



PLANTAS INJERTADAS DE *Pinus patula* SCHIEDE ex SCHLTDL. et CHAM. PARA PRODUCCIÓN DE ESTACAS

GRAFTED PLANTS OF *Pinus patula* SCHIEDE ex SCHLTDL. et CHAM. FOR CUTTINGS PRODUCTION

Benito González-Jiménez¹, Marcos Jiménez-Casas^{1*}, Javier López-Upton¹, Miguel Á. López-López¹ y Rodrigo Rodríguez-Laguna²

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Postgrado en Ciencias Forestales, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México. ²Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Instituto de Ciencias Agropecuarias, Tulancingo, Hidalgo, México.

*Autor de correspondencia (marcosjc@colpos.mx)

RESUMEN

Los injertos de pino utilizados como plantas madre representan una alternativa para propagación masiva por medio de la inducción de brotes adventicios. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del injerto y genotipo en la inducción y desarrollo de brotes al ser usados como estacas a partir de plantas madre de *Pinus patula* y su posterior enraizamiento. Para inducir los brotes se aplicó una poda a la yema terminal de injertos de los genotipos de *P. patula* G105, G106, G114 y G115, y plantas de dos años sin injertar, dando como resultado cinco tratamientos que se distribuyeron en un diseño experimental de bloques completos al azar. Posteriormente, los brotes se cosecharon y se pusieron a enraizar. En la inducción de brotes se evaluó el porcentaje de plantas madre que formaron brotes, así como número, longitud (cm) y diámetro (mm) de éstos. En el enraizamiento se contabilizaron las estacas vivas y enraizadas (%). Se detectaron diferencias en las variables evaluadas ($P \leq 0.05$). El genotipo tuvo efecto en el tiempo de inicio de formación de brotes. Las plantas no injertadas desarrollaron el mayor número promedio de brotes por planta madre (7.5). Los brotes de G114 y G106 presentaron el mayor crecimiento en longitud (6.0 cm) y diámetro (5.1 mm), respectivamente. En la etapa de enraizamiento, los brotes de la planta no injertada tuvieron el 100 % de supervivencia y 20 % de enraizamiento. Los brotes de plantas injertadas permanecieron vivos entre 50 y 75 %, pero sin enraizar. El genotipo influyó en la morfología de los brotes y el enraizamiento se presentó solo en brotes de planta no injertada.

Palabras clave: *Pinus patula*, clon, genotipo superior, morfología del brote, planta madre, poda.

SUMMARY

Pine grafts used as mother plants represent an alternative to massive propagation through adventitious sprout induction. The aim of this study was to evaluate the effect of graft and genotype on the induction and development of sprouts when used as cuttings from *Pinus patula* mother plants and their subsequent rooting. To induce the sprouts, pruning was applied to the terminal bud of the genotypes of *P. patula* G105, G106, G114 and G115, and two-year non-grafted plants, resulting in five treatments that were distributed in a randomized complete block experimental design. Subsequently, sprouts were harvested for rooting. In sprouts induction, the percentage of mother plants that formed sprouts, as well as number, length (cm) and diameter (mm) of the sprouts were evaluated. At rooting, alive and rooted cuttings were counted (%). Differences were detected in variables evaluated ($P \leq 0.05$). The genotype affected the onset time of sprouts formation. The non-grafted plants developed the highest average number of sprouts per mother plant (7.5). The

sprouts of G114 and G106 presented the highest growth in length (6.0 cm) and diameter (5.1 mm), respectively. At the rooting stage, the sprouts of non-grafted plants showed 100 % survival and 20 % rooting. Survival of sprouts from grafted plants was between 50 and 75 %, with no rooting at all. Genotype influenced the sprouts morphology and rooting occurred only in sprouts from non-grafted plants.

Index words: *Pinus patula*, clone, mother plant, pruning, sprout morphology, superior genotype.

INTRODUCCIÓN

La propagación clonal consiste en multiplicar íntegramente la información genética de un árbol con características deseables que se quieren mantener, y se puede lograr por medio de injerto, enraizamiento de estacas, acodo o cultivo *in vitro* (Castillo-Martínez *et al.*, 2021; Pérez-Luna *et al.*, 2020). En *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham., especie endémica de México, de importancia económica por su alta productividad y calidad de madera (López *et al.*, 2023), se ha comprobado el éxito de la aplicación de injertos en la propagación de genotipos deseables para establecer huertos semilleros asexuales (González-Jiménez *et al.*, 2022). Sin embargo, la propagación por injertos es limitada por la cantidad de púas disponibles por árbol y bajo prendimiento por incompatibilidad entre las partes del injerto, por lo que para propagación masiva es más recomendable el enraizamiento de estacas.

La multiplicación masiva por enraizamiento de estacas requiere material juvenil; para ello, las empresas forestales han creado plantas de porte pequeño que generen muchos brotes vigorosos a las que se les llama plantas madre (Cabrera *et al.*, 2022). El sistema de plantas madre se refiere al manejo de plantas obtenidas por semilla o por propagación vegetativa, que son podadas para estimular la formación de brotes adventicios con características juveniles (Riov *et al.*, 2020). Estos brotes pueden utilizarse

para enraizamiento de estacas, para injertarse o para cultivo *in vitro* (Read y Bavourian, 2013). El enraizamiento de estacas se ha aplicado operativamente en plantaciones de *P. patula* en Sudáfrica, *P. radiata* D. Don en Nueva Zelanda y *P. taeda* L. en EUA (Ford et al., 2014; Wu, 2019). En México, para *P. patula* se ha reportado sólo a nivel experimental, con menos de 80 % de enraizamiento (Bautista-Ojeda et al., 2022; Escamilla-Hernández et al., 2020). El uso de plantas madre permite: 1) mantener características juveniles en las estacas; 2) facilitar el manejo y recolecta de estacas; 3) programar podas; 4) evitar traslados al sitio original del árbol, lo que reduce gastos; 5) controlar la nutrición y sanidad de la planta, y 6) utilizar poco espacio en vivero (Castro-Garibay et al., 2022; Sodré y Gomes, 2019).

La producción de plantas madre por semilla tiene el inconveniente de que se reproducen individuos genéticamente diferentes al árbol superior seleccionado y requiere preferentemente realizar cruzas controladas con otros progenitores cuya cruce sea comprobada en campo, en ensayos que necesitan hasta de ocho años para evaluarse en *P. patula* (Ford et al., 2014). Por medio de la propagación serial se evita la variación genética y se pueden clonar a mayor escala los árboles superiores originales (Wendling et al., 2014). Primero se injertan los genotipos seleccionados, luego se podan las plantas a temprana edad para estimular el desarrollo de brotes adventicios, los cuales se cosechan y mediante tratamientos con auxinas, fertilización y condiciones de alta humedad, se promueve el enraizamiento de estacas (Bonga, 2016). Los brotes a partir de plantas madre injertadas en *P. greggii* Engelm. var. *australis* Donahue et López pueden ser vigorosos y menos lignificados (juveniles) (Castro-Garibay et al., 2022), pero la interrogante es si el tejido injertado en *P. patula* tendría la capacidad de enraizamiento como los generados por plantas madre originadas por semilla.

La fisiología de las plantas madre está en función del genotipo, fecha de poda, condiciones ambientales, nutricionales y hormonales (Inoti et al., 2017). El genotipo puede influir en la capacidad de formación, número y morfología de los brotes adventicios, así como en su enraizamiento (Sodré y Gomes, 2019). En planta injertada se pueden presentar diferencias morfológicas y fisiológicas de acuerdo con la capacidad específica de cada genotipo de púa (González-Jiménez et al., 2023).

Se desconoce la respuesta de plantas injertadas manejadas como plantas madre para multiplicar genotipos deseables. El objetivo del presente estudio es comparar el efecto del injerto y del genotipo en la producción de brotes y en el enraizamiento de estacas en respuesta a la poda de plantas madre de *P. patula*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Producción de planta madre

Para producir las plantas madre se utilizaron cuatro genotipos de *P. patula* (G105, G106, G114 y G115) seleccionados en 2018 en el ejido Peñuelas Pueblo Nuevo, Chignahuapan, Puebla por su superioridad en altura, diámetro normal y rectitud del fuste. La fuente del G105 y G106 fue un ensayo de progenie ($19^{\circ} 57' 43.14''$ LN, $98^{\circ} 06' 15.25''$ LO, 2574 m de altitud) y al momento de su selección tenían nueve años de edad y en promedio 9.6 m de altura y 20.7 cm de diámetro, mientras que G114 y G115 provienen de un huerto semillero sexual ($19^{\circ} 57' 36.09''$ LN, $98^{\circ} 06' 18.92''$ LO, 2592 m de altitud), con 13 años de edad y en promedio 16.7 m de altura y 25 cm de diámetro.

En octubre de 2018 se recolectó semilla de polinización abierta de los cuatro genotipos seleccionados para producir la planta patrón. Enseguida, las semillas se colocaron para germinar en envases de 320 mL en un invernadero del Colegio de Postgrados, Texcoco, México. En septiembre de 2019, las plantas producidas se trasplantaron a envases de plástico rígido (tubetes) de 1 L (18.5 cm de largo y 9 cm de diámetro) para permitir un mejor crecimiento y desarrollo de la raíz. El sustrato fue una mezcla de turba, perlita y vermiculita (60:20:20 %, respectivamente), incluyendo 8 g L⁻¹ de fertilizante de liberación controlada de ocho meses Multicote® 18-6-12 N-P-K + 2MgO + microelementos para mejorar su crecimiento (López et al., 2023). En marzo de 2020, a los 18 meses de edad, se seleccionaron 320 plantas vigorosas (60 cm de altura promedio y 8.1 cm de diámetro a la base del tallo) que fueron utilizadas como patrón para injertar y generar las plantas madre y 30 más para producir plantas madre sin injertar.

A principios de abril de 2020 se recolectaron las púas de la parte media superior de la copa de los árboles G105, G106, G114 y G115. Con tijeras de extensión se cortaron 120 púas por genotipo (sólo se injertaron 80) de los extremos terminales de las ramas, desde la base del crecimiento reciente. Las púas cortadas se asperjaron con agua, se colocaron dentro de bolsas de polietileno y se trasladaron en nevera con hielo el mismo día al Colegio de Postgrados. Al llegar, los paquetes se colocaron en un refrigerador a 4 °C. Las púas contenían la yema (tejido meristemático) y el crecimiento inmediato anterior del último mes, ya que en esta especie la elongación inicia a principios de marzo; por lo tanto, las púas estaban en crecimiento activo, sin lignificación, antes de emitir acículas, vigorosas, sanas y con longitud promedio de 13 cm (se ajustó a 7 cm al injertar) y diámetro de 4.9 mm.

Al día siguiente de la recolecta de las púas se injertó con la técnica lateral a 10 cm de la base en el tallo principal del patrón, como se describe en González-Jiménez et al. (2023). En vivero se dio riego de manera individual dos a tres veces por semana a los injertos prendidos y a la planta no injertada. El pH del agua se ajustó a 5.7 con ácido fosfórico. La fertilización se realizó una vez por semana con Peters Profesional® 20-20-20 N-P-K en dosis de 1 g L⁻¹.

Inducción de brotes por poda

A los seis meses del injertado, en octubre de 2020, se seleccionaron las 30 mejores plantas injertadas de cada genotipo (altura, vigor y con dominancia apical definida) para conformar el grupo de plantas madre. Las plantas injertadas y las no injertadas se podaron 2 cm abajo de la yema apical para inducir el desarrollo de brotes adventicios. La altura promedio en cm de la planta injertada fue: G105 (36.1), G106 (26.7), G114 (32.7), G115 (35.8) y de la no injertada (76.8). La planta sin injertar estuvo constituida de patrones de dos años sin tratamiento alguno y con el mismo manejo que las injertadas.

El desarrollo de los brotes se observó en el periodo de la semana 7 a la 16 (Figura 1). Las plantas se mantuvieron a la intemperie con temperatura promedio de 21.3, máxima de 36.6 y mínima de 6.1 °C. La humedad relativa promedio fue 51.8, la máxima de 72.9 y la mínima de 28.5 % y se registró mediante un sensor HOBO® (Modelo U12-012, Onset, Cape Cod, Massachusetts, USA) durante 16 semanas a partir de la poda.

Enraizamiento de estacas

A la semana 18, después de la poda, los brotes adventicios generados en las plantas madre fueron cosechados. Las estacas obtenidas se sumergieron en agua corriente por 20 min para hidratarlas; luego, fueron lavadas en solución de jabón líquido comercial e hipoclorito de sodio (1 mL L⁻¹) y se enjuagaron con agua corriente; finalmente, se trajeron con solución del fungicida Captán® 1 g L⁻¹ durante 15 min y se pasaron a un recipiente con hielo para mantenerlos frescos e hidratados. Las estacas tenían 4.2 mm de diámetro promedio y la longitud se ajustó a 5 cm con un corte de 45° en la base. Para promover el enraizamiento, se aplicó en la base de la estaca auxina ácido indol-3-butírico (AIB) en polvo (Radix®) 5000 ppm.

Se adaptaron cuatro cámaras de enraizamiento mediante contenedores de plástico redondo de 36 cm de diámetro y 15 cm de altura con orificios en la base y desinfectadas con sales cuaternarias de amonio (Pursue®) 10 mL L⁻¹. En cada contenedor se utilizaron 8 L de sustrato perlita y turba de musgo (3:1) y 3.7 L de agua purificada. En el sustrato, dentro de los contenedores, se delimitó un cuadro de 20 × 20 cm donde se enterraron las estacas a 5 cm de manera equidistante a una profundidad de 1-1.5 cm, cada contenedor tenía 25 estacas (cinco estacas por tratamiento). Las cámaras fueron cubiertas con bolsas de polietileno transparente de 0.8 × 1.2 m y se mantuvieron en invernadero con temperatura promedio de 20.5, máxima de 26.4 y mínima de 14.8 °C durante seis semanas.

Diseño experimental y análisis de datos

Se utilizó un diseño experimental de bloques completos

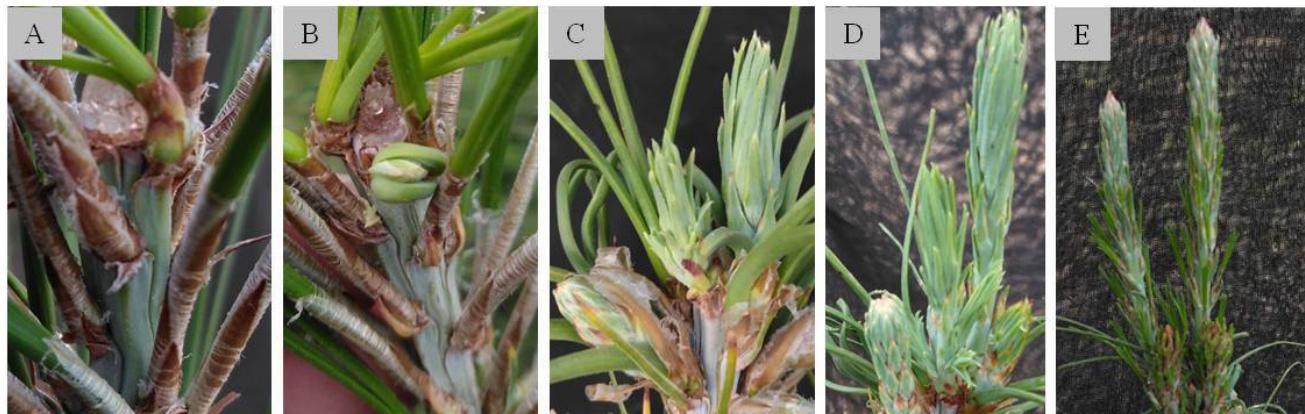


Figura 1. Fenología de brotes a partir de plantas madre injertadas de *P. patula*. A) semanas 2-6, abultamiento en la base de algunos fascículos cercanos al área de poda, B) semana 7, inicio de la brotación, C) y D) semanas 8-14 crecimiento en longitud de los brotes y desarrollo de acículas primarias, E) semana 16 reducción de crecimiento e inicio de hojas secundarias (acículas unidas al fascículo).

al azar. Para la etapa de inducción de brotes se usaron seis bloques y cuatro para la etapa de enraizamiento. Se establecieron cinco tratamientos, evaluando las plantas madre de injertos de cuatro genotipos superiores T1: G105, T2: G106, T3: G114, T4: G115 y T5: planta a partir de semilla y sin injertar. En la primera etapa, la unidad experimental constó de cinco injertos o plantas, respectivamente, y en la etapa de enraizamiento se usaron cinco estacas.

Las variables evaluadas en la inducción de brotes fueron: plantas madre que emitieron brotes adventicios (%) a la semana 7 y 16; número, longitud (cm) y diámetro (mm) de los brotes solamente a la semana 16. Las variables evaluadas en el enraizamiento de estacas fueron: estacas vivas (%) y estacas enraizadas (%) a las seis semanas de haberse colocado en las cámaras de enraizamiento.

De manera independiente se realizó análisis de varianza a los datos de las variables evaluadas en la etapa de inducción de brotes y enraizamiento, correspondientes a los cinco tratamientos, mediante el procedimiento Mixed del paquete Statistical Analysis System versión 9.4 (SAS Institute, 2013). Posteriormente, a las variables que presentaron diferencia estadística se les aplicó la prueba de comparación múltiple de medias (Tukey, $P \leq 0.05$). Los datos de la variable número de brotes y las evaluadas en porcentaje, al no cumplir con el supuesto de normalidad, se transformaron con la función $[T = \log_{10}(Y)]$ y $[T = \text{arcoseno}(\sqrt{Y})]$, respectivamente, antes de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey; posteriormente, se retransformaron a las unidades originales con la función $[Y = 10^T]$ y $[Y = 100 \text{ seno}^2(T)]$, respectivamente (Bautista-Ojeda et al., 2022). Se utilizó el mismo modelo para las dos etapas del experimento:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde: $i = 1, 2, \dots, t$; $j = 1, 2, \dots, r$: t = número de tratamientos, r = número de bloques t = número de repeticiones; Y_{ij} = valor de la variable respuesta correspondiente a la repetición j del tratamiento i ; μ = media general; T_i = efecto del tratamiento i ; B_j = efecto del bloque j ; ε_{ij} = error experimental $i = T1, T2, T3, T4$ y $T5$; $j = 1, 2, 3, \dots$ repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Formación de brotes

En la evaluación a la semana 7 se observó que el inicio de la brotación fue heterogéneo entre genotipos de las plantas injertadas, lo que dificulta cosechar los brotes en una sola fecha. El 45.8 % de las plantas madre injertadas inició la formación de brotes adventicios a las siete semanas. Las plantas del T3: G114, produjeron de 20 a

40 % más brotes que las otras plantas injertadas, pero los valores fueron similares a los de las no injertadas, misma capacidad de respuesta a la poda (Cuadro 1). Para la evaluación final (semana 16) presentaron diferencias de 27 % más los tratamientos T3, T4 y T5, que desarrollaron brotes adventicios, con respecto al T2 (Cuadro 1). La mayoría de las plantas madre a partir de injerto lograron formar brotes (87 %), así como la planta no injertada (97 %) (Cuadro 1). Del 70 al 97 % de las plantas madre a partir de injerto formaron brotes, a pesar de que las púas injertadas provienen de árboles de 11 y 15 años de edad. En *P. greggii* se reportó la inducción de brotes en plantas injertadas con púas de árboles de 14 años (Castro-Garibay et al., 2022), pero la información es escasa sobre el manejo de plantas madre a partir de especies de pino adultos.

De manera similar a los resultados de este trabajo, en plantas madre de *P. taeda*, pero a partir de semilla, las diferencias genéticas entre familias fueron evidentes en la formación de brotes (Rowe et al., 2002). En *P. jaliscana* Pérez de la Rosa se encontró gran variación en la producción de brotes de acuerdo con el genotipo de la planta madre (Aparicio-Rentería et al., 2006). Esta variación responde al factor genético, ya que existen genotipos con mayor capacidad de brotación con relación a otros dentro de una misma especie (Rezende et al., 2014). También se ha señalado que influyen otros factores como la altura del tallo a la que se realiza la poda, nutrición, edad, fecha e intensidad de poda, balance hormonal de la planta madre, luz, temperatura y humedad (Escamilla-Hernández et al., 2020).

El estímulo para la formación de brotes adventicios se da en respuesta a factores de estrés como defoliación, poda, fuego y sequía (Jiménez-Casas y Zwiazek, 2014). Al podar el ápice de la planta madre se pierde dominancia apical y las yemas laterales pueden ser liberadas de la latencia por la reducción en los niveles de auxina, las citocininas producidas en las raíces se transportan hacia arriba y pueden actuar en las yemas para promover su excrecencia (Read y Bavourian, 2013). Este proceso fisiológico se da como respuesta de la planta para mantener mayor biomasa viva (Smith et al., 2018).

Los estudios se han enfocado en plántulas menores de dos años producidas por semilla, como en *P. radiata* y *P. taeda* (Wu, 2019), *P. leiophylla* Schiede ex Schleidl. et Cham. (Cuevas-Cruz et al., 2015) y *P. patula* (Bautista-Ojeda et al., 2022). Para árboles de cuatro años de edad se ha reportado la inducción de brotes adventicios con árboles del híbrido *P. elliottii* var. *elliottii* × *P. caribaea* var. *hondurensis* (Cabrera et al., 2022). Es difícil que en coníferas adultas se produzcan brotes adventicios debido a la transición de la fase juvenil a la madura, que trae cambios progresivos en la capacidad

Cuadro 1. Valores medios y error estándar (\pm) de las variables evaluadas en la inducción y morfología de brotes adventicios generados de plantas madre de *Pinus patula*.

Tratamiento	Brotes (%) a la semana		Brotes/planta	Tamaño de brotes	
	7	16		Longitud (cm)	Diámetro (mm)
P	0.0023*	0.0159*	0.0001*	0.0001*	0.0001*
T1	46.7 \pm 8.4 b	83.3 \pm 10.9 ab	2.3 \pm 0.1 b	5.5 \pm 0.6 ab	4.2 \pm 0.4 bc
T2	36.7 \pm 9.5 bc	70.0 \pm 11.2 b	1.9 \pm 0.2 b	5.5 \pm 0.5 ab	5.1 \pm 0.2 a
T3	70.0 \pm 8.6 a	96.7 \pm 3.3 a	2.7 \pm 0.3 b	6.0 \pm 0.3 a	3.8 \pm 0.1 cd
T4	30.0 \pm 6.8 c	96.7 \pm 3.3 a	2.6 \pm 0.2 b	4.0 \pm 0.2 bc	4.8 \pm 0.2 ab
T5	70.0 \pm 6.8 a	96.7 \pm 3.3 a	7.5 \pm 0.9 a	2.6 \pm 0.1 c	3.0 \pm 0.1 d

Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). T1: G105, T2: G106, T3: G114, T4: G115, T5: planta no injertada. El número promedio de brotes por planta y el tamaño corresponden a su evaluación en la semana 16.

de desarrollarlos (Hartmann *et al.*, 2014). Sólo algunas coníferas como *P. leiophylla* presentan capacidad de rebrote en etapa adulta (Jiménez-Casas y Zwiazek, 2014). Posiblemente al injertar las púas de árboles adultos sobre patrones jóvenes se favoreció la formación de brotes. El rebrote es una característica de plántulas juveniles que se confiere del patrón a la púa al injertar (Wendling *et al.*, 2014). En este estudio se demuestra que se pueden establecer plantas madres injertadas de árboles adultos de *P. patula* con capacidad de producir brotes.

Número de brotes

El T5 mostró el valor más alto con 7.5 brotes, en promedio, por planta madre y tuvo diferencias con los otros cuatro tratamientos, correspondientes a plantas injertadas que emitieron entre 1.9 y 2.7 brotes (Cuadro 1). El número de brotes se vio influido por el origen de la planta madre (injerto); sin embargo, el genotipo dentro de este grupo no tuvo efecto. En contraste, plantas de 18 meses de *P. jaliscana* sí presentaron variación en el número de brotes (0 a 27) entre genotipos (Aparicio-Rentería *et al.*, 2006). En promedio se formaron 2.4 brotes por planta madre a partir de injertos. La baja productividad inicial de brotes pudiera incrementarse conforme el rameto se adapta al manejo como planta madre. Hernández y Rubilar (2012) obtuvieron de cuatro a 10 brotes totales por planta madre en *P. radiata*.

Aunque se logró multiplicar el material vegetal de los genotipos de interés, es necesario aumentar aún más el número de brotes, ya que en algunos casos las podas no son suficientes para producir la cantidad requerida (Inoti *et al.*, 2017). La fertilización, y particularmente el nitrógeno, en las plantas madre podría ayudar a incrementar el número de brotes, aunque previamente se debe analizar el estado nutricional de la planta para detectar insuficiencias y

mejorar su vigor (Cabrera *et al.*, 2022; Ford *et al.*, 2014). La fertilización con nitrógeno en plantas madre de *P. taeda* y *P. radiata* aumentó los niveles de carbohidratos, mejorando la producción de brotes (Hernández y Rubilar, 2012; Rowe *et al.*, 2002). El desarrollo y crecimiento de rebrotos depende en gran medida de las reservas de carbono existentes en los tejidos de la planta madre (Smith *et al.*, 2018).

El estrés producido a las plantas madre por la poda y su severidad también puede influir en el número de brotes (Jiménez-Casas y Zwiazek, 2014). Podas constantes en plantas madre de *P. jaliscana* aumentaron progresivamente la producción de brotes (Aparicio-Rentería *et al.*, 2006); Bautista-Ojeda *et al.* (2022) podaron hasta tres veces plantas madre de *P. patula* para inducir mayor brotación.

Longitud de brotes

En promedio, se obtuvieron 5.3 cm de longitud del brote de plantas madre a partir de injerto y las de planta no injertada de 2.6 cm (Cuadro 1). En los brotes de plantas injertadas el promedio en longitud más alto lo presentó el T3 (6.0 cm), ya que inició su formación más rápido y tuvo diferencia solo con el T4 de 2.0 cm. Martínez-Alonso *et al.* (2012) no detectaron efecto del origen genético de las plantas madre en la longitud del brote de *P. pinaster* Ait. El bajo crecimiento de brotes del T5 pudiera atribuirse a que distribuyeron sus recursos en un gran número de brotes, afectando su crecimiento. Bautista-Ojeda *et al.* (2022) recomendaron eliminar los brotes débiles de cada planta madre para reducir la variabilidad en vigor y optimizar la distribución de recursos, favoreciendo el crecimiento de los remanentes.

Es importante considerar la longitud del brote de acuerdo con su objetivo final, sea púa para injerto, explante para cultivo *in vitro* o estaca para enraizamiento (Castro-Garibay

et al., 2022; Sodré y Gomes, 2019). Escamilla-Hernández et al. (2020) recomendaron para *P. patula* una longitud del brote de 7-9 cm si se va a utilizar para enraizamiento; Rivera-Rodríguez et al. (2016) obtuvieron para este mismo fin brotes de 8-10 cm y Ford et al. (2014) de 8 cm. Los brotes del G114 (T3) son los que se acercaron más a esta longitud recomendada. Se observó entre plantas madre de un mismo genotipo, e incluso dentro de una misma planta, brotes de diferentes tamaños, desde recién formados hasta los que ya habían detenido su crecimiento, lo que dificulta tener una cosecha en una sola fecha (Figuras 1D y 1E).

Para este estudio, el crecimiento de los brotes fue menor que el reportado en otras especies de pino de 7-12 cm (Cuevas-Cruz et al., 2015; Escamilla-Hernández et al., 2020). Esta menor longitud puede estar relacionada con la fecha de poda de las plantas madre (octubre), cuando están en un periodo de latencia y no hay alargamiento visible del brote (González-Jiménez et al., 2022). Rowe et al. (2002) obtuvieron el mayor número de brotes con ≥ 9 cm de longitud en primavera y la menor longitud en invierno; además, Hernández y Rubilar (2012) sugirieron desarrollar esquemas de fertilización con nitrógeno para optimizar la elongación de los brotes, ya que ésta influye en características morfológicas de planta injertada (López et al., 2023). Este efecto se debe a que los niveles elevados de nitrógeno promueven una rápida división y elongación celular (Martínez-Alonso et al., 2012).

Diámetro de brotes

En promedio, el diámetro en los brotes a partir de injertos fue 4.5 mm y para T5 (planta no injertada) de 3.0 mm. El valor promedio más alto se presentó en T2 (5.1 mm), con diferencia de 0.9, 1.3, 0.3 y 2.1 mm con respecto a T1, T3, T4 y T5 (Cuadro 1). Escamilla-Hernández et al. (2020) recomendaron para *P. patula* brotes con diámetro promedio de 2.5-3.0 mm para fines de enraizamiento. Los brotes del T5 tuvieron un crecimiento similar a lo reportado por estos autores, ya que ambos fueron originados de plantas provenientes de semilla. Dentro de las plantas madre a partir de injerto, los brotes del T3 tuvieron el valor promedio más cercano al diámetro recomendado para enraizamiento. En otras especies de pino se han obtenido brotes ≤ 3 mm a partir de plantas madre, como en *P. leiophylla* de 1.5-2.0 mm (Cuevas-Cruz et al., 2015) y en *P. radiata* de 2.4-2.9 mm (Hernández y Rubilar, 2012).

Los diámetros medios de brote obtenidos de las plantas madre del T1, T2, T3 y T4 fueron superiores a los que se han reportado, lo que quizás se deba a que se trata de púas de árboles adultos injertadas, condición que influyó en la formación de brotes más gruesos en comparación con los

que genera la misma especie, pero en estado de plántula originada de semilla. Es preciso considerar que habrá brotes de genotipos morfológicamente más adecuados para enraizamiento y otros como el T2 (5.1 mm) que no sean favorables. Asimismo, se deben tomar en cuenta las relaciones entre las características morfológicas del brote en su enraizamiento, ya que los estudios se han enfocado en aspectos fisiológicos, hormonales y del ambiente.

Supervivencia y enraizamiento de brotes

A los tres meses después de establecidas las estacas, la supervivencia de los brotes procedentes de plantas madre no injertadas (T5) fue 100 % y presentó diferencias de 25 a 50 % con respecto a las de plantas madre injertadas (T1, T2, T3 y T4), que en promedio fue 63.8 % (Cuadro 2). El T3 (G114) presentó el valor más alto de supervivencia en plantas injertadas con diferencia de 25 % respecto al T1 (G105). La mejor respuesta en la supervivencia de las estacas del G114 quizás sea resultado de la capacidad específica de cada genotipo (González-Jiménez et al., 2023). Se carece de información acerca de la supervivencia de estacas de plantas madre a partir de injerto en especies del género *Pinus*, solamente existen antecedentes de estacas a partir de plantas menores de dos años originadas de semilla. Escamilla-Hernández et al. (2020) y Rivera-Rodríguez et al. (2016) reportaron supervivencia ≥ 90 % de estacas de *P. patula* de 3-5 meses después de que se colocan a enraizar. Estos resultados son similares a los obtenidos en este estudio por el T5 por tener mismo origen (plántulas de semilla).

El 20 % de las estacas a partir de plántula no injertada correspondientes al T5 lograron desarrollar raíces adventicias, con longitud de raíz primaria de 13.9 cm y 4.8 raíces secundarias promedio (Figura 2D). Las estacas que desarrollaron raíces adventicias se transfirieron a tubete individual de 320 mL en condiciones de invernadero para su aclimatación (Figura 2E). Ninguno de los cuatro genotipos evaluados logró desarrollar raíces (Cuadro 2). Es escasa la información de enraizamiento de estacas de planta injertada. Los resultados obtenidos por el T5 son similares a lo reportado por Rivera-Rodríguez et al. (2016) que lograron enraizar brotes de *P. patula* entre 10 y 35 %, aunque recientemente se han reportado valores cercanos a 80 % de enraizamiento (Escamilla-Hernández et al., 2020).

Las estacas a partir de injerto que permanecieron vivas a los tres meses solo formaron un abultamiento (callo) en la base del tallo de la estaca, resultado de la división celular (Figura 2C) (Hartmann et al., 2014). La mezcla y proporción de sustrato utilizada para este estudio fue perlita y turba (proporción 3:1), la cual incrementa la aireación y se ha relacionado con la formación de callo, como se demostró

en estacas de *P. patula* (Escamilla-Hernández *et al.*, 2020). El factor de mayor influencia en el nulo enraizamiento de las estacas de injerto fue la edad de los árboles originales (11 y 15 años), que ya se encontraban en la etapa de madurez fisiológica con la producción de estructuras reproductivas. La capacidad para formar raíces tiende a disminuir con la edad debido al aumento de inhibidores del enraizamiento (Inoti *et al.*, 2017). Se ha demostrado que se producen brotes más vigorosos y menos lignificados de plantas madre injertadas de árboles de *P. greggii* de 14 años de edad (Castro-Garibay *et al.*, 2022); por ello, se esperaba que al injertar las púas de árboles adultos de *P. patula* sobre patrones jóvenes se pudieran inducir características juveniles como la capacidad de desarrollar raíces adventicias (Vidoy-Mercado *et al.*, 2021); sin embargo, esto no sucedió.

Si bien los brotes obtenidos de injerto son morfológicamente similares a los del T5 (Figuras 2A y 2B), solo los de plántula no injertada desarrollaron raíces; esto indica que existen otros factores de tipo hormonal, nutrimental o ambiental que impiden su enraizamiento (Inoti *et al.*, 2017). Las auxinas juegan un papel central en el enraizamiento adventicio, y aunque se aplicaron de forma exógena (5000 ppm) no se logró inducir su formación; por ello, en futuros estudios se pudieran probar más concentraciones y tipos de auxinas que promuevan el enraizamiento. La nutrición de las plantas madre influye en procesos de morfogénesis relacionados con la capacidad de formar raíces adventicias. Es necesario aplicar un plan de fertilización a las plantas madre (Bautista-Ojeda *et al.*, 2022). Otra alternativa para tratar de solucionar este problema es realizar más ciclos de injerto previos (Read y Bavoujian, 2013); se ha documentado que el injerto

Cuadro 2. Valores medios y error estándar (\pm) de los porcentajes de supervivencia y enraizamiento de estacas obtenidas de plantas madre de *Pinus patula*, a tres meses de establecerse en cámaras de enraizamiento.

Tratamiento	Supervivencia (%)	Brotes enraizados (%)
P	0.0449*	0.0001*
T1	50.0 \pm 10.0 c	0.0 \pm 0.0 b
T2	65.0 \pm 9.6 bc	0.0 \pm 0.0 b
T3	75.0 \pm 12.6 b	0.0 \pm 0.0 b
T4	65.0 \pm 17.1 bc	0.0 \pm 0.0 b
T5	100.0 \pm 0.0 a	20.0 \pm 0.0 a

Medias con letras iguales en las columnas no son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$). Plantas madre de injerto: T1 (G105), T2 (G106), T3 (G114), T4 (G115), T5 (planta no injertada).

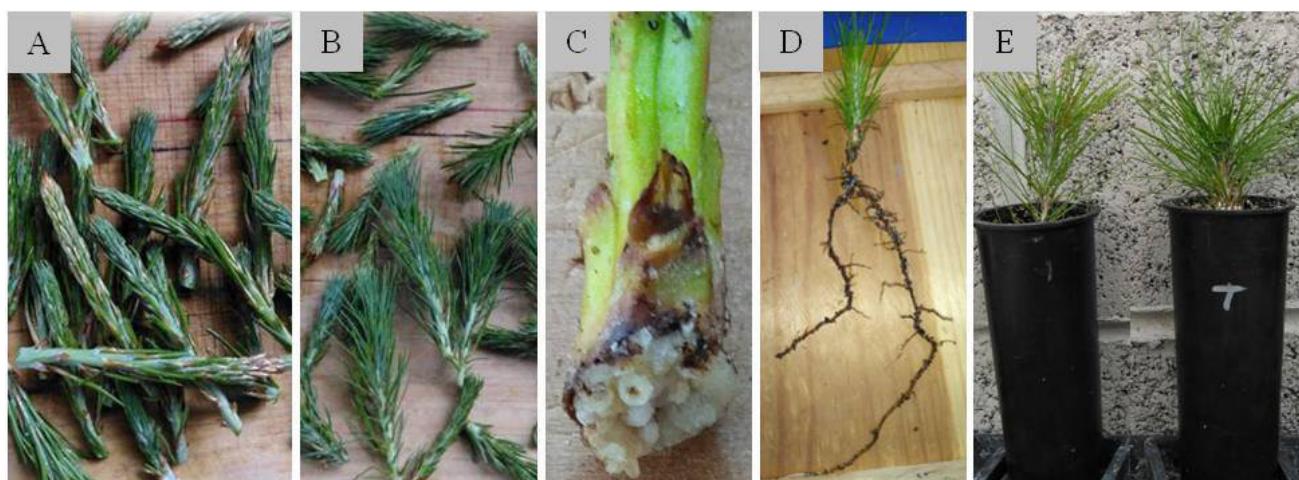


Figura 2. Cosecha y enraizamiento de brotes de plantas madre de *Pinus patula*. A) brotes de plantas madre injertadas, B) brotes de planta no injertada, C) callo de brotes a partir de injerto, D y E) raíces adventicias y aclimatación de brotes a partir de planta no injertada de *P. patula*.

en serie es el método más consistente para restaurar gradualmente características juveniles en coníferas adultas por el recurrente injerto de púas sobre patrones juveniles (Wendling et al., 2014). En *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl., al hacer injertos sucesivos con púas de árboles, se restableció la juventud del tejido, el cual tuvo un decremento de isoenzimas peroxidásicas y esterasas, así como alteraciones en los patrones de fosforilación de proteínas, moléculas relacionadas con tejido juvenil (Vidoy-Mercado et al., 2021). A través de injertos sucesivos se ha podido obtener enraizamiento de brotes de árboles adultos y los ciclos de injerto han variado (2 a 6), dependiendo de la especie, pero fueron suficientes tres ciclos para obtener brotes capaces de formar raíces en *P. oocarpa* Schiede ex Schltdl. y *P. caribaea* Morelet (Santin et al., 2015; Wendling et al., 2014).

CONCLUSIONES

Las plantas madre de *Pinus patula* injertadas y podadas tienen la capacidad de formar y desarrollar brotes adventicios, al igual que las plantas no injertadas. El factor genotipo influye en las características morfológicas de los brotes; los brotes de las plantas madre del G114 presentaron características morfológicas similares a las recomendadas para enraizamiento de estacas para esta especie; sin embargo, no emiten raíces. Queda el reto en el futuro para encontrar una respuesta a esta incógnita.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Sectorial para la Investigación, el Desarrollo y la Innovación Tecnológica Forestal, CONAFOR-CONACYT, proyecto CONAFOR-2017-2-291322, así como al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada al primer autor de este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- Aparicio-Rentería A., E. O. Ramírez-García y H. Cruz-Jiménez (2006) Multiplicación clonal de *Pinus jaliscana* Pérez de la Rosa a través del establecimiento y manejo de setos para la producción de estacas. *Forest Veracruzana* 8:17-22.
- Bautista-Ojeda G. I., J. J. Vargas-Hernández, M. Jiménez-Casas y M. C. G. López-Peralta (2022) Manejo de planta y aplicación de AIB en el enraizado de estacas de *Pinus patula*. *Madera y Bosques* 28:e2812060, <https://doi.org/10.21829/myb.2022.2812060>.
- Bonga J. M. (2016) Conifer clonal propagation in tree improvement programs. In: *Vegetative Propagation of Forest Trees*. Y. S. Park, J. M. Bonga and H. K. Moon (eds.). National Institute of Forest Science. Seoul, Korea. pp:3-31.
- Cabrera R. R., M. Jiménez C., M. Á. López L. y J. P. Parra P. (2022) Manejo nutrimental de árboles de pino híbrido y uso de ácido indolbutírico para su clonación por estacas. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 13:132-154, <https://doi.org/10.29298/rmcf.v13i69.1070>.
- Castillo-Martínez C. R., V. Guerra C. and J. López U. (2021) Mini grafts: alternative to obtain complete plants of *Pinus patula* propagated *in vitro*. *Agro Productividad* 14:159-164, <https://doi.org/10.32854/agrop.v14i12.2198>
- Castro-Garibay S. L., Á. Villegas-Monter, J. López-Upton, M. Sandoval-Villa and L. Arévalo-Galarza (2022) Effective protocol to increase the percentage of grafting success of *Pinus greggii* Engelm. var. *australis* Donahue et López. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 28:225-240, <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2021.03.014>
- Cuevas-Cruz J. C., M. Jiménez-Casas, J. Jasso-Mata, P. Pérez-Rodríguez, J. López-Upton and Á. Villegas-Monter (2015) Asexual propagation of *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 21:81-95, <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2014.08.033>
- Escamilla-Hernández N., A. Aldrete, J. J. Vargas-Hernández, Á. 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, <https://doi.org/10.35196/rfm.2020.2.215>
- Ford C. M., N. B. Jones and P. W. C. Chirwa (2014) *Pinus patula* and pine hybrid hedge productivity in South Africa: a comparison between two vegetative propagation systems exposed to natural infection by *Fusarium circinatum*. *Southern Forests: a Journal of Forest Science* 76:167-175, <https://doi.org/10.2989/20702620.2014.916501>
- González-Jiménez B., M. Jiménez-Casas, J. López-Upton, M. Á. López-López y R. Rodríguez-Laguna (2022) Combinación de técnicas de injertación para clonar genotipos superiores de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Agrociencia* 56:105-117, <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v56i5.2582>
- González-Jiménez B., M. Jiménez-Casas, J. López-Upton, M. Á. López-López and R. Rodríguez-Laguna (2023) Scion and rootstock compatibility in *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. & Cham. in response to genotypic variation. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 29:147-161, <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2022.08.061>
- Hartmann H. T., D. E. Kester, F. T. Davies Jr. and R. L. Geneve (2014) *Hartmann & Kester's Plant Propagation: Principles and Practices*. 8th edition. Prentice-Hall. Upper Saddle River, New Jersey, USA. 922 p.
- Hernández C. A. y R. Rubilar P. (2012) Efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en el desarrollo y fenología de brotes de setos de *Pinus radiata*. *Bosque* 33:53-61, <https://doi.org/10.4067/S0717-92002012000100006>
- Inoti S. K., W. M. Thagana, S. A. O. Chamshama, L. L. L. Lulandala and R. Dodson (2017) Effect of mother plant management on propagation of jojoba cuttings in semiarid areas of Voi, Kenya. *African Journal of Education, Science and Technology* 4:31-40, <https://doi.org/10.2022/ajest.v4i2.3>
- Jiménez-Casas M. and J. J. Zwiazek (2014) Adventitious sprouting of *Pinus leiophylla* in response to salt stress. *Annals of Forest Science* 71:811-819, <https://doi.org/10.1007/s13595-014-0379-z>
- López A. E. D., M. Á. López L., C. Ramírez H. y M. Aguilera R. (2023) Efecto del riego, la fertilización y el contenedor en la respuesta a la injertación de plántulas de *Pinus patula* Schltdl. & Cham. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 14:118-142, <https://doi.org/10.29298/rmcf.v14i75.1255>
- 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.org/10.1007/s11056-012-9333-9>
- Pérez-Luna A., C. Wehenkel, J. A. Prieto-Ruiz, J. López-Upton, S. Solís-González, J. A. Chávez-Simental and J. C. Hernández-Díaz (2020) Grafting in conifers: a review. *Pakistan Journal of Botany* 52:1369-1378, [https://doi.org/10.30848/PJB2020-4\(10\)](https://doi.org/10.30848/PJB2020-4(10))
- Read P. E. and C. M. Bavoujian (2013) *In vitro* rejuvenation of woody species. In: *Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants. Methods in Molecular Biology*, Vol. 994. M. O. Lambardi, E. Ozudogru and S. Jain (eds.). Humana Press. Totowa, New Jersey, USA. pp:383-395, https://doi.org/10.1007/978-1-62703-074-8_30
- Rezende G. D. S. P., M. D. V. de Resende and T. F. de Assis (2014) *Eucalyptus* breeding for clonal forestry. In: *Challenges and Opportunities for the World's Forests in the 21st Century*. T. Fenning (ed.). Springer. Dordrecht, The Netherlands. pp:393-424, https://doi.org/10.1007/978-94-017-9333-9_13

- org/10.1007/978-94-007-7076-8_16
- Riov J., H. Fox, R. Attias, G. Shklar, L. Farkash-Haim, R. Sitbon, ... and R. David-Schwartz (2020) Improved method for vegetative propagation of mature *Pinus halepensis* and its hybrids by cuttings. *Israel Journal of Plant Sciences* 67:5-15, <https://doi.org/10.1163/22238980-20191118>
- Rivera-Rodríguez M. O., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, Á. Villegas-Monter y M. Jiménez-Casas (2016) Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 39:385-392, <https://doi.org/10.35196/rfm.2016.4.385-392>
- Rowe D. B., F. A. Blazich and C. D. Raper (2002) Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine. I. Tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. *New Forests* 24:39-51, <https://doi.org/10.1023/A:1020551029894>
- Santin D., I. Wendling, E. L. Benedetti and D. Morandi (2015) Nursery and field serial grafting of *Ilex paraguariensis*. *Brazilian Journal of Forestry Research* 35:409-418, <https://doi.org/10.4336/2015.pfb.35.84.903>
- SAS Institute (2013) SAS/STAT® 9.4 User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA. 550 p.
- Smith M. G., S. K. Arndt, R. E. Miller, S. Kasel and L. T. Bennett (2018) Trees use more non-structural carbohydrate reserves during epicormic than basal resprouting. *Tree Physiology* 38:1779-1791, <https://doi.org/10.1093/treephys/tpy099>
- Sodré G. A. and A. R. S. Gomes (2019) Cocoa propagation, technologies for production of seedlings. *Revista Brasileira de Fruticultura* 41:2-782, <https://doi.org/10.1590/0100-29452019782>
- Vidoy-Mercado I., I. Narváez, E. Palomo-Ríos, R. E. Litz, A. Barceló-Muñoz and F. Pliego-Alfaro (2021) Reinvigoration/rejuvenation induced through micrografting of tree species: signaling through graft union. *Plants* 10:1197, <https://doi.org/10.3390/plants10061197>
- Wendling I., S. J. Trueman and A. Xavier (2014) Maturation and related aspects in clonal forestry-part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. *New Forests* 45:473-486, <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9415-y>
- Wu H. X. (2019) Benefits and risks of using clones in forestry - a review. *Candinavian Journal of Forest Research* 34:352-359, <https://doi.org/10.1080/02827581.2018.1487579>