



Manejo de planta y aplicación de AIB en el enraizado de estacas de *Pinus patula*

Plant management and IBA application in rooting of *Pinus patula* cuttings

Georgina Irasema Bautista-Ojeda¹, J. Jesús Vargas-Hernández^{1*}, Marcos Jiménez-Casas¹
y María Cristina Guadalupe López-Peralta²

¹ Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Postgrado en Ciencias Forestales. Montecillo, Estado de México, México.
bautista.georgia@colpos.mx; vargashj@colpos.mx; marcosjc@colpos.mx

² Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad-Genética. Montecillo, Estado de México, México.
cristy@colpos.mx

* Autor de correspondencia. vargashj@colpos.mx

RESUMEN

El enraizado de estacas es una alternativa para la clonación masiva de árboles seleccionados, con características deseables y superiores para plantaciones comerciales. Sin embargo, la capacidad de enraizado disminuye rápidamente a los 2 o 3 años de edad en especies de coníferas. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de enraizamiento de estacas de plantas madre de *Pinus patula* de 15 y 18 meses de edad, con diferente dosis de fertilización y condición de crecimiento (manejo), y con la aplicación de 5000×10^{-6} (5000 ppm) de ácido indol-3-butírico (AIB) en solución líquida o con el producto comercial Radix® en pasta. A las 14 semanas de establecido el ensayo se evaluó el porcentaje de supervivencia, estacas con callo y raíces, así como el número, longitud de raíces primarias y presencia de raíces secundarias. Se encontraron efectos significativos ($p \leq 0.05$) en los factores evaluados y en su interacción. La aplicación de AIB en solución durante 10 s o 20 s ocasionó el mayor porcentaje de enraizamiento ($> 25\%$), 2-3 veces más que el testigo (8.5%). La fertilización de la planta madre con 7 g L⁻¹ de Osmocote® bajo malla sombra provocó una mortalidad elevada de las estacas (30%). No se encontraron diferencias en longitud de raíz más larga, ni en longitud promedio de raíces primarias. La combinación de planta madre de 18 meses con fertilización de 5 g L⁻¹ de Osmocote® en invernadero y la aplicación de AIB en solución líquida por 20 s produjo 73.8% de enraizado, valor aceptable en un programa operativo de clonación de *Pinus patula*.

PALABRAS CLAVE: auxinas, clonación, fertilización, fitohormonas, planta madre, propagación vegetativa.

ABSTRACT

Rooted cuttings are an alternative for the massive cloning of selected trees, with desirable and superior traits for commercial plantations. However, rooting capacity diminishes rapidly at 2 or 3 years of age in conifer species. The aim of this work was to evaluate the rooting capacity of *Pinus patula* cuttings obtained from 15- and 18-months-old mother plants grown with different fertilization doses and growth conditions (management), with the application of 5000×10^{-6} (5000 ppm) of indole-3-butyric acid (IBA) in liquid solution or with the Radix® commercial product as paste. Fourteen weeks after establishing the rooting trial, survival, rooting, and callus formation were evaluated in cuttings, as well as the number and length of primary roots, and presence of secondary roots. Significant effects ($p \leq 0.05$) were found on the evaluated factors and in their interaction. Application of IBA in solution for 10 s or 20 s caused the highest rooting percentage ($> 25\%$), 2-3 times more than the control (8.5%). Fertilization of mother plants with 7 g L⁻¹ Osmocote® under shade mesh caused high cutting mortality (30%). No differences were found in length of the longest root, nor in average length of primary roots. The combination of an 18-month-old mother plant fertilized with 5 g L⁻¹ Osmocote® in the greenhouse, and the application of IBA in liquid solution for 20 s produced 73.8% rooted cuttings, an acceptable value in a *Pinus patula* cloning operational program.

KEYWORDS: auxins, cloning, fertilization, phytohormones, mother plant, vegetative propagation.

INTRODUCCIÓN

El enraizado de estacas es una de las técnicas de propagación vegetativa más utilizadas en la clonación masiva de individuos seleccionados, con características deseables y superiores, para maximizar productividad, calidad y uniformidad de las plantaciones forestales (Bettinger et al., 2009; Hartmann et al., 2002; Henrique et al., 2006). En el género *Pinus* se han obtenido diferentes niveles de éxito en la clonación por diferentes alternativas; con el uso de estacas se ha logrado de 5% a 73% de enraizado en diferentes especies (Lebude et al., 2004).

La formación de raíces adventicias, parte esencial en la propagación vegetativa por estacas de especies maderables (Legué et al., 2014), es regulada por factores ambientales y reguladores de crecimiento (de-Klerk et al., 1999), y es promovida por altas concentraciones de auxinas y bajas de citocininas (Steffens y Rasmussen, 2016). Las auxinas tienen el efecto mayor en la formación de raíces adventicias; de manera endógena, el ácido indolacético (AIA) se encuentra en las ramas y hojas jóvenes (Sedaghathoor, Kayghobadi y Tajvar, 2016); aplicado de manera exógena, el ácido indol-3-butírico (AIB) es la auxina más utilizada para este propósito (de-Klerk et al., 1999).

Guan et al. (2015) mencionan que la formación de raíces se divide en tres etapas: 1) inducción, que incluye los eventos químicos y moleculares que preceden a los cambios morfológicos, 2) iniciación, donde la división y diferenciación celular permiten la formación de primordios y meristemos y 3) extensión, donde las raíces adventicias continúan su crecimiento y emergen. Legué et al. (2014) consideran una etapa adicional, previa a la inducción, la activación, donde las células se vuelven competentes para recibir las señales de inducción. Durante la etapa de inducción aumentan de manera temporal los niveles endógenos de auxinas, alcanzando los valores más altos de AIA durante las primeras 24 horas posteriores al corte de la estaca. En la fase de iniciación y extensión estos niveles disminuyen debido a que las altas concentraciones de

auxinas pueden inhibir dichos procesos (Osterc y Stampar, 2011; Stuepp et al., 2017). El AIB en polvo o pasta puede permanecer en la estaca durante todo el proceso de formación de raíces inhibiendo la aparición y extensión de estas; mientras que el AIB en solución líquida solo está presente en la fase de inducción (Kroin, 1992; 2008; Dumroese et al., 2009).

La nutrición de la planta madre es otro factor involucrado en el enraizamiento posterior de las estacas, la cantidad de brotes y la calidad de estos (Martínez-Alonso et al., 2012). La nutrición influye en los procesos asociados con la morfogénesis, y nutrientes como el nitrógeno se relacionan con el crecimiento de la planta, la tolerancia al estrés hídrico y la producción de brotes (Kanmegne et al., 2017; Martínez-Alonso et al., 2012). Steffens y Rasmussen (2016) indican que la nutrición de la planta madre también influye en la arquitectura de la raíz de las estacas. Existen varios estudios que se han enfocado en la aplicación de fertilizantes en planta madre con resultados distintos, lo cual hace difícil establecer un protocolo estándar de nutrición para mejorar la eficiencia del enraizamiento de estacas (Wu et al., 2019). Sin embargo, en esos estudios se ha encontrado que la nutrición de la planta madre es un factor importante y que mantener una planta vigorosa, sin deficiencias nutrimientales, proporciona una ventaja competitiva adicional en el número y calidad de los brotes, así como en la supervivencia y crecimiento de las estacas posterior al enraizamiento (Álvarez et al., 2016; Henry et al., 1992; Wu et al., 2019).

Además de los reguladores de crecimiento y la fertilización de la planta madre, la edad de la misma y del brote a enraizar son dos factores que influyen en la cantidad y calidad de raíces adventicias en coníferas, ya que la capacidad para formar raíces adventicias en estas especies generalmente baja después de dos años de edad (Majada et al., 2011; Muñoz-Gutiérrez et al., 2009; Rivera-Rodríguez et al., 2016). En este sentido, la edad de la planta madre es importante en las especies coníferas (Bellini et al., 2014; Rivera-Rodríguez et al., 2016).



Rivera-Rodríguez et al. (2016) mencionan que el AIB aplicado en forma del producto comercial Radix (en polvo o pasta) inhibió la formación de raíces en estacas de *Pinus patula* Schiede ex Schl. & Cham. de plantas de 12 meses, mientras que en plantas de mayor edad la favoreció. La aplicación de 4000 mg de AIB por litro de solución líquida, durante 10 segundos, en combinación con ácido 1-naftanelacético (ANA) en un sustrato de arena permitió 55% de enraizado en *Pinus mugo* Turra (Sedaghathoor et al., 2016). Otro estudio indica que en *P. pinaster* Ait., AIB en solución, por 10 segundos, a una temperatura de enraizado de 25 °C generó más de 90% de enraizado (Majada et al., 2011); mientras que en *P. caribaea* Morelet se observaron resultados favorables con 4000 mg L⁻¹ de AIB aplicados en solución por dos segundos (Henrique et al., 2006).

OBJETIVOS

Evaluar el efecto de cinco condiciones de manejo (crecimiento) de la planta madre de *Pinus patula*, en combinación con la aplicación de ácido indol-3-butírico (AIB), en solución líquida o en pasta, en el enraizado de estacas, con el fin de establecer un protocolo de clonación de árboles selectos para un programa operativo de plantaciones comerciales de *Pinus patula*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Producción de planta madre

El trabajo se realizó en el vivero del Postgrado en Ciencias Forestales, Campus Montecillo, del Colegio de Postgraduados (Colpos), ubicado en las coordenadas 19°27'38.25" N y 98°54'23.91" O, a 2240 m s.n.m., en el municipio de Texcoco, Estado de México, México. En el ensayo se utilizó germoplasma del huerto semillero de primera generación de *Pinus patula* establecido en la

reserva forestal multifuncional “El Manantial” (19°43'11.9" N y 97°59'21.3" O, a 2930 m s.n.m.) en el municipio de Aquixtla, Puebla, México (Castaños-Martínez y Castro-Zavala, 2014).

Todas las plantas madre se produjeron en macetas individuales de 4 L de capacidad, en un sustrato con 40% de mezcla base (15% turba, 15% vermiculita y 10% perlita) y 60% de corteza de pino composteada. A los seis meses de edad se realizó una poda apical, con el fin de estimular la formación de brotes laterales y convertir las plantas en setos, de acuerdo con los procedimientos descritos en estudios previos (Mitchell et al., 2004a; Rivera-Rodríguez et al., 2016). El corte se hizo a una altura de 15 cm de la base del tallo.

Se utilizaron cinco lotes de 30 plantas madre cada uno, con diferentes condiciones de manejo y crecimiento (Tabla 1). Tres de esos lotes corresponden a plantas madre de 18 meses que crecieron en condiciones de invernadero (20.7 °C ± 2.9 °C de temperatura; 72.7% ± 8.1% HR), se regaron con agua destilada a saturación dos veces por semana, y se les aplicó fertilizante Osmocote (15-9-12 de N-P-K y ocho meses de liberación) en dosis de 3 g L⁻¹ (M_1), 5 g L⁻¹ (M_2), y 7 g L⁻¹ (M_3) (Tabla 1). Los otros dos lotes corresponden a plantas de 18 meses (M_4) y 15 meses (M_5) de edad que se mantuvieron en invernadero los primeros 12 meses y posteriormente en un ambiente de crecimiento con malla sombra a 50% (16.2 °C ± 2.7 °C; 67.9% ± 10.7% HR), se fertilizaron con 7 g L⁻¹ de fertilizante Osmocote y se regaron con agua destilada a saturación dos veces por semana, excepto durante la época de lluvias, en la que solo se regó cuando hubo periodos de más de tres días sin lluvia (Tabla 1). Los lotes de plantas tenían una altura promedio de 23 cm y un diámetro medio de 19 mm en la base del tallo.

TABLA 1. Condiciones de manejo de los lotes de plantas madre (setos) de *Pinus patula* utilizados en el ensayo de enraizado de estacas.

Lote (Manejo)	Edad (meses)	Dosis fertilización ¹ (g L ⁻¹)	Ambiente de crecimiento	Riego	Podas (meses en los que se realizaron)
M ₁	18	3	Invernadero	Agua destilada	6, 10 y 14
M ₂	18	5	Invernadero	Agua destilada	6, 10 y 14
M ₃	18	7	Invernadero	Agua destilada	6, 10 y 14
M ₄	18	7	Malla sombra	Agua destilada + lluvia	6, 10 y 14
M ₅	15	7	Malla sombra	Agua destilada + lluvia	6 y 11

¹Fertilizante Osmocote (15-9-12, N-P-K) de ocho meses de liberación

Producción de brotes

Después de la poda apical realizada a los seis meses de edad, las plantas de los lotes M₁-M₄ recibieron dos podas adicionales, la primera a los 10 meses y la segunda a los 14 meses de edad, mientras que las plantas del lote M₅ recibieron una poda adicional a los 11 meses (Tabla 1). Con el fin de favorecer la homogeneidad en el desarrollo de los brotes, en la segunda poda se dejaron solo cuatro ramas laterales en todas las plantas y en la poda siguiente (lotes M₁-M₄) se eliminaron los rebrotes débiles, dejando máximo cuatro por rama. Las estacas utilizadas para el ensayo de enraizado se cosecharon cuatro meses después de la última poda, aplicada a los 14 meses de edad en los lotes M₁-M₄ y a los 11 meses en el grupo M₅.

Establecimiento del ensayo de enraizado

Las estacas para enraizar se seleccionaron considerando solo rebrotes del tallo principal y ramas primarias de los setos, con una longitud de 7 cm a 9 cm al momento del corte, con presencia de hojas primarias y en menor cantidad hojas secundarias. Además, se buscó que tuvieran una coloración verde claro y yema terminal inmadura. El día previo a la cosecha y al momento del corte se aplicó fungicida (Tecto 60, 1.5 g L⁻¹) por aspersión a los brotes, para prevenir riesgos de contaminación e infección por hongos, con base en las recomendaciones de Zabalá-Sánchez et al. (2008). Además, cada estaca cosechada se remojó durante 15 minutos en una solución de agua destilada y fungicida (Captán 1.5 g L⁻¹) y se eliminaron las

acículas de los primeros 3 cm de la parte basal del tallo. En esta zona del tallo se aplicaron los tratamientos correspondientes de ácido indol-3-butírico (AIB) que se describen en la siguiente sección.

En el ensayo se utilizaron contenedores individuales de plástico con capacidad de 220 ml, con una mezcla de aserrín-corteza (90:10, vol.). El día previo a la colocación de las estacas, el sustrato se regó con agua destilada a saturación y después de drenar el exceso de agua se aplicaron 50 mL de fungicida (Tecto 60, 1.5 g L⁻¹) e insecticida (Confidor 1.5 g L⁻¹) por aspersión en cada contenedor, para asegurar la mayor asepsia posible.

Las estacas, con su respectivo tratamiento de AIB, se introdujeron 3 cm en el sustrato; para reducir la transpiración y evitar la pérdida de agua de las estacas (Hartmann et al. 2002), los contenedores se colocaron en rejillas de plástico (25 contenedores en cada una), dentro de una bolsa de plástico transparente, formando microinvernaderos con humedad relativa cercana a saturación. Durante el periodo de enraizado los contenedores se regaron con 40 mL de agua destilada cada 15 días. Al momento del riego se lavó la bolsa y se aplicó nuevamente fungicida e insecticida por aspersión, con el fin de evitar la presencia de plagas y enfermedades.

Tratamientos evaluados y diseño experimental

Se usó un ensayo factorial 5 × 5 (25 tratamientos) en un diseño de parcelas divididas en bloques al azar. El factor A (“manejo de planta madre”) estuvo constituido por los



cinco lotes de planta madre descritos en la sección previa (Tabla 1) y el factor B (“aplicación de AIB”), por cinco tratamientos de 5000 mg L⁻¹ de AIB, que difieren en el tipo de producto y el tiempo de inmersión de la estaca. En dos de ellos (T_1 y T_4) se utilizó el producto comercial Radix® (Intercontinental Import Export) en polvo para preparar una pasta, disolviendo 5 g de Radix® 10000 en 10 mL de etanol al 50%; T_1 con 10 s de inmersión y T_4 con 10 s de inmersión + lavado con agua destilada. En otros dos tratamientos (T_2 y T_3) se usó una solución líquida de AIB grado reactivo (Sigma®), con 10 s y 20 s de inmersión, respectivamente; además, se incluyó un testigo (T_0) sin AIB. El factor “manejo de planta madre” se asignó a las parcelas grandes y el factor “aplicación de AIB” a las parcelas pequeñas.

Debido a limitaciones en la disponibilidad de estacas en las plantas madre al momento de la cosecha (30 plantas madre por lote, con una producción de 2 a 3 estacas útiles por planta), de los lotes M_1 , M_3 y M_5 se utilizaron 50 estacas (suficientes para establecer dos repeticiones por tratamiento de AIB) y de los lotes M_2 y M_4 se utilizaron 75 estacas (suficientes para tres repeticiones por tratamiento de AIB), con un total de 300 estacas en el ensayo. La unidad experimental estuvo integrada por cinco estacas, con los bloques anidados dentro del factor “manejo de planta madre”.

Variables respuesta

La evaluación se realizó a las 14 semanas de establecido el ensayo, extrayendo del sustrato cada una de las estacas vivas y verificando la existencia de callo y/o raíces adventicias; debido a que la formación de raíces es una etapa más avanzada que la presencia de callo (Guan et al., 2015), las estacas que presentaron raíces no se incluyeron en las que formaron callo. La estaca se consideró muerta cuando más de 50% de su tallo estaba necrosado. A partir de esta evaluación se obtuvo, para cada unidad experimental, el porcentaje de estacas vivas, con presencia de callo y con raíces adventicias. Se consideró como estaca enraizada cuando esta tenía una o más raíces con al menos

1 mm de largo, criterio que se ha utilizado en otros estudios similares (Rivera-Rodríguez et al., 2016) cuando el propósito fundamental es evaluar la capacidad de formación de raíces adventicias en un tiempo determinado. En las estacas que formaron raíces se contó el número de raíces primarias (RP), la longitud de la raíz más larga (LRL), la longitud promedio de raíces primarias (LPR) y el porcentaje de estacas enraizadas con presencia de raíces secundarias (RS).

Análisis de datos

Con los valores promedio por unidad experimental de las variables respuesta se realizó el análisis estadístico utilizando el procedimiento *Mixed* en el paquete estadístico SAS (*Statistical Analysis System*) © versión 9.4. (SAS, 2013). Para ello, las variables expresadas en porcentaje fueron transformadas con la función arcoseno de la raíz cuadrada del valor original expresado en fracción decimal, debido a que los datos en la escala original no cumplían con la normalidad y homogeneidad de varianza. En las variables RP, LRL y LPR se usó la raíz cuadrada del valor original. Después del análisis, los valores promedio por tratamiento fueron retransformados a las unidades originales. El modelo de análisis de varianza utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + B_j(M_i) + T_k + M_i T_k + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = valor de la variable observada en la ijk -ésima unidad experimental

μ = media general

M_i = efecto fijo del i -ésimo manejo de planta madre

$B_j(M_i)$ = efecto aleatorio del j -ésimo bloque anidado dentro del i -ésimo manejo (error de parcela grande)

T_k = efecto fijo del k -ésimo tratamiento de AIB

$M_i T_k$ = efecto fijo de la interacción del i -ésimo manejo de planta madre con el k -ésimo tratamiento de AIB

ε_{ijk} = error experimental

En las variables donde existieron diferencias significativas se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey ($P = 0.05$) para determinar diferencias estadísticas entre los niveles de los factores en estudio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró efecto significativo ($p \leq 0.05$) de los factores manejo de planta madre y aplicación de AIB en el enraizado y supervivencia de las estacas (Tabla 2). El factor aplicación de AIB influyó, además, en el número de raíces primarias (RP) y en las estacas con callo. La interacción manejo \times AIB también tuvo efecto significativo en el enraizado y supervivencia de las estacas y en RP. Ninguno de los factores influyó de manera significativa en la longitud de raíz más larga (LRL), la longitud promedio de raíces (LPR) o el porcentaje de estacas enraizadas con raíces secundarias (RS) (Tabla 2).

Efecto del manejo de planta

Aunque el manejo de la planta madre no afectó el porcentaje de estacas que formaron callo, sí influyó en la capacidad de enraizado. El mayor porcentaje de enraizado se presentó en las estacas de las plantas madre producidas en invernadero, con valores promedio de 24.8% (M_3) a 37.5% (M_1); mientras que el enraizado en las estacas de las plantas madre bajo malla sombra fue igual o menor a 10% (Tabla 3). El mismo patrón se observa en relación con la supervivencia. Las estacas de las plantas madre producidas en invernadero (M_1 , M_2 y M_3) presentaron mayor porcentaje de supervivencia ($> 92\%$) que las obtenidas de las plantas bajo malla sombra (M_4 y M_5), con una supervivencia cercana a 65% (Tabla 3).

TABLA 2. Significancia estadística (P) de los resultados del análisis de varianza de las diferentes variables evaluadas en el ensayo de enraizado de estacas de *Pinus patula*.

Fuente de variación	Estacas con raíces	Estacas con callo	Estacas vivas	RP ¹	LRL	LPR	RS
Manejo de planta madre (M)	0.045	0.282	0.016	0.126	0.958	0.688	0.967
Aplicación de AIB (AIB)	0.001	0.001	0.001	0.018	0.092	0.223	0.189
M*AIB	0.001	0.273	0.031	0.042	0.198	0.131	0.225

¹RP: número de raíces primarias por estaca; LRL: longitud de raíz más larga; LPR: longitud promedio de raíces primarias; RS: estacas con raíces secundarias.

TABLA 3. Valores medios (\pm error estándar) por condición de manejo de las plantas madre de las variables evaluadas en el ensayo de enraizado de estacas de *Pinus patula*.

Manejo ¹	Estacas con raíces (%)	Estacas con callo (%)	Estacas vivas (%)	Número de raíces primarias por estaca
M_1	37.5 \pm 13.1 a ²	31.4 \pm 9.0 a	99.8 \pm 1.0 a	1.8 \pm 0.3 a
M_2	36.2 \pm 10.7 a	21.7 \pm 6.6 a	92.7 \pm 4.7 a	1.4 \pm 0.1 a
M_3	24.8 \pm 11.7 ab	31.0 \pm 9.0 a	97.4 \pm 3.5 a	1.3 \pm 0.2 a
M_4	1.9 \pm 3.0 c	20.7 \pm 6.5 a	65.6 \pm 8.6 b	1.7 \pm 0.1 a
M_5	10.0 \pm 8.1 bc	14.4 \pm 6.8 a	65.1 \pm 10.6 b	1.5 \pm 0.4 a

¹ M_1 : 18 meses + 3 g L⁻¹ osmocote + invernadero; M_2 : 18 meses + 5 g L⁻¹ osmocote + invernadero; M_3 : 18 meses + 7 g L⁻¹ osmocote + invernadero; M_4 : 18 meses + 7 g L⁻¹ osmocote + malla sombra; M_5 : 15 meses + 7 g L⁻¹ osmocote + malla sombra. ²Medias seguidas de diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes ($P = 0.05$).



Nelson (2003) señala que los setos de plantas madre pueden ser cultivados en contenedores dentro de invernadero o bajo malla sombra, dependiendo de las condiciones ambientales locales. Sin embargo, en el caso de *Pinus patula*, las plantas madre mantenidas bajo malla sombra (M_4 y M_5) obtuvieron valores inferiores a los de las plantas madre mantenidas en invernadero. Por otro lado, Hernández y Rubilar (2012) indican que la fertilización en la planta madre tiene un efecto positivo en la inducción de raíces adventicias en estacas de *Pinus radiata* D. Don. Kanmegne et al., (2017), Martínez-Alonso et al. (2012), y Rowe et al., (2002) mencionan que la fertilización en la planta madre se correlaciona con el porcentaje de enraizamiento. Dosis de 1 g de nitrógeno por planta, aplicada cada dos meses, favorece más el enraizamiento en *Cola anomala* K. Schum, que una fertilización con 5 g por planta (Kanmegne et al., 2017). En *Pinus taeda* L. se encontró que el número de raíces por estaca aumenta conforme se incrementa la cantidad de nitrógeno aplicada diariamente en el sistema de riego, hasta una concentración máxima de 70 mg L⁻¹ (Rowe et al., 2002). Sin embargo, en este estudio el porcentaje de enraizado más alto (> 35.0%) se obtuvo con una dosis baja y media de fertilización nitrogenada (3 g L⁻¹ y 5 g L⁻¹ de Osmocote 15-9-12 de N-P-K).

Diversos estudios (Pierik et al., 1997; Mitchell et al., 2004a; Amri 2010; Rivera-Rodríguez et al., 2016) muestran que la capacidad de enraizado de las estacas disminuye a medida que la madurez ontogénica de la planta aumenta, como consecuencia de la menor división celular en tejidos maduros. En *Pinus patula* se menciona que la fase óptima para el enraizado son los dos primeros años de edad (Mitchell et al., 2004b). En este estudio se utilizaron plantas madre de 15 meses y 18 meses de edad, pero las diferencias encontradas en la capacidad de enraizado entre ellas se deben más bien a las diferencias en el manejo de las plantas (estado fisiológico asociado a la dosis de fertilización y condiciones de crecimiento), que a la edad de la planta madre (Mitchell et al., 2004a; Rivera-Rodríguez et al., 2016). Nelson (2003) indica que realizar podas continuas y mantener la planta madre a menos de 30 cm de altura aumenta la capacidad de enraizado de estacas; esto se puede

atribuir a efectos de topófisis, ya que se ha demostrado que las partes basales e internas de la planta son menos maduras que partes externas y altas (Osterc et al., 2009; Osterc y Stampar, 2011).

Efecto del ácido indol-3-butírico (AIB)

La inmersión de la base de la estaca en una solución de 5000 mg L⁻¹ de AIB por 10 s o por 20 s (T_2 y T_3) ocasionó un mayor porcentaje de enraizado (> 25%), dos a tres veces más que el tratamiento sin aplicación de AIB (T_0) (Tabla 4). El uso de AIB en forma de pasta, a partir del producto comercial Radix® 10000, fue menos efectivo para promover la formación de raíces (Tabla 4). Además, la aplicación de AIB en forma de pasta y sin lavado posterior (T_1) aumentó la mortalidad de las estacas e inhibió la formación de callo, mientras que el lavado de la pasta (T_4) y el uso de AIB en solución líquida favorecieron la supervivencia y la formación de callo en las estacas (Tabla 4). Estos resultados coinciden con lo señalado por Rivera-Rodríguez et al. (2016), quienes mencionan que la aplicación de 5000 mg L⁻¹ de AIB en estacas de planta de 24 meses de edad de *Pinus patula* favorece el enraizamiento. Sin embargo, en ese trabajo no se comparó la fuente de AIB ni la forma de aplicación. Los resultados de este trabajo muestran que la aplicación de AIB puro en solución líquida y por un tiempo breve de inmersión es más efectiva que la aplicación en forma de pasta.

La aplicación de AIB en solución líquida también ocasionó el mayor número promedio de raíces primarias por estaca con diferencias significativas con respecto al testigo (Tabla 4). Estos resultados muestran que la aplicación de AIB en la dosis adecuada y tiempo óptimo de aplicación tiene un efecto importante en estacas de especies que enraízan con dificultad, como las coníferas (Cuevas-Cruz et al., 2015; Hartmann et al., 2002; Pop et al., 2011). Los resultados muestran que una inmersión de la estaca por 10 s a 20 s en la solución de AIB es favorable para el desarrollo de raíces en *Pinus patula*, pero se requiere evaluar el efecto de una inmersión más prolongada. Sin embargo, Pop et al. (2011) indican que la presencia de auxinas en la

estaca después de 96 h generalmente inhibe la formación de meristemos, los cuales se convierten en primordios de raíz y posteriormente, durante la fase de desdiferenciación, en raíces.

Hunt et al. (2011) indican que la aplicación de AIB en forma de solución con etanol a 95% al momento del corte de la estaca favorece la formación de raíces. Mori et al. (2011) mencionan que la aplicación de AIB en forma del producto comercial Oxyberon® durante 10 minutos favorece la capacidad de enraizado en *Pinus thunbergii* Parl.; sin embargo, la aplicación por una hora del producto produce la muerte de la estaca. En *Pinus patula* la capacidad de enraizado se redujo ligeramente al pasar de 10 s a 20 s de inmersión, aunque las diferencias no fueron significativas. Es importante evaluar un mayor intervalo de tiempo de inmersión a los utilizados en este estudio, para establecer la duración óptima de inmersión.

Efecto de la interacción de factores

La interacción del manejo de la planta madre con aplicación de AIB presentó un efecto significativo en el porcentaje de enraizado y supervivencia de estacas, así como en el número de raíces primarias (RP) (Tabla 2). La mayor respuesta de enraizado de estacas se obtuvo con el tratamiento de 5000 ppm de AIB en solución por 20 segundos (T_3) combinado con planta madre de 18 meses de edad con 5 g L⁻¹ de fertilización en invernadero (M_2), con un 73.8% de estacas

enraizadas (Tabla 5). Esta misma combinación de factores mostró el mayor número de raíces primarias (RP), aunque muchas de las combinaciones quedaron en el mismo grupo estadístico.

Algunos autores proponen protocolos de enraizado de estacas con menos de 20 s de inmersión en solución de AIB para especies leñosas, obteniendo valores de entre 68% y 100% de enraizado, que son aceptables para un programa operativo de clonación (Araújo-Vieira de Souza et al., 2014; Hunt et al., 2011; Rosier et al., 2004; Wendling et al., 2010). En tanto, Dumroese et al. (2009) recomiendan tiempos de inmersión de 3 s a 10 s en soluciones concentradas para especies nativas de Montana, EUA. Sin embargo, los resultados obtenidos en *Pinus patula* muestran que la efectividad del tiempo de inmersión puede modificarse por el efecto de otros factores, como el manejo de la planta madre.

Las plantas que estuvieron dentro del invernadero (M_1 , M_2 y M_3) presentaron los valores más altos en la mayoría de las variables; la poca respuesta de enraizado en las plantas fuera del invernadero (M_4 y M_5) posiblemente es consecuencia de las condiciones variantes en el exterior y por la malla sombra, que ocasionaron diferencias en el estado fisiológico y/o en la fenología y desarrollo de los rebrotos usados como estacas. Hartmann et al. (2002) enfatizan que la capacidad de enraizado de las estacas depende en gran medida de las condiciones de humedad, luz y temperatura en las que se encuentre la planta madre.

TABLA 4. Valores medios (\pm error estándar) por tratamiento de aplicación de AIB de las variables evaluadas en el ensayo de enraizado de estacas de *Pinus patula*.

Tratamiento AIB ¹	Estacas con raíces (%)	Estacas con callo (%)	Estacas vivas (%)	Número de raíces primarias por estaca
T_0	8.5 \pm 4.0 b ²	35.7 \pm 7.7 a	97.1 \pm 3.0 a	1.3 \pm 0.2 b
T_1	17.0 \pm 5.4 ab	9.4 \pm 4.7 b	56.7 \pm 8.9 b	1.6 \pm 0.2 a
T_2	30.1 \pm 6.6 a	34.1 \pm 7.6 ab	92.8 \pm 4.6 a	1.6 \pm 0.2 a
T_3	25.2 \pm 6.3 a	25.0 \pm 7.0 ab	86.6 \pm 6.1 ab	1.6 \pm 0.2 a
T_4	19.4 \pm 5.7 ab	17.3 \pm 6.1 ab	95.7 \pm 3.6 a	1.2 \pm 0.1 b

¹ T_0 : 0 ppm de AIB; T_1 : Radix 5000 ppm por 10 s; T_2 : solución AIB 5000 ppm por 10 s; T_3 : solución AIB 5000 ppm por 20 s; T_4 : Radix 5000 ppm por 10 s + lavado. ²Medias seguidas de diferentes letras en la misma columna son estadísticamente diferentes ($P = 0.05$).



TABLA 5. Valores medios (\pm error estándar) del porcentaje de enraizado de estacas en las diferentes combinaciones de los tratamientos de aplicación de AIB y manejo de planta madre en el ensayo de enraizado de *Pinus patula*.

Manejo ¹	Aplicación de AIB ¹				
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄
M ₁	39.0 \pm 11.7 abcd ²	29.4 \pm 10.9 abcde	40.0 \pm 11.7 abcd	39.0 \pm 11.7 abcd	40.0 \pm 11.7 abcd
M ₂	9.2 \pm 5.5 bcde	13.9 \pm 6.7 bcde	53.3 \pm 9.8 ab	73.8 \pm 8.6 a	40.0 \pm 9.6 abcd
M ₃	0	49.9 \pm 12.0 abc	49.9 \pm 12.0 abc	20.0 \pm 9.5 abcde	29.4 \pm 10.9 abc
M ₄	2.2 \pm 1.9 cde	2.2 \pm 1.9 cde	2.2 \pm 1.9 cde	4.7 \pm 4.2 cde	0
M ₅	11.1 \pm 7.5 bcde	5.2 \pm 4.3 bcde	19.7 \pm 9.5 abcde	5.2 \pm 4.3 bcde	11.1 \pm 7.6 bcde

¹M₁: 18 meses + 3 g L⁻¹ + invernadero; M₂: 18 meses + 5 g L⁻¹ + invernadero; M₃: 18 meses + 7 g L⁻¹ + invernadero; M₄: 18 meses + 7 g L⁻¹ osmocote + malla sombra; M₅: 15 meses + 7 g L⁻¹ osmocote + malla sombra; T₀: 0 ppm de AIB; T₁: Radix, 5000 ppm por 10 s; T₂: solución AIB 5000 ppm por 10 s; T₃: solución AIB 5000 ppm por 20 s; T₄: Radix 5000 ppm por 10 s + lavado. ²Medias seguidas de diferentes letras en cualquier hilera y columna son estadísticamente diferentes (P = 0.05).

Durante el ensayo se obtuvieron porcentajes relativamente bajos de enraizado cuando se consideró el efecto promedio de los tratamientos en cada factor por separado. Sin embargo, la combinación de los diferentes factores evaluados permitió detectar al menos un tratamiento con más de 70% de enraizado después de 14 semanas. Estos resultados se encuentran por arriba del valor obtenido para esta especie por Rivera-Rodríguez et al. (2016), quienes muestran que en *Pinus patula* de más de 12 meses de edad la aplicación de auxinas en forma de AIB estimuló la formación de raíces, logrando valores máximos de 30%.

CONCLUSIONES

La aplicación de AIB grado reactivo en solución líquida favorece el enraizado de estacas en plantas de 15 meses a 18 meses de edad en *Pinus patula*. En los resultados de los factores por separado, con el manejo de la planta madre se obtuvo 37% de enraizado al usar estacas de planta de 18 meses de edad producida en invernadero y fertilizada con 3 g L⁻¹ de Osmocote; mientras que con la aplicación de 5000 mg L⁻¹ de AIB en solución líquida durante 10 segundos se tuvo una efectividad promedio de 30% de enraizado. Sin embargo, la aplicación de 5000 mg L⁻¹ de AIB en solución, combinada con el uso de planta madre de 18 meses de edad en invernadero, fertilizada con 5 g L⁻¹ Osmocote 15-9-12 (N-P-K) de ocho meses de liberación, permitió aumentar la

capacidad de enraizado a más de 70%, lo cual es aceptable para un programa operativo de clonación de la especie.

RECONOCIMIENTOS

A los propietarios de la Reserva Forestal Multifuncional “El Manantial” por proporcionar la semilla de *Pinus patula* para la producción de las plantas madre. A la M. C. Nohemí Escamilla Hernández por facilitarnos el material para la realización de esta investigación, y por el apoyo logístico brindado. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por el apoyo económico otorgado a Georgina Irasema durante su programa de Maestría en Ciencias en el Colegio de Postgraduados.

REFERENCIAS

- Álvarez, C., Valledor, L., Sáez, P., Sánchez-Olate, M., & Ríos, D. (2016). Proteomic analysis through adventitious rooting of *Pinus radiata* stem cuttings with different rooting capabilities. *American Journal of Plant Sciences*, 7(14), 1888–1904. <http://dx.doi.org/10.4236/ajps.2016.714174>
- Amri, E., Lyaruu, H. V. M., Nyomora, A. S., & Kanyeka, Z. L. (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. <https://doi.org/10.1007/s11056-009-9163-6>
- Araújo-Vieira de Souza, J. C., Bender, A. G., Tívano, J. C., Barroso, D. G., Mroginski, L. A., Vegetti, A. C., & Felker, P. (2014). Rooting

- of *Prosopis alba* mini-cuttings. *New Forests*, 45(5), 745–752. <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9429-5>
- Bellini, C., Pacurar, D. I., & Perrone, I. (2014). Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences. *Annual Review of Plant Biology*, 65, 639–666. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-035645>
- Bettinger, M., Clutter, M., Siry, J., Kane, M., & Pait, J. (2009). Broad implications of southern United States pine clonal forestry on planning and management of forests. *International Forestry Review*, 11(3), 331–345. <https://doi.org/10.1505/ifor.11.3.331>
- Castaños-Martínez, L. J. & Castro-Zavala, S. 2014. *Manejo forestal: Reserva Forestal Multifuncional "El Manantial"* S.C. Conceptos, Conductas y Acciones. Comisión Nacional Forestal.
- Cuevas-Cruz, J. C., Jiménez-Casas, M., Jasso-Mata, J., Pérez-Rodríguez, P., López-Upton, J., & Villegas-Monter, Á. (2015). Asexual propagation of *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 21(1), 81–95. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2014.08.033>
- de-Klerk, G.-J., van der Krieken, W., & de Jong, J. (1999). Review the formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 35(3), 189–199. <https://doi.org/10.1007/s11627-999-0076-z>
- Dumroese, R. K., Luna, T., & Landis, T. D. (Eds.). (2009). *Nursery manual for native plants: A guide for tribal nurseries* (Vol. 1). Agriculture Handbook.
- Guan, L., Murphy, A. S., Peer, W. A., Gan, L., Li, Y., & Cheng, Z. M. (Max). (2015). Physiological and molecular regulation of adventitious root formation. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(5), 506–521. <https://doi.org/10.1080/07352689.2015.1090831>
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., & Geneve, R. (2002). *Hartmann and Kester's plant propagation: principles and practices* (7a ed.). Englewood Cliffs, Estados Unidos: Prentice Hall.
- Henrique, A., Campinhos, E. N., Ono, E. O., & De Pinho, S. Z. (2006). Effect of plant growth regulators in the rooting of *Pinus* cuttings. *Brazilian archives of biology and technology*, 49(2), 189–196. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132006000300002>
- Henry, P. H., Blazich, F. A., & Hinesley, L. E. (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(4), 568–570.
- Hernández C., A., & Rubilar P., R. (2012). Efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en el desarrollo y fenología de brotes de setos de *Pinus radiata*. *Bosque*, 33(1), 53–61. <http://dx.doi.org/10.4067/S00717-92002012000100006>
- Hunt, M. A., Trueman, S. J., & Rasmussen, A. (2011). Indole-3-butryic acid accelerates adventitious root formation and impedes shoot growth of *Pinus elliottii* var. *elliottii* × *P. caribaea* var. *bondurensis* cuttings. *New Forests*, 41(3), 349–360. <https://doi.org/10.1007/s11056-010-9227-7>
- Kanmegne, G., Mbouobda, H. D., Fotso, Mbakop, C. N., & Omokolo, D. N. (2017). The influence of stockplant fertilization on tissue concentrations of nitrogen, carbohydrates and amino acids and on the rooting of leafy stem cuttings of *Cola anomala* K. Schum (Malvaceae). *New Forests*, 48(1), 17–31. <https://doi.org/10.1007/s11056-016-9553-5>
- Kroin, J. (1992). Advances using indole-3-butryic acid (IBA) dissolved in water for rooting cuttings, transplanting, and grafting. *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society*, 42, 489–492.
- Kroin, J. (2008). Propagate plants from cuttings using dry-dip rooting powders and water-based rooting solutions. *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society*, 58, 360–372.
- Lebude, A. V., Goldfarb, B., Blazich, F. A., Wise, F. C., & Frampton, J. (2004). Mist, substrate water potential and cutting water potential influence rooting of stem cuttings of loblolly pine. *Tree Physiology*, 24(7), 823–831. <https://doi.org/10.1093/treephys/24.7.823>
- Legué, V., Rigal, A., & Bhalerao, R. P. (2014). Adventitious root formation in tree species: Involvement of transcription factors. *Physiologia Plantarum*, 151(2), 192–198. <https://doi.org/10.1111/ppl.12197>
- Majada, J., Martínez-Alonso, C., Feito, I., Kidelman, A., Aranda, I., & Alía, R. (2011). Mini-cuttings: An effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests*, 41, 399–412. <https://doi.org/10.1007/s11056-010-9232-x>
- Martínez-Alonso, C., Kidelman, A., Feito, I., Velasco, T., Alía, R., Gaspar, M. J., & Majada, J. (2012). Optimization of seasonality and mother plant nutrition for vegetative propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests*, 43, 651–663. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9333-9>
- Mitchell, R. G., Zwolinski, J., & Jones, N. B. (2004a). A review on the effects of donor maturation on rooting and field performance of conifer cuttings. *Southern African Forestry Journal*, 201(1), 53–63. <https://doi.org/10.1080/20702620.2004.10431774>
- Mitchell, R. G., Zwolinski, J., & Jones, N. B. (2004b). The effects of ontogenetic maturation in *Pinus patula* - Part 1: nursery performance. *The Southern African Forestry Journal*, 202(1), 29–36. <https://doi.org/10.1080/20702620.2004.10431787>
- Mori, Y., Miyahara, F., Tsutsumi, Y., & Kondo, R. (2011). Effects of combinational treatment with ethephon and indole-3-butryic acid on adventitious rooting of *Pinus thunbergii* cuttings. *Plant Growth*



- Regulation*, 63, 271–278. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9524-3>
- Muñoz-Gutiérrez, L., Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., & Soto-Hernández, M. (2009). Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa*. *New Forests*, 38, 187–196. <https://doi.org/10.1007/s11056-009-9139-6>
- Nelson, W. (2003). *Propagating Plantation Trees from Cuttings in Containers*. (p. 18). Management Ltd.
- Osterc, G. & Stampar, F. (2011). Differences in endo/exogenous auxin profile in cuttings of different physiological ages. *Journal of Plant Physiology*, 168(17), 2088–2092. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2011.06.016>
- Osterc, G., Štefančič, M., & Štampar, F. (2009). Juvenile stockplant material enhances root development through higher endogenous auxin level. *Acta Physiologiae Plantarum*, 31, 899–903. <https://doi.org/10.1007/s11738-009-0303-6>
- Pierik, R. L. M., Oosterkamp, J., & Ebbing, M. A. C. (1997). Factors controlling adventitious root formation of explants from juvenile and adult *Quercus robur* “Fastigiata”. *Scientia Horticulturae*, 71(1–2), 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4238\(97\)00067-8](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(97)00067-8)
- Pop, T. I., Pamfil, D., & Bellini, C. (2011). Auxin control in the formation of adventitious roots. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(1), 307–316. <https://doi.org/10.15835/nbha3916101>
- Rivera-Rodríguez, M. O., Vargas- Hernández, J. J., López-Upton, J., Villegas-Monter, Á., & Jiménez-Casas, M. (2016). Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 39(4), 385–392. <https://doi.org/10.35196/rfm.2016.4.385-392>
- Rosier, C. L., Frampton, J., Goldfarb, B., Wise, F. C., & Blazich, F. A. (2004). Growth stage, auxin type, and concentration influence rooting of Virginia Pine stem cuttings. *HortScience*, 39(6), 1392–1396. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.39.6.1392>
- Rowe, D. B., Blazich, F. A., Goldfarb, B., & Wise, F. C. (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. <https://doi.org/10.1023/A:1020555013964>
- Statistical Analysis System. 2013. SAS 9.4 [Computer software]. Institute Inc. NC USA.
- Sedaghathoor, S., Kayghobadi, S., & Tajvar, Y. (2016). Rooting of Mugo pine (*Pinus mugo*) cuttings as affected by IBA, NAA and planting substrate. *Forest Systems*, 25(2), eSC08. <https://doi.org/10.5424/fs/2016252-09087>
- Steffens, B., & Rasmussen, A. (2016). The physiology of adventitious roots. *Plant Physiology*, 170(2), 603–617. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01360>
- Stuepp, C. A., Wendling, I., Trueman, S. J., Koehler, H. S., & Zuffellato-Ribas, K. C. (2017). The use of auxin quantification for understanding clonal tree propagation. *Forests*, 8(1), 14–18. <https://doi.org/10.3390/f8010027>
- Wendling, I., Brondani, G. E., Dutra, L. F., & Hansel, F. A. (2010). Mini-cuttings technique: a new *ex vitro* method for clonal propagation of sweetgum. *New Forests*, 39, 343–353. <https://doi.org/10.1007/s11056-009-9175-2>
- Wu, J., Lin, H., Guo, L., Dong, J., Zhang, L., & Fu, W. (2019). Biomass and nutrients variation of Chinese Fir rooted cuttings under conventional and exponential fertilization regimes of nitrogen. *Forests*, 10(8), 615. <https://doi.org/10.3390/f10080615>
- Zabala-Sánchez, J., Ortega-Lasuen, U., Majada-Guijo, J., Txarterina-Urkiri, K., & Duñabeitia-Aurrekoetxea, M. (2008). Optimización de la propagación vegetativa por estaquillado de genotipos de interés comercial de *Pinus radiata*. *Cuadernos de La Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 28, 201–205.

Manuscrito recibido el 23 de octubre de 2019

Aceptado el 07 de julio de 2020

Publicado el 18 de febrero de 2022

Este documento se debe citar como:

Bautista-Ojeda, G. I., Vargas-Hernández, J. J., Jiménez-Casas, M., & López-Peralta, M. C. G. (2022). Manejo de planta y aplicación de AIB en el enraizado de estacas de *Pinus patula*. *Madera y Bosques*, 28(1), e2812060. <https://doi.org/10.21829/myb.2022.2812060>



Madera y Bosques por Instituto de Ecología, A.C. se distribuye bajo una Licencia Creative Commons Atribución-NoComercialCompartirIgual 4.0 Internacional.