dosis adecuada de fertilizante para cada una de las especies, ya que en el capítulo anterior de este trabajo se encontró que altas dosis de fertilizante redujeron la producción de brotes. Otro aspecto a considerar es que esta especie tiende a producir un mayor número de brotes cerca del cuello de raíz, más que en la parte alta del tallo, donde se efectuó la poda. En experimentos previos, observamos que estos brotes cerca del cuello de raíz dominan sobre los brotes que crecen en el tallo, pero les toma más tiempo desarrollarse. Por lo que es necesario analizar esta característica para incrementar el número de brotes tanto basales como los que se desarrollan sobre el tallo, con la aplicación de adecuadas dosis y fórmulas de fertilizante.



**Figura 2.10.** Producción de brotes de plantas madre de *Pinus hartwegii* tratadas con diferentes dosis de fertilizante durante un periodo de tres meses, las letras sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ). Las barras indican error estándar  $\pm N=24$ .

## **2.5.2 Enraizamiento**

### **2.5.2.1 Efecto de la auxina**

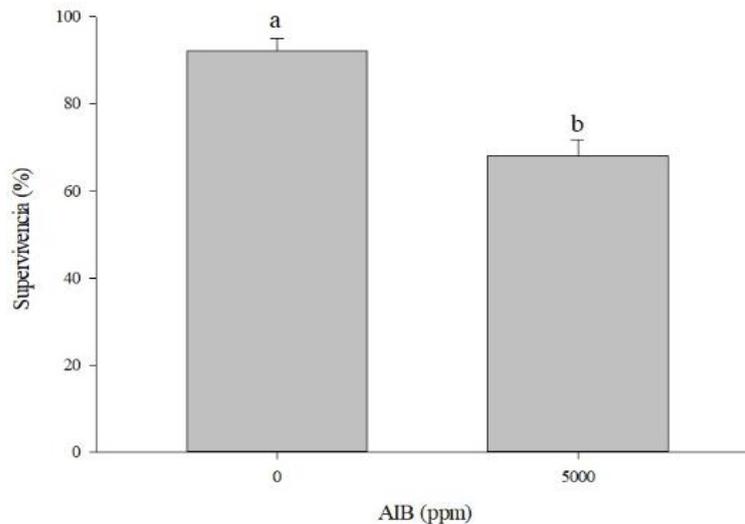
El tratamiento de auxina tuvo efecto estadísticamente significativo ( $P \leq 0.05$ ) sobre la supervivencia de las estacas, la aparición de callo, la longitud de raíz principal y el número de raíces primarias y secundarias, pero no en el enraizamiento de estacas (Cuadro 2.2)

**Cuadro 2.2.** Valores de significancia (*P*) en el análisis de varianza para las variables en el enraizamiento de estacas de *Pinus hartwegii*.

Fuente de variación	Supervivencia (%)	Enraizamiento (%)	Callo	Número de raíces		Longitud RP
				Prim.	Sec.	
Fertilizante (F)	0.737 ns	0.9244 ns	0.9904 ns	0.428 ns	0.0854 ns	0.05 *
AIB	2.73e-05 *	0.0835 ns	0.0012*	2.26e-07*	0.0140 *	1.01e-05 *
F*AIB	0.422 ns	0.6697 ns	0.7874 ns	0.319 ns	0.8202 ns	0.0089 *

Prim: primarias. Sec: secundarias. LRP: Longitud raíces primarias. \* Con diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ); ns= no significativo.

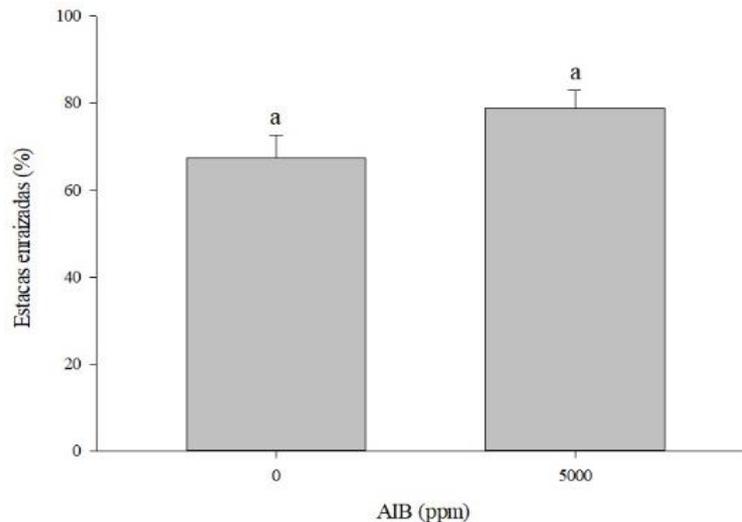
*Supervivencia.* El AIB causó un decremento de más de 20 % en la supervivencia de las estacas de *P hartwegii*, respecto al testigo, durante su enraizamiento. Sin embargo, la supervivencia de las estacas se mantuvo por arriba del 60 % (Figura 2.11). Lo cual se puede considerar un porcentaje de supervivencia aceptable para la técnica de enraizamiento de estacas. Resultados similares de supervivencia fueron reportados en trabajos con *Pinus patula* (Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016).



**Figura 2.11.** Supervivencia de estacas de *Pinus hartwegii* con la aplicación de AIB con respecto al testigo. Las letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

Aunque el uso de auxinas sintéticas es importante para la promoción y desarrollo de raíces adventicias (Bielenin, 2003; Castrillon *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2011), en particular para aquellas especies que son difíciles de enraizar (Hartmann *et al.*, 2002) se debe considerar la concentración de auxina sintética adecuada para evitar problemas de toxicidad en las estacas (Cuisance, 1988). En nuestro estudio consideramos que la concentración (5000 ppm) de AIB usada sigue siendo un poco alta, pero también se considera que la técnica de aplicación pudo influir en la muerte de algunas estacas; ya que el polvo (AIB) en ocasiones pudo ser aplicado en exceso sobre la región a enraizar. Probar otra técnica de aplicación y disminuir la concentración es recomendable para evitar mortalidad en las estacas en siguientes experimentos.

*Enraizamiento.* El AIB no incrementó el porcentaje de enraizamiento de las estacas de *P. hartwegii*, con respecto a las estacas testigo, pero los porcentajes de enraizamiento estuvieron por arriba del 65 % (Figura 2.12).



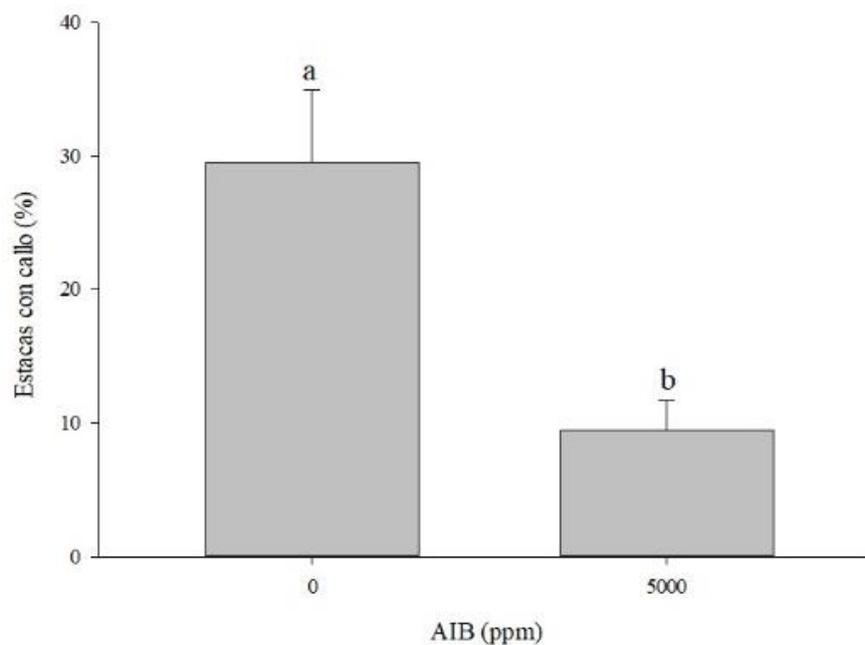
**Figura 2.12.** Estacas enraizadas de *Pinus hartwegii* con diferentes concentraciones de AIB. Las letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

A diferencia de los resultados de enraizamiento obtenidos en el capítulo I de este trabajo, donde el AIB si incrementó el porcentaje de enraizamiento; en este experimento esto no sucedió. Es probable que el tipo de estaca haya sido el factor responsable. Para el experimento del capítulo I se usaron solo estacas basales; mientras que para este experimento se utilizaron tanto estacas basales como generadas en el ápice del tallo, inducidas por las podas realizadas a las plantas. Las estacas basales, cerca del cuello de raíz, podrían contener mayor cantidad de sustancias de reserva (carbohidratos) por localizarse cerca el cuello de raíz, lugar de almacenamiento de estas sustancias (Liao *et al.*, 2012). Por lo que estas estacas tendrían mejor respuesta al enraizamiento cuando son tratadas con AIB, que las estacas generadas en el tallo. Más investigación debe hacerse al respecto para aclarar la respuesta observada al enraizamiento en ambos tipos de estacas generadas en las plantas de *P. hartwegii* e incrementar el porcentaje de estacas enraizadas.

De cualquier manera, los porcentajes de enraizamiento obtenidos, reflejan la capacidad de la especie para enraizar. Respuesta y capacidad similar a otras especies del género *Pinus*

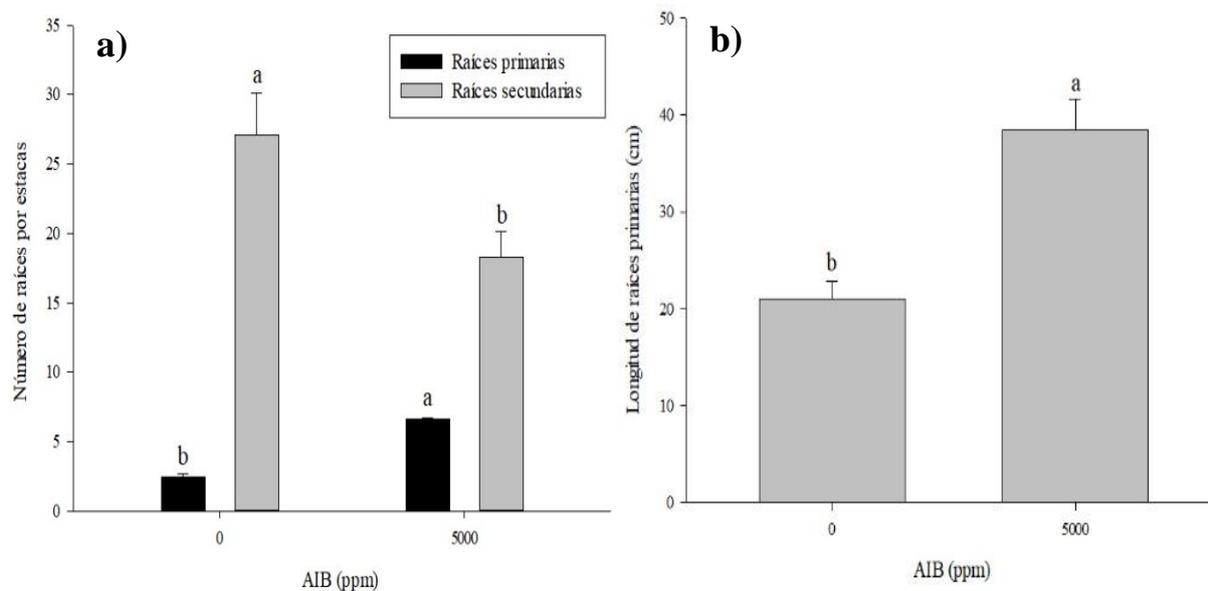
como *Pinus patula*, *P. pinaster*, *P. taeda*, y otras como *Taxodium distichum* que responden bien al enraizamiento de estacas aun sin el uso de auxinas sintéticas (Alcántara *et al.*, 2008; Aparicio-Rentería *et al.* 2014; Mitchell *et al.*, 2004; King *et al.*, 2011; Majada *et al.*, 2011; Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016). Sin embargo, hay especies con baja respuesta al enraizamiento como *Pinus halepensis*, en particular cuando las estacas no son tratadas con auxinas (Riov *et al.*, 2020). Otras especies que han obtenido resultados favorables para el enraizamiento cuando existe aplicación de auxinas son: *Vicimium meridionale* Swartz (Castrillon *et al.*, 2008), *Taxus globosa* Schltl. (Muñoz *et al.*, 2009), *Olea europea* L. (Denaxa *et al.*, 2012), y *Gmelina arborea* Roxb. (Ruiz *et al.*, 2005).

*Presencia de callo.* El AIB evitó en más del 60 % la formación de callo en las estacas, con respecto a las plantas testigo (Figura 2.13). Se ha mencionado que el desarrollo de callo limita la rápida formación de raíces adventicias, por lo que su formación es indeseable. Sin embargo, también se menciona que la formación de callo es una etapa previa para el surgimiento de raíces adventicias (Dumroese *et al.*, 2009). La formación de callo en clones del género *Eucalyptus* se ha señalado como un mecanismo para abrir paso a través de la pared celular a las raíces adventicias, o bien que las raíces adventicias emergen de la dediferenciación celular del callo (Eliyahu *et al.*, 2019). En este trabajo se observó que las estacas que no generaron raíces son las que desarrollaron callo, pero no se descarta que a partir del callo puedan emerger raíces. Por otro lado, el AIB probablemente aceleró el desarrollo de raíces adventicias y evitó la formación de callo en la mayoría de las estacas. Otro aspecto a tomar en cuenta en futuros estudios, será considerar que probablemente no todas las estacas contienen la misma concentración de auxinas endógenas. Esta variación podría ser un factor para el desarrollo de callo, cuando las estacas son tratadas con AIB sintético.



**Figura 2.13.** Estacas con callo de *Pinus hartwegii* con diferentes concentraciones de AIB. Las letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

*Longitud de raíz principal y producción de raíces primarias y secundarias.* El AIB incrementó la longitud de la raíz principal y el número de raíces primarias, pero no el número de las secundarias (Figura 2.14). Las auxinas sintéticas como el AIB no solo promueven la formación de raíces adventicias, sino que también influyen positivamente en la morfología de la raíz. En trabajos de enraizamiento de estacas se ha reportado que el AIB favorece el incremento de la longitud de raíces y la producción de raíces primarias y secundarias (Alcántara *et al.*, 2008; King *et al.*, 2011; Majada *et al.*, 2011; Navarrete-Luna y Vargas-Hernández, 2005).



**Figura 2.14.** Estacas enraizadas de *Pinus hartwegii* con diferentes concentraciones de AIB. a) Número de raíces primarias y secundarias, b) Longitud de raíces secundarias. Las letras diferentes sobre las barras de error indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

El efecto observado del AIB sobre la morfología de las raíces adventicias es importante para la planta producida por estaca. La calidad del sistema radical de la planta, que está en función de la longitud de su raíz principal y del número de raíces primarias, secundarias, etc.; determina la supervivencia de la planta al momento de su trasplante a contenedor y después a condiciones de campo. Esto debido a que la morfología constituida por esas raíces proporciona mayor superficie de captación de agua y translocación de nutrientes, lo que mejora el crecimiento y desarrollo de la planta (Davis y Jacobs, 2005). Hetrick (1991) menciona que una morfología de raíz alargada y bien conformada permite la exploración máxima del volumen del suelo en busca de nutrientes. Por lo que se recomienda la aplicación de auxinas en estacas de *Pinus hartwegii* para favorecer la morfología de su sistema radical.

### 2.5.2.1 Efecto del fertilizante

El fertilizante no tuvo efecto significativo para ninguna de las variables de enraizamiento, excepto, ligeramente, para la longitud de raíz principal (Cuadro 2.3); a pesar de ello, los porcentajes obtenidos, son similares a los encontrados en setos de *P. taeda* (Rowe *et al.*, 2002), en donde obtuvieron cerca del 70 % de enraizamiento al utilizar fertilizante; en *P.*

*pinaster* el porcentaje de esquejes enraizados aumento de 66.7 % con bajo contenido de nitrógeno, a 75.2 % con alto contenido de nitrógeno en verano, otoño e invierno (Martínez-Alonso *et al.*, 2012), coincidiendo con Hernández y Rubilar (2012), quiénes indican que la fertilización en la planta madre tiene un efecto positivo en la inducción de raíces en estacas de *Pinus radiata*. Asimismo, Kanmegne *et al.* (2017) Martínez-Alonso *et al.* (2012) y Rowe *et al.* (2002) indican que la fertilización en la planta madre se correlaciona con el porcentaje de enraizamiento de estacas en varias especies. También, en *Pinus taeda* se encontró que el número de raíces por estaca aumenta conforme aumenta la cantidad de nitrógeno aplicada, hasta una concentración máxima de 70 mg L<sup>-1</sup> (Rowe *et al.*, 2002). Sin embargo, para futuros trabajos, se deben modificar las dosis para aumentar los porcentajes obtenidos hasta ahora.

**Cuadro 2.3.** Valores medios (error estándar) por dosis de fertilizante para las variables en el enraizamiento de estacas de *Pinus hartwegii*.

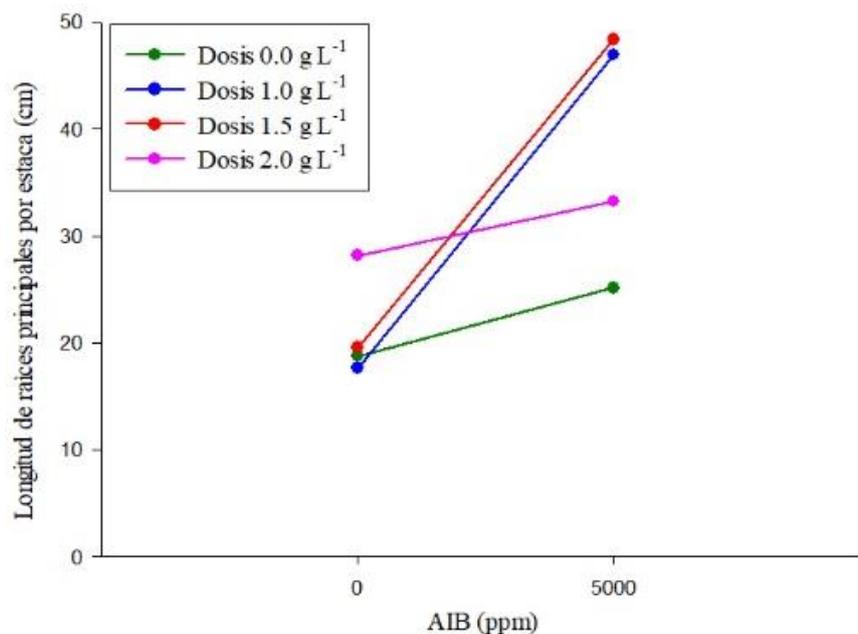
Fertilizante (g L <sup>-1</sup> )	Supervivencia (%)	Enraizamiento (%)	Callo (%)	Número de raíces		Longitud RP (cm)
				Prim	Sec	
0.0	78.13 ± 6.6 a	69.54 ± 8.9 a	19.61 ± 7.20 a	3.80 ± 0.80 a	16.39 ± 1.87 a	21.94 ± 3.40 b
1.0	78.13 ± 6.6 a	72.78 ± 6.4 a	18.25 ± 6.45 a	5.04 ± 1.00 a	20.66 ± 2.06 a	32.27 ± 6.00 ab
1.5	79.69 ± 6.6 a	74.87 ± 6.4 a	19.51 ± 6.90 a	5.20 ± 1.23 a	25.03 ± 5.80 a	33.94 ± 5.90 a
2.0	84.38 ± 6.6 a	74.96 ± 7.0 a	20.76 ± 7.75 a	4.20 ± 0.74 a	28.73 ± 3.45 a	30.69 ± 2.80 ab

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

La longitud de la raíz principal fue la única variable que tuvo cierta respuesta a los tratamientos de fertilización; ya que se incrementó la longitud de la raíz en las estacas en más del 20 %, en relación al tratamiento testigo. Como se ha señalado una raíz alargada y bien conformada permite la exploración máxima del volumen del suelo en busca de agua y nutrientes, lo cual beneficia el crecimiento y morfología de la planta (Hetrick, 1991; (Wendling y Xavier, 2005).

### 2.5.3 Interacción concentración de ácido indolbutírico con la dosis de fertilizante

No se encontraron diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ) en la interacción entre factores para las variables enraizamiento, número de raíces principales, estacas vivas, callo y número de raíces secundarias, pero sí para la variable longitud de raíces primarias (Figura 2.15).



**Figura 2.15.** Interacción entre concentraciones de AIB y dosis de fertilizante en la longitud de raíces por estaca de *P. hartwegii*. AIB: Ácido indolbutírico.

Se encontró que las mejores combinaciones ocurrieron en las estacas tratadas con 5000 ppm de AIB, utilizando 1 y 1.5 g L<sup>-1</sup> de fertilizante, incrementado 38 % la longitud de raíces, respecto a los tratamientos testigo. Por lo que, al aumentar las dosis de fertilizante, hay un aumento en la longitud de raíces primarias, posiblemente por el aumento de N en los tejidos (Henry *et al.*, 1992). Resultados similares se observaron en estacas de *Gmelina arborea*

Roxb, García *et al.* (2005), quienes obtuvieron mayor longitud promedio de las raíces producidas (12 cm) al utilizar 2.0 mg g<sup>-1</sup> de AIB, comprobado que el AIB, junto con el fertilizante aumenta el número de raíces primarias, así como la longitud de éstas (Alcántara *et al.*, 2008; Majada *et al.*, 2011; King *et al.*, 2011), lo cual se refleja en el crecimiento y desarrollo de la planta (Rowe *et al.*, 2002), permitiendo contar con una mayor área para absorción de agua y nutrientes (Wendling y Xavier, 2005) y obtener éxito en campo.

## 2.6 CONCLUSIONES

Se recomienda utilizar 1.0 de fertilizante para mejorar el desarrollo de la planta madre, obtener brotes con capacidad de enraizamiento e incrementar la longitud de las raíces formadas en las estacas.

Utilizar la concentración 5000 ppm de AIB incrementa los porcentajes de enraizamiento, así como las características morfológicas de las estacas enraizadas, también en combinación con las dosis 1.0 y 1.5 g L<sup>-1</sup> de fertilizante aumentan la longitud de raíces primarias.

A pesar de que no se observaron diferencias significativas en el enraizado, el porcentaje se encuentra por encima del 65 %, por lo cual esta técnica puede ser empleada para propagar masivamente esta especie.

## 2.7 LITERATURA CITADA

- Albaugh, T. J., Rubilar R., J. Alvarez, y Allen H. (2004). *Radiata pine* response to tillage, fertilization and weed control in Chile. *Bosque* 25(2): 5-15.
- Alcántara G. B., L. Lopes, A. Rioyei, and K. Zufellato. (2008). Effect of indolbutyric acid (IBA) and the collection of shoots in different seasons of the year on minicutting rooting of *Pinus taeda* L. *Scientia Forestalis Piracicaba* 36:151-156.
- Aparicio-Rentería A., S. F. Juárez-Cerrillo y L. R. Sánchez-Velásquez. (2014). Propagación por enraizamiento de estacas y conservación de árboles plus extintos de *Pinus patula* procedentes del norte de Veracruz, México. *Madera y Bosques* 20:85-96.
- Bielenin M. (2003). Rooting and gas exchange of conifer cuttings treated with indolbutyric acid. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 11:99-105.
- Burdon, R.D. and J. Aimers-Halliday. (2003). Risk management for clonal forestry with *Pinus radiata*: analysis and review. 1: Strategic issues and risk spread. New Zealand *Journal of Forestry Science* 33(2): 156-180.
- Castillo-Flores J. D., M. A. López-López, J. López-Upton., V. M. Cetina-Alcalá, y T. Hernández-Tejeda. (2013). Factores de influencia en el enraizamiento de estacas de *Abies religiosa* (Kunth) Schlttdl. et Cham. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 19(1): 175-184.
- Castrillón, J. C., E. Carvajal, G. Ligarreto, S. Magnitskiy. (2008). El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes sustratos. *Agronomía Colombiana* 26(1): 16-22
- Cordeiro, I. M., C. Castro, Lameira, O. Alves, Oliveira, Francisco de Assis e I. Wendling. (2016). Enraizamiento de estacas juveniles de *Bertholletia excelsa* con diferentes concentraciones de ácido indol-butírico. *Agrociencia* 50(2), 227-238.
- Cuisance P. (1988). *La Multiplicación de las Plantas y el Vivero*. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 165 p
- Davis, A. S., & Jacobs, D. F. (2005). Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. *New Forests*, 30, 295–311. doi: 10.1007/s11056-005-7480-y
- Denaxa, N., Vemoss, S. N., and Roussos, P. A. (2012). The role of endogenous carbohydrates and seasonal variation in rooting ability of cuttings of an easy and a hard to root olive cultivars (*Olea europea* L.). *Scientia Horticulturae* 143: 19-28
- Dumroese, R. K., Luna, T., and Landis, T.D. (2009). *Nursery Manual for Native Plants. A guide for Tribal Nurseries (Vol. 1)*.

- Eliyahu, A., Duman, Z., Sherf, S., Genin, O., Cinnamon, Y., Abu-abied, M., and Weinstain, R. (2019). Vegetative propagation of elite *Eucalyptus* clones as food source for honeybees (*Apis mellifera*); adventitious roots versus callus formation. *Israel Journal of Plant Sciences* 1: 1-15.
- Escobar, R. (2007). Manual de Viverización en *Eucalyptus globulus* a Raíz Cubierta. Proyecto Innova Chile – INFOR. Instituto Forestal. Concepción, Chile. 229 p.
- Farjon A., J. A. Pérez de la Rosa y B. T. Styles. (1997). Field Guide to the Pines of Mexico and Central America. *Royal Botanic Gardens, Kew*, UK. 147 p.
- Grossnickle, S. C., (2012). Why seedlings survive: influence of plant attributes. *New Forests* 43: 711–738. Doi:10.1007/s11056-012-9336-6
- Gutiérrez, E., I. Trejo. (2014). Efecto del cambio climático en la distribución potencial de cinco especies arbóreas de bosque templado en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85:179-188. DOI: 10.7550/rmb.37737
- Hartmann, H. T., D. E. Kester, F. T. Davies Jr. and R. L. Geneve. (2002). Plant Propagation, Principles and Practices. 7th ed. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey. 880 p.
- Henry P. H., F. A. Blazich and L. L. E. Hinesley. (1992). Nitrogen nutrition of containerized eastern redcedar. II. Influence of stock plant fertility on adventitious rooting of stem cuttings. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 117:568-570. DOI: [10.21273/JASHS.117.4.568](https://doi.org/10.21273/JASHS.117.4.568)
- Hernández C., A., y Rubilar P., R. (2012). Efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en el desarrollo y fenología de brotes de setos de *Pinus radiata*. *Bosque* 33: 53-61.
- Hetrick, B.A.D. (1991). Mycorrhizas and root architecture. *Experientia* 47: 355-362.
- Hunt, M. A., S. J. Trueman y A. Rasmussen. (2011). Indole-3-butyric acid accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliottii* var. *elliottii* and *P. caribaea* var. *hondurensis* cuttings. *New Forests* 41:349-360. Doi:10.1007/s11056-010-9227-7
- Husen, A. (2012). Changes of soluble sugars and enzymatic activities during adventitious rooting in cuttings of *Grewia optiva* as affected by age. *American Journal of Plant Physiology* 7 (1): 1-16.
- Iglesias, A. L. y G. Y. Tivo. (2006). Caracterización morfométrica de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Ra Ximhai* 2, 449–468. Doi:10.35197/rx.02.02.2006.08.li
- Kanmegne, G., H. D. Mbouobda, Fotso, C. N. Mbakop and D. N. Omokolo. (2017). The influence of stockplant fertilization on tissue concentrations of nitrogen, carbohydrates and amino acids and on the rooting of leafy stem cuttings of *Cola onamala* K. Schum (Malvaceae). *New Forest* 48: 17-31.

- King A. R., M. A. Arnold, D. F. Welsh and W. T. Watson (2011) Substrates, wounding, and growth regulator concentrations alter adventitious rooting of Baldcypress cuttings. *HortScience* 46:1387- 1393.
- Kumar, D., S. Singh, R. Sharma, V. Kumar, H. Chandra and K. Malhotra. (2011). Above-ground morphological predictors of rooting succes in rooted cuttings of *Jatropha curcas* L. *Bomass and Bioenergy* 35: 3891-3895.
- Liao, T., S. A. Imán, J. A. Soplín. (2012). Efecto de la ubicación y diámetro de la rama en tres genotipos promisorios de *Myrciaria dubia* (HBK) “camu camu” para propagación vegetativa por acodo aéreo. *Scientia Agropecuaria* 3 (3): 225-233.
- Majada J., C. Martínez-Alonso, I. Feito, A. Kidelman, I. Aranda and R. Alia. (2011). Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 41:399-412.
- Martinez- Alonso C., A. Kidelman, I. Feito, T. Velasco, R. Alía, M. J. Gaspar and J. Majada. (2012). Optimization of seasonality and mother plant nutrition for vegetative propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 43: 651-663, <https://doi:10.1007/s11056-012-9333-9>
- Mitchell R. G., J. Zwolinski and N. B. Jones. (2004b). The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula* - Part 1: nursery performance. *Southern African Forestry Journal* 202:29-36
- Muñoz-Gutiérrez L., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton and M. SotoHernández (2009). Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa*. *New Forests* 38:187-196.
- Navarrete-Luna M. y J. J. Vargas-Hernández. (2005). Propagación asexual de clones de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, utilizando radix en diferentes concentraciones. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 11:111-116.
- Pérez-Camacho M., M. Á. López-López, A. Equihua-Martínez, V. M. Cetina-Alcalá y J. T. Méndez-Montiel. (2013). Relationships between site factors and bark beetle attack on pine trees. *Journal of Biological Sciences* 13(7): 621-627. doi: 10.3923/jbs.2013.621.627.
- Rivera-Rodriguez, Moisés O., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, A. Villegas-Monter y M. Jiménez-Casas. (2016). Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. *Rev. Fitotec. Mex*, vol.39, n.4, pp.385-392. ISSN 0187-7380.
- Riov J., Fox H., Attias R., Shklar G., Farkash-Haim L., Sitbon R., Moshe Y., Abu-Abied M., Sadot E., and David-Schwartz R. (2020). Improved method for vegetative propagation of mature *Pinus halepensis* and its hybrids by cuttings. *Israel Journal of Plant Sciences* 67 (1-2): 5-15.
- Rodríguez-Trejo, D. A., (2001). Ecología del fuego en el ecosistema de *Pinus hartwegii* Lindl. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 7(2): 145-151.

- Rowe D., F. Blazich, C. Raper. (2002). Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine I. Tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. *New Forest* 24: 39–51.
- Ruiz-García R., J. J. Vargas-Hernández, V. M. Cetina-Alcalá y A. Villegas-Monter. (2005). Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana* 28:319-326.
- Salisbury F, C Ross. (2000). Fisiología Vegetal. Madrid, España. Thomson Editores, Spain Paraninfo. 988 p.
- Smaill S., P. Clinton y L. Greenfield. (2008). Nitrogen fertiliser effects on litter fall, FH layer and mineral soil characteristics in New Zealand *Pinus radiata* plantations. *Forest Ecology and Management* 256, 564-569.
- Tarragó, J., P. Sansberro, R. Filip, P. Lopez, A. Gonzalez, C. Luna... L. Mroginski. (2005). Effect of leaf retention and flavonoids on rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings. *Scientia Horticulturae* 103: 479-488.
- Trobec, M., F. Stampar R. Veberic and G. Osterc. (2005). Fluctuations of different endogenous phenolic compounds and cinnamic acid in the first days of the rooting process of cherry rootstock GiSelA 5 leafy cuttings. *Journal of Plant Physiology* 162: 589-597
- Villar-Salvador P, J. Puértolas, J. L. Peñuelas, R. Planelles R. (2005). Effect of nitrogen fertilization in the nursery on the drought and frost resistance of Mediterranean forest species. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales* 14(3):408–418.
- Wendling, I., e A. Xavier. (2005). Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. *Rev. Árvore* 29: 921-930.
- Zhao K., H. Zheng, S. Li, C. Yang, J. Jiang and G. Lui. (2014). The rooting of poplar cuttings: A review. *New Forest* 45:21-34.

## CONCLUSIONES GENERALES

En el capítulo I las estacas tratadas con 5 000 ppm de ácido indolbutírico tuvieron la mejor respuesta a formación de raíces adventicias, alcanzando valores de enraizamiento de hasta 93.3 %, de manera general las estacas sometidas a este tratamiento, mejoraron prácticamente todas las variables evaluadas en el experimento, a excepción del número de raíces primarias.

Se observó que el tratamiento con la concentración de 10 000 ppm de ácido indolbutírico tuvo menor supervivencia en las estacas, aproximadamente 35 %, con respecto a las estacas tratadas con concentraciones de 5 000 y 0 ppm de ácido indolbutírico.

Debido a que se cuenta con muy poca información de esta especie, en cuanto al enraizamiento de estacas, la metodología empleada en este trabajo podría servir como base e inclusive como modelo para facilitar el enraizamiento de *Pinus hartwegii* ya que los valores obtenidos tanto en supervivencia como en el enraizamiento de estacas superan el 90 % cuando son tratadas con 5 000 ppm de ácido indolbutírico.

Se recomienda también no exceder los 5 000 ppm de ácido indolbutírico ya que se encuentra cierto nivel de toxicidad en las estacas cuando se incrementa la dosis de auxina.

Los resultados del capítulo II indican que las plantas fertilizadas mejoran su morfología y crecimiento. *Pinus hartwegii* genera de manera natural brotes al cuello de la raíz, pero con la fertilización el incremento en altura que presentaron las plantas fertilizadas pudo haber inhibido la formación de un mayor número de brotes en el tallo.

Finalmente, a diferencia de los resultados de enraizamiento obtenidos en el capítulo I de este trabajo, donde el ácido indolbutírico incrementó el porcentaje de enraizamiento; en este experimento la aplicación de ácido indolbutírico no tuvo los efectos esperados. Esto pudo haber sucedido porque en la metodología descrita de la primera etapa se utilizaron brotes basales; mientras que en el segundo capítulo se utilizaron brotes obtenidos de las podas apicales realizadas a los setos, aunque también se podría atribuir a la diferencia en cuanto a

fechas de colecta, ya que evidentemente las condiciones climáticas, la temperatura y la humedad fueron diferentes.

A pesar de estas diferencias, en general el porcentaje de enraizamiento de las estacas en ambos experimentos estuvo por arriba del 65 %, lo cual es aceptable para cualquier programa de propagación; lo que demuestra la alta capacidad de esta especie para enraizar sus estacas. Por lo tanto, el sistema de propagación vegetativa por enraizamiento de estacas puede ser aplicado para resolver la falta de semilla de *P. hartwegii* y producir planta requerida por los programas de reforestación.