



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

**PROPAGACIÓN DE *Pinus patula*
SCHIEDE ex SCHLTDL. et CHAM.
POR ENRAIZADO DE ESTACAS**

NOHEMÍ ESCAMILLA HERNÁNDEZ

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

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

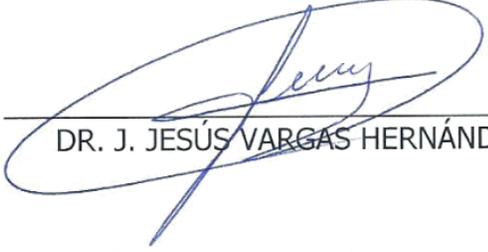
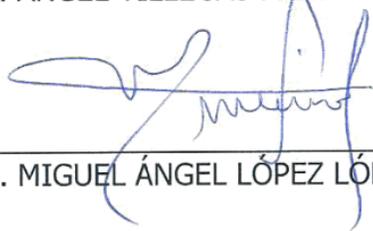
2020

La presente tesis titulada: **Propagación de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. por enraizado de estacas**, realizada por la alumna: Nohemí Escamilla Hernández con la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO	 DR. ARNULFO ALDRETE
ASESOR	 DR. J. JESÚS VARGAS HERNÁNDEZ
ASESOR	 DR. ÁNGEL VILLEGAS MONTER
ASESOR	 DR. MIGUEL ÁNGEL LÓPEZ LÓPEZ

Montecillo, Texcoco, Estado de México, noviembre 2020

PROPAGACIÓN DE *Pinus patula* SCHIEDE ex SCHLTDL. et CHAM. POR

ENRAIZADO DE ESTACAS

Nohemí Escamilla Hernández, Dra.
Colegio de Postgraduados, 2020

RESUMEN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es endémico de México, utilizado tanto en programas de reforestación como en la industria maderera. Con el avance en programas de mejoramiento genético, existe la necesidad de propagarlo masivamente a través de estacas; sin embargo, la especie es considerada de difícil enraizamiento por sus características intrínsecas, lo cual representa diversos retos. El objetivo fue evaluar tres factores que influyen en la producción de brotes de calidad y en el enraizado de estacas de *P. patula*. Se evaluaron sustratos a base de aserrín fresco y corteza de pino compostada en diferentes proporciones (1:9, 3:7, 5:5, 7:3 y 9:1 v:v), tres edades ontogénicas de la planta madre (7, 10 y 13 meses) y tres dosis (3, 5 y 7 g L⁻¹) de fertilizante de liberación controlada (FLC) Osmocote® (15-9-12 de N-P-K) aplicadas en los setos de propagación. El mayor porcentaje de enraizado (77 %) se obtuvo con la mayor proporción de aserrín (9:1), no se observó efecto ontogénico importante en las tres edades evaluadas y las dosis de FLC en la planta madre no incrementaron la producción de brotes de calidad. Se concluye que el aserrín tiene potencial para el enraizado de *Pinus*, la juvenilidad de los setos se mantiene hasta los 13 meses y se sugiere fertilizar con dosis bajas de Osmocote® (15-9-12 de N-P-K) en la planta madre para producir brotes de calidad. Este trabajo contribuye en la afinación de protocolos para el enraizamiento de estacas de *Pinus patula*.

Palabras clave: aserrín de pino, corteza de pino, fertilización, juvenilidad, nutrición

ROOTING OF *Pinus patula* SCHIEDE ex SCHLTDL. et CHAM. CUTTINGS

Nohemí Escamilla Hernández, Dra.
Colegio de Postgraduados, 2020

ABSTRACT

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. is an endemic to Mexico, used in reforestation programs and in the timber industry. With the advance of operational genetic improvement programs, there is a need to mass propagate it through rooted cuttings. However, the species is considered difficult to root due to its intrinsic characteristics, which represent various challenges. The objective was to evaluate three factors that have influenced production of quality shoots and rooted cuttings of *P. patula*. Substrates based on different proportions of fresh sawdust and composted pine bark (1:9, 3:7, 5:5, 7:3 and 9:1 v:v) were evaluated; in addition, three ontogenic ages of mother plants (7, 10 and 13 months) and three doses (3, 5 and 7 g L⁻¹) of controlled-release fertilizer (CRF) Osmocote® (15-9-12 de N-P-K) applied in the hedge, were also evaluated in separate rooting trials. The highest percentage of rooting (77%) was obtained with the highest proportion of sawdust (9:1); no significant ontogenetic effect was observed in the three evaluated ages, and the doses of CRF applied to mother plants did not increase production of quality shoots. It is concluded that sawdust has potential for rooting *Pinus patula*, the juvenility of the hedges is maintained up to 13 months and mother plants can be fertilized with low doses of CRF Osmocote® (15-9-12 de N-P-K) to produce quality shoots. This work contributes to the refinement of protocols for rooting of *Pinus patula* cuttings.

Key words: pine sawdust, pine bark, fertilization, juvenility, nutrition

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo otorgado para la realización de mis estudios de doctorado.

Al Colegio de Postgraduados por permitirme cumplir una de mis metas en la vida con gran satisfacción tanto en lo personal como profesional. Sobre todo, a los profesores que hacen posible que la Institución cuente con un nivel de excelencia y promuevan principios y valores tan necesarios para la sociedad.

Al proyecto Conacyt PN 2015-1-218 por los recursos para asistentes y material.

A los integrantes del comité por el tiempo y dedicación que me han brindado, colaboración en equipo y calidad humana, pero sobre todo por su confianza, amistad y apoyo moral en momentos difíciles para la culminación de este proyecto

Al Dr. Arnulfo Aldrete, por la disposición, amabilidad, acompañamiento diligente y apoyo en todo momento para la ejecución del proyecto de investigación.

Al Dr. J. Jesús Vargas Hernández, por facilitar el material genético utilizado para este proyecto (semillas mejoradas de *Pinus patula*), además de la formación académica de excelencia, disposición, objetividad; gracias por su infinita paciencia y aportaciones para mejorar la calidad del trabajo de investigación.

Al Dr. Ángel Villegas Monter, por brindarme una nueva perspectiva de mirar la ciencia, su enseñanza fue de inspiración para cambiar el enfoque de investigación que me llenó

de muchas satisfacciones y retos. Estoy muy agradecida por eso y muestras de apoyo durante el proceso.

Al Dr. Miguel Á. López López, gracias por la disponibilidad, atenciones, empatía en momentos difíciles y aportaciones clave para mejorar el trabajo de investigación.

Al Dr. Javier López Upton, coordinador del vivero forestal, por su invaluable apoyo y facilidades otorgadas para el establecimiento del experimento.

Al Dr. Marcos Jiménez Casas, Dra. Libia Trejo Téllez, Dra. Silvia Edith García Díaz por los consejos y apoyo fueron muy significativos en el proceso de investigación.

Al Dr. Manuel Aguilera Rodríguez, por compartir su experiencia y conocimiento en el manejo del aserrín, fue clave para definir la temática de investigación.

A la Dra. Saraí Montes Recinas, por facilitar los recursos para material y personal de apoyo, pero sobre todo por su invaluable amistad.

Agradezco infinitamente al personal de apoyo en campo en especial a Lucy, Mary, Alex, Manuel, Raúl, Roger, Vero, Anita y Esmeralda; y personal administrativo del Postgrado en Ciencias Forestales.

Amigos y compañero de maestría y doctorado, gracias por todo su apoyo, en especial a Arturo, Elisea, Ma. Elena, Carmen, Lucy, Uriel, Linda, Richard, Faby, Diana, Luz María y Filyp.

DEDICATORIAS

Al ser supremo que nos da la vida y todas las manifestaciones de amor infinito y universal.

A toda mi familia, en especial a mis padres Anastasio Escamilla y Ana María Hernández por conducirme al camino del despertar en consciencia y todas mis hermanas que han sido guías a lo largo de mi camino Alicia, Myrna, Ana y Susana. Gracias por todo su amor incondicional y apoyo infinito.

A mis tíos Anita y Nacho por siempre estar presentes en nuestras vidas, a toda mi familia, primos, sobrinos, cuñados, ahijados, amigos en especial Vero, Arturo, Saraí y Jorge. Gracias por compartirme momentos de alegría y felicidad

A todos los que hacen posible que vivamos en un mundo mejor

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPÍTULO I. PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE <i>Pinus patula</i> SCHIEDE ex SCHLTDL. et CHAM. EN DIFERENTES SUSTRATOS.....	7
1.1. RESUMEN.....	7
1.2. SUMMARY	8
1.3. INTRODUCCIÓN	9
1.4. MATERIALES Y MÉTODOS	11
1.4.1. Localización del estudio y condiciones de propagación	11
1.4.2. Tratamientos y diseño experimental	13
1.4.3. Caracterización física y química de los sustratos.....	13
1.4.4. Variables evaluadas.....	15
1.4.5. Análisis estadístico.....	15
1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
1.6. CONCLUSIÓN	20
1.7. BIBLIOGRAFÍA.....	21
CAPÍTULO II. ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS JUVENILES DE SETOS DE <i>Pinus</i> <i>patula</i> SCHIEDE ex SCHLTDL. et CHAM.	24
2.1 RESUMEN.....	24
2.2 SUMMARY	25
2.3 INTRODUCCIÓN	26
2.4 MATERIALES Y MÉTODOS	29
2.4.1 Establecimiento y manejo de los setos.....	29
2.4.2 Obtención y manejo de las estacas.....	30
2.4.3 Tratamientos y diseño experimental	31
2.4.4 Variables evaluadas	32
2.4.5 Análisis estadístico.....	33

2.5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
2.5.1	Eficiencia de enraizado.....	35
2.5.2	Calidad de enraizado.....	36
2.6	CONCLUSIÓN.....	38
2.7	BIBLIOGRAFÍA.....	39
CAPÍTULO III. FERTILIZACIÓN DE SETOS DE <i>Pinus patula</i> SCHIEDE ex SCHLTDL. <i>et</i> CHAM. PARA PRODUCCIÓN Y ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS		42
3.1	RESUMEN.....	42
3.2	SUMMARY	43
3.3	INTRODUCCIÓN	44
3.4	MATERIALES Y MÉTODOS	48
3.4.1	Establecimiento y manejo de los setos.....	48
3.4.2	Tratamientos y diseño experimental	49
3.4.3	Variables evaluadas	49
3.4.4	Análisis estadístico.....	53
3.5	RESULTADOS	54
3.5.1	Producción de estacas de las plantas madre.....	54
3.5.2	Capacidad de enraizamiento de las estacas.....	61
3.6	CONCLUSIONES	64
3.7	BIBLIOGRAFÍA.....	65
CONCLUSIONES GENERALES		69

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.1. Propiedades físicas de los sustratos utilizados para el enraizamiento de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schldl. et Cham.	14
Cuadro 1.2. Propiedades químicas de los sustratos utilizados para el enraizamiento de <i>Pinus patula</i> Schiede ex Schldl. et Cham.	14
Cuadro 1.3. Coeficiente de correlación entre las propiedades físicas y químicas del sustrato y las variables respuesta de las estacas (n=5).	18
Cuadro 1.4. Valores medios (\pm error estándar) por tipo de sustrato, de las características de las raíces generadas.	19
Cuadro 2.1. Resultados del análisis de varianza de las características evaluadas en el ensayo de enraizamiento de estacas de <i>Pinus patula</i> obtenidas de setos de 7, 10 y 13 meses de edad.	34
Cuadro 2.2. Valores promedio (\pm error estándar) por edad de la planta madre de las características de las raíces evaluadas en el ensayo de enraizamiento de estacas de <i>Pinus patula</i>	37
Cuadro 3.1. Valores promedio (\pm error estándar) de la producción de brotes por planta en setos de <i>Pinus patula</i> con diferente dosis de fertilizante de liberación controlada.	55
Cuadro 3.2. Comparación entre concentración de nutrimentos foliares en brotes de plantas de <i>Pinus patula</i> inicial y después de tres meses de crecer en fertilizante de liberación controlada.	56
Cuadro 3.3. Valores promedio de concentración de nutrimentos foliares en brotes de plantas de <i>Pinus patula</i> después de tres meses de crecer en diferentes dosis de fertilizante de liberación controlada.	58

Cuadro 3.4. Valores promedio de las características de capacidad de enraizado de brotes de plantas de *Pinus patula* que recibieron diferentes dosis de fertilizante de liberación controlada 62

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1. Efecto del sustrato en: A) supervivencia, B) enraizamiento y C) presencia de callo. S1 =1:9, S2 =3:7, S3 =1:1, S4 =7:3 y S5 =9:1 (aserrín y corteza v:v)..... 17
- Figura 2.1. Efecto de la edad ontogénica (7, 10 y 13 meses) de la planta madre en: A) supervivencia, B) enraizamiento y C) presencia de callo..... 35
- Figura 3.1. Manejo de setos antes y después de las dos cosechas de estacas. A y B corresponden al mes de mayo (2018); C y D al mes de julio (2018)..... 50
- Figura 3.2. Método de vectores en el análisis nutrimental. Relación entre nivel foliar de N (A), P (B), K (C), Mg (D), B (E) y Zn (F) y peso de materia seca de 100 acículas de *Pinus patula*, respectivamente, el muestreo se realizó después de tres meses de la aplicación del fertilizante de liberación controlada en las plantas madre. Las líneas punteadas indican contenido nutrimental. 60

INTRODUCCIÓN GENERAL

La propagación vegetativa permite la producción de plantas con características genéticas idénticas a la planta madre; esta se logra principalmente mediante técnicas de enraizamiento de estacas, injertado, acodos y cultivo *in vitro* (Hartman *et al.*, 2014; Park *et al.*, 2016). La propagación vegetativa se aplica en la preservación de especies en peligro de extinción o amenazadas, establecimiento de huertos semilleros, propagación masiva de clones seleccionados, conservar genotipos superiores que determinan características favorables (resistencia a plagas y/o enfermedades, tolerancia a condiciones extremas, crecimiento, entre otras) (Jain y Häggman *et al.*, 2007; Park *et al.*, 2016). En silvicultura, la propagación vegetativa es importante para la producción de genotipos seleccionados y acortar los ciclos de selección en los programas de mejoramiento genético (Bonga, 2015).

La propagación por estacas ha sido la técnica más utilizada a nivel mundial para la multiplicación a gran escala de genotipos seleccionados. Esta técnica consiste en utilizar parte de la planta (tallo, raíz, hoja) que en condiciones favorables genera los órganos faltantes para obtener una planta nueva (Hartman *et al.*, 2014). En países con mayor desarrollo forestal que México existe la tendencia por el uso de estacas para la multiplicación con fines de reforestación y plantaciones comerciales de especies como *Pinus caribaea* Morelet, *P. patula* Schiede ex Schltdl. et Cham, *Picea spp.*, *Eucalyptus spp.* y *Cryptomeia japonica* D. Don, entre otras (Couto y Dubé, 2001; Mitchell and Jones, 2006; Ritchie, 1991; Trueman, 2006).

Pinus patula especie endémica de México, se distribuye en Tamaulipas, Querétaro, Hidalgo, Tlaxcala, Puebla, Veracruz y Oaxaca (Perry, 1991). Se utiliza en los programas de reforestación por su abundancia y productividad (Romo *et al.*, 2014) y en la industria maderera por su calidad de troza, fuste recto y capacidad de poda natural (Escobar-Sandoval *et al.*, 2018; Velázquez *et al.*, 2004). Con respecto a las plantaciones comerciales es utilizada intensivamente en árboles mejorados genéticamente, particularmente en Sudáfrica (Saéñz-Romero, 1994).

Existe el interés de estudiar la propagación vegetativa de esta especie en México debido a que en los últimos 20 años se han desarrollado programas de mejoramiento genético (Salaya-Domínguez *et al.*, 2012; Morales *et al.*, 2013). Ejemplo de ello, fue el establecimiento de ensayos de progenie en Aquixtla, Puebla y Acaxochitlán, Hidalgo, en los que se evaluaron árboles superiores, seleccionados en poblaciones naturales de los estados de Hidalgo, Veracruz y Puebla, con base en a sus características fenotípicas, con el propósito de estimar el valor genético de los individuos en diferentes condiciones ambientales (Salaya-Domínguez *et al.*, 2012). Una vez seleccionados los mejores individuos, la idea es propagarlos de manera masiva, de ahí la importancia de desarrollar protocolos que ayuden a este propósito.

En general, las especies de coníferas no son fáciles de propagar por estacas. Estas especies presentan varios retos, entre ellos: estado de madurez de la planta madre, tamaño de estaca, estado nutrimental de la planta madre, época de colecta de estacas, condiciones ambientales y medio de enraizamiento (Foster *et al.*, 2000; Geiss *et al.*, 2009; Michael *et al.*, 2004; Regonezi *et al.*, 2010)

Uno de los factores importantes a definir es el tipo de sustrato que se debe utilizar como medio de enraizado debido a que en la etapa inicial del enraizado se requieren condiciones favorables de humedad, sin llegar a la saturación o anegamiento del medio de crecimiento (Regonezi *et al.*, 2010). Aunado a lo anterior, es necesario que el sustrato presente características ideales que lo hagan rentable para la propagación de *Pinus* como: disponibilidad, uniformidad, ligero, libre de plagas y económico.

La edad ontogénica es otro factor importante que tiene implicaciones en el éxito del estacado; los tejidos fisiológicamente maduros tienen baja capacidad de enraizado a diferencia del material juvenil (Wendling *et al.* 2014). Por esta razón, el establecimiento de plantaciones comerciales se basa en el uso de material con características juveniles (Mitchell *et al.*, 2004). Se han implementado algunas técnicas para reducir la madurez de los brotes de la planta madre (Mitchell y Jones, 2006), así como el uso de plantas donadoras de estacas antes del inicio de la madurez reproductiva (Haffner *et al.*, 1991).

Otro factor relevante para el éxito de la propagación masiva es la nutrición de la planta madre. Los nutrimentos funcionan como componentes de estructuras orgánicas, activadores de reacciones enzimáticas, como portadores de carga y osmorreguladores (Geiss *et al.*, 2009); en consecuencia, el estado nutricional de la planta madre puede influir en la cantidad y calidad de los brotes disponibles, y en la capacidad y velocidad del enraizado y desarrollo de raíces de calidad. A pesar de su importancia, son pocos los estudios que describen el efecto de los minerales en el proceso de enraizado en especies leñosas (Hartman *et al.*, 2014).

Sí bien la propagación vegetativa proporciona ventajas y beneficios importantes en los programas de mejoramiento genético de especies forestales, se requiere afinar la técnica para hacer más rentable el establecimiento de plantaciones comerciales extensivas de coníferas mediante enraizamiento de estacas. Una forma de lograrlo es continuar la evaluación y selección de un sustrato adecuado de enraizado y determinar los posibles efectos de la maduración ontogénica y nutrición de la planta madre en la eficiencia del enraizado de estacas en estas especies.

El presente trabajo tuvo por objetivo evaluar el efecto del sustrato, la edad ontogénica y la nutrición de la planta madre de *Pinus patula* en relación a la capacidad de enraizado y las características de la raíz formada. En el primer capítulo de este trabajo se presentan los resultados de la utilización de diferentes proporciones de aserrín de pino y corteza en la formulación de sustratos para el enraizado de esta especie. Particularmente el aserrín tiene potencial como componente en el medio de crecimiento de especies forestales y cumple con características ideales para la propagación de estaquillas.

En el segundo capítulo se evalúa el efecto ontogénico de plantas madre a edades menores a las reportadas para este género (*Pinus*) con la finalidad de comprender mejor el proceso ontogénico. Se sabe que la capacidad de enraizamiento se reduce rápidamente conforme aumenta la edad de la planta, a pesar de realizar podas frecuentes para mantener su juvenilidad.

En el tercer capítulo se evalúa el efecto de la dosis de fertilizante de liberación controlada (FLC) aplicada a plantas madre de *P. patula* en la producción de brotes de calidad y enraizado de estacas. El uso de FLC es ampliamente utilizado en la producción

de especies forestales por su efectividad y practicidad; sin embargo, se desconoce los requerimientos de la planta madre para la producción de brotes que aseguren el enraizado de estacas.

BIBLIOGRAFÍA

- Bonga J. M. (2015)** A comparative evaluation of the application of somatic embryogenesis, rooting of cuttings, and organogenesis of conifers. *Canadian Journal of Forest Research* 45:1-5.
- Couto L. and F. Dubé (2001)** The status and practice of forestry in Brazil at the beginning of the 21st century: A review. *The Forestry Chronicle* 77:817-830.
- Escobar-Sandoval M. C., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Úpton, S. Espinosa-Zaragoza y A. Borja-de la Rosa (2018)** Parámetros genéticos de calidad de madera, crecimiento y ramificación en *Pinus patula*. *Madera y Bosques* 24:1-11, <http://doi: 10.21829/myb.2018.2421595>
- Foster G. S., H. E. Stelzer and J. B. McRae (2000)** Loblolly pine cutting morphological traits: Effects on rooting and field performance. *New Forests* 19:291-306.
- Geiss G., L. Gutierrez and C. Bellini (2009)** Adventitious root formation: new insights and perspectives. *Annual Plant Reviews* 37:127-156, <http://doi: 10.1002/9781444310023.ch5>
- Haffner V., F. Enjalric, L. Lardet and M. P. Carron (1991)** Maturation of woody plants: a review of metabolic and genomic aspects. *Annals of Forest Science* 48:615-630, <http://doi: 10.1051/forest:19910601>
- Hartmann H. T., D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve (2014)** Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice-Hall. 8a Edición. New Jersey, USA. 922 p.
- Jain S. M and Häggman (2007)** Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Springer. Dordrecht, The Netherlands. 558 p.
- Mitchell R. G., J. Zwolinski and 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, <http://doi: 10.1080/20702620.2004.10431774>
- Mitchell R. G. and N. B. Jones (2006)** The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula* –Part II: Hedge cycling and field performance. *Southern African Forestry Journal* 207:3-6, <http://doi: 10.2989/10295920609505246>

- Morales E., J. Upton, J. Vargas, C. Ramírez y A. Gil (2013).** Parámetros genéticos de *Pinus patula* en un ensayo de progenies establecido en dos altitudes. *Revista fitotecnica mexicana* 36:155-162.
- Park Y. S., J. M. Bonga and H. K Moon (2016)** Vegetative Propagation of Forest Trees. National Institute of Forest Science. Seoul, Korea. 673 p.
- Perry Jr. J. P. (1991)** The Pines of Mexico and Central America. Timber Press. Portland, Oregon, USA. 231 p.
- Regonezi C., K. Klimaszewska, M. R. Castro., M. Lima, P. de Olivera and M. A. Zavattieri (2010)** Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors. *Trees* 24:975-992, <http://doi: 10.1007/s00468-010-0488-8>
- Ritchie G. A. (1991)** The commercial use of conifer rooted cuttings in forestry: a world overview. *New Forests* 5:247-275.
- Romo D., H. Navarro, H. M. De los Santos, O. Hernández y J. López (2014)** Crecimiento maderable y biomasa aérea en plantaciones jóvenes de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. en Zacualpan, Veracruz. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 5:78-91.
- Salaya-Domínguez J. M., J. López-Úpton y J.J. Vargas-Hernández (2012)** Variación genética y ambiental en dos ensayos de progenies de *Pinus patula*. *Agrociencia* 46:519-534.
- Sáenz-Romero C., H. Nienstaedt and J. Vargas-Hernández (1994)** Performance of *Pinus patula* genotypes selected in South Africa and growing in their native Mexican environment. *Genética*:43-73-81.
- Trueman S. J. (2006)** Clonal propagation and storage of subtropical pines in Queensland, Australia. *Southern African Forestry Journal* 208:49-52, <http://doi: 10.2989/10295920609505261>
- Velázquez M., A. G. Ángeles, T. Llanderal, A. R. Román y V. Reyes (2004)** Monografía de *Pinus patula*. SEMARNAT/CONAFOR. Colegio de Postgraduados. Jalisco, México. 124 p.
- Wendling I., S. J. Trueman and A. Xavier (2014)** Maturation and related aspects in clonal forestry—Part I: concepts, regulation and consequences of phase change. *New Forests* 45:449-471, <http://doi: 10.1007/s11056-014-9421-0>

CAPÍTULO I. PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE *Pinus patula* SCHIEDE ex SCHLTDL. et CHAM. EN DIFERENTES SUSTRATOS

1.1. RESUMEN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es una especie endémica de México, utilizada en plantaciones forestales comerciales en Sudamérica y Sudáfrica. La propagación masiva de materiales mejorados de esta especie, a través de estacas enraizadas, permite aumentar su productividad y homogeneizar sus productos. Se compararon cinco sustratos a base de aserrín fresco y corteza de pino, en diferentes proporciones (1:9, 3:7, 5:5, 7:3 y 9:1 v:v) para probar el enraizamiento de estacas de *P. patula*. El diseño experimental fue bloques completos al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento, la unidad experimental estuvo conformada por 25 estacas. Se analizaron las principales características físicas y químicas de los sustratos (porosidad total, porosidad de aireación, retención de humedad, densidad aparente, pH, conductividad eléctrica y capacidad de intercambio catiónico) al inicio y al final del experimento. La evaluación de las variables respuesta se llevó a cabo a las 20 semanas de establecido el experimento. El sustrato con la mayor proporción de aserrín (9:1) presentó el porcentaje de enraizamiento de las estacas más elevado (77%), en comparación con el testigo (1:9), en donde se obtuvo 42%. Se observó alta correlación (0.97, 0.97, 0.90) del enraizado de estacas con respecto al porcentaje de aserrín, densidad aparente y pH, respectivamente. Se concluye que la mezcla de aserrín y corteza de pino (9:1) presenta características físicas y químicas apropiadas para la formulación de sustratos útiles para propagar *P. patula* mediante el enraizado de estacas.

Palabras clave: *Pinus patula*, aserrín de pino, corteza de pino, enraizado de estacas, propagación, viveros.

1.2. SUMMARY

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. is an endemic species to Mexico which is used in commercial forest plantations in South America and South Africa. Massive propagation of improved materials of this species through rooted cuttings, allows the increase of productivity and homogenized products. Five substrates based on fresh sawdust and composted pine bark in different proportions (1: 9, 3: 7, 5: 5, 7: 3 and 9:1 v:v) were compared in order to test the rooting of *P. patula*. The experiment was established under a complete randomized block design, including four replications by treatment and an experimental unit of 25 rooted cuttings. The main physical and chemical characteristics of the substrates (total porosity, aeration and humidity, bulk density, pH, electrical conductivity and cation exchange capacity) at the beginning and end of the experiment were analyzed. Evaluation of the variables was carried out 20 weeks after the experiment was established. In the substrate with the highest proportion of sawdust (9:1) there was a higher percentage of rooting (77%), compared to the control (1:9), where rooting reached only 42 %. A high correlation (0.97, 0.97, 0.90) was obtained between rooting and sawdust percentage, bulk density and pH, respectively. It was concluded that a mixture of sawdust and pine bark (9: 1) has appropriate physical and chemical characteristics for the formulation of substrates useful for the propagation of *Pinus patula* using cuttings.

Index words: *Pinus patula*, pine sawdust, propagation, pine bark, rooted cuttings, nurseries.

1.3. INTRODUCCIÓN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es una especie endémica de México (Farjon *et al.*, 1997), importante tanto desde el punto de vista ecológico como comercial. Es utilizada en los programas de reforestación debido a su gran abundancia, productividad (tanto de madera como de captura de CO₂) (Romo *et al.*, 2014) y calidad de la madera (Escobar-Sandoval *et al.*, 2018). Presenta características ideales en la industria maderera (fuste recto, capacidad de poda natural y calidad de troza) (Velázquez *et al.*, 2004).

En los últimos 20 años se han iniciado programas de mejoramiento genético en México, a través de la selección fenotípica de árboles superiores y el establecimiento de ensayos de progenie (Salaya-Domínguez *et al.*, 2012). Una vez seleccionados los mejores individuos, la idea es propagarlos de manera masiva. Una de las técnicas más utilizadas para este propósito, a nivel mundial, es el enraizado de estacas, que permite capturar y transferir a los rametos el potencial genético del árbol original (Zobel y Talbert, 1984).

En México se realizan esfuerzos para generar protocolos para el enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. Los mayores retos que se han presentado incluyen definir: tamaño de estaca, estado de madurez de la planta madre, tipo de sustrato, crecimiento plagiotrópico y condiciones microambientales (Aparicio-Rentería *et al.*, 2014).

El sustrato y el espacio del contenedor son factores fundamentales para la formación y desarrollo saludable de la raíz; debido a ello, los efectos combinados del entorno (cantidad de agua y frecuencia de aplicación del riego) deben ser bien comprendidos al seleccionar el sustrato a utilizar. Fonteno y Bilderback (1993) mencionan que un sustrato debe ser el medio para: 1) poner disponible el agua 2) suministrar nutrimentos, 3) permitir el intercambio de gases entre la zona radicular y el exterior del sustrato y 4) dar soporte a la planta. De todas las propiedades del sustrato, las características físicas son las más importantes, debido a que una vez establecida la especie, difícilmente pueden manipularse (Abad *et al.*, 2004) y deben permanecer estables durante su ciclo de producción (Raviv y Lieth, 2008).

En el caso particular de las coníferas, el enraizamiento de estacas requiere, en su etapa inicial, condiciones favorables de humedad, sin llegar a la saturación o anegamiento del sustrato (Regonezi *et al.*, 2010). La turba, vermiculita, perlita y arena son materiales comúnmente utilizados en la propagación vegetativa, ya sea de manera individual o en combinación, en varias proporciones (Bielenin, 2003; Hamann *et al.*, 1998; Rasmussen *et al.*, 2009); sin embargo, el costo elevado de estos materiales los hace poco rentables (Aguilera-Rodríguez *et al.*, 2016; Fain *et al.*, 2008).

Por lo anterior, han surgido alternativas de sustratos locales que pueden usarse para el enraizamiento de estacas, como corteza de pino, cascarilla de arroz carbonizada y pino triturado (hojas, corteza y ramas). Con el uso de estos materiales se han reportado enraizamientos de 90 a 97% en especies pertenecientes a la familia Cupressaceae (Stumpf *et al.*, 1999; Witcher *et al.*, 2014) y de 80 a 95% en el género *Pinus* (Alcantara *et al.*, 2007; Browne *et al.*, 2000; Henrique *et al.*, 2006). Por su parte, Witcher *et al.* (2014)

no encontraron diferencias al comparar cuatro sustratos compuestos por corteza, corteza/turba (1:1), pino triturado, y turba/pino triturado (1:1), en el enraizamiento de *Leyland cypress* A.B.Jacks. & Dallim. (Cupresaceae). En todos los tratamientos, el enraizamiento fue mayor de 90%.

El aserrín de pino (*Pinus* sp.) es un material que tiene potencial como componente en la formulación de sustratos. Es barato, se encuentra disponible localmente, es uniforme, es liviano y está libre de plagas (Fregoso-Madueño *et al.*, 2017; Maher *et al.*, 2008). Las propiedades físicas del aserrín dependen del tamaño de sus partículas, por lo que se recomienda que un 20 a 40% sean inferiores a 0.8 mm de longitud, con una densidad de 0.1 a 0.45 g cm⁻³. La porosidad total es superior a 80%, la porosidad de retención de agua es de baja a media, pero su capacidad de aireación suele ser adecuada (Maher *et al.*, 2008). Por su parte, Tchoundjeu *et al.* (2004) reportaron 79% de enraizamiento de *Pausinystalia johimbe* (K.Schum.) Pierre ex Beille (Rubiaceae), árbol africano, en este tipo de sustrato. Si bien la corteza de pino es un medio común para la propagación vegetativa, se requiere investigar sobre otros materiales disponibles localmente que puedan utilizarse para este propósito. El presente trabajo tuvo por objetivo comparar diferentes proporciones de aserrín y corteza de pino en la formulación de sustratos para lograr altas proporciones de enraizamiento de estacas de *P. patula*.

1.4. MATERIALES Y MÉTODOS

1.4.1. Localización del estudio y condiciones de propagación

La investigación se desarrolló en el invernadero del vivero forestal del Colegio de Postgraduados, Texcoco, estado de México (19°27' 38.25"LN y 98°54'23.91"LO), a 2240

m de altitud. Para la producción de setos, como fuente de estacas, se utilizó un lote de semillas proveniente del huerto semillero clonal “Reserva Forestal Multifuncional” en Aquixtla, Puebla, de primera generación, que incluyó los 11 mejores clones con base a los resultados de un ensayo de progenie (Salaya-Domínguez *et al.*, 2012). La siembra se realizó en junio de 2017, en contenedores (tubetes) de 220 cm³. Las plantas crecieron en condiciones de invernadero hasta los siete meses, la altura promedio fue de 18 cm; a esta edad se llevó a cabo la primera poda del tallo principal, eliminando la parte apical (3 cm), para promover la generación de nuevos brotes.

A los 15 días de la poda se trasplantaron en macetas de 4 L, que contenían como sustrato una mezcla de corteza de pino compostada, vermiculita, turba y perlita (60:15:15:10, v:v:v:v), con 7 g L⁻¹ de fertilizante de liberación controlada Osmocote® (15-9-12 de N-P-K) de ocho a nueve meses de liberación, y se mantuvieron en condiciones de malla-sombra de 50%. A los tres meses después de la poda se cosecharon los brotes nuevos con longitud de 7-9 cm y diámetro basal de 2.5-3 mm para establecer el experimento.

A los brotes se les eliminaron las acículas en los primeros 3 cm desde la base y se desinfectaron con Captan (N-triclorometiltio-4-ciclohexeno-1,2- dicarboximida) en dosis de 1.5 g L⁻¹ durante 15 min. Las estacas se trasplantaron en tubetes colocados en rejillas con 25 cavidades individuales de 220 cm³, a 3 cm de profundidad en el sustrato y se asperjaron con solución de fungicida (tiabendazol 1.5 g L⁻¹) e insecticida (Imidacloprid 1.5 g L⁻¹). Para mantener la humedad relativa cercana a saturación, cada rejilla se colocó dentro de una bolsa de plástico de 90 cm de ancho por 120 cm de alto.

1.4.2. Tratamientos y diseño experimental

Se evaluaron cinco mezclas de sustratos con dos componentes (aserrín y corteza) en diferentes proporciones. Las proporciones de aserrín y corteza fueron: 10:90, 30:70, 50:50, 70:30 y 90:10. Se utilizó aserrín fresco de pino y corteza de pino composteada. La corteza se cernió a través de una criba de 0.5 cm. Los sustratos se desinfectaron con el fungicida Tecto en una dosis de 1.5 g L⁻¹ de agua; para ello, se llenaron los tubetes con el sustrato correspondiente a cada tratamiento, se regó a saturación, se dejó escurrir el exceso de agua y se aplicó el fungicida mediante una mochila aspersora. Las estacas se mantuvieron a una temperatura promedio, entre el día y la noche, de 20.8 y 22.5°C con humedad relativa mayor a 90%. El diseño experimental utilizado fue de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones por tratamiento (sustrato). La unidad experimental estuvo integrada por 25 estacas.

1.4.3. Caracterización física y química de los sustratos

Los análisis se llevaron a cabo al inicio y al final del experimento, en el laboratorio de Física de Suelos del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, utilizando tres repeticiones (muestras) de cada sustrato. Las propiedades físicas analizadas fueron porosidad total (PT), porosidad de aireación (PA), porosidad de retención de humedad (PRH) y densidad aparente; las propiedades químicas fueron pH, conductividad eléctrica (CE) y capacidad de intercambio catiónico (CIC).

Las características físicas de PT (79-91%) se encuentran por arriba del intervalo para producción de planta en recipientes de polietileno (tubetes), mientras que la PA (16-24%) se encuentra dentro de los límites recomendados (Mathers *et al.*, 2007). Además, la PRH

presentó valores más altos (55-74%) y la DA en los sustratos S₅ al inicio y S₃, S₄ y S₅ al final valores más bajos (0.14-0.18 g cm⁻³) del valor referido por Mathers *et al.* (2007) (Cuadro 1.1). Con respecto a las propiedades químicas, la CE presentó valores aceptables (0.1-0.4 dS m⁻¹), pero el pH fue más ácido (3.8-4.6), y la CIC más elevada (20-31.7 cmol kg⁻¹) que los valores sugeridos por Mathers *et al.* (2007) (Cuadro 1.2).

Cuadro 1.1. Propiedades físicas de los sustratos utilizados para el enraizamiento de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham.

Sustratos (aserrín : corteza)	PT		PA		PRH		DA	
	(%)							
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
S ₁ (1:9)	79	85	21	18	58	68	0.24	0.22
S ₂ (3:7)	82	85	24	19	58	67	0.22	0.20
S ₃ (5:5)	79	91	24	20	55	71	0.20	0.18
S ₄ (7:3)	83	89	19	18	64	71	0.19	0.16
S ₅ (9:1)	86	90	16	17	70	74	0.17	0.14
	60-80 [†]		15-35 [†]		25-55 [†]		0.19-0.70 [†]	

PT: porosidad total, PA: porosidad de aireación, PRH: porosidad de retención de humedad, DA: densidad aparente, [†]valor de referencia (Mathers *et al.*, 2007).

Cuadro 1.2. Propiedades químicas de los sustratos utilizados para el enraizamiento de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham.

Sustratos (aserrín : corteza)	pH		CE (dS m ⁻¹)		CIC (cmol kg ⁻¹)	
	Inicial	Final	Inicial	Final	Inicial	Final
S ₁ (1:9)	3.8	4.1	0.4	0.3	35	27.8
S ₂ (3:7)	3.8	4.5	0.3	0.2	29	31.7
S ₃ (5:5)	3.8	4.2	0.2	0.2	29	30.1
S ₄ (7:3)	4.2	4.2	0.2	0.1	27	25.9

S ₅ (9:1)	4.4	4.6	0.3	0.1	19	20.0
	5-6 [†]		<1.0 [†]			6-15 [†]

CE: conductividad eléctrica, CIC: capacidad de intercambio catiónico, [†]valor de referencia (Mathers *et al.*, 2007).

1.4.4. Variables evaluadas

A las 20 semanas de establecido el experimento, se extrajeron las estacas del sustrato y se evaluaron las siguientes características: supervivencia, enraizamiento, presencia de callo, número y longitud de raíces primarias, y presencia de raíces secundarias. Se consideraron estacas vivas aquellas que no presentaron tejido necrosado en ninguna parte. Las estacas con al menos una raíz de 1 mm de longitud se consideraron enraizadas. La presencia de callo se identificó como el abultamiento en la base del tallo, resultado de la división celular (Hartmann *et al.*, 2014; Rasmussen *et al.*, 2009); las raíces primarias son las que se originaron de la base o parte lateral del tallo y las secundarias las que se formaron a partir de las raíces primarias, las cuales presentaron longitud mínima de 0.5 a 1 cm. Las raíces primarias se midieron con regla con aproximación al mm. A partir de las características evaluadas en cada estaca, se obtuvo para cada unidad experimental el porcentaje de estacas vivas, con callo y enraizadas. Considerando únicamente a las estacas enraizadas, se obtuvo el número y longitud promedio de raíces primarias y el porcentaje de estacas con presencia de raíces secundarias.

1.4.5. Análisis estadístico

Para el análisis de varianza y la comparación de medias de Tukey con P =0.05, se utilizó el procedimiento Mixed del programa SAS, versión 9.3 (SAS, 2000). El modelo utilizado en el análisis de varianza fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + B_i + T_j + \varepsilon_{ij}$$

Dónde: Y_{ij} es el valor observado de la variable en la i -ésima unidad experimental del j -ésimo tratamiento, μ es el efecto de la media general, B_i es el efecto aleatorio del i -ésimo bloque, T_j es el efecto fijo del j -ésimo tratamiento y ε_{ij} es el error experimental. Todas las variables respuesta, excepto número y longitud de raíz, se transformaron con la función arco seno antes del análisis de varianza y posteriormente los valores promedio fueron re-transformados a su valor original.

Se correlacionaron las propiedades físicas y químicas del sustrato con las variables respuesta de las estacas mediante los coeficientes de correlación de Pearson.

1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los análisis de varianza, no se presentaron diferencias en la supervivencia ($p = 0.2890$), número de raíces primarias ($p = 0.3929$), longitud de raíz (0.1107) y presencia de raíces secundarias ($p = 0.6528$). Sin embargo, sí hubo diferencias significativas en el enraizamiento ($p = 0.0031$) y presencia de callo ($p = 0.0005$) (Figura 1.1).

La supervivencia de las estacas fue mayor de 90% en todos los sustratos (Figura 1.1A). Con respecto al enraizamiento existió una correlación elevada (0.97) y directamente proporcional con el contenido de aserrín en el sustrato (Cuadro 1.3). Al aumentar la proporción de aserrín en el sustrato de 10 a 90% el enraizamiento aumentó de 42 a 77% (Figura 1.1B). Este comportamiento lo reportan Tchoundjeu *et al.* (2004), quienes

observaron incremento en el porcentaje de enraizamiento de *Pausinystalia johimbe* de 65 a 79% conforme incrementó el porcentaje de aserrín.

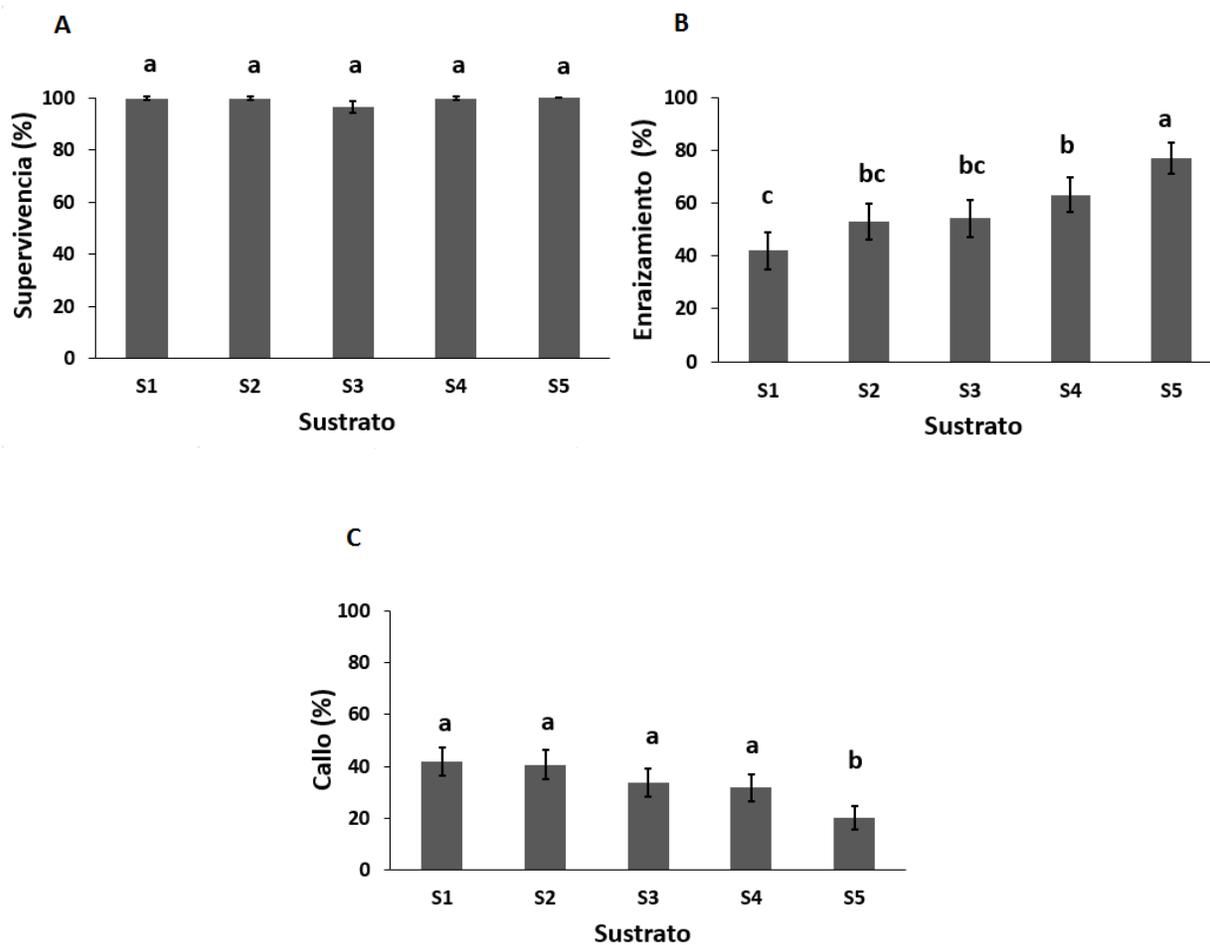


Figura 1.1. Efecto del sustrato en: A) supervivencia, B) enraizamiento y C) presencia de callo. S₁ =1:9, S₂ =3:7, S₃ =1:1, S₄ =7:3 y S₅ =9:1 (aserrín y corteza v:v).

Cuadro 1.3. Coeficiente de correlación entre las propiedades físicas y químicas del sustrato y las variables respuesta de las estacas (n=5).

	Aserrín (%)	PT (%)	PA (%)	PRH (%)	DA (g cm ⁻³)	pH	CE (dS m ⁻¹)	CIC (cmol kg ⁻¹)
Enraizado (%)	0.97 ** (p=0.004)	0.89 * (p=0.040)	-0.72 ns (p=0.174)	0.85 ns (p=0.070)	0.97 ** (p=0.006)	0.90 * (p=0.034)	-0.43 ns (p=0.469)	-0.99 ** (p=0.002)
Callo (%)	-0.81 ns (p=0.100)	-0.83 ns (p=0.083)	0.92 * (p=0.026)	-0.93 * (p=0.021)	0.78 ns (p=0.120)	-0.92 * (p=0.026)	-0.02 ns (p=0.973)	0.86 ns (p=0.065)

PT: porosidad total, PA: porosidad de aireación, PRH: porosidad de retención de humedad, DA: densidad aparente, CE: conductividad eléctrica, CIC: capacidad de intercambio catiónico; ns: sin diferencias significativas, con $p > 0.05$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$.

El enraizamiento obtenido en el presente estudio se encuentra por debajo de lo reportado por Browne *et al.* (2000) y Henrique *et al.* (2006), para *Pinus banksiana* Lamb. (87%) y *P. caribaea* Morelet (95%), en sustratos orgánicos (turba de musgo y cascarilla de arroz carbonizada); sin embargo, se podría incrementar al adicionar hormonas de enraizamiento (ácido naftalenacético e indolbutírico), como lo reportan dichos autores.

La presencia de callo obedece a condiciones de aire en el sustrato durante la primera etapa de formación de raíces (King *et al.*, 2011). Se observa correlación elevada (0.92) de la porosidad de aireación con respecto a la formación de callo (Cuadro 1.3); lo anterior puede explicarse por el hecho de que la corteza presenta partículas con tamaños superiores al aserrín, lo que contribuye a incrementar el espacio poroso y, por consecuencia, el desarrollo de callo (King *et al.*, 2011; Mathers *et al.*, 2007) (Figura 1.1C).

Con respecto al número y longitud de raíces primarias y presencia de raíces secundarias, Goldfarb *et al.* (1998) mencionan que adicional al enraizamiento de las estacas, la calidad del sistema radical juega un papel importante para la supervivencia en campo. Diferentes autores reportan, para especies de pino, de 1.4 a 2.0 raíces primarias (Rowe *et al.*, 2002), 3.3 cm de longitud de raíz (Majada *et al.*, 2011) y 19.4 a 25.8% de plantas con raíces secundarias (Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016) al enraizar las estacas en sustratos convencionales (perlita, vermiculita y turba). En el presente trabajo se encontraron valores promedio iguales o mayores que los reportados anteriormente, con 1.7 a 2.1 raíces primarias por estaca, con longitud de 5.3 a 6.7 cm y más de 60% de las estacas enraizadas presentaron raíces secundarias (Cuadro 1.4).

Cuadro 1.4. Valores medios (\pm error estándar) por tipo de sustrato, de las características de las raíces generadas.

Sustratos (aserrín : corteza)	Raíces primarias		Estacas con raíces secundarias (%)
	Número	Longitud (cm)	
S ₁ (1:9)	1.7 \pm 0.17 a	5.9 \pm 0.38 a	69.4 \pm 6.2 a
S ₂ (3:7)	1.7 \pm 0.17 a	5.8 \pm 0.38 a	71.0 \pm 6.1 a
S ₃ (5:5)	2.1 \pm 0.19 a	5.3 \pm 0.37 a	72.8 \pm 6.0 a
S ₄ (7:3)	1.9 \pm 0.18 a	5.4 \pm 0.37 a	62.9 \pm 6.5 a
S ₅ (9:1)	2.1 \pm 0.19 a	6.7 \pm 0.41 a	76.1 \pm 5.7 a

Medias en la misma columna con letras iguales no son estadísticamente diferentes (Tukey, 0.05).

Las características físicas del sustrato influyeron en el proceso de enraizamiento (Regonezi *et al.*, 2010). Se observa correlación positiva entre el enraizamiento (de 42 a 77%) y la porosidad de retención de humedad (de 58 a 70%) y de forma negativa con respecto a la porosidad de aireación (de 21 a 16%). Lo anterior se explica debido a que las estacas requieren de suministro de agua para evitar deshidratarse, esto depende del agua en el sustrato (Rein *et al.*, 1991); sin llegar a condiciones anegadas (Regonezi *et al.*, 2010) debido a que el oxígeno es importante para el proceso de formación de raíz (Erstad y Gislørød, 1994). De ahí que el tratamiento con mayor humedad (70%) y menor porosidad de aireación (16%) (Cuadro 1.1) presentó mayor enraizamiento (S₅, con 9:1 aserrín y corteza).

Por otro lado, se observa que las propiedades físicas y químicas de los sustratos se modificaron de manera favorable al finalizar el experimento (Cuadros 1.1 y 1.2), principalmente en los tratamientos que presentaron menor porcentaje de enraizamiento por las razones antes mencionadas. Lo anterior sugiere que se pueden reutilizar los sustratos con contenidos de corteza altos (S₁ y S₂), debido a que podrían generar condiciones adecuadas para el siguiente ciclo de producción de enraizamiento de estacas.

1.6. CONCLUSIÓN

La mezcla de aserrín y corteza de pino (9:1) presentó características físicas y químicas apropiadas que permitieron un porcentaje elevado de enraizamiento de estacas de *Pinus patula*, mientras que la mezcla con proporción mayor de corteza de pino (90%) presentó los valores más bajos de enraizamiento de estacas.

1.7. BIBLIOGRAFÍA

- Abad B. M., P. Noguera y B. C. Carrión (2004)** Los sustratos en los cultivos sin suelo. 2a ed. *In: Tratado de Cultivos sin Suelo*. M. G. Urrestarazu (ed.). Mundi-Prensa. Almería, España. pp:113-158.
- Aguilera-Rodríguez M., A. Aldrete, T. Martínez-Trinidad y V. M. Ordáz-Chaparro (2016)** Producción de *Pinus montezumae* Lam. con diferentes sustratos y fertilizantes de liberación controlada. *Agrociencia* 50:107-118.
- Alcantara G. B., L. L. F. Ribas, A. R. Higa, K. C. Zuffellato R. e H. S. Koehler (2007)** Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. *Revista Árvore* 31:399-404, <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622007000300005>
- Aparicio-Rentería A., S. F. Juárez-Cerrillo y L. R. Sánchez-Velásquez (2014).** Propagación por enraizamiento de estacas y conservación de árboles plus extintos de *Pinus patula* procedentes del norte de Veracruz, México. *Madera y Bosques* 20:85-96, <http://doi: 10.21829/myb.2014.201178>
- Bielenin M. (2003)** Rooting and gas exchange of conifer cuttings treated with indolbutyric acid. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 11:99-105.
- Browne R. D., C. G. Davidson and S. M. Enns (2000)** Improvements in asexual multiplication procedures for Jack pine (*Pinus banksiana*). *New Forests* 19:259-278.
- Erstad J. L. F. and H. R. Gislerød (1994)** Water uptake of cuttings and stem pieces as affected by different anaerobic conditions in the rooting. *Scientia Horticulturae* 58:151-160, [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(94\)90135-X](https://doi.org/10.1016/0304-4238(94)90135-X)
- Escobar-Sandoval M. C., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Úpton, S. Espinosa-Zaragoza y A. Borja-de la Rosa (2018)** Parámetros genéticos de calidad de madera, crecimiento y ramificación en *Pinus patula*. *Madera y Bosques* 24:1-11, <http://doi: 10.21829/myb.2018.2421595>
- Fain G. B., C. H. Gilliam, J. L. Sibley and C. R. Boyer (2008)** Whole tree substrate and fertilizer rate in production of greenhouse-grown petunia (*Petunia x hybrida* Vilm.) and marigold (*Tagetes patula* L.). *HortScience* 43:700-705, <http://doi: 10.21273/hortsci.43.3.700>
- Farjon A., J. A. Pérez de la Rosa and B. T. Styles (1997)** Field Guide to the Pines of México and Central América. Royal Botanic Gardens Kew. Oxford, England. 147 p.
- Fonteno W. C. and T. E. Bilderback (1993)** Impact of hidrogel on physical properties of coarse-structured horticultural substrates. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 118:217-222, <http://doi: 10.21273/jashs.118.2.217>

- Fregoso-Madueño J. N., J. R. Goche-Télles, J. G. Rutiaga-Quiñones, R. F. González-Laredo, M. Bocanegra-Salazar and J. A. Chávez-Simental (2017)** Alternative uses of sawmill industry waste. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 23:243-260, <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchscfa.2016.06.040>
- Goldfarb B., S. E. Surlles, M. Thetford and F. A. Blazich (1998)** Effects of root morphology on nursery and first-year field growth of rooted cuttings of loblolly pine. *Southern Journal of Applied Forestry* 22:231-234, <https://doi.org/10.1093/sjaf/22.4.231>
- Hamann A. (1998)** Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.): developmental sequence and effects of maturation. *Trees Structure and Function* 12:175-180.
- Hartmann H. T., D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve (2014)** Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice-Hall. 8a Edición. New Jersey, USA. 922 p.
- Henrique A., E. Nogueira, E. Orika and S. Zambello de Pinho (2006)** Effect of plant growth regulators in the rooting of *Pinus* cuttings. *Brazilian Archives of Biology and Technology an International Journal* 49:189-196, <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132006000300002>
- King A. R. and M. A. Arnold (2011)** Substrates, wounding, and growth regulator concentrations alter adventitious rooting of baldcypress cuttings. *HortScience* 46:1387-1393.
- Majada J., C. Martínez-Alonso, I. Feito, A. Kidelman, I. Aranda and R. Alía (2011)** Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 41:399-412, <http://doi: 10.1007/s11056-010-9232-x>
- Maher M., M. Prasad and M. Raviv (2008)** Organic soilless media components. *In: Soilless Culture: Theory and Practice*. M. Raviv and J. H. Lieth (eds.). Elsevier. USA. pp:459-504.
- Mathers H. M., S. B. Lowe, C. Scagel, D. K. Struve and L. T. Case (2007)** Abiotic factors influencing root growth of woody nursery plant in containers. *HortTechnology* 17:151-162.
- Rasmussen A., T. E. Smith and M. A. Hunt (2009)** Cellular stages of root formation, root system quality and survival of *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *P. caribaea* var. *hondurensis* cuttings in different temperatura environments. *New Forests*. 38:285-294, <http://doi: 10.1007/s11056-009-9147-6>
- Raviv M. and J. H. Lieth (2008)** Soilless Culture: Theory and Practice. Elsevier. USA. 625 p.
- Regonezi C., K. Klimaszewska, M. R. Castro., M. Lima, P. de Olivera and M. A. Zavattieri (2010)** Adventitious rooting of conifers: influence of physical and chemical factors. *Trees* 24:975-992, <http://doi: 10.1007/s00468-010-0488-8>

- Rein W. H., R. D. Wright and J. R. Seiler (1991)** Propagation medium moisture level influences adventitious rooting of woody stem cuttings. *American Society for Horticultural Science* 116:632-636.
- Rivera-Rodríguez M. O., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, A. Villegas-Monter y M. Jiménez-Casas (2016)** Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 39:385-392.
- Romo D., H. Navarro, H. M. De los Santos, O. Hernández y J. López (2014)** Crecimiento maderable y biomasa aérea en plantaciones jóvenes de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. en Zacualpan, Veracruz. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 5:78-91.
- Rowe D. B., F. A. Blazich, B. Goldfarb and F. C. Wise (2002)** Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine. II. Influence of carbohydrate and nitrogen status on adventitious rooting of stem cuttings. *New Forests* 24:53-65.
- Salaya-Domínguez J. M., J. López-Úpton y J.J. Vargas-Hernández (2012)** Variación genética y ambiental en dos ensayos de progenies de *Pinus patula*. *Agrociencia* 46:519-534.
- SAS Institute (2000)** The SAS system for Windows Release 9.3. SAS Inst., Cary, NC. USA
- Stumpf E. R. T., P. R. Grolli y J. A. González da Silva (1999)** Enraizamiento de estacas de *Chamaecyparis lawsoniana* Parl. en cinco substratos con uso de ácido indolbutírico. *Ciencia Rural Santa María* 29:207-211, <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84781999000200004>
- Tchoundjeu Z., M. L. Ngo, E. Assah and A. Amougou (2004)** The Role of vegetative propagation in the domestication of *Pausinystalia johimbe* (K. Schum), a highly threatened medicinal species of west and central África. *Forest Ecology and Management* 188:175-183, <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2003.07.010>
- Velázquez M., A. G. Ángeles, T. Llanderal, A. R. Román y V. Reyes (2004)** Monografía de *Pinus patula*. SEMARNAT/CONAFOR. Colegio de Postgraduados. Jalisco, México. 124 p.
- Witcher A., E. K. Blythe, G.B. Fain and K. J. Curry (2014)** Stem cutting propagation in whole pine tree substrates. *HortTechnology* 24:30-37, <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.24.1.30>
- Zobel B. and J. Talbert (1984)** Applied Forest Tree Improvement. The Blackburn Press. Caldwell, New Jersey, USA. 505 p.

CAPÍTULO II. ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS JUVENILES DE SETOS DE *Pinus patula* SCHIEDE ex SCHLTDL. et CHAM.

2.1 RESUMEN

Pinus patula Schiede ex Schldtl. et Cham. es endémico de México, utilizado tanto en programas de reforestación como en la industria maderera. Con el avance en programas de mejoramiento genético, existe la necesidad de propagarlo masivamente a través de enraizado de estacas. Uno de los mayores retos para este propósito es conocer el efecto de la edad de la planta madre (seto) sobre el enraizado de estacas. Se compararon tres edades ontogénicas de plantas madre de *P. patula* (7,10 y 13 meses) para evaluar el enraizamiento. El diseño experimental fue bloques completos al azar, con cuatro repeticiones y 25 estacas por unidad experimental. Las variables respuesta se evaluaron a las 20 semanas de establecido el experimento. No se observaron diferencias significativas en el enraizamiento en las tres edades evaluadas (67.3% a 81.0%), ni en la calidad de la raíz (número y longitud de raíces primarias, y porcentaje de plantas con raíces secundarias). Se concluye que las plantas madre de *P. patula* de 7, 10 y 13 meses no presentan efecto ontogénico en el porcentaje de enraizado y calidad de raíz. Este hecho contribuye a entender mejor el proceso ontogenético en coníferas y así afinar protocolos de enraizamiento de estas especies para facilitar su propagación.

Palabras clave: edad de plantas madre, juvenilidad, maduración, ontogenia, setos

2.2 SUMMARY

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. is endemic to Mexico, used in reforestation programs and the timber industry. Advancement in genetic improvement programs, there is a need for mass propagation through rooted cuttings. One of the biggest challenges for this purpose is to know the effect of the age of the mother plant (hedge) on rooted cuttings. Three ontogenetic ages of *P. patula* mother plants (7, 10 and 13 months) were compared to assess the rooting of cuttings. The experimental design was complete randomized blocks, with four replications and 25 rooted cuttings per experimental unit. The response variables were evaluated 20 weeks after the experiment was established. No significant differences were observed in the rooting at three evaluated ages (67.3% to 81.0%), nor in the quality of the root (number and length of primary roots, and percentage of plants with secondary roots). It is concluded that the mother plants of *P. patula* 7, 10 and 13 months do not present ontogenetic effect in the percentage of rooting and root quality. This fact contributes to a better understanding of the ontogenetic process in conifers and thus fine-tuning rooting protocols for these species to facilitate their propagation.

Index words: mother plants, juvenility, maturation, ontogeny, hedges

2.3 INTRODUCCIÓN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es endémico de México, de importancia a nivel mundial tanto en la industria maderera como en programas de reforestación debido a su rápido crecimiento y calidad de madera (Velázquez *et al.*, 2004).

El establecimiento de plantaciones comerciales de *P. patula* permite contrarrestar la presión del aprovechamiento de esta especie en rodales naturales y, al mismo tiempo, aumentar la productividad y calidad de madera. Con este propósito se han iniciado programas de mejoramiento genético y se han establecido ensayos de progenie en México en los últimos 20 años (Salaya-Domínguez *et al.*, 2012).

El siguiente paso después de seleccionar los mejores progenitores, con base en los resultados de los ensayos de progenie (rectitud de fuste, productividad, calidad de madera y ramificación), es la multiplicación masiva de estos individuos para incorporar la ganancia genética en las plantaciones operativas (Zobel y Talbert, 1984).

Los programas de mejoramiento genético se han enfocado a la producción de semilla mejorada (huertos semilleros) para el establecimiento de las plantaciones, pero también se pueden utilizar propágulos vegetativos a través de la clonación. La semilla se ha usado tradicionalmente por la facilidad de manejo, obteniendo notables resultados (Li *et al.*, 2020). Sin embargo, presenta desventajas desde el punto de vista de variabilidad genética, contaminación genética del huerto semillero por polen externo y autopolinización; estos factores disminuyen las expectativas de ganancia genética (El-Kassaby y Klápště, 2014; Lelu-Walter *et al.*, 2013). Esto hace que sea más ventajoso desde el punto de vista económico y técnico la propagación clonal, debido a que permite

captura todo el genotipo, y se obtiene mayor homogeneidad y capacidad de adaptación al sitio de plantación (Burdon y Aimers-Halliday, 2003).

Por lo anterior, existe interés especial en desarrollar protocolos de propagación vegetativa para las especies forestales más utilizadas en plantaciones comerciales (Park *et al.*, 2016). Existen varias técnicas para la clonación (injertos, acodos, enraizado de estacas y cultivo *in vitro*) pero la que es realmente económica a gran escala, en la actualidad, es la propagación por enraizado (Trueman, 2006). Esta técnica ha sido altamente efectiva en varias especies forestales, en particular en el género *Eucalyptus* (Couto y Dubé, 2001). En Brasil, la propagación clonal de estas especies aumentó la producción de madera de 33 a 70 m³ ha⁻¹ año⁻¹ al utilizar estacas de árboles superiores (Zobel, 1993). Desafortunadamente para la mayoría de las coníferas la edad ontogénica de las plantas donadoras o plantas madre es un factor limitante (Mitchell *et al.*, 2004a).

Haffner *et al.*, (1991) definen la madurez ontogénica como el proceso del desarrollo en plantas leñosas que implica el inicio de la madurez reproductiva, con disminución tanto en la tasa de crecimiento como en el enraizamiento de estacas. En esta fase están involucrados cambios morfológicos (Menzies *et al.*, 2000), fisiológicos (Day y Greenwood, 2011), hormonales (Valdés *et al.*, 2002; 2004), metabólicos (Haffner *et al.*, 1991) y genéticos (Day *et al.*, 2002).

En una revisión sobre el efecto de la edad ontogénica en el enraizamiento de estacas de coníferas, Mitchell *et al.* (2004a) encontraron que el porcentaje de enraizamiento oscila entre 25 y 100% en material juvenil y de 1 a 75% en material maduro. Además, se ha reportado disminución en la calidad de la raíz en híbridos de *Larix* (Peer y Greenwood,

2001), *Dalbergia melanoxylon* Guill. & Perr. (Amri *et al.*, 2010), *Grewia optiva Drummond ex Burret* (Husen, 2012), entre otras especies, a medida que avanza la edad ontogénica.

Con el propósito de reducir el efecto negativo de la maduración ontogénica se han implementado diferentes métodos y técnicas para obtener brotes juveniles de las plantas madre (Mitchell and Jones, 2006; Wendling *et al.*, 2014). Una de estas técnicas es la formación de setos de propagación en los que se mantiene a la planta madre entre 15 a 20 cm de altura mediante podas frecuentes, para favorecer la emisión de nuevos brotes a partir de yemas laterales y retrasar el proceso de maduración de la planta madre. A pesar de ello, en diferentes especies del género *Pinus* se han reportado indicios de pérdida en la capacidad de enraizamiento que varían de 35 a 64% (Mitchell *et al.*, 2004a).

En el caso particular de *Pinus patula*, Mitchell *et al.* (2004b) reportaron disminución de 80 a 35% de enraizamiento, así como en la calidad de raíz (número de raíces, diámetro y masa seca de la raíz), en setos de 1 a 4 años de edad. La reducción en la calidad de las raíces producidas repercute en menor crecimiento en altura y diámetro de las plantas enraizadas en campo (Mitchell *et al.*, 2004b; Ritchie *et al.*, 1993).

En México se ha realizado esfuerzos para generar protocolos para el enraizamiento de *Pinus patula*. Rivera-Rodríguez *et al.* (2016) estudiaron el efecto de la edad ontogénicas (12, 18 y 24 meses de la planta madre), con mayor porcentaje de enraizamiento a los 12 meses (29.2%).

Sí bien la propagación vegetativa representa mayor ventaja en los programas de mejoramiento genético en especies forestales, se requiere afinar la técnica para hacer más rentable el establecimiento de plantaciones de coníferas mediante enraizamiento de

estacas. Una forma de lograrlo es seguir explorando el proceso de maduración ontogénica en estas especies. El presente trabajo tuvo por objetivo evaluar el porcentaje y calidad de enraizamiento de estacas obtenidas de setos de *Pinus patula* de 7, 10 y 13 meses de edad.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Establecimiento y manejo de los setos

La investigación se llevó a cabo en un invernadero del vivero forestal del Colegio de Postgraduados, Texcoco, estado de México (19°27'38.25"LN y 98°54'23.91"LO), a 2240 m de altitud. Los setos de propagación se establecieron con un lote de semillas del huerto semillero clonal de primera generación "Reserva Forestal Multifuncional" en Aquixtla, Puebla. El lote incluyó la semilla de los 11 mejores clones según las evaluaciones de los enayos de progenie realizadas por Salaya-Domínguez *et al.* (2012).

Con la idea de generar plantas de 7, 10 y 13 meses para la formación de setos y asegurar que las tres edades se evaluaran al mismo tiempo en el momento de establecer el experimento, las siembras se hicieron de forma escalonada, diferidas por tres meses. Una se sembró el 6 de junio (E₃), otra, el 6 de septiembre (E₂) y la última el 6 de diciembre (E₁) de 2017. Las plantas se produjeron en contenedores (tubetes) de 220 cm³.

La primera poda se llevó a cabo en el tallo principal, para eliminar la parte apical (3 cm), cuando emergieron las primeras hojas secundarias. Las plantas de menor edad (E₁) se podaron a los cuatro meses y medio con altura promedio de 14 cm, las de edad

intermedia (E₂) a los cinco meses con altura promedio de 10 cm y las plantas de mayor edad (E₃) a los siete meses con altura promedio de 16 cm.

A los 15 días de la poda, las plantas madre se trasplantaron a macetas de 4 L, en sustrato formado por la mezcla de corteza de pino compostada, turba, vermiculita y perlita (60:15:15:10, v/v/v/v), con 7 g L⁻¹ de fertilizante de liberación controlada Osmocote® (15-9-12 de N-P-K) de ocho a nueve meses de liberación. Las plantas madre (setos) se mantuvieron en condiciones de vivero, con una malla-sombra de 50%.

Todos los setos se ajustaron mediante poda a cinco ramas primarias para tener mejor control en la arquitectura del seto. Para sincronizar la obtención de estacas en el momento de la evaluación, se efectuaron varias podas para cada edad ontogénica de la planta madre. Los setos E₁ ya no se podaron después de que se formó el seto; mientras que los setos E₂ se podaron por segunda vez a los siete meses, y los setos E₃ se podaron dos veces más, a los nueve y diez meses. Para obtener brotes homogéneos y de calidad, se dejaron cuatro brotes en el tallo principal y dos en cada rama primaria. Al momento de la cosecha, la edad de los brotes en los setos E₁ fue de dos meses y medio, y en los setos E₂ y E₃ de tres meses.

2.4.2 Obtención y manejo de las estacas

Para establecer el experimento, se cosecharon los brotes generados en el tallo principal y en las ramas podadas en cada uno de los setos. La longitud de las estacas fue de 9 cm con diámetro basal promedio de 2.0 a 2.5 mm.

Las estacas provenientes de los setos E₁ presentaron características más juveniles (tallo flexible, hojas primarias y presencia de yemas axilares); mientras que las estacas de los setos E₃ presentaron mayor grado de desarrollo (tallo menos flexible, hojas primarias y secundarias, sin yemas axilares). Las estacas de los setos E₂ presentaron características intermedias (tallo flexible, hojas primarias, inicio de hojas secundarias y con presencia de yemas axilares), de acuerdo con lo descrito por Menzies *et al.*, (2000). A los brotes cosechados se les eliminaron las acículas en los primeros 3 cm desde la base y se desinfectaron con Captan (N-triclorometiltio-4-ciclohexeno-1,2- dicarboximida) en dosis de 1.5 g L⁻¹ durante 15 min.

2.4.3 Tratamientos y diseño experimental

El experimento se llevó a cabo a mediados de julio de 2018. Se evaluaron las tres edades de los setos (E₁, E₂ y E₃) en un diseño experimental de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones. Se utilizaron 100 estacas por tratamiento, 25 por unidad experimental. Las estacas se trasplantaron en tubetes colocados en rejillas con 25 cavidades individuales de 220 cm³, a 3 cm de profundidad en el sustrato y se asperjaron con solución de fungicida (tiabendazol 1.5 g L⁻¹) e insecticida (Imidacloprid 1.5 g L⁻¹). Para mantener la humedad relativa cercana a saturación cada rejilla se colocó dentro de una bolsa de plástico de 90 cm de ancho por 120 cm de alto, y se colocaron en invernadero rústico. El sustrato de enraizamiento utilizado en los tubetes fue mezcla de aserrín fresco de pino y corteza de pino compostada (90:10 v/v). La corteza se cernió a través de criba (0.5 cm). Los sustratos se desinfectaron con fungicida Tecto en dosis de 1.5 g L⁻¹ de agua.

Se tomaron registros de temperatura del aire y del sustrato con sensor tipo HOBO con intervalos de 15 min. La temperatura media mensual del aire varió de 18.0 a 20.7°C durante el periodo de estacado (julio a noviembre de 2018); sin embargo, la temperatura diurna en ese periodo varió desde 10.8 °C (mínima promedio) hasta 36.3°C (máxima promedio). La temperatura media mensual del sustrato varió de 17.5 a 20.8°C durante el mismo periodo, con valores mínimos y máximos promedio de 11.5 °C y 31.0 °C, respectivamente.

2.4.4 Variables evaluadas

A las 20 semanas de establecido el experimento se extrajeron las estacas del sustrato y se evaluaron las siguientes características: supervivencia, enraizamiento, presencia de callo, número y longitud de raíces primarias, y presencia de raíces secundarias. Se consideraron estacas vivas aquellas que no presentaron tejido necrosado en ninguna parte. Las estacas con al menos una raíz de 1 mm de longitud se consideraron enraizadas (Rowe *et al.*, 2002). La presencia de callo se identificó como el abultamiento de tejido meristemático en la base del tallo, resultado de la división celular (Hartmann *et al.*, 2014; Rasmussen *et al.*, 2009). Las raíces primarias son las que se originaron de la base o parte lateral del tallo y las secundarias las que se formaron a partir de las raíces primarias, con longitud mínima de 0.5 cm. Las raíces primarias se midieron con regla graduada, con aproximación al mm. A partir de las características evaluadas en cada estaca, se obtuvo para cada unidad experimental el porcentaje de estacas vivas, con callo y enraizadas. Considerando únicamente las estacas enraizadas se obtuvo el número y longitud promedio de raíces primarias por estaca y el porcentaje de estacas con presencia de raíces secundarias.

2.4.5 Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza de una vía, con el procedimiento Mixed del programa SAS, versión 9.4 (SAS Institute, 2004). En los casos donde se encontró efecto significativo de la edad de la planta madre se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey con $P = 0.05$, El modelo utilizado en el análisis de varianza fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + B_i + T_j + \varepsilon_{ij}$$

Dónde: Y_{ij} es el valor observado de la variable en la i -ésima unidad experimental del j -ésimo tratamiento; μ es el efecto de la media general; B_i es el efecto aleatorio del i -ésimo bloque; T_j es el efecto fijo del j -ésimo tratamiento; y ε_{ij} es el error experimental. Todas las variables respuesta, excepto número y longitud de raíz, se transformaron con la función arco seno antes del análisis de varianza y posteriormente los valores promedio fueron re-transformados a su escala original.

2.5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existieron diferencias significativas entre los tratamientos en la supervivencia de las estacas ($P=0.029$); sin embargo, en las variables de enraizamiento, presencia de callo, número de raíces primarias, longitud de raíz y presencia de raíces secundarias no se encontró efecto significativo ($P \leq 0.05$) de la edad de la planta madre. El valor de probabilidad (P) en estas variables osciló entre 0.082 y 0.943 (Cuadro 2.1).

La supervivencia de las estacas fue mayor a 90 % en todos los tratamientos (Figura 2.1A). Sin embargo, las estacas provenientes de las plantas de mayor edad (E_3) presentaron supervivencia menor en 95 % que aquellas de las estacas de las plantas de

menor edad (E₁ y E₂). La mortandad en las estacas de las plantas E₃ al parecer se debió fundamentalmente a aspectos de manejo y/o condiciones específicas del ensayo, puesto que el menor porcentaje de supervivencia en ellas se concentró en una de las repeticiones con 84 %.

Cuadro 2.1. Resultados del análisis de varianza de las características evaluadas en el ensayo de enraizamiento de estacas de *Pinus patula* obtenidas de setos de 7, 10 y 13 meses de edad.

Variable	Media	GL	F	P
Supervivencia (%)	98.3	2	6.76	0.029
Estacas enraizadas (%)	75.6	2	3.35	0.082
Estacas con callo (%)	22.1	2	1.42	0.291
Raíces primarias (número)	1.8	2	0.15	0.865
Longitud de raíz (cm)	7.1	2	0.06	0.943
Estacas enraizadas con raíces secundarias (%)	84.9	2	1.49	0.298

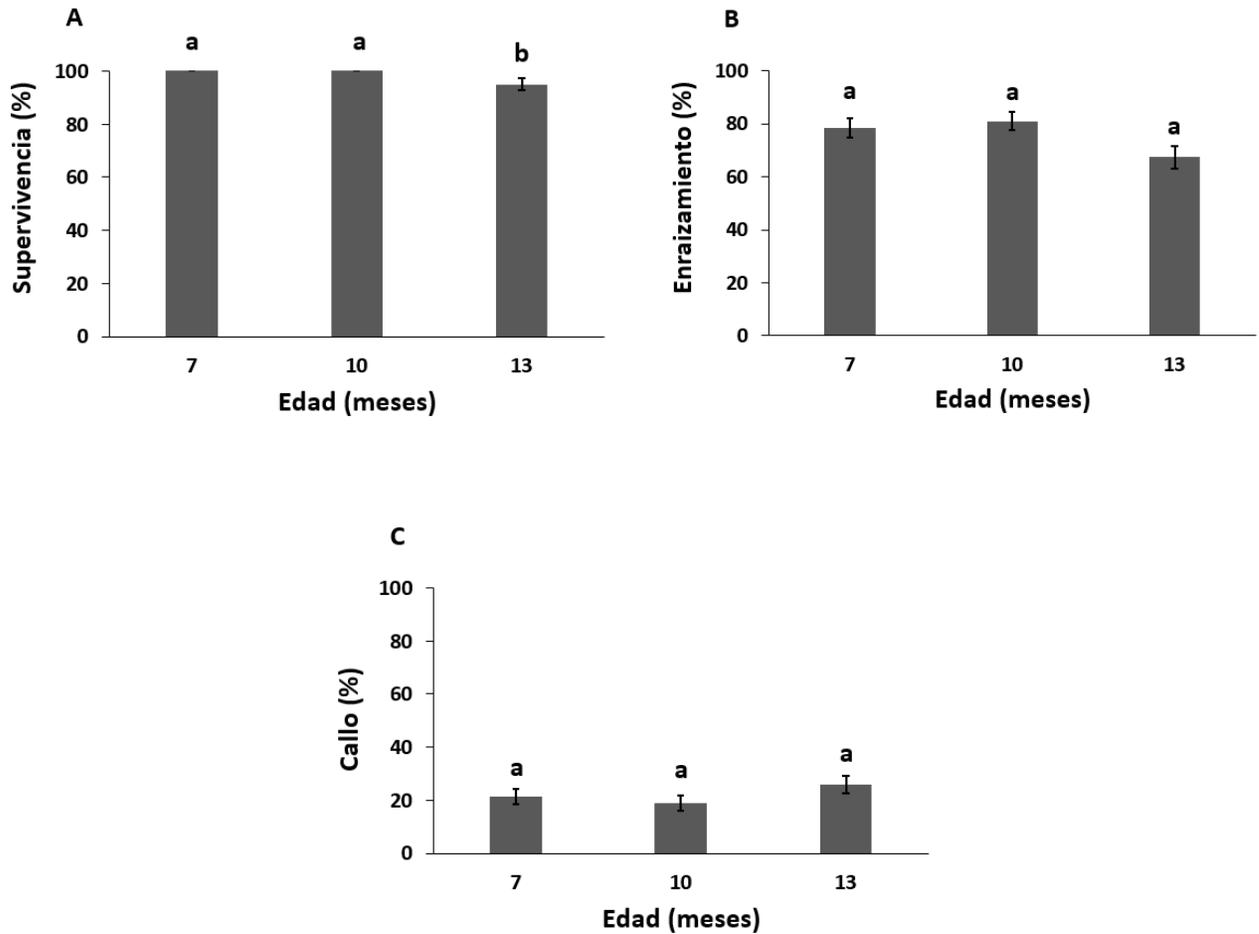


Figura 2.1. Efecto de la edad ontogénica (7, 10 y 13 meses) de la planta madre en: A) supervivencia, B) enraizamiento y C) presencia de callo.

2.5.1 Eficiencia de enraizado

El porcentaje de enraizado en todo el ensayo fue 75.6 % (Cuadro 2.1); aunque varió de 67.3 a 81.0 % en los tratamientos, las diferencias no fueron significativas entre ellos (Figura 2.1B). Estos resultados son comparables a los valores obtenidos por Mitchell *et al.* (2004b) en *Pinus patula* (80 %) con plantas madre de un año y Majada *et al.* (2011) en *Pinus pinaster* Ait. (84.7 %) con plantas de 11 meses. A pesar de no encontrar diferencias significativas entre tratamientos, se observa disminución de 14 % en la

capacidad de enraizado entre E₂ (81 %) y E₃ (67 %) (Figura 2.1B). Este hecho indica efecto ligero de madurez de la planta madre (Haffner *et al.*, 1991), lo cual se observa también en las características morfológicas de las estacas, antes descritas. Valdés *et al.* (2002) mencionan que el contenido de fitohormonas endógenas juega un papel importante en el proceso de maduración. Estos autores encontraron un aumento en el contenido de citoquininas tipo zeatina en *Pinus radiata* D. Don conforme aumenta la madurez de la planta, lo cual está relacionado con disminución de auxinas (Haffner *et al.*, 1991). Aunque no es evidente el efecto ontogénico de los setos E₃, ante la disminución endógena de auxinas, se perciben indicios de madurez en los procesos fisiológicos de la planta madre (E₃).

En promedio de todo el ensayo, 22.1 % de estacas formó callo en la base, con variación de 19 % a 26 % en las tres edades; los valores más bajos correspondieron a E₁ y E₂ (22 % y 19 %) y el más alto a E₃ (26 %), como era de esperarse debido a que esta variable es complementaria con el porcentaje de enraizamiento.

2.5.2 Calidad de enraizado

El número de raíces primarias, longitud de raíz y porcentaje estacas con raíces secundarias son atributos que definen la calidad del enraizado en las estacas, importantes en el éxito para la supervivencia en campo (Goldfarb *et al.*, 1998; Ritchie *et al.* 1993). La calidad del enraizado no se vio afectada por la edad ontogénica del seto; el número de raíces primarias por estaca se mantuvo entre 1.8 y 1.9, la longitud de raíz entre 7.0 y 7.3 cm, y de 82 % a 88 % de las estacas enraizadas presentaron raíces secundarias (Cuadro 2.2). Estos valores son similares a los registrados en el Capítulo I

de esta tesis en setos de *P. patula* de 10 meses. Majada *et al.* (2011) reportaron 2.9 raíces primarias y 3.3 cm de longitud de raíz en estacas de *Pinus pinaster* obtenidas de setos de 11 meses, sin aplicar auxinas, evaluadas a los cuatro meses. En otro estudio con estacas de *Pinus patula* provenientes de plantas madres de 12 meses de edad se encontraron en promedio 1.4 raíces primarias por estaca, con 3.8 cm de longitud y 36.7 % de estacas con raíces secundarias, evaluadas a los tres meses y medio (Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016). Aunque estos trabajos evaluaron la calidad del enraizado a menor tiempo, los datos son similares con los obtenidos en una muestra de 30 estacas por tratamiento evaluada a los cuatro meses en el presente estudio.

Cuadro 2.2. Valores promedio (\pm error estándar) por edad de la planta madre de las características de las raíces evaluadas en el ensayo de enraizamiento de estacas de *Pinus patula*.

Edad de la planta madre (meses)	Raíces primarias		Estacas con raíces secundarias (%)
	Número	Longitud (cm)	
7	1.9 \pm 0.16 a	7.0 \pm 0.60 a	84.9 \pm 3.1 a
10	1.8 \pm 0.16 a	7.0 \pm 0.60 a	87.7 \pm 2.8 a
13	1.8 \pm 0.16 a	7.3 \pm 0.60 a	82.1 \pm 3.3 a

Valores promedio seguidos de la misma letra no difieren de manera significativa ($P = 0.05$), de acuerdo con la prueba de Tukey.

Lo anterior indica que las raíces de las estacas de setos de 7, 10 y 13 meses de edad presentan atributos favorables para mayor eficiencia y calidad de enraizado. Con estas plantas madre se puede obtener mayor desarrollo en la arquitectura de la raíz, para hacer

más eficiente la absorción de agua y nutrientes, y dar soporte mecánico adecuado en campo (Mitchell *et al.*, 2004b; Ritchie *et al.*, 1993).

Foster *et al.* (1987) y Mitchell *et al.* (2004b) encontraron mayor crecimiento en campo de estacas de *P. taeda* y *P. patula* procedentes de setos de un año que de tres años. Tomando como referencia a las estacas evaluadas al año por Mitchell *et al.* (2004b), se puede inferir que las estacas a edades más tempranas (7 y 10 meses) se comportan de manera parecida debido a que tanto el enraizamiento como la calidad de raíz son semejantes, conforme a lo encontrado en el presente trabajo (Figura 2.1B y Cuadro 2.2).

2.6 CONCLUSIÓN

El porcentaje de enraizado relativamente alto (75.6 %) obtenido en el estudio, es comparable con los resultados en otras especies donde ya existen protocolos operativos bien establecidos. Hasta los 13 meses de la planta madre no se observó efecto ontogénico importante en la capacidad del enraizado ni en la calidad de las raíces, lo que permite mayor aprovechamiento de los setos operativos para la clonación masiva de genotipos seleccionados de esta especie.

2.7 BIBLIOGRAFÍA

- Amri E., H. V. M. Lyaruu, A. S. Nyomora and Z. L. Kanyeka (2010)** Vegetative propagation of African Blackwood (*Dalbergia melanoxylon* Guill. & Perr.): effects of age of donor plant, IBA treatment and cutting position on rooting ability of stem cuttings. *New Forests* 39:183-194, <http://doi: 10.1007/s11056-009-9163-6>
- Burdon R. D. and Y. J. Aimers-Halliday (2003)** Risk management for clonal forestry with *Pinus radiata* – Analysis and review 1: Strategic issues and risk spread. *New Zealand Journal of Forestry Science* 33:156-180.
- Couto L. and F. Dubé (2001)** The status and practice of forestry in Brazil at the beginning of the 21st century: A review. *The Forestry Chronicle* 77:817-830.
- Day M. E. and M. S. Greenwood (2011)** Regulation of ontogeny in temperate conifers. In *Size- and Age-Related Changes in Tree Structure and Function*. F. C. Meinzer, B. Lachenbruch and T. E. Dawson (eds.). Springer. Netherlands. pp: 91-119, http://doi: 10.1007/978-94-007-1242-3_4
- Day M. E., M. S. Greenwood and C. Diaz-Sala (2002)** Age- and size-related trends in woody plant shoot development: regulatory pathways and evidence for genetic control. *Tree Physiology*, 22(8), 507-513. DOI: 10.1093/treephys/22.8.507
- El-Kassaby Y. A. and J. Klápště (2014)** Genomic selection and clonal forestry revival. In: *Proceedings of the 3rd international conference of the IUFRO unit 2.09.02 on Woody plant production integrating genetic and vegetative propagation technologies*. Y. S. Park and J. M. Bonga (eds). September 8-12, 2014. Vitoria-Gasteiz. Spain. pp: 98-100. <https://www.iufro.org/science/divisions/division2/20000/20900/20902/publications/>
- Foster G. S., C. C. Lambeth and M. S. Greenwood (1987)** Growth of loblolly pine rooted cuttings compared with seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 17:157–164, <http://doi: 10.1139/x87-028>
- Goldfarb B., S. E. Surles, M. Thetford and F. Blazich (1998)** Effects of root morphology on nursery and first-year field growth of rooted cuttings of loblolly pine. *Southern Journal of Applied Forestry* 22:231-234, <http://doi.org/10.1093/sjaf/22.4.231>
- Haffner V., F. Enjalric, L. Lardet and M. P. Carron (1991)** Maturation of woody plants: a review of metabolic and genomic aspects. *Annals of Forest Science* 48:615-630, <http://doi: 10.1051/forest:19910601>
- Hartmann H. T., D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve (2014)** *Plant Propagation: Principles and Practices*. Prentice-Hall. Eighth edition. New Jersey, USA. 922 p.
- Husen A. (2012)** Changes of soluble sugars and enzymatic activities during adventitious rooting in cuttings of *Grewia optiva* as affected by age of donor plants and auxin treatments. *American Journal of Plant Physiology* 7:1-16, <http://doi: 10.3923/ajpp.2012.1.16>

- Lelu-Walter M. A., D. Thompson, L. Harvengt, L. Sanchez, M. Toribio and L. E. Pâques (2013)** Somatic embryogenesis in forestry with a focus on Europe: state-of-the-art, benefits, challenges and future direction. *Tree Genet Genomes* 9:883-899, <http://doi: 10.1007/s11295-013-0620-1>
- Li X., X. T. Liu, J. T. Wei, Y. Li, M. Tigabu and X. Y. Zhao. (2020)** Genetic improvement of *Pinus koraiensis* in China: current situation and future prospects. *Forests* 11:1-13. <http://doi: 10.3390/f11020148>
- Majada J., C. Martínez-Alonso, I. Feito, A. Kidelman, I. Aranda and R. Alía (2011)** Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 41:399–412. <http://doi: 10.1007/s11056-010-9232-x>
- Menzies M. I., M. J. Dibley, T. Faulds, J. Aimers-Halliday and D. G. Holden (2000)** Morphological markers of physiological age for *Pinus radiata*. *New Zealand Journal of Forestry Science* 30:359-364.
- Mitchell R. G. and N. B. Jones (2006)** The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula* –Part II: Hedge cycling and field performance. *Southern African Forestry Journal* 207:3-6, <http://doi: 10.2989/10295920609505246>
- Mitchell R. G., J. Zwolinski and N. B. Jones (2004a)** A review on the effects of donor maturation on rooting and field performance of conifer cuttings. *Southern African Forestry Journal* 201:53-63, <http://doi: 10.1080/20702620.2004.10431774>
- Mitchell R. G., J. Zwolinski and N. B. Jones (2004b)** The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula* - Part 1: nursery performance. *Southern African Forestry Journal* 202:29-36, <http://doi: 10.1080/20702620.2004.10431787>
- Park Y. S., J. M. Bonga and H. K Moon (2016)** Vegetative Propagation of Forest Trees. National Institute of Forest Science. Seoul, Korea. 673 p.
- Peer K. and M. S. Greenwood (2001)** Maturation, topophysis and other factors in relation to rooting in *Larix*. 2001. *Tree Physiology* 21:267-272, <http://doi: 10.1093/treephys/21.4.267>
- Rasmussen A., T. E. Smith and M. A. Hunt (2009)** Cellular stages of root formation, root system quality and survival of *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *P. caribaea* var. *hondurensis* cuttings in different temperatura environments. *New Forests* 38: 285-294, <http://doi: 10.1007/s11056-009-9147-6>
- Rivera-Rodríguez M. O., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, A. Villegas-Monter and M. Jiménez-Casas (2016)** Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 39:385-392.
- Ritchie G. A., Y. Tanaka, R. Meade and S. D. Duke (1993)** Field survival and early height growth of Douglas-fir rooted cuttings: relationship to stem diameter and root system quality. *Forest Ecology and Management* 60:237–256, [http://doi: 10.1016/0378-1127\(93\)90082-x](http://doi: 10.1016/0378-1127(93)90082-x)
- Rowe D. B., F. A. Blazich, B. Goldfarb and F. C. Wise (2002)** Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine. II. Influence of carbohydrate and nitrogen

- status on adventitious rooting of stem cuttings. *New Forests* 24:53-65, [http://doi: 10.1023/A:1020555013964](http://doi:10.1023/A:1020555013964)
- Salaya-Domínguez J. M., J. López-Úpton y J.J. Vargas-Hernández (2012)** Variación genética y ambiental en dos ensayos de progenies de *Pinus patula*. *Agrociencia* 46:519-534.
- SAS Institute Inc. (2004)** The SAS system for windows. Release 9.4. SAS Inst., Cary, NC. USA.
- Trueman S. J. (2006)** Clonal propagation and storage of subtropical pines in Queensland, Australia. *Southern African Forestry Journal* 208:49-52, [http://doi: 10.2989/10295920609505261](http://doi:10.2989/10295920609505261)
- Valdés A. E., M. L. Centeno, S. Espinel and B. Fernández (2002)** Could plant hormones be the basis of maturation indices in *Pinus radiata*?. *Plant Physiology and Biochemistry* 40:211-216, [http://doi: 10.1016/S0981-9428\(02\)01371-2](http://doi:10.1016/S0981-9428(02)01371-2)
- Valdés A. E., B. Fernández and M. L. Centeno (2004)** Hormonal changes throughout maturation and ageing in *Pinus pinea*. *Plant Physiology and Biochemistry* 42:335-340, [http://doi: 10.1016/j.plaphy.2004.02.004](http://doi:10.1016/j.plaphy.2004.02.004)
- Velázquez M., A. G. Ángeles, T. Llanderal, A. R. Román y V. Reyes (2004)** Monografía de *Pinus patula*. SEMARNAT/CONAFOR. Colegio de Postgraduados. Jalisco, México. 124 p.
- Wendling I., S. J. Trueman and A. Xavier (2014)** Maturation and related aspects in clonal forestry—Part I: concepts, regulation and consequences of phase change. *New Forests* 45:449-471, [http://doi: 10.1007/s11056-014-9421-0](http://doi:10.1007/s11056-014-9421-0)
- Zobel B. J. (1993)** Clonal forestry in the eucalypts. *In: Clonal Forestry II: Conservation and Application*. M. R. Ahuja and W. J. Libby (eds.). Springer. Verlag, Berlin. pp:139-148.
- Zobel B. and J. Talbert (1984)** Applied Forest Tree Improvement. The Blackburn Press. Caldwell, New Jersey, USA. 505 p.

CAPÍTULO III. FERTILIZACIÓN DE SETOS DE *Pinus patula* SCHIEDE ex SCHLTDL. et CHAM. PARA PRODUCCIÓN Y ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS

3.1 RESUMEN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es endémico de México, utilizado en plantaciones comerciales en varios países. La propagación masiva de materiales mejorados de esta especie mediante el enraizado de estacas permite aumentar y uniformar sus productos. La nutrición de la planta madre es clave para generar estacas de calidad que posibiliten el éxito en campo. Es fundamental conocer el efecto del estado nutrimental de la planta madre en relación con la producción y enraizado de estacas. Se compararon tres dosis (3, 5 y 7 g L⁻¹) de fertilizante de liberación controlada (FLC) Osmocote® (15-9-12 de N-P-K) aplicadas en setos de *P. patula* para evaluar producción y enraizado de estacas. El diseño experimental fue bloques completos al azar con 11 repeticiones, cada una formada por cuatro setos. Se evaluó la producción total y calidad de brotes en dos fechas (mayo y julio de 2018) así como la concentración nutrimental en el tejido foliar (N, P, K, Mg, B y Zn) al inicio y en la primera cosecha de estacas (mayo); el enraizamiento y calidad de raíz se evaluaron a las 20 semanas de establecido el ensayo. No se observaron diferencias significativas en la producción total y calidad de brotes en las dos cosechas con los tratamientos aplicados en las plantas madre. De igual manera, no se observaron diferencias significativas en el enraizado (53.2 % a 77.8 %) ni en la calidad de raíz, a excepción de la longitud de raíz, que presentó mayor crecimiento (7.6 cm) en la dosis más alta. En conclusión, se sugiere fertilizar con dosis baja de FLC Osmocote® (15-9-12 de N-P-K) a las plantas madre para la producción de brotes de calidad. Un mayor entendimiento del balance nutrimental en la planta madre ayudará a

afinar el esquema de fertilización para mayor producción de brotes que asegure el enraizado de estacas.

Palabras clave: brotes de calidad, fertilizante de liberación controlada, nutrición, Osmocote.

3.2 SUMMARY

Pinus patula Schiede ex Schtdl. et Cham. it is an endemic pine to Mexico, used in commercial plantations in several countries. The massive propagation of improved materials of this species through rooted cuttings allows to increase and standardize their products. The nutrition of mother plants is key to generate quality cuttings that enable success in the field. It is essential to know the effect of the nutritional status of the mother plant in relation to the production and rooted cuttings. Three doses (3, 5 and 7 g L⁻¹) of controlled release fertilizer (CRF) Osmocote® (15-9-12 de N-P-K) applied to *P. patula* hedges were compared to evaluate production and rooting of cuttings. The experimental design was complete randomized blocks with 11 replications, each one consisting of four hedges. The total production and quality of shoots were evaluated on two dates (May and July 2018), as well as the nutrient concentration in leaf tissue (N, P, K, Mg, B and Zn) at the beginning and after the first harvest of cuttings (may); rooting and root quality were evaluated 20 weeks after the trial was established. No significant differences were observed in the total production and quality of shoots in the two harvests with the treatments applied to mother plants. Similarly, no significant differences were observed in rooting (53.2% to 77.8%), nor in root quality, except for root length, which presented greater length (7.6 cm) with the highest dose. In conclusion, it is suggested to fertilize

mother plants with a low dose of CRF Osmocote® (15-9-12 de N-P-K) for the production of quality shoots. A greater understanding of the nutritional balance in mother plant will help to fine-tune the fertilization scheme for greater shoot production to ensure rooting of cuttings.

Index words: quality shoots, controlled release fertilizer, nutrition, Osmocote.

3.3 INTRODUCCIÓN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es endémico de México de importancia a nivel mundial, tanto en la industria maderera como en programas de reforestación, debido a su rápido crecimiento y calidad de madera (Velázquez *et al.*, 2004). En México se realizan esfuerzos para generar protocolos para el enraizamiento de estacas de *Pinus patula*; en diferentes estudios se ha obtenido entre 21.4% y 86 % de enraizado en esta especie, tomando en cuenta diferentes factores, como tipo de sustrato (convencional y tradicional), edad ontogénica (de 24 a 12 meses), tipo de contenedor (bolsa, tubete, cama de enraizado) y concentración de auxinas (0-10,000 ppm) (Aparicio-Rentería *et al.*, 2014; Rivera-Rodríguez *et al.*, 2016; Escamilla-Hernández *et al.*, 2020). A pesar de ello, sigue siendo un reto el estado nutrimental de la planta madre, definir concentraciones adecuadas de auxinas, tamaño de estaca y condiciones ambientales durante el proceso de enraizado.

Para la obtención de cantidades suficientes de brotes juveniles, se requiere la formación y manejo adecuado de setos de las plantas madre que se desean clonar (Wendling *et al.* 2014). Esta técnica consiste en mantener a las plantas donadoras de estacas entre 15 a 20 cm de altura mediante podas frecuentes. Sin embargo, la implementación operativa

de este proceso no es sencillo, puesto que no hay suficiente experiencia con respecto a las prácticas de manejo que permitan generar brotes juveniles durante varios ciclos de producción y que además sean de calidad.

La nutrición de la planta madre es importante para incrementar el porcentaje de enraizado y desarrollar raíces de calidad (Geiss *et al.*, 2009; Haissig, 1986). Sin embargo, a pesar de su relevancia son pocos los estudios que evalúan el efecto de los minerales en la capacidad de enraizado en especies leñosas. El nitrógeno (N) es uno de los nutrimentos que mayor influencia presentan en la fertilidad de los setos, debido a que participa en la iniciación de la raíz, síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, así como en la disponibilidad de carbohidratos (Hartmann *et al.*, 2014); estos atributos favorecen la producción de brotes y enraizamiento de estacas (Kanmegne *et al.*, 2017; Martínez-Alonso *et al.*, 2012).

Por otro lado, el nitrógeno es un elemento móvil que se transloca hacia los nuevos brotes (Alcántar y Trejo-Téllez, 2007). En *Corymbia citriodora* (Hook.) K.D. Hill & L.A.S. Johnson (eucalipto) se han reportado pérdidas de 27 a 46 % de N en cada cosecha con respecto a la biomasa total de la planta madre (Trueman *et al.*, 2013a). Estos aspectos muestran la importancia del manejo nutricional de la planta madre para generar brotes de calidad en cada ciclo de producción. El término “brotes de calidad” no se ha conceptualizado formalmente todavía. Sin embargo, algunos autores lo consideran desde el punto de vista morfológico (Foster *et al.*, 2000) y fisiológico (Rowe *et al.*, 2002b) que se relaciona con el porcentaje de enraizado y calidad de raíz para mayor éxito de la planta en campo (Ritchie *et al.*, 1993).

Foster *et al.* (2000) determinaron tres rasgos morfológicos que distinguen a los brotes de calidad en *Pinus taeda* L.: altura, diámetro en la base del tallo y presencia o ausencia de yema terminal. El mayor enraizado (70-100 %) se obtuvo en presencia de yema terminal, con longitud de 5.1 a 7.6 cm y diámetro de 2 a 3 mm; mientras que, en ausencia de yema terminal, la longitud fue de 7.6 a 10.2 cm y diámetro 3 mm, con estas características se alcanzó enraizado entre 60 y 70 %.

Las características fisiológicas relacionadas con la calidad del brote, se refieren comúnmente a la concentración nutrimental, determinado mediante análisis de tejidos. La concentración de N sigue siendo un indicador importante para diagnosticar la calidad de la planta o parte de ella (Assis *et al.*, 2004; Haissig *et al.*, 1986; Landis, 1989). En el caso particular del género *Pinus*, Rowe *et al.* (2002a y b) encontraron correlación significativa ($r= 0.41$, $P = 0.01$) entre la concentración de N en el tejido total de la estaca y enraizado de *P. taeda*; el mayor porcentaje de enraizado (60-70 %) se obtuvo con una concentración entre 1.8 % y 2.0 % de N.

Por otro lado, es importante tomar en cuenta la calidad de raíz para tener mayor éxito en campo, en la que se incluyan atributos como número de raíces primarias, longitud de raíz y desarrollo de raíces secundarias (Goldfarb *et al.*, 1998; Ritchie *et al.*, 1993). En *Eucalyptus globulus* Labill. se ha reportado que Ca, N y Zn afectan significativamente el número de raíces; mientras que P, Fe, Mn y N influyen en la longitud (Schwambach *et al.*, 2005). Sin embargo, no existe una regla general, ya que un efecto positivo o negativo de un nutriente particular depende de la especie (Geiss *et al.*, 2009). Incluso dentro del mismo género existe diferente comportamiento de las especies con respecto al mismo elemento. En el caso del *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. la capacidad de enraizamiento

se ha correlacionado con el contenido de N, P y K (Trueman *et al.*, 2013b); sin embargo, estos mismos nutrientes (N, P y K) no se correlacionan con la capacidad de enraizado de estacas de *Eucalyptus dunnii* Maiden., *Eucalyptus grandis* Hill. ex Maiden. y *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake (Cunha *et al.*, 2009; Trueman *et al.*, 2013c).

A pesar de ello, se ha reportado mayor efecto positivo de B y Zn en el enraizado y calidad de raíz (Assis *et al.*, 2004). El B participa en el metabolismo y transporte de carbohidratos y, promoción en la división celular y alargamiento de la raíz (Alcántar y Trejo-Téllez, 2007; Geiss *et al.*, 2009; Lukaszewski y Blevins, 1996); mientras que el Zn interviene en la biosíntesis del triptófano precursor de auxinas (Alcántar y Trejo-Téllez, 2007).

En especies no leñosas el B participa en el enraizado y número de raíces (Haissig, 1986; Josten y Kutschera *et al.*, 1999). En el caso particular de *Juniperus virginiana* L. el boro se correlacionó más del 75 % con el enraizado, número de raíces, longitud de raíz y peso seco al aplicar nueve tratamientos de N (0-640 ppm) en la planta madre (Henry *et al.*, 1992).

Por otro lado, se ha reportado influencia del Zn en el proceso de enraizado en especies no leñosas (Andersen, 1996; Svenson y Davies, 1995); sin embargo, existen pocos estudios sobre el efecto en especies forestales leñosas. Schwambach *et al.* (2005) encontraron incremento de enraizado (de 78 a 100 %) y número de raíces (de 4 a 6) en microestacas de *Eucalyptus globulus* al aumentar la concentración de Zn de 0 a 60 μM en el medio de cultivo.

La información que se tiene hasta el momento sobre los requerimientos nutrimentales de la planta madre para generar brotes de calidad en coníferas, es escasa y es necesaria para programas de manejo de fertilización. Utilizar estándares nutrimentales de plantas propagadas en vivero forestal no es adecuado ya que el propósito del cultivo es otro (Rowe *et al.*, 202b); en los viveros interesa la producción de plantas de calidad en términos de altura y diámetro para mejorar la supervivencia y el desempeño de las plantas en campo (Landis, 1989; Prieto-Ruíz *et al.*, 2009). Debido a lo anterior, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de la dosis de fertilizante de liberación controlada aplicada a plantas madre en la cantidad y calidad de brotes producidos y en la capacidad y características de enraizado de dichos brotes en *Pinus patula*. Esta información es de interés para afinar el esquema de fertilización en plantas madre y contribuir en el protocolo de producción de estacas en especies forestales de valor comercial y ecológico.

3.4 MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1 Establecimiento y manejo de los setos

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones del vivero forestal del Colegio de Postgraduados, en el municipio de Texcoco, Estado de México (19°27'38.25"LN y 98°54'23.91"LO), a 2240 m de altitud. Los setos de propagación se establecieron con un lote de semillas del huerto semillero clonal de primera generación proveniente de la "Reserva Forestal Multifuncional" en Aquixtla, Puebla. El lote incluyó la semilla de los 11 mejores clones con base en los resultados de los ensayos de progenie (Morales *et al.*, 2013).

La siembra se realizó en septiembre de 2017, en contenedores (tubetes) de 220 cm³. A los cinco meses, la altura promedio de las plantas fue de 10 cm; a esta edad se llevó a cabo la primera poda del tallo principal, eliminando la parte apical (3 cm), para promover la generación de nuevos brotes. A los 15 días de la poda, las plantas madre se trasplantaron a macetas de 4 L, en un sustrato formado por corteza de pino compostada, turba, vermiculita y perlita (60:15:15:10, v/v/v/v). Las plantas madre se mantuvieron en condiciones de invernadero. Se aplicó riego manual con agua destilada (pH 7), en cantidad suficiente para mantener la humedad del sustrato arriba del 80% con referencia al peso del sustrato a saturación.

3.4.2 Tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos (dosis) de fertilización se aplicaron en la mezcla del sustrato al momento del transplante de tubete a maceta para iniciar la formación de los setos (febrero de 2018). Se incluyeron dosis de 3 (D₁), 5 (D₂) y 7 (D₃) g L⁻¹ de fertilizante de liberación controlada (FLC), Osmocote Plus® (15-9-12 de N-P-K) con micronutrientes y ocho a nueve meses de liberación. El fertilizante utilizado es de reacción ácida, contiene 8% de nitrato y 7% de amonio. El experimento se estableció en un diseño de bloques completos al azar. Se utilizaron 44 plantas (setos) por tratamiento colocados en 11 bloques, con cuatro setos por unidad experimental.

3.4.3 Variables evaluadas

A los seis meses de edad de la planta madre se podó para dejar cuatro ramas primarias para homogeneizar la producción de brotes y se despuntó la parte apical (3 cm). En total se llevaron a cabo dos cosechas; en la primera (mayo) se eliminaron brotes mayores de

4.5 cm de longitud (Figura 3.1 A y B); en la segunda (julio) todos los brotes fueron cosechados, excepto uno por rama primaria, el cual se dejó de manera remanente, con longitud de 4.5 a 9 cm (Figura 3.1C). En los dos casos se contabilizaron brotes totales y brotes de 7 a 9 cm con diámetros de 2 a 3 mm (brotes de calidad).

A



B



C



Figura 3.1. Manejo de seto. A y B corresponden al mes de mayo (2018) antes y después de la cosecha, respectivamente; y C corresponde después de la cosecha del mes de julio (2018).

Después de la segunda cosecha de brotes para enraizado, a los cinco meses de iniciado el experimento, se determinó el pH y CE del lixiviado de las plantas madre en una muestra de cuatro plantas por tratamiento. Se utilizó un medidor portátil Conductronic PC18 con resolución de 0.01 pH, 0.01 dS m⁻¹ CE y 0.1 °C temperatura.

El pH se encontró más ácido de lo óptimo (3.95-4.56) para especies coníferas (Landis, 1989). La CE del tratamiento D₁ presentó el valor más bajo (0.82 dS m⁻¹), D₂ un valor intermedio (1.93 dS m⁻¹) y D₃ un valor por arriba de lo recomendado (3.39 dS m⁻¹) por Timmer y Parton (1982).

Se evaluó la concentración de seis nutrientes (N, P, K, Mg, B y Zn) en el tejido foliar al inicio de los tratamientos de fertilización (febrero) y en la primera cosecha de estacas (mayo), después de tres meses de aplicación del fertilizante de liberación controlada.

Los análisis se llevaron a cabo en el laboratorio de Nutrición Vegetal del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, mediante tres repeticiones (cada una formada por una muestra compuesta). En el caso del análisis inicial se utilizaron cinco plantas por repetición, y en las estacas cosechadas en el mes de mayo se utilizaron 15 estacas de cinco setos de diferentes bloques seleccionados al azar.

En el muestreo inicial se colectó la parte superior del tallo (9 cm), cortada al momento de la poda de las plántulas (cinco meses) y se desechó la parte apical (3 cm) para homogenizar la muestra. En el segundo muestreo (mayo) se utilizaron brotes de 9 cm, a los cuales se les eliminó la parte apical (3 cm). Además del análisis foliar de las estacas cosechadas en mayo, se registró el peso de 100 acículas por tratamiento para el análisis de vectores. Se utilizaron tres repeticiones, cada una obtenida de las muestras

compuestas generadas para el análisis nutrimental. Las acículas fueron secadas en horno QL (Quincy Lar INC Model 10 Lab. Oven) durante 72 horas a temperatura de 60 °C.

La capacidad de enraizado de los brotes se evaluó en un ensayo de enraizamiento con los brotes cosechados a finales de julio de 2018. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar, con cuatro repeticiones y 25 estacas por unidad experimental. El manejo de las estacas, desde la cosecha hasta su colocación en el sustrato, se describe en los capítulos I y II de esta tesis. A las 20 semanas de establecido el ensayo se extrajeron las estacas del sustrato y se evaluaron las siguientes características: supervivencia, enraizamiento, número y longitud de raíces primarias, y presencia de raíces secundarias. Se consideraron estacas vivas aquellas que no presentaron tejido necrosado en ninguna parte. Las estacas con al menos una raíz de 1 mm de longitud se consideraron enraizadas (Rowe *et al.*, 2002b). Las raíces primarias son las que se originaron de la base o parte lateral del tallo y las secundarias las que se formaron a partir de las raíces primarias, con longitud mínima de 0.5 cm. Las raíces primarias se midieron con regla graduada, con aproximación al mm. Para cada unidad experimental se obtuvo el porcentaje de estacas vivas y enraizadas. Considerando únicamente las estacas enraizadas se obtuvo el número y longitud promedio de raíces primarias por estaca y porcentaje de estacas con presencia de raíces secundarias.

Se tomaron registros de temperatura del aire y del sustrato con un sensor tipo HOBO con intervalos de 15 min. La temperatura media mensual del aire varió de 17.8 a 20.5°C durante el periodo de enraizamiento (julio a diciembre de 2018). Sin embargo, la temperatura diurna en ese periodo varió desde 10.5 °C (mínima promedio) hasta 36.1°C

(máxima promedio). La temperatura media mensual del sustrato varió de 17.1 a 20.7 °C durante el mismo periodo, con valores mínimos y máximos promedio de 11.2 °C y 30.8 °C, respectivamente.

3.4.4 Análisis estadístico

Para evaluar el efecto de los tratamientos sobre las variables evaluadas se llevó a cabo el análisis de varianza con el procedimiento Mixed del programa SAS, versión 9.3 (SAS, 2000) y la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). Se utilizaron dos modelos en el análisis de varianza. El primero corresponde a la concentración de nutrimentos foliar:

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

El segundo al resto de las variables:

$$Y_{ij} = \mu + B_i + T_j + \varepsilon_{ij}$$

Dónde: Y_{ij} es el valor observado de la variable en la i -ésima unidad experimental del j -ésimo tratamiento, μ es el efecto de la media general, B_i es el efecto aleatorio del i -ésimo bloque, T_j es el efecto fijo del j -ésimo tratamiento y ε_{ij} es el error experimental. Las variables número de brotes y número y longitud de raíz no se transformaron; mientras que las variables en porcentaje (supervivencia, enraizamiento y presencia de raíces secundarias) se transformaron con la función arco seno antes del análisis de varianza y posteriormente los valores promedio fueron re-transformados a su valor original.

Además del análisis estadístico, la concentración de nutrimentos en el tejido foliar se analizó mediante la técnica de vectores (Timmer y Stone, 1978). Los nomogramas de vectores fueron interpretados de acuerdo con los criterios sugeridos por Park *et al.* (2015). Este método analiza conjuntamente los cambios relativos de las variables masa del componente vegetal y concentración y contenido de nutrimentos (López-López y Alvarado-López, 2010; Salifu y Timmer, 2003).

3.5 RESULTADOS

3.5.1 Producción de estacas de las plantas madre

Los tratamientos de fertilización aplicados a las plantas madre no ocasionaron efectos significativos ($P > 0.05$) sobre la producción total de brotes ni de aquellos de calidad, en ninguna de las dos cosechas evaluadas (Cuadro 3.1). En la primera cosecha las plantas produjeron en promedio 9.2 brotes y en la segunda cosecha, la producción aumentó a 18.1, de igual forma el número de brotes de calidad aumentó de 2.8 a 9.1 de la primera a la segunda cosecha.

El número total de brotes por planta en la segunda cosecha (18-19) se encuentran dentro del intervalo reportado para setos de *P. taeda* (10-34) para un periodo de evaluación de cinco meses, en la misma época del año (julio) y manejo (2 podas), pero en setos de mayor edad (17 meses) y con tamaño de estaca mayor a 9 cm de longitud (Rowe *et al.*, 2002a), Hernández y Rubilar (2012) también obtuvieron de 4 a 10 brotes por planta durante un periodo de evaluación similar (cinco meses) en *Pinus radiata* D. Don en plantas madre de 36 meses.

Cuadro 3.1. Valores promedio (\pm error estándar) de la producción de brotes por planta en setos de *Pinus patula* con diferente dosis de fertilizante de liberación controlada.

Tratamiento ¹	Mayo 2018		Julio 2018	
	Núm. total de brotes	Núm. de brotes de calidad	Núm. total de brotes	Núm. de brotes de calidad
3 g L ⁻¹	8.8 \pm 0.31 a	2.9 \pm 0.38 a	17.8 \pm 1.51 a	8.6 \pm 0.87 a
5 g L ⁻¹	9.4 \pm 0.31 a	2.8 \pm 0.38 a	17.3 \pm 1.51 a	9.1 \pm 0.87 a
7 g L ⁻¹	9.3 \pm 0.31 a	2.8 \pm 0.38 a	19.1 \pm 1.51 a	9.7 \pm 0.87 a

¹dosis de 3, 5 y 7 g L⁻¹ de fertilizante Osmocote Plus® (15-9-12 de N-P-K) y ocho a nueve meses de liberación. Valores en una columna seguidos de letras iguales no son estadísticamente diferentes, con P= 0.05.

Es probable que la falta de respuesta significativa de la planta madre a los tratamientos con respecto a la producción de brotes, se deba al desbalance nutrimental y limitaciones nutrimentales presentadas antes y después de los tratamientos, especialmente en fósforo y potasio. En el Cuadro 3.2, se observa deficiencia de N, P y B en los valores iniciales, con respecto al valor de referencia para *Pinus patula* (comunicación personal), mientras que K, Mg y Zn se encontraron por arriba de su concentración crítica (Cuadro 3.2). Por otro lado, con la fertilización en la planta madre durante tres meses, N y B incrementaron significativamente para acercarse a los niveles adecuados, pero P se mantuvo por debajo (25%) de la concentración crítica y K disminuyó 72 % quedando por debajo (18%) del valor crítico (comunicación personal) (Cuadro 3.2). A pesar de que la concentración de Mg disminuyó significativamente y Zn se mantuvo en el mismo

intervalo, la concentración foliar de estos nutrimentos es superior a su concentración crítica.

Cuadro 3.2. Concentraciones de nutrimentos foliares en brotes de plantas de *Pinus patula*, inicial y después de tres meses de la aplicación de tratamientos con fertilizante de liberación controlada.

Medición	N (%)	P (%)	K (%)	Mg(%)	B (ppm)	Zn (ppm)
Inicial	1.61 b	0.21 a	1.30 a	0.22 a	31.18 b	22.31 a
Tres meses con FLC	2.50 a	0.21 a	0.37 b	0.17 b	51.05 a	23.26 a
Valor de referencia [†]	2.43	0.28	0.45	0.10	53.00	13.90

[†]Concentración crítica del elemento para plantas de *Pinus patula* en etapa de vivero, para optimizar el peso seco total (comunicación personal).

En el caso particular de los macronutrimentos N, P y K; Hernández y Rubilar (2012) señalaron un comportamiento similar al aplicar dosis de nitrógeno de 0 a 400 mg L⁻¹ en setos de *P. radiata*. Los autores encontraron en el tejido de la estaca (hoja y tallo), aumento en la concentración de N (de 1.2 a 2.4 %), sin efecto en P (de 0.21 a 0.23 %) y disminución en K (1.2 a 0.9 %); es probable que este desbalance se haya debido al estrés fisiológico relacionado con la evapotranspiración por temperaturas elevadas y baja humedad en los setos.

En el trabajo de los autores antes mencionados (Hernández y Rubilar, 2012) así como en el presente trabajo, se registró un periodo de temperatura elevada (arriba de 35 °C) durante la primavera (marzo-junio), y la humedad del seto se mantuvo a capacidad de campo, sin aplicar riegos pesados. Husby *et al.* (2003) mencionan que al aumentar la

temperatura se incrementa la velocidad de liberación de iones del fertilizante (FLC) al medio, como NO_3^- , NH_4^+ , HPO_4^- y K^+ . El nitrato junto con el ácido fosfórico se pierde fácilmente de la solución del sustrato por lixiviación y alta temperatura (Marschner, 2012); de esta manera, es probable que la proporción de amonio haya aumentado con respecto al nitrato y, en consecuencia, el potasio disminuyera por efecto antagónico (Lang y Kaiser, 1994), generando desbalance en la nutrición del seto.

Siguiendo la misma tendencia de las condiciones ambientales y manejo, es probable que antes de la segunda cosecha (julio), el desbalance nutrimental se haya incrementado, impactando en la producción de brotes en las dosis más altas (D_2 y D_3). Husen y Pal (2016) condujeron un experimento factorial para probar los efectos de N, P y K en la producción de estacas de *Tectona grandis* L. Los autores encontraron máxima producción de brotes cuando la planta madre recibió las dosis mayores de N, P, y K (100 ppm en cada nutrimento); la evaluación se realizó a los cinco meses de aplicado el fertilizante en la planta madre. Ellos mencionan que el balance nutrimental adecuado tiene impacto deseable en la producción de estacas. Por otro lado, Trueman *et al.* (2013a) encontraron que N y K son clave para la producción de brotes en eucalipto citriodora (*Corymbia citriodora*); sin embargo, en el presente estudio a pesar de que N y K alcanzaron niveles arriba de su concentración foliar crítica en el tratamiento con 7 g L⁻¹ de fertilizante (Cuadro 3.3), no se observó efecto en la producción de brotes debido probablemente a la limitación de fósforo.

Con respecto a la concentración foliar de nutrimentos en los tratamientos, solo N mostró aumento significativo de la dosis D_1 a D_3 (de 2.33 a 2.81 %) (Cuadro 3.3). A pesar de que no se cuenta con valor de referencia de concentración nutrimental en setos de

coníferas para la producción de estacas de calidad, es probable que la falta de respuestas significativas de la planta madre a los tratamientos, al igual que en la producción de brotes, se haya debido al desbalance nutrimental mencionado.

Cuadro 3.3. Valores promedio de concentración de nutrimentos en tejido foliar de brotes de plantas de *Pinus patula*, después de tres meses de aplicadas en diferentes dosis de fertilizante de liberación controlada.

Tratamiento ¹	N (%)	P (%)	K (%)	Mg (%)	B (ppm)	Zn (ppm)
3 g L ⁻¹	2.33 b	0.21 a	0.32 a	0.17 a	50.98 a	27.82 a
5 g L ⁻¹	2.36 b	0.22 a	0.32 a	0.15 a	48.81 a	21.70 a
7 g L ⁻¹	2.81 a	0.21 a	0.48 a	0.17 a	53.35 a	20.26 a
Valor de referencia [†]	2.43	0.28	0.45	0.10	53.00	13.90

¹dosis de 3, 5 y 7 g L⁻¹ de fertilizante Osmocote Plus® (15-9-12 de N-P-K) y ocho a nueve meses de liberación. Valores en una columna seguidos de letras iguales no son estadísticamente diferentes, con P= 0.05.

[†]Concentración crítica del elemento para plantas de *Pinus patula* en etapa de vivero, para optimizar el peso seco total (comunicación personal).

Con respecto a la dosis más alta (D₃), el aumento significativo de N en el tejido foliar, la baja concentración de P y los niveles presentados de K, Mg, B y Zn, indican síntomas de aumento en la salinidad del medio, ocasionado por la insuficiencia de riego para lixiviar sales acumuladas (Landis, 1989). Con el aumento de la temperatura, incrementa la disponibilidad de nutrimentos y a su vez la asimilación de N en forma de nitrato para este

tratamiento, debido a que los cationes potasio conducen a un efecto sinérgico en la absorción que realiza la planta con dicho anión (Warren y Adams, 2002).

Por medio del análisis de vectores (Figura 3.2) se puede confirmar que después de tres meses de aplicado el FLC, la dosis más alta ocasionó crecimiento de acículas (peso seco de 100 acículas), mejoró la absorción y concentración de N, K y B, incrementó el contenido de P, aunque en menor cantidad, y ocasionó disminución del Zn por efecto antagónico (Bhardwaj *et al.*, 2019). A diferencia del análisis estadístico, el de vectores ofrece información más completa sobre la dinámica nutrimental debido a que incluye además de la concentración, el contenido de nutrimentos, representado por isolíneas (líneas punteadas) y el peso seco de 100 acículas (Figura 3.2).

Al momento de la segunda cosecha para el establecimiento del experimento (julio), es probable que la salinidad del sustrato haya aumentado más con respecto a los valores registrados en la primera cosecha. Este hecho se observó en la disminución de pH (4.56 a 3.95) y aumento de CE (0.82 a 3.39 dS m⁻¹) en las macetas de la dosis D₁ a D₃. Landis (1989) menciona que estos dos parámetros son síntomas y no causas; la disminución del pH indica presencia de iones H⁺. Cuando la raíz absorbe cationes del medio libera protones para mantener el balance electroquímico al interior de las células, lo cual aumenta la acidez en el medio (Marschner, 2012).

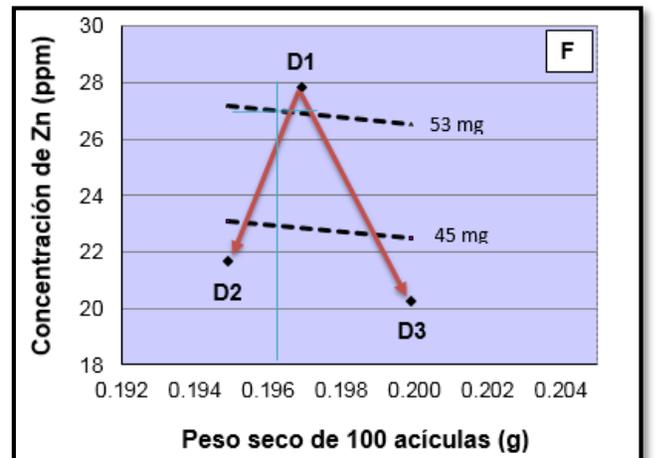
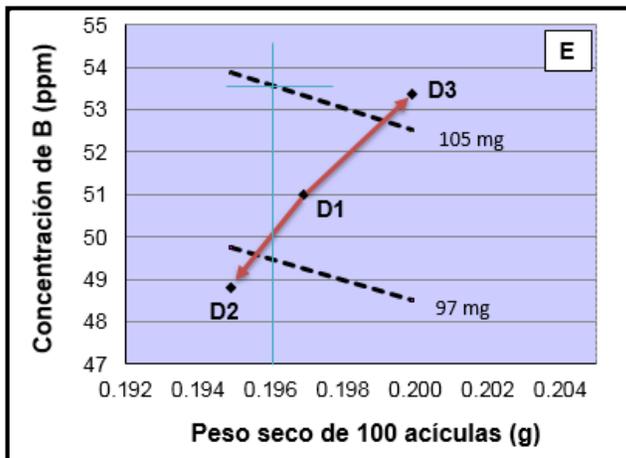
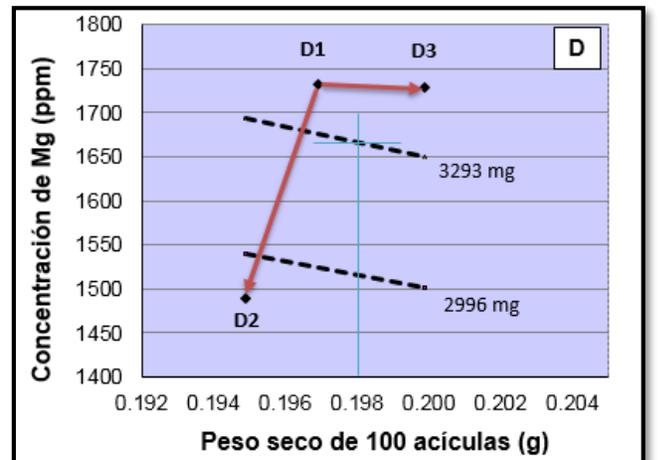
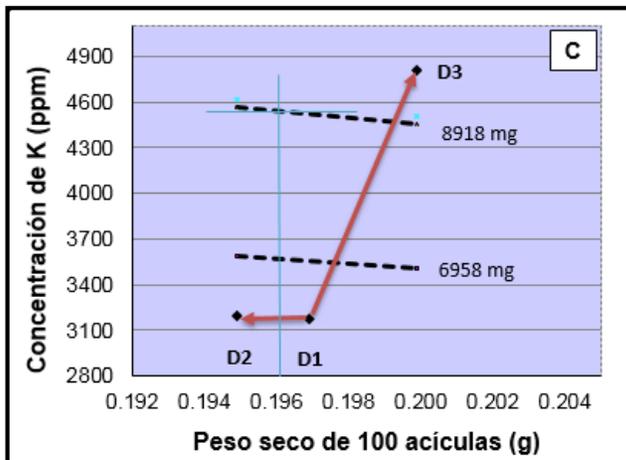
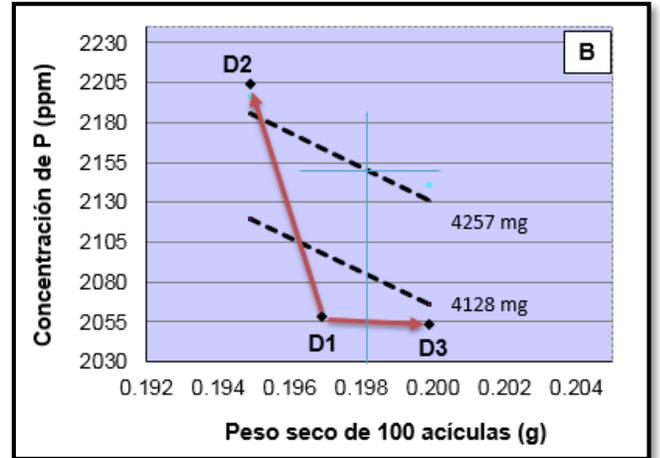
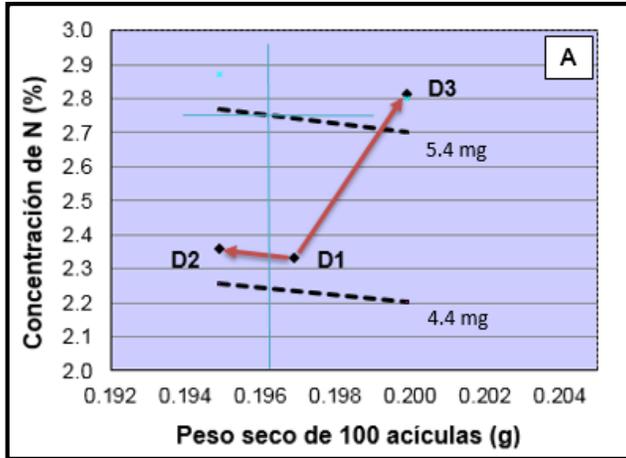


Figura 3.2. Análisis de vectores para N (A), P (B), K (C), Mg (D), B (E) y Zn (F) en relación al peso de materia seca de 100 acículas de *Pinus patula*, después de tres meses de la aplicación del fertilizante de liberación controlada en las plantas madre. Las líneas punteadas indican contenido nutricional.

Por otro lado, existe una proporción relativa de iones nitrato y amonio asociada al pH, cuando el valor es menor a 4.5 la proporción dominante de N es el amonio, aproximadamente 20:80 ($\text{NO}_3^- : \text{NH}_4^+$) (Landis 1989). El incremento de iones amonio tiene varias implicaciones, entre ellas, acidificación en la rizósfera, menor absorción de cationes, cambios en el metabolismo y menor crecimiento de las plantas (Landis, 1989; Lang y Kaiser, 1994). Ante esta situación, la planta asimila rápidamente los iones amonio como una estrategia para evitar daño en la rizósfera y lo almacena en el tejido dando lugar a consumo de lujo de N (Warren y Adams, 2002).

Es probable que el balance nutrimental en el momento de la cosecha (julio), se encontraba de la siguiente manera, en función del pH y CE registrados al momento de establecer el estacado, y tomando como referencia lo descrito por Landis (1989) y Sánchez-Córdoba *et al.* (2008) con respecto a pH y CE: la dosis D₂ (5 g L⁻¹) con el mejor balance nutrimental por presentar niveles adecuados en los dos parámetros (4.2 y 1.93 dS m⁻¹), seguido de D₁ (3 g L⁻¹) con nivel de pH adecuado (4.6) pero CE debajo de lo sugerido (0.82 dS m⁻¹) y; por último, D₃ (7 g L⁻¹) con la mayor acidez en el medio (pH=3.95) y exceso de sales (CE=3.39 dS m⁻¹). De acuerdo con Warren y Adams (2002), en estas condiciones se presenta consumo de lujo de N por la absorción de amonio, y disminución de K y Mg por efecto antagónico (Öhlund y Näsholm, 2001).

3.5.2 Capacidad de enraizamiento de las estacas

La supervivencia de las estacas en todos los tratamientos fue 100 %. No se presentaron diferencias significativas entre ellos en el enraizamiento ($P = 0.2696$), número de raíces primarias ($P = 0.7062$) y presencia de raíces secundarias ($P = 0.4115$). Sin embargo, sí

hubo diferencias en la longitud de raíces ($P = 0.0529$), con aumento en esta variable a medida que incrementó la dosis de fertilización en la planta madre (Cuadro 3.4).

Cuadro 3.4. Valores promedio de las características de capacidad de enraizado de brotes de plantas de *Pinus patula* que recibieron diferentes dosis de fertilizante de liberación controlada.

Tratamiento ¹	Enraizado (%)	Raíces primarias		Estacas con raíces secundarias (%)
		Número	Longitud (cm)	
3 g L ⁻¹	65.8 ± 10.0 a	1.9 ± 0.16 a	5.4 ± 0.60 b	60.2 ± 10.3 a
5 g L ⁻¹	77.8 ± 8.8 a	1.8 ± 0.16 a	6.2 ± 0.60 ab	74.3 ± 9.1 a
7 g L ⁻¹	53.2 ± 10.6 a	1.7 ± 0.16 a	7.6 ± 0.60 a	78.5 ± 8.6 a

¹dosis de 3, 5 y 7 g L⁻¹ de fertilizante Osmocote Plus® (15-9-12 de N-P-K) y ocho a nueve meses de liberación. Valores en una columna seguidos de letras iguales no son estadísticamente diferentes, con $P = 0.05$.

El enraizado (53.2 a 77.8 %) se encuentra por arriba, de lo reportado por Rowe *et al.* (2002b) en *P. taeda* (14-70 %), quienes utilizaron cinco tratamientos de N (10-70 mg L⁻¹) con aplicaciones diarias. El porcentaje más alto encontrado (77.8 %) es consistente con lo reportado en capítulos anteriores de esta tesis (77 a 81 %). A pesar de que no existen diferencias significativas en el enraizado, se observa comportamiento similar al reportado por Kanmegne *et al.* (2017), quienes encontraron incremento de 1.5 a 3.1 % en N tisular (hoja y tallo) de *Cola anómala* K. Schum al aumentar la dosis (0 a 5 g planta⁻¹) de fertilizante granular (20-10-10 de N-P-K) al seto; sin embargo, el enraizamiento no

aumentó en forma lineal al incrementar el fertilizante, ya que alcanzó el valor máximo (90 %) con la dosis media (1 g planta⁻¹) y disminuyó nuevamente (a 69 %) al aplicar la dosis más alta (5 g planta⁻¹). Esta tendencia se observó en el presente estudio, en el que el enraizado aumentó de 66 a 79 % al aumentar la dosis de 3 a 5 g L⁻¹, y disminuyó a 53 % en la dosis alta (7 g L⁻¹), aunque no de manera significativa (Cuadro 3.4). Estas tendencias posiblemente corresponden al balance nutrimental reflejado en el pH y CE descrito anteriormente para cada tratamiento. De esta manera el mejor balance se observó en la dosis D₂ con 77.8 % de enraizado y el menor en la D₃ con 53.2 %.

La calidad de raíz no se vio afectada por la fertilización, con excepción de la longitud de raíz en la dosis más alta (7 g L⁻¹). El número de raíces primarias se mantuvo entre 1.7 y 1.9, valores cercanos a los mencionados por Rowe *et al.* (2002b) en *P. taeda* (1.2 a 1.8). La longitud de raíz (entre 5.4 y 7.6 cm) y el porcentaje de plantas con raíces secundarias (60.2 a 78.5 %) (Cuadro 3.4) presentaron valores similares a los registrados en el Capítulo I de esta tesis en setos de *Pinus patula* fertilizados con 7 g L⁻¹ en condiciones de malla-sombra evaluados tres meses después de aplicado el fertilizante. En ese ensayo se obtuvo 5.3 a 6.7 cm de longitud de raíz y 69.4 a 76.1 % de plantas con raíces secundarias.

Con respecto a la longitud de raíz, se observó incremento de esta variable al aumentar la dosis de 3 a 7 g L⁻¹ (Cuadro 3.4), debido probablemente al aumento en la concentración de N y K en el tejido foliar. El N interviene en la síntesis de ácidos nucleico y proteínas, así como en la disponibilidad de carbohidratos (Hartmann *et al.*, 2014). Henry *et al.* (1992) señalaron aumento en la longitud de raíz en estacas de *Juniperus virginiana* fertilizadas con nueve tratamientos de N (0-640 ppm), y encontraron correlación positiva entre la

concentración de sacarosa y la longitud de raíz ($P = 0.05$, $r = 0.77$), esto sugiere que la sacarosa es la principal fuente de energía para el alargamiento de raíz. Por otro lado, estos mismos autores mencionaron correlación positiva entre la concentración foliar de K y la longitud de raíz ($P = 0.05$, $r = 0.83$). El K es el activador o cofactor de más de 50 enzimas involucradas en el metabolismo de carbohidratos y proteínas, y participa en el equilibrio iónico celular (Alcántar y Trejo-Téllez, 2007). Blazich *et al.* (1983) encontraron movilización de K en la base de estacas de *Ilex crenata* Thunb., seguida de la iniciación de raíz en tratamientos con auxina.

3.6 CONCLUSIONES

No se observaron diferencias entre tratamientos en relación con la producción de brotes de calidad ni porcentaje de enraizado. Con las dosis más bajas (3 y 5 g L^{-1}) de fertilizante de liberación controlada (15-9-12) de 8-9 meses, se obtuvo en promedio 9 brotes de calidad por planta, que corresponde al 50 % del total de brotes producidos con porcentajes de enraizado entre 66 y 78 % en un periodo de liberación de fertilizante de cinco meses. El fertilizante de liberación controlada es una alternativa de manejo para la fertilización de setos en programas a gran escala en la producción de brotes de calidad. Sin embargo, es importante considerar factores externos (riego y condiciones ambientales) que podrían impactar en el balance nutrimental. Se requiere de mayor entendimiento de la dinámica de absorción y uso de los nutrientes en la planta para generar esquemas de fertilización eficientes durante varios ciclos de producción para esta especie. Este trabajo contribuye con los protocolos para la propagación vegetativa de *Pinus patula* mediante el enraizado de estacas, en México.

3.7 BIBLIOGRAFÍA

- Alcántar G. y L. I. Trejo-Téllez (2007)** Nutrición de cultivos. Mundi-Prensa México, Colegio de Postgraduados. México. 454 p.
- Andersen A. S. (1986)** Environmental influences on adventitious rooting in cuttings of non-woody species. *In: New Root Formation in Plants and Cuttings*. M. B. Jackson (ed.). Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp: 244-246.
- Aparicio-Rentería A., S. F. Juárez-Cerrillo y L. R. Sánchez-Velásquez (2014)** Propagación por enraizamiento de estacas y conservación de árboles plus extintos de *Pinus patula* procedentes del norte de Veracruz, México. *Madera y Bosques* 20:85-96, <http://doi: 10.21829/myb.2014.201178>
- Assis T. F., A. G. Fett-Neto and A. C. Alfenas (2004)** Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwoods: emphasis on eucalyptus. *In: Plantation Forestry for the 21st Century*, 1 edn. C. Walter and M. Carson (eds.). Research SignPost, New Delhi. pp: 316–317.
- Bhardwaj G., U. Sharma and S. B. Perminder (2019)** A review on interactive effects of phosphorous, zinc and mycorrhiza in soil and plant. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 8:2525-2530, <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.804.294>
- Blazich F. A., R. D. Wright and H. E. Schaffer (1983)** Mineral nutrient status of 'Convexa' holly cuttings during intermittent mist propagation as influenced by exogenous auxin application. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 108:425-429.
- Cunha A. C. M. C. M., H. N. Paiva, N. F. Barros, H. G. Leite e P. Leite (2009)** Relação do estado nutricional de minicépas com o enraizamento de miniestacas de eucalipto. *Sociedade Brasileira de Ciência do Solo* 33:591-599.
- Escamilla-Hernández N., A. Aldrete, J. J. Vargas-Hernández, A. Villegas-Monter y M. Á. López-López (2020)** Propagación vegetativa de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. en diferentes sustratos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 43:215-221.
- Foster G. S., H. E. Stelzer and J. B. McRae (2000)** Loblolly pine cutting morphological traits: Effects on rooting and field performance. *New Forests* 19:291-306.
- Goldfarb B., S. E. Surles, M. Thetford and F. Blazich (1998)** Effects of root morphology on nursery and first-year field growth of rooted cuttings of loblolly pine. *Southern Journal of Applied Forestry* 22:231-234, <http://doi.org/10.1093/sjaf/22.4.231>
- Geiss G., L. Gutierrez and C. Bellini (2009)** Adventitious root formation: new insights and perspectives. *Annual Plant Reviews* 37:127-156, <http://doi: 10.1002/9781444310023.ch5>

- Haissig B. E. (1986)** Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings. *In: New Root Formation in Plants and Cuttings*. M. B. Jackson (ed.). Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp: 150–153.
- Hartmann H. T., D. E. Kester, F. T. Davies and R. L. Geneve (2014)** Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice-Hall. 8a Edición. New Jersey, USA. 922 p.
- Henry P. H., F. A. Blazich and L. E. Hinesley (1992)** Nitrogen nutrition of containerized eastern redcedar. II. Influence of stock plant fertility on adventitious rooting of stem cuttings. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 117:568-570.
- Hernández A. y R. Rubilar (2012)** Efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en el desarrollo y fenología de brotes de setos de *Pinus radiata*. *Bosque* 33:53-61.
- Husby C. E., A. X. Niemiera, J. R. Harris and R. D. Wright (2003)** Influence of diurnal temperature on nutrient release patterns of three polymer-coated fertilizers. *HortScience* 38:387-389.
- Husen and Pal (2019)** effect of nitrogen, phosphorous and potassium fertilizers on growth of stock plants of *Tectona grandis* (Linn. f.) and rooting behaviour of shoot cuttings. *Silvae Genetica* 52:5-6.
- Josten P. and U. Kutschera (1999)** the micronutrient boron causes the development of adventitious roots in sunflower cuttings. *Annals of Botany* 84:337-342.
- Kanmegne, G., H.D. Mbouobda, Fotso, C. N. Mbakop and D. N. Omokolo (2017)** The influence of stockplant fertilization on tissue concentrations of nitrogen, carbohydrates and amino acids and on the rooting of leafy stem cuttings of *Cola anomala* K. Schum (Malvaceae). *New Forests* 48:17-31. [https://doi: 10.1007/s11056-016-9553-5](https://doi.org/10.1007/s11056-016-9553-5)
- Landis T. D. (1989)** Mineral nutrients and fertilization. *In: The Container Tree Nursery Manual, Volume 4*. Agric. Handbbk. 674. T. D. Landis, R. W. Tinus, S. E. McDonald and J. P. Barnett (eds.). Department of Agriculture, Forest Service Washington, USA. pp:2-61.
- Lang B. and W. M. Kaiser (1994)** Solute content and energy status of roots of barley plants cultivated at different pH on nitrate-or ammonium-nitrogen. *New Phytologist* 128:451-459, <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb02991.x>
- López-López M. Á. and J. Alvarado-López (2010)** Interpretación de nomogramas de análisis de vectores para diagnóstico nutricional de especies forestales. *Madera y Bosques* 16:99–108.
- Lukaszewski K. M. and D. G. Blevins (1996)** Root growth inhibition in boron-deficient or aluminum-stressed squash may be a result of impaired ascorbate metabolism. *Plant Physiology* 112:1135–1140.
- Marschner P. (2012)** Mineral Nutrition of Higher Plants. Third edition. Elsevier. USA. 651 p.

- Martínez-Alonso C., A. Kidelman, I. Feito, T. Velasco, R. Alía, M. J. Gaspar and J. Majada (2012)** Optimization of seasonality and mother plant nutrition for vegetative propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 43:651-663, [https://doi: 10.1007/s11056-012-9333-9](https://doi.org/10.1007/s11056-012-9333-9)
- Morales E., J. Upton, J. Vargas, C. Ramírez y A. Gil (2013).** Parámetros genéticos de *Pinus patula* en un ensayo de progenies establecido en dos altitudes. *Revista fitotecnica mexicana* 36:155-162.
- Öhlund J. and T. Näsholm (2001)** Growth of conifer seedlings on organic and inorganic nitrogen sources. *Tree Physiology* 21:1319-1326, [https://doi.org/10.1093/treephys/ 21.18.1319](https://doi.org/10.1093/treephys/21.18.1319).
- Park B. B., G. E. Park and K. Bae (2015)** Diagnosis of plant nutrient and growth responses on fertilization with vector analysis and morphological index. *Forest Science and Technology* 11:1–10. <http://doi: 10.1080/21580103.2014.931257>
- Prieto J. A., J. L. García, J. M. Mejía, S. Huchín y J. L. Aguilar (2009)** Producción de planta del género *Pinus* en vivero en clima templado frío. INIFAP. Durango, México. 49 p.
- Ritchie G. A., Y. Tanaka, R. Meade and S. D. Duke (1993)** Field survival and early height growth of Douglas-fir rooted cuttings: relationship to stem diameter and root system quality. *Forest Ecology and Management* 60:237–256, [http://doi: 10.1016/0378-1127\(93\)90082-x](http://doi: 10.1016/0378-1127(93)90082-x)
- Rivera-Rodríguez M. O., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, A. Villegas-Monter and M. Jiménez-Casas (2016)** Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. *Revista Fitotecnica Mexicana* 39:385-392.
- Rowe D. B., F. A. Blazich, B. Goldfarb and C. D. Raper (2002a)** Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine. I. Tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. *New Forests* 24:39-51.
- Rowe D. B., F. A. Blazich, B. Goldfarb and F. C. Wise (2002b)** Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine. II. Influence of carbohydrate and nitrogen status on adventitious rooting of stem cuttings. *New Forests* 24:53-65.
- Salaya-Domínguez J. M., J. López-Úpton y J. J. Vargas-Hernández (2012)** Variación genética y ambiental en dos ensayos de progenies de *Pinus patula*. *Agrociencia* 46:519-534.
- Salifu K. and V. Timmer (2003)** Optimizing nitrogen loading of *Picea mariana* seedlings during nursery culture. *Canadian Journal of Forest Research* 33:1287–1294. <http://doi: 10.1139/x03-057>.
- Sánchez-Córdova T., A. Aldrete, V. M. Cetina-Alcalá y J. López-Upton (2008)** Caracterización de medios de crecimiento compuestos por corteza de pino y aserrín. *Madera y bosques* 14:41-49.

- Schwambach J., C. Fadanelli and F. G. Fett-Neto (2005)** Mineral nutrition and adventitious rooting in microcuttings of *Eucalyptus globulus* *Tree Physiology* 25:487-494.
- Svenson S. and F. T. Davies (1995)** Change in tissue mineral elemental concentration during root initiation and development of poinsettia cuttings. *HortScience* 30:617-619.
- SAS Institute (2000)** The SAS system for Windows Release 9.3. SAS Inst., Cary, NC. USA
- Timmer V. R. and E. L. Stone (1978)** Comparative foliar analysis of young balsam fir fertilized with nitrogen, phosphorus, potassium, and lime. *Soil Science Society of America Journal* 42:125, [https://doi: 10.2136/sssaj1978.0361599500420001002](https://doi.org/10.2136/sssaj1978.0361599500420001002)
- Timmer V. R. and W. J. Parton (1982)** Monitoring nutrient status of containerized seedlings. *In: Proceedings, Ontario Ministry of Natural Resources Nurseryman's Meeting 1982 June. Thunder Bay, Toronto, Ontario Ministry of Natural Resources.* pp:48-58.
- Trueman S. J., T. V. McMahon and M. Bristow (2013a)** Nutrient partitioning among the roots, hedge and cuttings of *Corymbia citriodora* stock plants. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13:977-989. [http://doi: 10.4067/S0718-95162013005000077](http://doi.org/10.4067/S0718-95162013005000077)
- Trueman S. J., T. V. McMahon and M. Bristow (2013b)** Production of *Eucalyptus cloeziana* cuttings in response to stock plant temperature. *Journal of Tropical Forest Science* 25:60-69.
- Trueman S. J., T. V. McMahon and M. Bristow (2013c)** Production of cuttings in response to stock plant temperature in the subtropical eucalypts, *Corymbia citriodora* and *Eucalyptus dunnii*. *New Forests* 44:265-279, [http://doi: 10.1007/s11056-012-9315-y](http://doi.org/10.1007/s11056-012-9315-y)
- Velázquez M., A. G. Ángeles, T. Llanderal, A. R. Román y V. Reyes (2004)** Monografía de *Pinus patula*. SEMARNAT/CONAFOR. Colegio de Postgraduados. Jalisco, México. 124 p.
- Warren C. R. and M. A. Adams (2002)** Possible causes of slow growth of nitrate-supplied *Pinus pinaster*. *Canadian Journal of Forest Research* 32:569-580, <https://doi.org/10.1139/x01-225>
- Wendling I., S. J. Trueman and A. Xavier (2014)** Maturation and related aspects in clonal forestry—Part I: concepts, regulation and consequences of phase change. *New Forests* 45: 449-471, [https://doi: 10.1007/s11056-014-9421-0](https://doi.org/10.1007/s11056-014-9421-0)

CONCLUSIONES GENERALES

La propagación vegetativa en coníferas ha significado un reto a nivel mundial por sus características intrínsecas, catalogadas como especies de difícil enraizamiento, debido principalmente a la rápida madurez ontogénica de la planta madre presente en edades tempranas, lo cual dificulta su propagación en el tiempo. Para poder dilucidar este y otros procesos fue necesario primero establecer condiciones adecuadas para el enraizado.

En trabajos previos se ha utilizado sustratos convencionales (perlita, vermiculita y turba) con resultados poco satisfactorios, por lo que se exploró el uso de sustratos alternativos que fueran disponibles y económicos. En el presente trabajo se logró obtener enraizado arriba de 75 % de *Pinus patula* al utilizar aserrín de pino fresco en combinación con corteza de pino compostada (9:1), con supervivencia arriba de 95 % y calidad de raíz adecuada en las plantas enraizadas. Esto representa un gran avance para el establecimiento y producción operativa de estacas enraizadas en condiciones de vivero. Las principales propiedades del sustrato con mayor proporción de aserrín que favorecieron el enraizado fueron: alta porosidad de retención de humedad (70 %), baja densidad aparente (1.7 g cm^{-3}), y acidez adecuada del medio (4.4).

Como segunda etapa, se investigó sobre el proceso ontogénico de la planta madre en edades más tempranas de las que se han registrado y evaluado previamente. Estudios anteriores indican que conforme aumenta la edad ontogénica de la planta madre en coníferas disminuye la capacidad de enraizado. Se logró esclarecer que desde los 7 meses hasta los 13 meses de edad de la planta madre de *P. patula* el proceso de madurez ontogénica no es significativo; se alcanzó porcentaje de 75.6 % en promedio

en estas edades. Lo anterior indica que antes del año, el seto produce brotes juveniles con características morfológicas distintivas que pueden ser utilizadas como marcadores de características juveniles, tales como: acículas primarias, presencia de yemas axilares y tallo flexible. Esta información deriva en la aplicación de una herramienta práctica y económica para la identificación de material juvenil para la propagación de estacas de la especie en estudio.

Con la rápida madurez ontogénica del seto es importante el aprovechamiento intensivo de brotes de calidad, lo cual depende en gran medida de las condiciones nutrimentales de la planta madre. En la actualidad no se cuenta con estándares de referencia para este propósito. La fertilización se basa en balances nutrimentales obtenidos para la producción de planta de especies forestales en vivero. Ante la demanda nutrimental para la producción de brotes, se pensó que al incrementar la dosis de fertilizante de liberación controlada (FLC) entre 3 y 7 g L⁻¹ en las plantas madre, generaría mayor cantidad de brotes de calidad y porcentaje de enraizado. Sin embargo, se demostró que este comportamiento no es lineal, ni simple en sus efectos, ya que obedece al balance entre macro y micronutrientes debido a las interacciones antagónicas y sinérgicas entre los elementos y las condiciones físicas y químicas del medio de crecimiento de las plantas madre. El exceso de fertilizante produce condiciones desfavorables en la solución del medio (acidez y salinidad) que genera estrés fisiológico impactando en el enraizado. Aunque no se observaron diferencias significativas, se observó una tendencia marcada en la disminución de enraizamiento (de 77.8 % a 53.2 %) con el aumento del FLC de 5 a 7 g L⁻¹. Se requiere generar estándares nutrimentales específicos para producción de

brotos de calidad de *P. patula* y así aumentar la eficiencia de la fertilización en los setos de propagación.

Estas aportaciones contribuyen a la generación de protocolos que faciliten el enraizamiento de especies de *Pinus* de interés económico y ecológico para la producción masiva de genotipos seleccionados.