



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

**Propagación de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham.
por estacas y acodos modificados**

MOISÉS ORLANDO RIVERA RODRÍGUEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

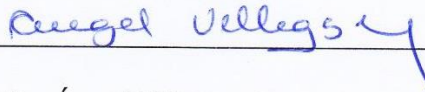
2014

La presente tesis, titulada: "**Propagación de *Pinus patula* Schiede ex Schtdl. et Cham. por estacas y acodos modificados.**" Realizada por el alumno: **Moisés Orlando Rivera Rodríguez**, con 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**

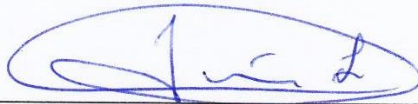
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



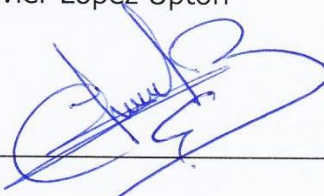
Dr. Ángel Villegas Monter

ASESOR



Dr. Javier López Upton

ASESOR



Dr. Marcos Jiménez Casas

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Junio de 2014

Propagación de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. por estacas y acodos modificados

**Moisés Orlando Rivera Rodríguez M.C.
Colegio de postgraduados, 2014**

RESUMEN GENERAL

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es nativo de México y ampliamente utilizado en plantaciones comerciales en otros países; para ser mejorado en México es necesario la propagación masiva y asexual de materiales superiores. Con el propósito de establecer un protocolo de clonación para esta especie, en el presente trabajo se evaluaron dos métodos de propagación: enraizado de estacas y acodos modificados, ambos en las instalaciones de un vivero. En el primer método se evaluó el efecto de sustrato (100 % perlita vs. vermiculita + turba, 4:1 v/v), edad de planta madre (12, 18 y 24 meses) y dosis de ácido indolbutírico (AIB 0, 5000 y 10000 mg L⁻¹). El ensayo se estableció en una cámara de enraizado con control de humedad relativa (85 % ±5) y temperaturas entre 17 y 24 °C. Las variables fueron: supervivencia, porcentaje de enraizado, número y longitud de raíces, presencia de raíces secundarias y porcentaje de callos. El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre sustratos, por lo que se analizaron por separado para edad y dosis de AIB. En ambos sustratos, las plantas madres de 12 meses mostró mayor capacidad de enraizado que las de 18 y 24 meses. En cuanto al uso de auxinas, se encontró mayor enraizado sin aplicación en el sustrato 1 y con 5000 mg L⁻¹ de AIB en el sustrato 2. Las interacciones de edad de plantas madres por dosis de AIB confirman los resultados anteriores; obteniendo los mayores porcentajes de enraizado en la interacción del testigo con planta joven en sustrato 1 y 5000 mg L⁻¹ de AIB con la misma edad en sustrato 2. En el segundo método, se evaluó dosis de AIB (0, 5000 y 10000 mg L⁻¹), ácido sulfúrico 1N (sin y con), en plantas sin y con ramas en la base para generar 12 tratamientos (3 x 2 x 2). Como consecuencia de la muerte de plantas madres sin presencia de ramas en la base, solo se analizaron los factores: dosis de AIB y ácido sulfúrico (3 x 2), quedando 6 tratamientos. Las variables fueron las mismas que en enraizado de estacas. Hubo diferencias significativas entre las plantas madres acodadas con y sin ramas en la base; todas las plantas que no presentaban ramas murieron y las que presentaban en su mayoría sobrevivieron y enraizaron. Analizando la eficiencia de AIB con la aplicación o no de ácido sulfúrico, se confirma que no es necesario el uso de estos productos para el enraizado de acodos modificados de *P. patula*. En ambos métodos de propagación se confirma que no es necesario el uso de auxinas para el enraizado de *P. patula*.

Palabras clave: *Pinus patula*, enraizado, estaca, acodo modificado, sustrato, edad de plantas madres, ácido indolbutírico, ácido sulfúrico.

Propagation of *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. by cuttings and modified layering

GENERAL SUMMARY

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. is native of Mexico and widely used in commercial plantations in other countries; to be improved in Mexico it is necessary the massive and asexual propagation of superior materials. With the purpose to establish a cloning protocol for this specie, in the following research it was evaluated two vegetative propagation methods: the cuttings rooting and modified layering, both on a tree plant nursery facilities. In the first method was evaluated the effect of substrate (100 % perlite vs. vermiculite + peat, 4:1 v/v, mother plant age (12, 18 and 24 months) and indolbutiric acid dose (AIB 0, 5000 and 10000 mg L⁻¹). The test was set in a rooting chamber with relative humidity control (85 % ±) and temperatures between 17 and 24° C. The variables were: survival, rooting percentage, number and roots' length, secondary roots presence and callus. The variance test showed important differences between substrates, for that reason were analyzed separately for age and IBA dose. In both substrates the 12 months mother plants showed a rooting bigger capacity than the others of 18 and 24 months. According with the auxins use, was found the biggest rooting without it application on the first substrate and with 5000 mg L⁻¹ of IBA in the second substrate. The mother plants age interaction by IBA dose, confirm the previous results; having the biggest rooting percentages in the control treatment interaction with the young plant in the first substrate and 5000 mg L⁻¹ of IBA with the same age in the second substrate. In the second method was assessed IBA dose (0, 5000 and 10000 mg L⁻¹), (with and without) sulfuric acid 1N, in plants with and without basal shoots to generate 12 treatments (3 x 2 x 2). As consequence of mother plants dead without basal shoots, it was just analyzed the following variables: IBA dose and sulfuric acid (3 x 2), with just 6 treatments left. The variables were the same as in the cuttings rooting. There were significant differences between the layering mother plants with and without buds on the base; all the plants that didn't show basal shoots, and the others that showed them, survived and grew root. Analyzing the IBA efficiency with the sulfuric acid application or not, it is confirmed that is not necessary the use of these products for the *P. patula* modified layering rooting. In both propagation methods it is confirmed that is not necessary the auxins use for the *P. patula* rooting.

Key words: *Pinus patula*, rooting, cuttings, modified layering, substrate, mother plants age, indolbutiric acid, sulfuric acid.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, A la Virgen de Guadalupe y de Talpa, por ser en quien creo y tengo fe.

Al Colegio de Postgraduados, al ser la institución que me brindó la oportunidad de realizar mis estudios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), que fue la fuente de subsidio para mi sustento durante el periodo de maestría.

Al Dr. Ángel Villegas Monter, gran profesor y amigo. Brindándome su asesoría y enseñanza incondicional, contribuyendo en mi formación personal y profesional, por su dedicación y espacio para revisar el presente trabajo.

Al Dr. J. Jesús Vargas Hernández, gran profesor e investigador. Por la confianza y el tiempo dedicado a mi formación profesional, así como la dirección y elaboración del presente trabajo a pesar de sus innumerables ocupaciones. Por las facilidades en la obtención de los materiales y equipos necesarios.

Al Dr. Javier López Upton, gran persona y aportador en mi formación con sus enseñanzas profesionales, además del apoyo brindado en la revisión del documento y análisis de datos.

Al Dr. Marcos Jiménez Casas, por las facilidades y apoyo para la elaboración del presente trabajo y por formar parte de mi comité.

A los Ingenieros: León Jorge Castaños Martínez y Salvador Castro Zavala, por el apoyo con germoplasma de *Pinus patula*.

Al M. C. José Luis Garcia Perez, por su gran apoyo en el diseño, establecimiento, toma de datos y análisis de datos en el presente trabajo.

A la Lic. Silvia Gabriela Galván Mendoza, por su gran apoyo en el presente trabajo, además de su amistad.

A los amigos y amigas (**Daniel Ruiz, Ericsson, Caro, Ofelia, Issela, Ely y Karmen**), que me apoyaron en el establecimiento del presente experimento.

Al personal del vivero (**Max, Chon, Luis, Lauro, Raúl y Manuel**), por sus facilidades y atención, además de la amistad.

A los compañeros de generación y amigos del Colegio, con quienes compartimos momentos de amistad y colaboración, por eso y por todo lo anterior mil gracias a todos.

DEDICATORIAS

A mis Padres

MOISÉS RIVERA GUZMÁN

Y

JUANA PATRICIA RODRÍGUEZ ARÉCHIGA

Que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba

-----•-----

A mis Hermanos

CINTHYA KARINA RIVERA RODRÍGUEZ

Y

EDGAR ALFONSO RIVERA RODRÍGUEZ

Por su apoyo, confianza y cariño, donde nunca me desanimaron y al escuchar algo de ellos siempre era “Tu puedes y échale ganas”.

-----•-----

A mis Abuelos

GERARDO RIVERA PELAYO

Y

MA. DE JESÚS GUZMÁN LEPE

Que fueron como mis padres y gracias a su sabiduría influyeron en mí la madurez para lograr todos los objetivos en la vida.

-----•-----

A mis amigos

No podría mencionar nombres porque sé que jamás terminaría, pero estoy seguro que todos y cada uno de ellos fueron parte de este proyecto.

-----•-----

SINCERAMENTE

MOISÉS ORLANDO RIVERA RODRÍGUEZ

CONTENIDO

RESUMEN GENERAL	i
GENERAL SUMMARY	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	iv
LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
CAPÍTULO I.....	1
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPÍTULO II.....	6
Propagación de <i>Pinus patula</i> por estacas con diferente grado de juvenilidad.....	6
2.1. RESUMEN	6
2.2. SUMMARY	7
2.3. INTRODUCCIÓN.....	8
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
2.4.1. Descripción general del experimento	11
2.4.2. Producción de plantas madres.....	11
2.4.3. Establecimiento del ensayo	12
2.4.4. Diseño experimental	14
2.4.5. Variables a evaluadas.....	14
2.4.6. Análisis de datos.....	15
2.5. RESULTADOS Y DISCUSION.....	17
2.5.1. Análisis de varianza	17
2.5.2. Efecto del sustrato	17
2.5.3. Efecto de la edad de planta madre	19
2.5.4. Efecto de la Auxina.....	21
2.5.5. Efecto de interacción entre factores.....	23
2.6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	26
2.6.1. Conclusiones	26
2.6.2. Recomendaciones	26

CAPÍTULO III	27
Propagación de <i>Pinus patula</i> por acodos modificados.....	27
3.1. RESUMEN	27
3.2. SUMMARY	28
3.3. INTRODUCCIÓN.....	29
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	32
3.4.1. Descripción general del experimento	32
3.4.2. Producción de plantas madres.....	32
3.4.3. Establecimiento del ensayo	32
3.4.4. Diseño experimental	35
3.4.5. Variables a evaluar	35
3.4.6. Análisis de datos.....	36
3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
3.5.1. Diferencias en presencia o ausencia de ramas.....	37
3.5.2. Análisis de varianza	38
3.5.3 Diferencia entre productos.....	39
3.5.4. Efecto de los productos.....	39
3.6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	44
3.6.1 Conclusiones	44
3.6.2 Recomendaciones	44
4. LITERATURA CITADA.....	45

LISTA DE CUADROS

Cuadro 2.1. Análisis de varianza de las variables de enraizamiento de las estacas de <i>Pinus patula</i> en el análisis conjunto.	17
Cuadro 2.2. Valores medios y error estándar de las variables con diferencias significativas ($p \leq 0.10$) en cada tipo de sustrato en enraizado de <i>Pinus patula</i>	18
Cuadro 2.3. Análisis de varianza de las variables de enraizamiento de las estacas de <i>Pinus patula</i> en el análisis por separado para cada sustrato.	19
Cuadro 2.4. Valores medios y error estándar del enraizamiento de estacas de <i>Pinus patula</i> para diferentes edades de las plantas madres en cada sustrato.	21
Cuadro 2.5. Valores medios y error estándar del enraizamiento de estacas de <i>Pinus patula</i> para las dosis de enraizador en cada tipo de sustrato.	23
Cuadro 2.6. Valores medios y error estándar del porcentaje de enraizado y de raíces secundarias en diferentes combinaciones de AIB y edad de planta madre en los dos sustratos de enraizado de <i>Pinus patula</i> por sustrato.	24
Cuadro 3.1 Valor de significancia de los factores probados según el análisis de varianza de las variables de enraizamiento de acodos modificados de plantas de <i>Pinus patula</i> con ramas en la base.	38
Cuadro 3.2. Valores medios y error estándar del enraizamiento de acodos de <i>Pinus patula</i> para diferentes dosis de AIB y ácido sulfúrico (sin y con) en plantas madres con presencia de ramas.	39
Cuadro 3.3. Valores medios y error estándar del enraizamiento de acodos de <i>Pinus patula</i> con interacciones de dosis de AIB y ácido sulfúrico en plantas con presencia de ramas. ...	42
Cuadro 3.4. Supervivencias de acodos de <i>Pinus patula</i> después de enraizados, trasplantados y climatizados.	43

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1.** Porcentaje de enraizado de estacas de *Pinus patula* en función de la edad de planta madre (a) y dosis de AIB (b) para cada sustrato..... 25
- Figura 2.2.** Temperaturas máximas y mínimas a intemperie durante el periodo de tiempo de enraizado de *Pinus patula* (27/08/13-07/12/13). 25
- Figura 3.1.** Procedimiento para el acodado de *Pinus patula*; A: planta madre normal, B: planta sin acículas en la base, C: anillado y aplicación de hormona, D: colocación del tubo de PVC y sustrato (acodo terminado)..... 34
- Figura 3.2.** Plantas madres de *Pinus patula* acodadas después de 11 semanas; A: vivas (con ramas), B: muertas (sin ramas). 38
- Figura 3.3.** Acodos de *Pinus patula* enraizados; A: raíz después de retirar el tubo PVC y sustrato, B: corte de planta enraizada, C: raíz completa de acodo. 41

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

El crecimiento demográfico y la demanda de alimentos, fibra y combustible han acelerado el ritmo de deforestación (FAO, 2010), por lo que es necesario y urgente el cultivo forestal. El desarrollo forestal de un país se basa en el cultivo intensivo en gran escala de árboles de rápido crecimiento para la producción de madera industrial, con germoplasma de alta calidad genética (BIRF, 1992). La plantación de árboles tiene importancia creciente para satisfacer las necesidades de madera y sus derivados que demanda la población mundial en constante crecimiento, además de reducir la corta de los bosques naturales para obtener dichos productos (FAO, 2000).

Actualmente, la superficie global cubierta con Plantaciones Forestales Comerciales (PFC) es de 264 millones de ha, equivalente al 7 % de la superficie forestal mundial; 29 % corresponden a China, 10 % Estados Unidos de América, 6.5 % a Rusia, entre otros (FAO, 2010). Se estima que las PFC abastecen cerca del 25 % del mercado global de productos maderables, y de acuerdo a su tasa de crecimiento podrían lograr una participación cercana al 50 % hacia 2040 (Kanninen, 2010).

En México la superficie de plantaciones forestales comerciales de diversas especies es de 117,479 ha., de las cuales las maderables representan 85.2 %, distribuidas básicamente en los estados de Veracruz, Tabasco y Campeche. Los géneros *Eucalyptus*, *Cedrela* y *Pinus*, son los más importantes en cuanto a superficie cubierta. El resto corresponde a especies no maderables (CONAFOR, 2010).

El manejo y uso del sistema genético constituye una práctica común en el mejoramiento de plantas y animales (Williams, 1965). Según Sziklai (1981; citado por Zobel y Talbert, 1988) y Lang (2004), los trabajos de los primeros genetistas en materia forestal en el mundo remontan hacia el siglo XVIII en Europa con la invención de la forestación científica, que buscaba principalmente la producción de madera, pero toma su auge a partir de la segunda mitad del siglo XX.

El mejoramiento genético forestal comprende todas aquellas actividades dirigidas a producir árboles con características genéticas de mayor valor económico y adaptativo (Zobel y Talbert, 1988). Por medio de la selección se busca utilizar los mejores genotipos que se han desarrollado en la naturaleza. Posteriormente mediante cruces controladas de progenitores seleccionados se producen genotipos nuevos que combinen propiedades favorables desde el punto de vista económico y ecológico (Willan *et al.*, 1993).

La materia prima del mejoramiento genético es la variación natural. Si ésta no se diera en la adaptación a condiciones ambientales, velocidad de crecimiento, propiedades físicas de la madera o resistencia a plagas o enfermedades, sería imposible producir genotipos con crecimiento acelerado, adaptados a las condiciones ambientales y resistentes a plagas o enfermedades (Nienstaedt, 1990), que son las mayores amenazas para la sostenibilidad de las plantaciones forestales comerciales (Wingfield *et al.*, 2010).

Las técnicas de propagación asexual (clonación) son herramientas útiles para perpetuar características deseables en especies forestales, tienen aplicaciones directas en los programas de mejoramiento de árboles forestales al igual que en las plantaciones forestales operativas, porque permiten multiplicar árboles genéticamente superiores (Quijada, 1980).

La clonación es el desarrollo de individuos utilizando parte de la planta madre y no implica modificaciones en la estructura genética (Lang, 2004; Kappelle, 2008). A escala mundial existen plantaciones operativas que utilizan la propagación masiva de individuos seleccionados por medio de estacas. En México empresas privadas usan esta técnica en *Eucalyptus grandis* W.Hill ex Maiden, *E. urophylla* S.T. Blake y *Tectona grandis* L.

Según Farjon *et al.* (1997), en México existen alrededor de 40 % de especies del género *Pinus*, entre las que destaca *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. como la más importante para el establecimiento de plantaciones forestales comerciales (Dvorak *et al.*, 2000; Velázquez *et al.*, 2004). Esta especie tiene una amplia distribución latitudinal que va de 16° a 24° N y longitudinal de 85° a 100° O, a lo largo de la Sierra Madre Oriental y parte este del Eje Neovolcánico Transversal, en los estados de México, Tamaulipas, Querétaro, Hidalgo, Veracruz, Puebla, Tlaxcala y Oaxaca (Martínez, 1948; Farjon, 1996). Su importancia radica en la abundancia y calidad de los rodales que forma, con árboles de buena conformación, fuste recto, relativamente libre de nudos, y buena calidad de la madera (Velázquez *et al.*, 2004).

Pinus patula es una especie endémica de México (Perry, 1991; Farjon *et al.*, 1997), por su rápido crecimiento ha sido plantada extensamente fuera de su área de distribución a través de los trópicos y zonas templadas desde la década de 1940, incluyendo mayormente el sur de África y en menor proporción en India, América del Sur y Australia. (Gillespie, 1992; Dvorak *et al.*, 2000).

En México, la mayor demanda de madera en rollo de esta especie proviene del bosque natural (Sáenz *et al.*, 1994); en cambio, países de África y América del Sur cuentan con

plantaciones comerciales establecidas con germoplasma mejorado de *Pinus patula* (Dvorak *et al.*, 2000). Sin embargo, recientemente se han iniciado en México programas de mejoramiento genético con esta especie, mediante la selección de progenitores y establecimiento de ensayos de progenies (Valencia y Vargas, 2001; Salaya *et al.*, 2012). Actualmente existen materiales de primera generación que han sido seleccionados en ensayos de pro genie y que se han incorporado a un programa de cruzamiento controlado. La propagación asexual del material juvenil resultante de las cruza s controladas permitirá desarrollar un programa extensivo de clonación con la finalidad de uniformizar las plantaciones operativas con los mejores materiales de estos ensayos, para acelerar la obtención de beneficios del programa de mejoramiento genético.

La propagación asexual puede ser de forma natural (bulbos, rizomas, etc.) y de forma artificial, como estacas, acodos, injertos y micro propagación; esta última técnica es de gran eficacia en cuestiones de producción de planta libre de virus o enfermedades y no en producción masiva, dado los altos costos en material e instalaciones requeridas. Smith (1997) señala que en propagación de *Pinus radiata* D. Don. el costo de producción por estacas se eleva 2 veces, mientras que *in vitro* se eleva 7 veces con respecto a propagación por semilla. Con fines de establecer un programa de clonación extensivo asociado a las plantaciones forestales operativas, sería de mayor utilidad utilizar técnicas apropiadas para ello, como son el enraizado de estacas y acodos (Ahuja y Libby, 1993).

Con base en lo anterior, y con la finalidad de contribuir al conocimiento de los procesos de clonación en especies de pino, el presente trabajo pretende evaluar la capacidad de propagación asexual de material juvenil de *Pinus patula* por medio de estacas y acodos modificados. El propósito final es establecer un protocolo de clonación para esta especie

que pueda ser incorporado a un programa de mejoramiento genético operativo, para el establecimiento de plantaciones clonales de la especie.

En la primera parte del trabajo se analizó el efecto de sustrato, edad de plantas madres y dosis de ácido indolbutírico (AIB) en el enraizado de estacas; los sustratos fueron dos (100 % perlita y mezcla de vermiculita con turba, 4:1 v/v), tres edades de plantas madres (12, 18 y 24 meses) y tres dosis de AIB (0, 5000 y 10000 mg L⁻¹).

En la segunda parte del trabajo se evaluó la capacidad de propagación vegetativa de plantas juveniles de *Pinus patula* por medio de acodos modificados. Los factores que se incluyeron en el ensayo fueron: plantas con y sin ramas laterales en la base y aplicación de AIB (0, 5000 y 10000 mg L⁻¹) y ácido sulfúrico 1N y sus combinaciones.

CAPÍTULO II

Propagación de *Pinus patula* por estacas con diferente grado de juvenilidad

2.1. RESUMEN

La propagación por estacas consiste en separar de la planta una parte del tallo, raíz u hoja, colocarlas en condiciones ambientales favorables para inducir la formación de raíces y tallos, produciendo así una nueva planta idéntica genéticamente de la cual procede. En el presente trabajo se evaluó el efecto del sustrato, edad de planta madre y dosis de AIB en el enraizado de estacas de *Pinus patula*. Las plantas madres fueron producidas por semilla. Se empleó un diseño experimental en bloques completos al azar con arreglo factorial, los factores fueron sustratos (1, perlita 100 % y 2, mezcla de turba con vermiculita, 4:1 v/v), edad (12, 18 y 24 meses), y dosis de AIB (0, 5000 y 10000 mg L⁻¹). La unidad experimental fue 10 estacas con 4 repeticiones, dando en total 720 estacas. El ensayo se estableció en una cámara de enraizado con control de humedad relativa (85 % ± 5) y temperaturas entre 17 y 24 °C. A las 14 semanas se evaluó la supervivencia, porcentaje de enraizado, número y longitud de raíces, presencia de raíces secundarias y porcentaje de callos. El análisis de varianza mostró diferencias significativas entre sustratos; siendo mejor para enraizar el 1 con 21 % sobre el 2 con 14 %; En ambos sustratos las estacas tomadas de las plantas madres de 12 meses mostraron mayor capacidad de enraizado que las de 18 y 24, siendo superior el sustrato 1 con 29 %. En cuanto al uso de auxinas, el mayor enraizado se obtuvo sin su aplicación en el sustrato 1 (35 %) y con 5000 mg L⁻¹ de AIB en el sustrato 2 (19 %). Las interacciones de edad de plantas madres con la dosis de AIB nos confirman los resultados anteriores; el mayor porcentaje de enraizado se obtuvo en la interacción de testigo con planta joven en el sustrato 1 (57 %) y con la aplicación de 5000 mg L⁻¹ de AIB en estacas de 12 meses en el sustrato 2 (27 %). Además, en el sustrato 1 la presencia de raíces secundarias fue superior en esa combinación. Las demás variables no mostraron tendencias significativas tanto en edad como en dosis de AIB en ambos sustratos. En todas las combinaciones el enraizado fue superior en el sustrato 1 (100 % perlita), lo cual indica que en estas condiciones no es necesario el uso de auxinas; además, el costo menor del sustrato favorece su uso potencial en el enraizado de estacas juveniles de *P. patula*.

Palabras clave: *Pinus patula*, enraizado, estaca, sustrato, edad de plantas madres, ácido indolbutírico.

2.2. SUMMARY

The propagation by cuttings consists of separating one part of the cuttings, root or leaf from the plant, set them into favorable environmental conditions to produce roots and stems formation, producing then a new identical genetic plant which it comes from. In this project was evaluated the substrate effect, the mother plant age, and IBA dose on the *Pinus patula* cuttings rooting. The mother plants were produced by seed. It was used randomly an experimental design in completed blocks, with factorial arrangement, the factors were substrates (1, perlite 100 % and 2, a mixture of peat with vermiculite, 4:1 v/v), age (12, 18 and 24 months), and IBA dose (0, 5000 and 10000 mg L⁻¹). The experimental unit was 10 cuttings with 4 repetitions, resulting 720 cuttings. The test was set in a rooting chamber with relative humidity control (85 % ±) and temperatures between 17 and 24° C. At 14 weeks was evaluated the survival, rooting percentage, number and roots' length, secondary roots presence and callus percentage. The variance test showed important differences between substrates, being better to root the first one with 21 % over the second with just 14 %; in both substrates the cuttings taken from the 12 months mother plants showed a rooting bigger capacity than the others of 18 and 24 months, being superior the first substrate with 29 %. The bigger rooting was obtained without the auxins use in the first substrate (35 %) and with 5000 mg L⁻¹ of IBA in the second substrate (19 %). The mother plants age interactions with IBA dose, confirm us the previous results; the bigger rooting percentage was obtained on the control treatment interaction with young plant in the first substrate (57 %) and with the 5000 mg L⁻¹ IBA's application on the 12 months cuttings on the second substrate (27 %). Besides, in the first substrate the secondary roots presence was superior in this combination. The other variables didn't show a significant trend, not only the age but also in the IBA dose, in both substrates. In all treatments combinations the rooting was superior on the first substrate (100 % perlite), which indicates that in those conditions, it is not necessary the auxins use; also the substrate's lowest cost helps to the potential use on the *P. patula* youth cuttings rooting.

Key words: *Pinus patula*, rooting, cuttings, substrate, mother plants age, indolbutiric acid.

2.3. INTRODUCCIÓN

La propagación clonal se utiliza para maximizar rendimiento, calidad y uniformidad de las plantaciones forestales comerciales (Trueman 2006; Burdon *et al.*, 2008; Bettinger *et al.*, 2009), además de obtener de plantas resistentes o tolerantes a plagas y enfermedades con mejores características morfológicas y fisiológicas (Poupard *et al.*, 1994).

La clonación masiva de especies forestales es difícil debido a la madurez ontogénica en especies leñosas, en donde la capacidad de propagación vegetativa disminuye con la edad de la planta (Hackett, 1985; Poupard *et al.*, 1994; Amri *et al.* (2010). Mitchell y Jones (2006) recomiendan edades no mayores a 3 años en coníferas, coincidiendo con Zabala *et al.* (2008) en enraizado de estacas de *Pinus radiata* D. Don.

En coníferas, Nelson (2003), recomienda que las plantas madres sean pequeñas con podas constantes para obtener mayor número de estacas. Según Hamann (1998), Anderson *et al.* (1999) y Mitchell *et al.* (2004), para estimular la producción de rebrotes con características juveniles las podas deben hacerse a 20 cm de altura.

Además de la edad de la planta madre, es importante la del brote que se intentará enraizar, Majada *et al.* (2010) en *Pinus pinaster* Aiton, encontraron que a medida que la edad del brote (después de la poda) aumentaba, la capacidad de enraizado disminuía. La posición de donde se obtiene la estaca es importante. Zabala *et al.* (2008), obtuvieron mayor enraizado en pinos de material proveniente de la parte apical que de segmentos inferiores.

Anteriormente la clonación se utilizaba principalmente en especies de *Populus* y *Salix*, las cuales se propagan fácilmente por estacas. Posteriormente, por necesidad, la técnica se

adoptó para propagar coníferas, haciendo uso de diferentes hormonas, teniendo mayor éxito con ácido indolbutírico (AIB) y ácido indolacético (AIA) en la mayoría de ellas (Ruiz *et al.* 2005; Henrique *et al.*, 2006; Amri *et al.*, 2010; Majada *et al.*, 2010; Hunt *et al.*, 2011). Aunque no todas las especies requieren auxinas para enraizar (Trueman y Rodger 2006).

Es importante definir la concentración de auxina para enraizar especies forestales. Bielenin (2003) en *Juniperus* y *Thuja*, probaron diferentes concentraciones de hormona (0, 0.1, 0.3, 0.6, y 0.9 % de AIB), y encontraron que las concentraciones altas no fueron adecuadas para enraizar éstas especies, concluyen que hay un punto medio (0.3 y 0.6%) para obtener enraizamientos mayores al 92 %.

Las temperaturas altas y muy bajas afectan la formación de raíces en estacas. Muñoz *et al.* (2009), en *Taxus globosa*, evaluaron dos temperaturas del sustrato, (18 ± 5 °C y 23 ± 5 °C), teniendo mejores resultados a 18 ± 5 °C. Hartmann *et al.* (2002), mencionan que la temperatura ideal para enraizado es de 21 a 27 °C durante el día y 15 °C durante la noche. Majada *et al.* (2010), al enraizar de *Pinus pinaster* obtuvieron resultados favorables a 25 °C. Además la época del año es otro factor a considerar en el enraizado de estacas; Castillo (2011), con *Abies religiosa* (H.B.K.) Schl. *et* Cham. encontró que a principios del mes más frío (Diciembre) obtuvo mejores resultados, ya que en el resto del año las temperaturas son altas y afectan este proceso.

Aunque la presencia de hojas en las estacas es un fuerte estímulo para la iniciación de raíces, la pérdida de agua a través de ellas puede ocasionar la muerte antes de que enraícen. Para reducir al mínimo la transpiración de las hojas, se debe mantener la presión de vapor tan alta como la que tiene la planta entre las células (Hartmann *et al.*, 2002). Tousignant *et*

al. (1996) manejaron rango de 90 a 95 %, mientras que Muñoz *et al.* (2009) mantuvieron un mínimo de 85 % de humedad relativa. Como medio de enraizamiento, se puede utilizar arena, musgo turboso, vermiculita, perlita, piedra pómez, y la mezcla de estos en diferentes proporciones con la finalidad de retener humedad, aireación adecuada y dar drenaje (Hartmann *et al.*, 2002).

En el presente trabajo se evaluó el efecto de edad de las plantas madres de *Pinus patula* y dosis de AIB en dos sustratos para enraizado de estacas, con el propósito de establecer un protocolo de clonación que pueda ser incorporado a un programa operativo para el establecimiento de plantaciones forestales clonales de la especie.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1. Descripción general del experimento

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del vivero del Postgrado en Ciencias Forestales, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados, localizado a 19°27'38.25" L.N. y 98°54'23.91" L.O., a 2,240 m de altitud. Se estableció un ensayo de propagación vegetativa por medio de estacas para evaluar: edad de planta madre (tres edades), concentración de AIB (tres niveles) y sustrato (dos niveles).

2.4.2. Producción de plantas madres

Para la producción de las plantas madres se utilizó un lote de germoplasma de árboles selectos de *P. patula* procedente de Aquixtla, Puebla, localizados entre los 19° 43' 11.9" L.N. y 97° 59' 21.3" L.O., a 2,930 m de altitud. Con el propósito de generar tres grupos de plantas madres con diferente edad (diferente número de podas secuenciales), se hicieron tres siembras escalonadas con seis meses de diferencia entre ellas; la primera se realizó el 13 de Agosto de 2011, y la tercera el 13 de Agosto de 2012, de tal manera que al momento de iniciar los ensayos, las plantas tenían 24, 18 y 12 meses respectivamente.

La siembra de semilla se realizó en mezcla esterilizada, conformado por perlita, vermiculita, turba y corteza de pino composteada (1:1:2:4 v/v), adicionándole 4 kg/m⁻³ de fertilizante de liberación controlada (18-06-12+Me) de 8 meses, en charolas de polietileno de 180 cm⁻³. A partir de los 15 días de la germinación, se aplicó fertilizante soluble, primero "iniciador", después "desarrollo" y por ultimo "finalizador" de 20 a 200 mg L⁻¹ dependiendo de la edad de la planta. Se aplicaron fungicidas (Tiabendazol 2 g L⁻¹ y

propamocarb 2 ml L⁻¹) e insecticidas (imidacloprid y deltametrina 2 ml L⁻¹) como preventivos cada semana, para evitar problemas de plagas o enfermedades.

A los 6 meses, las plantas de cada grupo se trasplantaron a macetas individuales de 8 dm⁻³ (23 cm alto y 26 cm de diámetro en la parte superior), donde continuaron su desarrollo para la formación de setos, en mezcla conformada por aserrín composteado, tierra de monte, perlita y vermiculita (4:2:1:1 v/v), adicionando 4 kg/m⁻³ de fertilizante de liberación controlada (18-06-12+Me) de 8 meses, con una pequeña capa de tezontle en el fondo para mejorar el drenaje.

Para estimular la formación de rebrotes, las plantas se podaron de manera recurrente a partir de los seis meses. La primera poda se realizó unos días antes del trasplante a las macetas y posteriormente cada vez que los rebrotes alcanzaban de 12-15 cm de longitud. De esta manera las plantas tenían varios ciclos de poda al inicio del ensayo de propagación, por lo tanto mayor cantidad de brotes/estacas. Con el propósito de reducir la variabilidad en vigor de los brotes se eliminaron los débiles en cada planta.

2.4.3. Establecimiento del ensayo

A las plantas madres se les aplicó fungicida (propamocarb 1.5 ml L⁻¹) e insecticida (deltametrina 1.5 ml L⁻¹) un día antes de cortar las estacas. Una vez cortadas se sumergieron en agua y cloro comercial (0.25 ml L⁻¹) durante 5 minutos y posteriormente en fungicida (propamocarb 1 ml L⁻¹). Después se eliminaron las hojas que se encontraban 3 cm arriba del corte, parte que quedó enterrada en el sustrato.

El enraizador que se utilizó fue ácido indolbutírico (AIB 5000 y 10000 mg L⁻¹). La zona de corte se insertó en el producto (polvo), posteriormente se sacudió levemente para eliminar excesos. Después, el plantado de estacas se hizo de la siguiente manera: pequeños orificios de 3 cm de profundidad en el sustrato para posteriormente ser colocadas y tapadas sin que a éstas se les haya removido el enraizador de la base.

Se utilizó una cámara de enraizado de 2.7 m de largo, 1.2 m de ancho y 70 cm de alto, donde se controló de forma automatizada la humedad relativa por arriba de 85 % con nebulización y temperatura entre 17 °C ± 2 °C y 24 °C ± 2 °C durante el día. El agua de riego utilizada durante el enraizado fue destilada grado 2. El sustrato utilizado fue mezcla de vermiculita y turba (4:1 v/v) en la mitad de la cámara y en la otra con perlita 100 %, ambos previamente pasteurizados. Antes de colocar las estacas se aplicó un riego al sustrato para humedecerlo, después de la siembra se aplicó un riego ligero para evitar la entrada de aire que pudiera deshidratar la base de éstas.

Desde el inicio hasta el final, el proceso fue con la mayor asepsia posible, evitando cualquier contaminación de plagas o enfermedades. Después de la colocación de las estacas en el sustrato se aplicaron fungicidas e insecticidas preventivos, cambiando periódicamente cada uno de estos para evitar algún tipo de resistencia. A pesar de todos los cuidados, se tuvo la presencia de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria alternata* en hojas y *A. alternata* en sustrato a la décima semana de establecido el experimento, posteriormente fueron controlados estos hongos con manejo de humedad relativa (de 75 a 80 %) y fungicida (benomilo 2 mg L⁻¹).

2.4.4. Diseño experimental

El diseño experimental empleado fue bloques completos al azar con arreglo factorial. Los factores fueron: sustratos (perlita 100 % y mezcla de turba con vermiculita, 4:1 v/v), edad de plantas madres (12, 18 y 24 meses), y dosis de AIB (0, 5000 y 10000 mg L⁻¹). La unidad experimental fue de 10 estacas con 4 repeticiones, un total de 720 estacas.

2.4.5. Variables a evaluadas

La toma de datos se hizo 14 semanas después de establecido el experimento. Las variables fueron supervivencia, porcentaje de enraizado, número y longitud de raíces, presencia de raíces secundarias y porcentaje de callos:

- **Porcentaje de supervivencia.** Una estaca se consideró muerta cuando tenía más del 50 % de necrosamiento a partir de la base. Los datos para el análisis estadístico se tomaron como 0 (cero) para estaca muerta y 1(uno) para estaca viva.
- **Porcentaje de enraizado.** Se consideró como estaca enraizada cuando tenía una o más raíces.
- **Número de raíces promedio por estaca.** Se contó el número de raíces primarias, además se observó la presencia de raíces secundarias.
- **Longitud de raíces.** Se midió la longitud de la raíz más larga.
- **Presencia de raíces secundarias.** Se observó la presencia de raíces provenientes de raíces primarias, teniendo como 0 (cero) para ausencia y 1 (uno) para presencia

- **Porcentaje de formación de callo.** De las estacas que sobrevivieron y no enraizaron, se observó la existencia o no de callo (abultamiento por división celular en la parte de la herida). Teniendo como 0 (cero) para ausencia y 1 (uno) para presencia de callo.

2.4.6. Análisis de datos

Con los valores promedio por unidad experimental se realizó el análisis estadístico para determinar el efecto de los tres factores en estudio, con el procedimiento GLM del Sistema de Análisis Estadístico SAS (Muñoz *et al.*, 2009). Previo al análisis de varianza, las variables expresadas en porcentaje (supervivencia, enraizado, presencia de raíces secundarias y formación de callo) fueron transformadas con la función arco seno de la raíz cuadrada del valor original expresado en fracción decimal.

De acuerdo con el diseño experimental de los ensayos, el modelo de análisis de varianza utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijkl} = \mu + S_i + D_j + E_k + R_{l(i)} + SD_{ij} + SE_{ik} + DE_{jk} + SDE_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Dónde:

Y_{ijk} = valor de la variable observada del i-ésimo sustrato, con la j-ésima dosis de AIB en la k-ésima edad de planta madre.

μ = media general;

S_i = efecto del i-ésimo sustrato;

D_j = efecto de la j-ésima dosis de AIB;

E_k = efecto de la k-ésima edad de planta madre;

$R_{l(i)}$ = efecto de l-ésima repetición anidada en i-ésimo sustrato

SD_{ij} = efecto de la interacción del i-ésimo sustrato con la j-ésima dosis de AIB;

SE_{ik} = efecto de la interacción del i-ésimo sustrato y la k-ésima edad de planta madre;

DE_{jk} = efecto de la interacción de la j-ésima dosis de AIB y k-ésima edad de planta madre;

SDE_{ijk} = efecto de la interacción del i-ésimo sustrato, j-ésima dosis de AIB y la k-ésima edad;

ε_{ijkl} = error experimental.

En las variables que mostraron diferencias significativas en alguno de los factores, se realizó comparación de medias utilizando la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) para determinar las diferencias entre los niveles de dichos factores. Dado que en el análisis de varianza se encontraron diferencias significativas entre sustratos, se realizó un segundo análisis para comparar la capacidad de enraizado por cada sustrato. En este caso sólo se consideraron en el modelo dosis de AIB, edad de planta madre e interacción dosis x edad.

2.5. RESULTADOS Y DISCUSION

2.5.1. Análisis de varianza

Se encontró un efecto significativo del sustrato y edad de planta madre (Cuadro 2.1). Se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.10$) con respecto al factor sustrato en porcentaje de supervivencia, longitud de raíz, presencia de raíces secundarias y callo, mientras que para el factor edad solo se encontraron diferencias significativas en la presencia de raíces secundarias ($p \leq 0.10$).

El porcentaje de enraizado presentó diferencias significativas ($p \leq 0.10$) en las interacciones dosis x sustrato, y dosis x edad. La triple interacción mostró diferencias en supervivencia y presencia de callo.

Cuadro 2.1. Análisis de varianza de las variables de enraizamiento de las estacas de *Pinus patula* en el análisis conjunto.

AMBOS SUSTRATOS ($P_r > F$)						
FUENTE VARIACIÓN	% SUPERVIV	% ENR	NRP	LRL	% PRS	% PCN
SUST	0.0977	N.S.	N.S.	0.0593	0.0631	0.0792
DOSIS	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
EDAD	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0.0066	N.S.
DOSIS*SUST	N.S.	0.0023	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
EDAD*SUST	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
DOSIS*EDAD	N.S.	0.0797	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
DOSIS*EDAD*SUST	0.0471	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0.0759

SUPERVIV: supervivencia, ENR: plantas enraizadas, NRP: número de raíces primarias, LRL: longitud de raíz, PRS: presencia de raíces secundarias, PCN: presencia de callo, N.S.: sin diferencias significativas, $P \geq 0.10$.

2.5.2. Efecto del sustrato

En el Cuadro 2.2 se muestran los valores medios por sustrato de las variables; supervivencia, % de enraizado, número y longitud de raíz, presencia de raíces secundarias y

callo, mostrando superioridad el porcentaje de enraizado en el sustrato 1 (100 % perlita) con respecto al sustrato 2 (vermiculita + turba, 4:1 v/v). Conforme a las fichas técnicas de sustratos, nos muestran que vermiculita y turba tienen mayor capacidad de retención de agua y menor porosidad que perlita, coincidiendo con Cabrera (1999) en un estudio de propiedades, uso y manejo de sustratos para la producción de plantas en maceta.

Cuadro 2.2. Valores medios y error estándar de las variables con diferencias significativas ($p \leq 0.10$) en cada tipo de sustrato en enraizado de *Pinus patula*.

SUSTRATO	% SUPERVIV	% ENR	NRP	LRL	% PRS	% PCN
1	90.27 ± 2.1 b	21.38 ± 3.7 a	1.18 ± 0.17	3.38 ± 0.56	17.9 ± 4.9	87.69 ± 2.9 b
2	94.44 ± 1.5 a	14.72 ± 2.1 b	1.36 ± 0.17	4.48 ± 0.56	16.2 ± 5.4	93.42 ± 1.7 a

1: 100 % perlita, 2: vermiculita + turba (4:1 v/v), SUPERVIV: supervivencia, ENR: plantas enraizadas, NRP: número de raíces primarias, LRL: longitud de raíz, PRS: presencia de raíces secundarias, PCN: presencia de callo.

En el Cuadro 2.3 se muestra el análisis de varianza de enraizamiento de *Pinus patula* separadas por sustrato, los cuales confirman los resultados del modelo completo. En el sustrato 1, para supervivencia se encontraron diferencias significativas solo en el factor dosis de AIB; mientras que porcentaje de enraizado y presencia de raíces secundarias presentan diferencias según la dosis de AIB y edad, así como la interacción de estos factores. Los resultados favorables del uso de perlita en mezclas de sustratos para enraizado de estacas de coníferas ya son reportados en investigaciones anteriores; Majada *et al.* (2010) en enraizado de *Pinus pinaster* Ait., Hunt *et al.* (2011) en híbridos de *P. elliottii* var. *elliottii* x *P. caribea* var. *hondurensis* y Bielenin (2003) en *Juniperus scopulorum* Sarg. y *Thuja occidentalis* L., aunque no mencionan las propiedades de ésta.

En el sustrato 2, solo supervivencia y presencia de callo en las estacas no enraizadas mostraron diferencias significativas en la interacción dosis de AIB x edad de planta madre. En porcentaje de enraizado, número de raíces primarias y longitud de raíz no hubo significancia para ninguno de los factores y sus interacciones.

Cuadro 2.3. Análisis de varianza de las variables de enraizamiento de las estacas de *Pinus patula* en el análisis por separado para cada sustrato.

Sustrato 1 (100 % perlita)						
F. VARIACIÓN	% SUPERVIV	% ENR	NRP	LRL	% PRS	% PCN
DOSIS	0.0938	0.0012	N.S.	N.S.	0.0128	N.S.
EDAD	N.S.	0.0055	N.S.	N.S.	0.0053	N.S.
DOSIS*EDAD	N.S.	0.0069	N.S.	N.S.	0.0242	N.S.
Sustrato 2 (vermiculita + turba, 4:1 v/v)						
DOSIS	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
EDAD	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
DOSIS*EDAD	0.0249	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.	0.0165

SUPERVIV: supervivencia, ENR: plantas enraizadas, NRP: número de raíces primarias, LRL: longitud de raíz, PRS: presencia de raíces secundarias, PCN: presencia de callo, N.S.: sin diferencias significativas, $P \geq 0.10$.

2.5.3. Efecto de la edad de planta madre

Algunos autores como Hackett (1985), Poupard *et al.* (1994) y Amri *et al.* (2010), mencionan que la madurez de la planta madre (madurez ontogénica) es un factor importante dado que la capacidad de enraizado de estacas disminuye a medida que la edad de planta madre aumenta. Mitchell *et al.* (2004), mencionan que a medida que la planta donante envejece, repercute en la capacidad de enraizado, disminuye la calidad de la raíz, velocidad del enraizado y en caso de enraizar, el éxito en campo es reducido.

El porcentaje de enraizado en el sustrato de 100 % perlita fue mayor que en la mezcla de vermiculita + turba (4:1 v/v) en las tres edades (Cuadro 2.4), mientras que supervivencia, número de raíces primarias, longitud de raíz más larga, presencia de raíces secundarias y

presencia de callo en las estacas no enraizadas, las medias fueron ligeramente mayores en el sustrato 2 para todas las edades.

Los resultados de porcentaje de enraizado de estacas se comportaron de forma similar en ambos sustratos, a medida que la planta madre es más joven, el porcentaje fue mayor, coincidiendo con Mitchell y Jones (2006) con *Pinus patula* que recomienda el uso de estacas provenientes de plantas madres jóvenes, al igual que Zabala *et al.* (2008) con *Pinus radiata* D. Don, y Amri *et al.* (2010) con *Dalvergia melanoxyton* Guill. & Perr. Esto demuestra que las estacas provenientes de plantas jóvenes tienen mayor capacidad para enraizar que las de plantas adultas.

En el sustrato 100 % perlita, el porcentaje de supervivencia aumenta a medida que la edad de la planta madre es mayor. En un trabajo de enraizado de *Taxus globosa* Schldl realizado por Muñoz *et al.* (2009) se encontró una supervivencia mayor en las plantas más jóvenes. Posiblemente este resultado en *P. patula* puede ser consecuencia del mayor contenido de nutrientes y reservas en plantas adultas. El mayor porcentaje de presencia de callo en estacas no enraizada se obtuvo en las estacas provenientes de plantas madre adultas, resultado similar con Amri *et al.* (2010) en *Dalvergia melanoxyton*, posiblemente se relacione con la madurez ontogénica, teniendo menor capacidad de enraizado como consecuencia de poca división celular. En el número de raíces primarias, la longitud de raíz más larga y presencia de raíces secundarias, los valores disminuyen ligeramente a medida que la edad aumenta, aunque estadísticamente no hay diferencia con $p \leq 0.05$.

En el sustrato de vermiculita + turba (4:1 v/v), el número de raíces primarias es mayor en las estacas que provienen de plantas madres jóvenes, resultado similar al obtenido por

Amri *et al.* (2010). Algo sin tendencia ocurre con la longitud de raíz, dado que el mayor valor se encuentra en la edad intermedia (18 meses), teniendo el menor valor el de mayor edad. El porcentaje más alto de raíces secundarias se encuentra en las estacas de plantas madres jóvenes, contrario a Zabala *et al.* (2008); este resultado tiene relación al número de raíces y la mayor capacidad que tienen las plantas jóvenes para emitir raíces. No hay diferencias significativas con $p \leq 0.05$ entre los valores medios de porcentaje de supervivencia y presencia de callo.

Cuadro 2.4. Valores medios y error estándar del enraizamiento de estacas de *Pinus patula* para diferentes edades de las plantas madres en cada sustrato.

Sustrato 1 (100 % perlita)						
EDAD (MESES)	% SUPERVIV	% ENR	NRP	LRL	% PRS	% PCN
12	87.50 ± 4.9 b	29.17 ± 8.2 a	1.37 ± 0.34	3.81 ± 1.16	24.44 ± 10.2	83.59 ± 7.3 b
18	87.50 ± 3.7 b	19.17 ± 6.5 ab	1.09 ± 0.31	3.66 ± 1.08	16.07 ± 9.2	85.60 ± 4.2 b
24	95.83 ± 1.4 a	15.83 ± 3.7 b	1.09 ± 0.21	2.66 ± 0.69	13.19 ± 5.9	93.89 ± 1.8 a
Sustrato 2 (vermiculita + turba, 4:1 v/v)						
12	95.00 ± 2.3	19.17 ± 5.2 a	1.84 ± 0.39 a	4.47 ± 1.09 ab	27.77 ± 10.8 a	93.01 ± 3.0
18	91.67 ± 3.8	13.33 ± 2.5 ab	1.16 ± 0.16 b	5.80 ± 0.92 a	16.66 ± 11.2 ab	91.02 ± 4.1
24	96.67 ± 1.4	11.16 ± 2.4 b	1.08 ± 0.25 b	3.17 ± 0.85 b	4.17 ± 4.1 b	96.25 ± 1.6

SUPERVIV: supervivencia, ENR: plantas enraizadas, NRP: número de raíces primarias, LRL: longitud de raíz, PRS: presencia de raíces secundarias, PCN: presencia de callo.

2.5.4. Efecto de la Auxina

De forma natural, las auxinas vegetales intervienen en la formación de raíces en estacas (Cuisance, 1988). El uso de auxinas es importante en especies que enraízan con dificultad (Hartmann *et al.*, 2002), lo interesante es conocer en qué especies se requiere y que dosis es la ideal.

En perlita, la supervivencia y presencia de callo fueron ligeramente más altas con 5000 mg L⁻¹ de AIB, ocurriendo lo contrario con el número de raíces primarias y secundarias

donde el valor para esta dosis fue bajo. En cuanto a longitud de raíz, el valor disminuyó a medida que la dosis de AIB aumentó; esta respuesta coincide con los resultados de Majada *et al.* (2010) con estacas de brotes de 90 días después de la poda, ya que al aumentar de forma gradual la dosis de AIB, la longitud de raíz disminuyó. Con base en los resultados obtenidos se asevera que niveles de auxina superiores a los óptimos son perjudiciales. Resultó mejor el enraizado cuando no se aplicó auxina, ya que el testigo tuvo más del doble en porcentaje de enraizado, comportamiento similar a la presencia de raíces secundarias. Para supervivencia, número de raíces primarias, longitud de raíz, presencia de raíces secundarias y presencia de callo en estacas no enraizadas, no hubo diferencias significativas con $p \leq 0.05$ (Cuadro 2.5)

Con estos resultados y los obtenidos en otras investigaciones, se puede establecer que el uso de auxinas no es necesario para enraizar estacas de plantas juveniles de *P. patula*, Majada *et al.* (2010) con *Pinus pinaster* obtuvieron 97 % con aplicación de AIB y 92 % sin él, Henrique *et al.* (2006) en *Pinus caribea* var. *hordurensis* (Sénéclauze) W.H. Barrett & Golfari, 100 % con auxina y 90 % sin auxina, Nagash (2002) con *Juniperus procera* Hoechst. Ex Endl. 50 % con y 40 % sin ella. Los resultados obtenidos en enraizado de acodos (Capítulo III), corroboran lo indicado en relación a las auxinas y permite concluir que es necesario evaluar otros factores (además de la edad) para estimular la formación de raíces en *Pinus patula*.

En la mezcla vermiculita + turba (4:1 v/v), el porcentaje de enraizado fue mayor con la aplicación de auxina, presentando el valor más alto con 5000 mg L⁻¹ de AIB, coincidiendo con Nagash (2002) y Henrique *et al.* (2006), quienes indican que hay una dosis ideal para enraizado, y no siempre la más alta es mejor. Lo contrario a la presencia de raíces

secundarias donde hay mayor presencia cuando no se aplica auxina. La longitud de raíz fue mayor a medida que se aumentó la dosis de AIB, resultado similar a los de Majada *et al.* (2010) en *Pinus pinaster* que aplicaron AIB (0, 10 y 40 g L⁻¹), dando mayor longitud la dosis alta; además, Navarrete y Vargas (2005) reportan que diferentes dosis de AIB pueden tener efectos en la longitud de raíces en estacas de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. No se detectaron diferencias estadísticas en supervivencia, número de raíces y presencia de callo.

Cuadro 2.5. Valores medios y error estándar del enraizamiento de estacas de *Pinus patula* para las dosis de enraizador en cada tipo de sustrato.

Sustrato 1 (100 % perlita)						
DOSIS (AIB)	% SUPERVIV	% ENR	NRP	LRL	% PRS	% PCN
0	90.83 ± 4.3	35.00 ± 7.6 a	1.29 ± 0.23	3.58 ± 0.77	19.68 ± 7.8	86.68 ± 7.1
5000	92.50 ± 2.7	14.17 ± 5.1 b	0.95 ± 0.25	3.38 ± 1.01	15.27 ± 9.0	90.95 ± 2.7
10000	87.50 ± 4.1	14.17 ± 4.5 b	1.29 ± 0.37	3.17 ± 1.20	18.75 ± 9.2	85.45 ± 4.6
Sustrato 2 (vermiculita + turba, 4:1 v/v)						
0	94.17 ± 3.3	10.83 ± 2.5 b	1.41 ± 0.39	3.29 ± 0.96 b	25.00 ± 13.0 a	93.89 ± 3.5
5000	94.17 ± 1.9	19.17 ± 4.9 a	1.44 ± 0.28	4.49 ± 0.76 ab	4.86 ± 3.3 b	91.94 ± 2.6
10000	95.00 ± 2.8	14.16 ± 2.8 ab	1.22 ± 0.17	5.66 ± 1.14 a	18.75 ± 9.2 a	94.44 ± 3.2

SUPERVIV: supervivencia, ENR: plantas enraizadas, NRP: número de raíces primarias, LRL: longitud de raíz, PRS: presencia de raíces secundarias, PCN: presencia de callo.

2.5.5. Efecto de interacción entre factores

De acuerdo con los resultados del Cuadro 2.3, las interacciones dosis de AIB x edad de planta madre, hubo significancia en enraizado y presencia de raíces secundarias en 100 % perlita y supervivencia y presencia de callo en vermiculita + turba (4:1 v/v).

La mejor respuesta de enraizado de estacas resultó de la combinación de planta madre joven (12 meses) sin aplicación de AIB. En perlita, la combinación de 12 meses con 0 AIB produjo un 57.5 % de enraizado (Cuadro 2.6), mientras que en vermiculita + turba (4:1 v/v), la mejor combinación fue 12 meses con 5000 mg L⁻¹ de AIB con 27.5 %.

Cuadro 2.6. Valores medios y error estándar del porcentaje de enraizado y de raíces secundarias en diferentes combinaciones de AIB y edad de planta madre en los dos sustratos de enraizado de *Pinus patula* por sustrato.

INTERACCIÓN		Sustrato 1		Sustrato 2		
DOSIS (AIB)	EDAD (Meses)	% ENR	% PRS	% SUPERVIV	% ENR	% PCN
0	12	57.50 ± 8.5 a	40.00 ± 0.51 a	100 ± 0.0 a	12.5 ± 2.5 ab	100 ± 0.00 a
0	18	37.00 ± 15.0 ab	10.71 ± 0.05 e	85.0 ± 8.6 b	12.5 ± 6.3 ab	84.1 ± 9.16 b
0	24	15.00 ± 6.1 b	8.33 ± 0.28 f	97.5 ± 2.5 ab	7.5 ± 4.8 ab	97.5 ± 2.50 ab
5000	12	22.50 ± 14.3 b	8.33 ± 0.51 f	90.0 ± 4.0 b	27.5 ± 13.8 a	84.5 ± 5.41 b
5000	18	10.00 ± 5.7 b	25.00 ± 0.43 b	100 ± 0.0 a	15.0 ± 5.0 ab	100 ± 0.00 a
5000	24	10.00 ± 4.0 b	12.50 ± 0.48 d	92.5 ± 2.5 b	15.0 ± 5.0 ab	91.2 ± 2.97 b
10000	12	7.50 ± 4.7 b	25.00 ± 0.75 b	95.0 ± 5.0 ab	17.5 ± 8.5 ab	94.4 ± 5.55 b
10000	18	12.50 ± 9.4 b	12.50 ± 0.90 d	90.0 ± 7.0 b	12.5 ± 2.5 ab	88.8 ± 7.85 b
10000	24	22.50 ± 8.5 b	18.75 ± 0.42 c	100 ± 0.0 a	12.5 ± 2.5 ab	100 ± 0.00 a

ENR: plantas enraizadas, PRS: presencia de raíces secundarias, SUPERVIV: supervivencia, PCN: presencia de callo.

En la presente investigación se tienen diferentes variables, teniendo a porcentaje de enraizado como la de mayor importancia dado que la mayoría de las variables dependen de ésta. La poca respuesta al enraizado (Figura 2.1) posiblemente sea consecuencia de la temperatura ambiente en la época; cabe mencionar que la cámara de enraizado solo controla temperaturas altas (mayores a 25 °C) pero no las bajas (menores a 17 °C), dado que no se usó un sistema de calefacción y durante las 14 semanas del experimento se presentaron varios eventos de bajas temperaturas (- 4.9 a 14 °C a intemperie), normalmente durante las primeras horas del día (Figura 2.2). Hartmann *et al.* (2002) mencionan que el éxito en la capacidad de enraizamiento depende de la época del año, lo que está relacionado con la temperatura y humedad relativa.

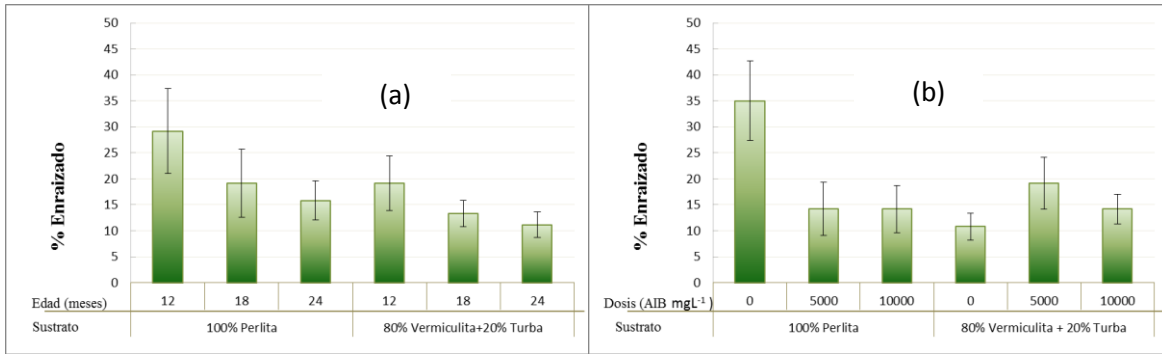


Figura 2.1. Porcentaje de enraizado de estacas de *Pinus patula* en función de la edad de planta madre (a) y dosis de AIB (b) para cada sustrato.

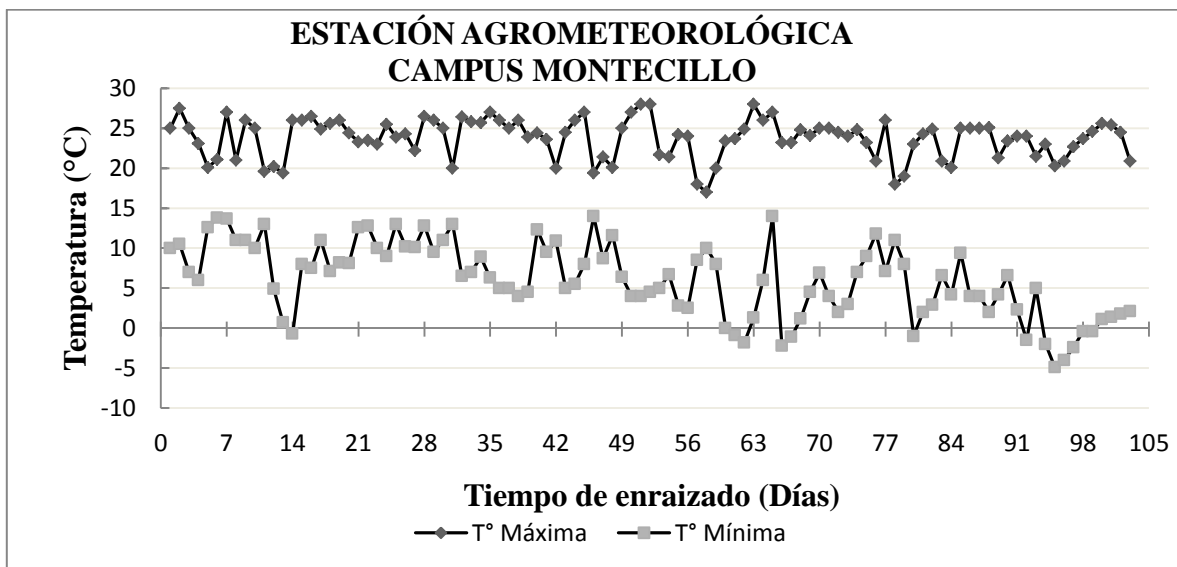


Figura 2.2. Temperaturas máximas y mínimas a intemperie durante el periodo de tiempo de enraizado de *Pinus patula* (27/08/13-07/12/13).

Después de evaluar las variables de estudio, las estacas enraizadas fueron trasplantadas a tubetes de 200 cm³ con sus respectivos sustratos; permaneciendo durante 15 días en la cámara, posteriormente 15 días en invernadero donde se fue disminuyendo de forma gradual la humedad relativa y posteriormente bajo luz de sol a 50 % de intensidad, obteniendo supervivencia de 100 %.

2.6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

2.6.1. Conclusiones

Pinus patula es una especie difícil de enraizar, después de 14 semanas solo se logró 35 % en el mejor sustrato.

Las auxinas exógenas no son indispensables para el enraizado de estacas de *Pinus patula*.

El mejor sustrato para enraizado de estacas de *Pinus patula* fue 100 % perlita.

El mayor enraizado de *P. patula* se obtuvo con estacas provenientes de plantas madres de 12 meses.

2.6.2. Recomendaciones

Para futuros ensayos de enraizado de estacas de *Pinus patula* se recomienda utilizar 100 % perlita, que además de la capacidad que tiene para generar raíces sin auxinas, su costo es dos veces más bajo que la mezcla de vermiculita + turba.

Es necesario obtener estacas de plantas madre de 12 meses de edad con podas recurrentes para obtener los mejores resultados en enraizado de estacas de *P. patula*.

Debido a la baja respuesta al AIB, se recomienda evaluar otros factores como ácido sulfúrico, tipo de auxina, ahilamiento, época del año, cofactores, etc.

CAPÍTULO III

Propagación de *Pinus patula* por acodos modificados

3.1. RESUMEN

El acodo es un método de propagación por el cual se induce la formación de raíces adventicias en ramas unidas a la planta madre. Se utilizaron plantas de *Pinus patula* de 9 meses propagadas por semilla. El diseño experimental fue completamente al azar; los factores fueron dosis de AIB (0, 5000 y 10000 mg L⁻¹), ácido sulfúrico 1N (sin y con), en plantas sin y con ramas en la base para generar 12 tratamientos (3 x 2 x 2). Como consecuencia de la muerte de plantas madres sin presencia de ramas en la base, solo se analizaron los factores: dosis de AIB y ácido sulfúrico (factorial 3 x 2), quedando 6 tratamientos. Las variables fueron: supervivencia, porcentaje de enraizado, número de raíces primarias, longitud de raíz más larga y presencia de raíces secundarias. Conforme a los resultados obtenidos, hubo diferencias significativas entre las plantas madre acodadas con y sin ramas en la base; todas las plantas que no presentaban ramas murieron y las que presentaban, en su mayoría sobrevivieron y enraizaron. En la prueba de medias se obtuvieron los mayores porcentajes de enraizado con las aplicaciones de ácido sulfúrico 1N (AS) solo o en combinación con 5000 mg L⁻¹ de AIB, ambos con 87 %, aunque no estadísticamente diferente al testigo con 75 %. En relación a las demás variables, no se observó alguna tendencia, por lo que se tiene que valorar el uso de AIB y AS en enraizado de acodos. Los acodos enraizados fueron trasplantados y aclimatados por 8 semanas, con el objetivo de observar tendencia y efecto de la aplicación de AIB y AS. La mayor supervivencia (100 %) se fue con AS + 10000 mg L⁻¹ de AIB, combinación que obtuvo los peores resultados en supervivencia y enraizado. Por lo tanto, la respuesta no se atribuye al uso de AIB y AS en enraizado de acodos de *Pinus patula*, esto se puede atribuir al manejo o instalaciones inapropiadas para climatización de acodos después del trasplante. Analizando la eficiencia en enraizado de AIB con sus diferentes dosis y aplicación o no de AS, se confirma que no es necesario el uso de estos productos para el enraizado de acodos modificados en *P. patula*.

Palabras clave: *Pinus patula*, enraizado, acodo modificado, ácido indolbutírico, ácido sulfúrico.

3.2. SUMMARY

The layering is a spread method which influences the adventitious roots formation in shoots united to a mother plant. It was used 9 months *Pinus patula* plants, spread by seeds. A completely random design was used, the elements were: IBA dose (0, 5000 and 10000 mg L⁻¹), sulfuric acid 1N (with and without), in plants with and without basal shoots to produce 12 treatments (3 x 2 x 2). As consequence of mother plants dead without basal shoots presence, it was just analyzed the following variables: IBA dose and sulfuric acid (factorial 3 x 2), with just 6 treatments left. The variables were: survival, rooting percentage, primary roots number, longer roots length, and secondary roots presence. According to the obtained results, it were significant differences between shoot mother plants with and without basal shoots, all the plants that didn't show basal shoots died, and the majority that showed them, survived and they rooted. In the means test it was obtained the greatest rooting percentages with sulfuric acid applications 1N (SA) alone or in combination with 5000 mg L⁻¹ of IBA, both with 87 %, even though not statistically different from the control treatment, with 75 %. In relation with the other variables, it wasn't observed any trend; in that way the IBA and SA use, need to be valued on the rooting layering. The layering rooted were transplanted and conditioned during 8 weeks, with the purpose to observe the trend and justify the IBA and SA application, the biggest survival (100 %) was obtained with SA + 10000 mg L⁻¹ of IBA, combination that obtained the worst results in survival and rooting. For that reason these results aren't to the IBA and SA use in the *Pinus patula* layering rooting, that could be related to the manage or inappropriate facilities for layering conditioning after the transplanting. Analyzing the IBA rooting efficiency with different doses and SA application or not, it is confirmed that is not necessary the use of these products for modified layering rooting in *P. patula*.

Key words: *Pinus patula*, rooting, modified layering, indolbutiric acid, sulfuric acid.

3.3. INTRODUCCIÓN

El acodo es un método de propagación asexual por el cual se induce la formación de raíces adventicias en ramas unidas a la planta madre, el brote enraizado es cortado para crecer sobre sus propias raíces, dando origen a una nueva planta (Hartmann *et al.*, 2002). Es un método alternativo para propagar especies de difícil enraizamiento por estacas, o que no pueden ser propagados por injerto fácilmente (Ram y Majumdar, 1980), además de evitar el estrés hídrico causado por la ausencia de raíces, dispone de nutrimentos durante todo el período de enraizamiento, por lo que el tiempo que tarde en enraizar no es un factor limitante como en las estacas.

Esta técnica es utilizada de forma eficiente en plantas ornamentales dada la facilidad de obtener plantas de mayor tamaño en poco tiempo y sin condiciones controladas. En algunas ocasiones, la técnica de propagación vegetativa por medio de acodos es utilizada en especies que producen poca semilla o su viabilidad es casi nula (Yeo *et al.*, 2011).

Actualmente los acodos se están utilizando en fruticultura, en la producción comercial de litchi (Oros, 2010); esta técnica también se utiliza comercialmente en la producción de portainjertos de aguacate (Alves-de Oliveira *et al.*, 1999; Castellanos *et al.*, 2000). Dada la alta heterogeneidad que de forma natural presentan los portainjertos obtenidos de semilla, es difícil conservar alguna característica sobresaliente de algún genotipo en cuanto a su respuesta a condiciones adversas, por lo que se hace necesaria la propagación clonal de los genotipos de interés (González y Salazar, 1984).

Cada especie se comporta diferente bajo la propagación por acodos, por lo que es necesario tener conocimiento de tipo de acodo, época, uso o no de auxinas y en caso de

usarlas, definir la dosis en la especie a propagar. Los diferentes tipos de acodos son: de punta, simple, compuesto o serpentario, aéreo, de montículo o banquillo y de trinchera (Hartmann *et al.*, 2002).

En relación a la época de acodado, Kathiresan y Ravikumar (1995) en acodos aéreos de mangle, probaron cuatro temporadas; julio a septiembre, octubre a diciembre, enero a marzo y de abril a junio, obtuvieron los mejores resultados a finales del año, coincidiendo con Eganathan *et al.* (2000), que acodaron la misma especie en octubre, enero, marzo y abril, con mejores resultados en octubre.

La mayoría de las investigaciones desarrolladas en acodos están relacionadas con el tipo y dosis de auxina. Kathiresan y Ravikumar (1995) aplicaron AIA, 24-D y AIB (2, 5 y 10 mg L⁻¹), en mangle y obtuvieron resultados favorables con 10 mg L⁻¹ de AIA. Dhillon *et al.* (2011) en acodos de *Jatropha curcas* L., con diferentes dosis (0, 75, 150, 300, 600, 900, 1200 y 1500 mg L⁻¹), de auxinas (AIA, AIB y ANA), encontraron que hay comportamiento similar con AIA y AIB con 100 % de enraizado a partir de 150 mg L⁻¹. Eganathan *et al.* (2000) con 1500, 2000 y 2500 mg L⁻¹ de AIB obtuvieron mejores resultados con 2500 mg L⁻¹. Alves-de Oliveira *et al.* (1999) y Castellanos *et al.* (2000) en aguacate usando 0, 5000 y 10000 mg L⁻¹ de AIB coinciden en que el mejor tratamiento es 10000 mg L⁻¹ de AIB.

Es importante recalcar que no todas las especies requieren de auxinas para enraizar acodos, tal es el caso en Guayabo con AIB (0, 2000, 4000 y 6000 mg L⁻¹) donde Sánchez-Urdaneta *et al.* (2009) observan que AIB en sus diferentes concentraciones no estimula la formación de raíces en comparación con el testigo.

Con base en la importancia que tiene *Pinus patula* y considerando que no hay información en esta especie, en el presente trabajo se evaluó el efecto de ácido sulfúrico y diferentes dosis de AIB, con el propósito de establecer un protocolo para el enraizamiento de acodos que pueda ser incorporado a un programa operativo para establecimiento de huertos semilleros y plantaciones clonales.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1. Descripción general del experimento

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del vivero del Postgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados, localizado a 19° 27' 38.25" LN y 98° 54' 23.91" LO, a 2,243 m de altitud. Se estableció un ensayo de propagación vegetativa por medio de acodos modificados evaluando la combinación de diferentes dosis de AIB + ácido sulfúrico en un diseño con seis tratamientos.

3.4.2. Producción de plantas madres

Para la producción de plantas madres se utilizó un lote de germoplasma de *Pinus patula* procedente de Aquixtla, Puebla, localizado entre los 19° 43' 11.9" LN y 97° 59' 21.3" LO, a 2,930 m de altitud. Con el propósito de generar plantas por medio de acodos, la siembra se realizó en Agosto de 2012, realizando el ensayo de acodos en Mayo de 2013. La siembra de semilla y trasplante se efectuó igual que en las plantas madre de estacas (Capítulo II).

3.4.3. Establecimiento del ensayo

El enraizado por acodos modificados se realizó en el eje principal de plantas madres de 9 meses (mayo de 2013), previamente desinfectadas con fungicida e insecticida (propamocarb y deltametrina a razón de 1.5 ml L⁻¹), eliminando las hojas que se encontraban en los primeros 15 cm de la base del eje principal y ramas. Posteriormente se anilló el eje principal a 8 cm de la base, colocando auxina AIB en concentraciones de 0, 5000 y 10000 mg L⁻¹ en polvo, en combinación con ácido sulfúrico 1N (sin y con), en la

parte superior del anillado. En las plantas que presentaban ramas laterales en la base, en anillado se realizó por arriba de estos sin ser eliminados.

Una vez que se eliminaron las hojas de la base, realizado el anillado y aplicados los productos, se colocaron tubos de PVC de 3" de diámetro y 15 cm de longitud a cada planta y se agregó el sustrato (mezcla de vermiculita y turba; 4:1v/v), quedando los tubos centrados al eje principal y el anillado cubierto de sustrato en su totalidad (Figura 3.1).

La temperatura y humedad del ambiente no fueron controladas. Después del llenado de los tubos de PVC con sustrato, las macetas con acodos se colocaran bajo sombra al 50 %, se dieron riegos manuales según fueron requeridos hasta su evaluación (11 semanas). Durante el tiempo de desarrollo de raíces se aplicó fertilizante soluble (20-20-20, 200 mg L⁻¹) cada semana y fungicida (propamocarb 1.5 ml L⁻¹) e insecticida (deltametrina 1.5 ml L⁻¹) como preventivos cada tercer día por medio de aspersora manual.



Figura 3.1. Procedimiento para el acodado de *Pinus patula*; A: planta madre normal, B: planta sin acículas en la base, C: anillado y aplicación de hormona, D: colocación del tubo de PVC y sustrato (acodo terminado).

Después de la semana once que se midieron todas las variables de interés, los acodos enraizados fueron trasplantados a macetas del mismo tamaño que las plantas madres (8 dm^3) con mezcla conformada de aserrín composteado, tierra de monte, agrolita y vermiculita (4:2:1:1 v/v), adicionando 4 kg/m^3 de fertilizante de liberación controlada, con una pequeña capa de tezontle en el fondo para mejorar el drenaje. Inmediatamente los acodos trasplantados fueron colocados dentro de un invernadero con humedad relativa alta ($\geq 80 \%$) con la finalidad de evitar estrés de las plantas; después de tres semanas se sacaron del invernadero y se colocaron bajo sombra de árboles adultos ($\pm 75 \%$) durante dos semanas, posteriormente se expusieron a luz solar directa.

3.4.4. Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento. Los factores fueron dosis de AIB (0, 5000 y 10000 mg L⁻¹), ácido sulfúrico 1N (sin y con), en plantas sin y con ramas en la base, para generar un total de 12 tratamientos (3 x 2 x 2). Como consecuencia de la muerte de plantas madres sin presencia de ramas en la base, solo se analizaron los factores: dosis de AIB y ácido sulfúrico (3 x 2), quedando 6 tratamientos.

3.4.5. Variables a evaluar

La toma de datos inicio a partir de la semana 11 de establecido el experimento. Las variables fueron supervivencia, porcentaje de enraizado, número de raíces primarias, longitud de raíz más larga y presencia de raíces secundarias.

- **Supervivencia.** Un acodo se consideró muerto cuando tenía más del 50 % de necrosamiento a partir de la parte basal. Para el análisis estadístico se tomaron como 0 (cero) acodo muerto y 1 acodo vivo.
- **Porcentaje de enraizado.** Se consideró como acodo enraizado cuando poseía una o más raíces. Tomando como planta enraizada 1 (uno) y no enraizada 0 (cero).
- **Número de raíces primarias.** Se contó el número de raíces primarias.
- **Longitud de raíces.** Se midió la longitud de la raíz más larga.
- **Raíces secundarias.** Se observó la presencia o no de raíces secundarias, teniendo como 0 (cero) ausencia y 1 (uno) presencia

- **Presencia de raíces secundarias.** Se observó la presencia de raíces que dependían de raíces primarias. Teniendo como 0 (cero) ausencia y 1 (uno) presencia.

3.4.6. Análisis de datos

Debido a que las plantas madres acodadas que no tenían ramas en la base murieron, solo se analizó la respuesta de los acodos en las plantas con presencia de ramas en la base (6 tratamientos). Se realizó análisis estadístico para determinar el efecto de las dosis de AIB y el uso de ácido sulfúrico 1N con el procedimiento MIXED del Sistema de Análisis Estadístico SAS.

De acuerdo con el diseño experimental del ensayo, el modelo de análisis utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + S_j + AS_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk} = valor de la variable observada con la i-ésima dosis de AIB, con la j-ésima aplicación de ácido sulfúrico en la k-ésima repetición.

μ = media general;

A_i = efecto de la i-ésima dosis de AIB (0, 5000 y 10000 mg L⁻¹);

S_j = efecto de la j-ésima aplicación de ácido sulfúrico 1N (sin y con);

AS_{ij} = efecto de la interacción entre la i-ésima dosis de AIB y la j-ésima aplicación de ácido sulfúrico.

ε_{ijk} = error experimental.

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.5.1. Diferencias en presencia o ausencia de ramas

Se encontraron diferencias significativas entre las plantas madres acodadas con y sin ramas en la base. Todas las plantas que no presentaban ramas murieron y las que presentaban en su mayoría sobrevivieron y enraizaron (Figura 3.2). Esto puede ser debido al suministro de fotosintatos que aportaron las ramas a la parte baja, lo que no sucedió en las que no tenían ramas. Cabe indicar que en aguacate, manzano y litchi, este comportamiento no ha sido observado, y todas las ramas son eliminadas para facilitar el manejo de los acodos. Una vez que la parte baja se mantuvo viva siguió suministrando agua y nutrientes a la parte alta hasta la formación de raíces para que la planta pudiera mantenerse por sí sola.

Después que la supervivencia de la planta está asegurada, es importante la función de las acículas que se encuentran en la parte alta del anillado dado que aportan foto-asimiladores y auxinas, entre otras sustancias que estimulan el enraizado. Yeo *et al.* (2011) con *Fagraea auriculata* Jack, destacan la importancia de la retención de hojas para el éxito en enraizamiento en acodos aéreos.

Según Mohr y Schopfer (1995), el ácido indolacético (AIA) producido principalmente en los ápices de las ramas y hojas jóvenes es transportado de forma basipetala por un mecanismo polar a través del floema, siendo acumulado en la parte superior del anillo donde la corteza fue retirada, estimulando el enraizado. Además otros metabolitos y almidones, también producido por las hojas y transportado por el floema, se acumulan arriba del anillado y facilitan el enraizamiento (Veierskov, 1988).



Figura 3.2. Plantas madres de *Pinus patula* acodadas después de 11 semanas; A: vivas (con ramas), B: muertas (sin ramas).

3.5.2. Análisis de varianza

No se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0.05$) en las variables de enraizamiento por acodos de *P. patula* para los factores AIB, AS e interacciones en plantas que sobrevivieron (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1 Valor de significancia de los factores probados según el análisis de varianza de las variables de enraizamiento de acodos modificados de plantas de *Pinus patula* con ramas en la base.

FACTOR	% SUP	% PR	NRP	LR	% PRS
AIB	0.3011	0.5023	0.7087	0.6938	0.7572
AS	0.7129	1.0000	0.5803	0.9664	0.7615
AIB * AS	0.1804	0.1351	0.1514	0.2253	0.1822

AIB: ácido indolbutírico, AS: ácido sulfúrico, SUP: supervivencia, PR: presencia de raíces primarias, NRP: número de raíces primarias, LR: longitud de raíz, PRS: presencia de raíces secundarias.

3.5.3 Diferencia entre productos

En el Cuadro 3.2 se presentan los valores medios y error estándar de cada una de las variables de estudio por cada dosis de AIB y ácido sulfúrico en plantas madres que sobrevivieron. Como se puede observar, no se requiere el uso de auxinas o ácido sulfúrico para el enraizado de acodos de *Pinus patula*, dado que los valores más altos se obtuvieron sin la aplicación de estos productos. Tomando en cuenta los costos de auxina y ácido sulfúrico, además el tiempo de preparación y aplicación, no es rentable su uso en enraizado de acodos.

Cuadro 3.2. Valores medios y error estándar del enraizamiento de acodos de *Pinus patula* para diferentes dosis de AIB y ácido sulfúrico (sin y con) en plantas madres con presencia de ramas.

AIB	AS	% SUP	% PR	NRP	LR	% PRS
0		93 ± 9.7	81 ± 11.4	14 ± 3	14.9 ± 2.5	100
5000		75 ± 9.7	62 ± 11.4	11 ± 3	11.9 ± 2.5	100
10000		75 ± 9.7	69 ± 11.4	11 ± 3	14.3 ± 2.5	100
	sin	83 ± 7.9	71 ± 9.3	11 ± 2	13.6 ± 2	100
	con	79 ± 7.9	71 ± 9.3	13 ± 2	13.8 ± 2	100

AIB: ácido indolbutírico, AS: ácido sulfúrico, SUP: supervivencia, PR: presencia de raíces, NRP: número de raíces primarias, LR: longitud de raíz, PRS: presencia de raíces secundarias.

3.5.4. Efecto de los productos

La supervivencia de las plantas fue 100 % en el testigo, teniendo la más baja con 5000 mg L⁻¹ de AIB, y con ácido sulfúrico 1N + 10000 mg L⁻¹ de AIB, en ambos casos con 62.5 % (Cuadro 3.3). En virtud que no hay reportes de investigaciones de este tipo en *Pinus patula*, o en el género *Pinus*, los resultados de porcentaje de enraizado con aplicación de 10000 mg L⁻¹ de AIB son similares a los de Alves-de Oliveira *et al.* (1999) y Castellanos *et al.* (2000) en acodos de Aguacate. En cuanto al uso de ácido sulfúrico, no se cuenta información sobre su uso en acodos.

El número promedio de raíces primarias fue superior (26) con la aplicación de 5000 mg L⁻¹ de AIB, estadísticamente igual a las que se aplicó ácido sulfúrico en combinación con 10000 mg L⁻¹ de AIB; el promedio más bajo (11) se obtuvo con 10000 mg L⁻¹ de AIB sin AS y en el testigo absoluto (sin AIB ni AS). Estos resultados son similares a los de Alves-de Oliveira *et al.* (1999) y Castellanos *et al.* (2000) en Aguacate, teniendo los valores más altos entre 20 y 22 raíces primarias. Considerando el número de raíces obtenido en estacas (1 – 4), es clara la ventaja de porque debemos utilizar acodos, pero debido a que no hay trabajos al respecto, son poco utilizados.

La longitud de raíz es favorable con ambos productos (de 16 a 22.9 cm), sobresaliendo AIB 5000, presentando las raíces más cortas el testigo y ácido sulfúrico + AIB 5000 mg L⁻¹ (Cuadro 3.3). Aun así, el tamaño de raíces obtenido en la metodología probada en *P. patula* es mayor que en cualquier especie que se haya enraizado por acodo, posiblemente porque se restringen a un cierto tamaño de recipiente. Tomando en cuenta que todas las combinaciones presentaron más de 16 cm de longitud de raíz y que los acodos que fueron tratados con AIB muestran los valores más altos, puede concluirse que la auxina solo acelera la formación de raíces, enraizando a mayor tiempo sin su aplicación, por ejemplo Brennan y Kenneth (1998) en acodos de *Inga feuillei* DC, donde después de tres semanas obtuvieron mayor porcentaje de enraizado con aplicación de AIB, igualándose con el testigo dos semanas después.



Figura 3.3. Acodos de *Pinus patula* enraizados; A: raíz después de retirar el tubo PVC y sustrato, B: corte de planta enraizada, C: raíz completa de acodo.

La presencia de raíces secundarias no fue factor útil para distinguir el mejor tratamiento en el experimento realizado, dado que en todos los acodos enraizados hubo presencia de éstas. Tomando en cuenta que con el testigo se logró 75 % de enraizado y con la aplicación de ácido sulfúrico aumentó a 87.5 %, permite suponer que no se requieren auxinas para el enraizamiento de acodos de *Pinus patula*, coincidiendo con los resultados de Sánchez-Urdaneta *et al.* (2009) en *Psidium guajava* L. Además, considerando lo observado en enraizado de estacas (Capítulo II), donde la mejor respuesta se obtuvo con el testigo, permite suponer que se deben evaluar otras sustancias diferentes a las auxinas para estimular mayor enraizado de esta especie.

Cuadro 3.3. Valores medios y error estándar del enraizamiento de acodos de *Pinus patula* con interacciones de dosis de AIB y ácido sulfúrico en plantas con presencia de ramas.

Tratamiento		% SUP	% PR	NRP	LR	% PRS
AIB	AS					
0	sin	100 ± 13.77 a	75.0 ± 16.14 ab	11.2 ± 3.63 b	16.0 ± 2.23 b	100
0	con	87.5 ± 13.77 ab	87.5 ± 16.14 a	21.9 ± 3.36 a	20.4 ± 2.06 ab	100
5000	sin	62.5 ± 13.77 b	50.0 ± 16.14 b	26.0 ± 4.45 a	22.9 ± 2.73 a	100
5000	con	87.5 ± 13.77 ab	87.5 ± 16.14 a	13.0 ± 3.36 b	20.2 ± 2.06 ab	100
10000	sin	87.5 ± 13.77 ab	75.0 ± 16.14 ab	11.0 ± 3.63 b	16.8 ± 2.23 b	100
10000	con	62.5 ± 13.77 b	50.0 ± 16.14 b	21.8 ± 4.45 a	22.0 ± 2.73 a	100

AIB: ácido indolbutírico, AS: ácido sulfúrico, SUP: supervivencia, PR: presencia de raíces primarias, NRP: número de raíces primarias, LR: longitud de raíz, PRS: presencia de raíces secundarias.

Conforme a las medias presentadas en el Cuadro 3.3, no hay una tendencia marcada hacia un producto, por lo que se tiene que valorar su uso en enraizado de acodos, información que corrobora los resultados del ANOVA (Cuadro 3.1), donde no hay diferencias significativas ($p \leq 0.05$). La aplicación de ácido sulfúrico es una buena opción dado que se encuentra entre los valores más altos en todas las variables, aunque no indispensable.

Con la finalidad de tomar en cuenta un factor más en la decisión de elegir el mejor producto para enraizado de acodos modificados de *Pinus patula*, se evaluó la supervivencia de acodos después de ocho semanas de trasplantados y climatizados (Cuadro 3.4), mostrando amplia superioridad de supervivencia cuando se aplicó AS + 10000 mg L⁻¹ de AIB, obteniendo 100 % de supervivencia. Esta combinación de productos obtuvieron los mejores resultados en número de raíces primarias, longitud de raíz y presencia de raíces secundarias, teniendo los valores más bajos en supervivencia y enraizado (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.4. Supervivencias de acodos de *Pinus patula* después de enraizados, trasplantados y climatizados.

PRODUCTO	ACD	SUP1	%SUP1	ENR	%ENR	SUP2	SUP2
T	8	8	100.0	6	75.0	2	33.3
AS	8	7	87.5	7	87.5	4	57.1
AIB 5000	8	5	62.5	4	50.0	2	50.0
AIB 10000	8	7	87.5	7	87.5	4	57.1
AS + AIB 5000	8	7	87.5	6	75.0	2	33.3
AS + AIB 10000	8	5	62.5	4	50.0	4	100.0

T: testigo, AIB: ácido indolbutírico, AS: ácido sulfúrico, ACD: plantas acodadas, SUP1: supervivencia después de acodadas, ENR: enraizadas, SUP2: supervivencia después de trasplantadas

Considerando que los acodos enraizados presentaron valores altos en longitud y número de raíces y tomando en cuenta la experiencia en enraizado de estacas de esta misma especie (Capítulo II), donde los valores fueron inferiores y se obtuvo supervivencia de 100 % después de trasplantadas, podemos suponer que la longitud y número de raíces no fueron limitantes a la supervivencia de acodos después de trasplantados. Por lo tanto estos resultados no se atribuyen al uso de AIB y ácido sulfúrico en enraizado de acodos de *Pinus patula*, puede ser a causa del manejo e instalaciones inapropiadas para climatización de acodos después del trasplante.

3.6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

3.6.1 Conclusiones

Es posible propagar *Pinus patula* por acodos modificados.

Es necesario la presencia de ramas laterales en la planta madre de *Pinus patula* por abajo del anillado para evitar la muerte de la planta acodada.

Tomando en cuenta las variables medidas a la onceava semana de establecido el experimento, el enraizado de acodos de *Pinus patula* se puede llevar a cabo sin la aplicación de ácido sulfúrico 1N o ácido indolbutírico.

La baja supervivencia de acodos después de trasplantados no es consecuencia de los tratamientos aplicados, sino del manejo inapropiado.

3.6.2 Recomendaciones

Una vez enraizado el eje principal y retirado de la planta madre, se recomienda hacer anillado a las ramas laterales siempre y cuando estos tengan más ramas en la base; de esta forma se puede obtener gran número de clones de una misma planta donante por medio de acodos modificados.

En plantas que no presentan ramas en la base, se recomienda hacer podas durante la fase inicial de desarrollo, esto con la finalidad de generar rebrotes y acodar el que muestre mayor dominancia apical y así sucesivamente.

4. LITERATURA CITADA

- Ahuja M R, W J Libby (1993)** Clonal Forestry II, Conservation and Application. Springer-Verlag, Berlin. 244 p.
- Alves-de Oliveira A, O C Koller, Á Villegas M (1999)** Propagación vegetativa de aguacate selección 153 (*persea* sp.) por acodo en contenedor. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 221-225.
- Amri E, H V M Lyaruu, A S Nyomora, Z L Kanyeka (2010)** Vegetative propagation of African Blackwood (*Dalbergia melanoxylon* Guill. & Perr.): effects of age of donor plant, IBA treatment and cutting position on rooting ability of stem cuttings. New Forests 39: 183–194.
- Anderson A B, L J Frampton, R J Weir (1999)** Shoot production and rooting ability of cuttings from juvenile greenhouse Loblolly pine hedges. Transactions of the Illinois State Academy of Science 92 (1-2): 1-14.
- Banco Internacional de Reconstrucción y Fomento Mundial, BIRF (1992)** El Sector Forestal. Documento de Política del Banco Mundial. Washington, DC, USA. 88 p.
- Bettinger P, M Clutter, J Siry, M Kane, J Pait (2009)** Broad implications of southern United States pine clonal forestry on planning and management of forests. International Forestry Review. 11: 331–345.
- Bielenin M (2003)** Rooting and gas exchange of conifer cuttings treated with indolbutyric acid. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research. 11: 99-105.

- Brennan E B, W M Kenneth (1998)** Vegetative propagation of *Inga feuillei* from shoot cuttings and air layering. *New Forests* 15: 37–51.
- Burdon R D, M J Carson, C J A Shelbourne (2008)** Achievements in forest tree genetic improvement in Australia and New Zealand. 10. *Pinus radiata* in New Zealand. *Australian Forestry*. 71: 263–279.
- Cabrera R I (1999)** Propiedades, uso y manejo de sustratos de cultivo para la producción de plantas en maceta. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5(1): 5-11.
- Castellanos I R, R B Muñoz P, J G Cruz C (2000)** Propagación de aguacatero por acodo utilizando etiolación, ácido indolbutírico, y obstrucción de savia. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 6(1): 101-104.
- Castillo F J D (2011)** Factores de influencia en el enraizamiento de estacas de *Abies religiosa* (H.B.K.) Schl. et Cham. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, México. 67 p.
- CONAFOR (2010)** Situación Actual y Perspectivas de las Plantaciones Forestales Comerciales en México. 472 p.
- Cuisance P (1988)** La multiplicación de las plantas y el vivero. Mundi-prensa. 165 p.
- Dhillon R S, M S Hooda, J S Pundeer, K S Ahlawat, I Chopra (2011)** Effects of auxins and thiamine on the efficacy of techniques of clonal propagation in *Jatropha curcas* L. *Biomass and Bioenergy* 35:1502-1510.
- Dvorak W S, G R Hodge, J E Kietzka, F Malan, L F Osorio, T K Stanger (2000)** *Pinus patula*. In: Conservation & Testing of Subtropical & Subtropical Forest Tree

Species by the CAMCORE Cooperative College of Natural Resources, NCSU. Raleigh. pp: 149-173.

Eganathan P, C Srinivasa, A Anand (2000) Vegetative propagation of three mangrove tree species by cuttings and air layering. *Wetlands Ecology and Management* 8: 281–286.

FAO (2000) El estado actual de las plantaciones forestales en América Latina y el Caribe y examen de las actividades relacionadas con el mejoramiento genético. Elaborado por C. Palmberg-Lerche y J. B. Ball. Servicio de Desarrollo de los Recursos Forestales Dirección de Recursos Forestales Departamento de Montes FAO, Roma. 13 p.

FAO (2010) Evaluación de los recursos forestales mundiales 2010: Informe Principal. Estudio FAO Montes No. 163. Roma.

Farjon A (1996) Biodiversity of *Pinus* (Pinaceae) in Mexico: speciation and palaeo-endemism. *Botanical Journal of the Linnean Society* 121: 365-380.

Farjon A, J A Pérez de la Rosa, B T Styles (1997) Field Guide to the Pines of Mexico and Central America: Royal Botanic Gardens. Kew, UK. 147 p.

Gillespie A J R (1992) *Pinus patula* Schiede and Deppe. Patula pine. SO-ITF-SM-54. New Orleans, LA. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 5 p.

González R H, S Salazar-García (1984) Root induction and vegetative development from avocado plantules (*Persea americana* Mill.). *California Avocado Society Yearbook* 48: 167-171.

- Hackett W P (1985)** Juvenility, maturation, and rejuvenation in woody plants. Horticultural Reviews. 7: 109-155.
- Hamann A (1998)** Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation. Trees 12: 175-180.
- Hartmann H T, D E Kester, F T Davies Jr. R L Geneve (2002)** Plant propagation principles and practices. 7th ed. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey.
- Henrique A, E Nogueira, E Orika O, S Zambello (2006)** Effect of plant growth regulators in the rooting of *Pinus* cuttings. Brazilian Archives of Biology and Technology. 49 (2): 189-196.
- Hunt M A, J T Stephen, 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.
- Kanninen M (2010)** Plantations Forests: Global perspectives. In: P. V. Jürgen Bauhus. Ecosystem goods and services from plantation forests. T.J. International, UK. pp: 1-15.
- Kappelle M (2008)** Diccionario de la Biodiversidad. INBio-TNC. Santo Domingo de Heredia, Costa Rica. 385 p.
- Kathiresan K, S Ravikumar (1995)** Short communication vegetative propagation through air-layering in two species of mangroves. Aquatic Botany 50: 107-110.

- Lang C (2004)** Árboles genéticamente modificados: la amenaza definitiva para los bosques. Movimiento Mundial por los Bosques Tropicales-Amigos de la Tierra. Montevideo, Uruguay. 112 p
- Majada J, A C Martínez, F Isabel, K I A Angelo, A Ricardo (2010)** Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 41(3): 399-412.
- Martínez M (1948)** Los Pinos Mexicanos. 2ª ed. México, Ed. Botas. 368 p.
- Mitchell R G, J Zwolinski, N B Jones (2004)** A review on the effects of donor maturation on rooting and field performance of conifer cuttings. *Southern African Forestry Journal*. 201: 53-63.
- Mitchell R G, N B Jones (2006)** The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula* – Part II: Field performance. *Southern African Forestry Journal*. 207: 3-9.
- Mohr H, P Schopfer (1995)** Physiology of hormone action. *Plant Physiology Freiburg*. P. 383-408.
- Muñoz G L, J J Vargas H, J López U, M Soto H (2009)** Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa*. *New Forests* 38: 187–196.
- Nagash L (2002)** Successful vegetative propagation techniques for the threatened African pencil cedar (*Juniperus procera* Hochst. ex Endl.). *Forest Ecology and Management* 161: 53-64.

- Navarrete L M, J Vargas H (2005)** Propagación asexual de clones de *Eucalyptus camaldulensis* DEHNH, utilizando rádix en diferentes concentraciones. Revistas Chapingo. Serie ciencias forestales y del ambiente. XI (002):111-116.
- Nelson W (2003)** Propagating Plantation Trees from Cuttings in Containers. Management Ltd. Christchurch, New Zeland. 18 p.
- Nienstaedt H (1990)** Importancia de la variación natural. *In*: Mejoramiento Genético y Plantaciones Forestales. Memoria. T Eguiluz Piedra y A Plancarte Barrera (eds.). Chapingo, México. pp: 16-23.
- Oros N A (2010)** Producción y comercialización de litchi (*Litchi chinensis* Sonn) en la región central del estado de Veracruz. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados, Campus Veracruz, México. 84 p.
- Perry J P (1991)** The Pines of Mexico and Central America. Timber Press, Portland, Oregon. 231 p.
- Poupard C M, Chauviere, O Monteuuis (1994)** Rooting *Acacia mangium* cuttings: Effects of age, within shoot position and auxin treatment. *Silvae Genetica*. 43: 226-231.
- Quijada R M (1980)** Métodos de propagación vegetativa. *In*: FAO. 1980. Mejora Genética de Árboles Forestales. Informe sobre el curso de Capacitación FAO/DANIDA sobre la Mejora Genética de Árboles Forestales Celebrado en Mérida, Venezuela. Enero Febrero de 1980. FAO. Roma, Italia. pp: 189-196.
- Ram M, P K Majumdar (1980)** Propagating litchi through stoling. *Indian Horticulture*. 25(2): 20-21.

- Ruiz G R, J J Vargas H, V M Cetina A, Á Villegas M (2005)** Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* roxb. Revista Fitotecnia Mexicana 28: 319-326.
- Sáenz R C, H Nienstaedt, J J Vargas H (1994)** Performance of *Pinus patula* genotypes selected in South Africa and growing in their native Mexican environment. Silvae Genetica 43: 73-81.
- Salaya-Domínguez J M, J López Upton, J J Vargas Hernández (2012)** Variación genética y ambiental en dos ensayos de progenies de *Pinus patula*. Agrociencia 46: 519-534.
- Sánchez-Urdaneta A B, E Suárez, M R González, Y Amaya, C B Colmenares, J Ortega (2009)** Efecto del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de acodos aéreos de guayabo (*Psidium guajava* L.). Revista UDO Agrícola 9 (1): 113-120.
- Smith D. 1997.** The role of *in vitro* methods in pine plantation establishment: the lesson from New Zealand. Plant Tissue Culture and Biotechnology. p: 63-73
- Tousignant D, P Périnet, M Rioux (1996)** Black spruce cutting propagation at the Pépinière de Saint-Modeste. Ministère des Ressources Naturelles Canada. RN96-3004. 33 p.
- 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.

- Valencia Manzo S, J J Vargas Hernández (2001)** Correlaciones genéticas y selección simultánea del crecimiento y densidad de la madera de *Pinus patula*. *Agrociencia* 35: 109-119.
- Veierskov B (1988)** Relations between carbohydrates and adventitious root formation. *In: D T Davies, B E Haissig, N Sankla (eds.)*. Adventitious Root Formation in cuttings. pp. 70-78.
- Velázquez M A, G Ángeles P, T Llanderal O, A R Román J, J V Reyes H (2004)** Monografía de *Pinus patula*. SEMARNAT/CONAFOR. Colegio de Postgraduados. Zapopan, Jal. 124 p.
- Willan R L, K Olesen, H Barner (1993)** La variación natural como base para el mejoramiento genético forestal. Nota de clase No. A. 3. Humlebaek, Dinamarca. *In: L F Jara N (1995)* Mejoramiento Forestal y Conservación de Recursos Genéticos Forestales. Tomo I. CATIE-MIREN-PROSEFOR. Turrialba, Costa Rica. p: 1-18.
- Williams W (1965)** Principios de Genética y Mejora de Plantas. Acribia, Zaragoza, España. 513 p.
- Wingfield M J, B Slippers, J Roux, B D Wingfield (2010)** Fifty years of tree pest and pathogen invasions, increasingly threatening world forests. *In: Fifty years of invasion ecology: the legacy of Charles Elton*. DM Richardson. (eds). Wiley-Blackwell. West Sussex, UK. pp: 89-99.
- Yeo C K, B Y Q Ng, P X Ng, K Y Chong, A F S L Lok, W F Ang, S Y Tan, H T W Tan (2011)** Air-layering: a suitable method for mass-propagating the nationally critically

endangered *Fagraea auriculatum* Jack (Gentianaceae). Nature in Singapore 4: 383-392.

Zabala J S, U O Lasuen, J Majada G, K Txarterina U, M Duñabeitia A (2008)

Optimización de la propagación vegetativa por estaquillado de genotipos de interés comercial de *Pinus radiata*. Sociedad Española de Ciencias Forestales. 28: 201-205.

Zobel B J, J Talbert (1988) Técnicas de Mejoramiento Genético de Árboles Forestales.

LIMUSA. México. 545 p.