

212



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

PROPAGACION VEGETATIVA DE Pinus ayacahuite

T E S I S QUE PARA OBTENER EL TITULO DE B I O L O G A P R E S E N T A : ANA LAURA WEGIER BRIUOLO

DIRECTOR DE TESIS DR. DANIEL PIÑERO DALMAU



2001



299634



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. EN C. ELENA DE OTEYZA DE OTEYZA
Jefa de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de tesis:

“Propagación vegetativa de *Pinus ayacahuite*”

realizado por **Ana Laura Wegier Briuolo**

con número de cuenta **9756515-0**, pasante de la carrera de **Biología**.

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de tesis **Dr. Daniel Piñero Dalmau**
Propietario

Propietario **Biol. Mario Alberto González Méndez**

Propietario **Biol. Alejandra Vázquez-Lobo Yurén**

Suplente **Biol. Rocío Esteban Jiménez**

Suplente **Dr. David S. Gernandt Latteri**

FACULTAD DE CIENCIAS

U. N. A. M.

Consejo departamental de Biología



DEPARTAMENTO
Dra. Patricia Ramos Morales DE BIOLOGÍA

A mi abuelo Beto
A mi Padre
A Diego Ruiz



AGRADECIMIENTOS

Amor

Soy muy feliz, por tu amor y tu confianza. Hemos disfrutado juntos de la biología y de la vida. Nunca te canses de empujarme hacia mis metas, así seguiremos creciendo juntos y lograremos aun más. GRACIAS POR TODO.

Papá

El amor que te tengo es enorme, eres una parte tan importante de mí que no hay distancia entre nosotros. Valoro mucho tu esfuerzo por cuidarme, quererme y estar tan cerca en todo momento.

Yo tengo una madre que es única en el mundo, cuando comprendí eso me di cuenta que solo me queda decir **MI MADRE ES LA MEJOR MADRE!**

Gracias Ma

Gracias a Pepis, porque me cuida y se esforzó para que creciera derechita y aunque no pudo hacerme bilingüe, me enseñó muchas otras cosas.

Gracias a mi hermano Diego por ser mi inagotable fuente de besos y apapachos.

Paula, Mariano y Lucia, cada uno de ustedes me ha enseñado cosas, pero lo mas lindo es que tenemos un lazo que nos une y que somos unos dignos Wegier.

Gracias Brenda por haber formado una familia con tanto cariño.

Gracias a los Ruiz Sabio, por haberme dado una familia tan cariñosa es mi país.

Gracias a la familia Briuolo porque a pesar de las distancias, han logrado estar siempre presentes, en especial y con mucha alegría a Celes por ser siempre mi hermana y amiga.

Agradezco profundamente a Dr. Daniel Piñero, que me dejó realizar este proyecto, y me apoyó como un papá académico.

Gracias al Instituto de Ecología de la UNAM, Laboratorio de genética y evolución, donde realicé esta investigación. También a las personas que colaboraron conmigo, porque hicieron mi estancia en el Instituto una experiencia para repetir.

Cuando pienso en Caro, siempre sonrío, una amiga que logra eso, sin duda es la mejor.

Gracias a todos mis amigos, por ser simplemente mis amigos.

A mis amigos de la facultad que desde el principio hicieron mas agradables los momentos difíciles, y a los momentos agradables los convirtieron en divertidos.

Muchos maestros fueron importantes, dejaron huellas, y nunca los olvidare, me da mucho gusto haber disfrutado de mi carrera rodeada de todos ellos.

INDICE	
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	4
OBJETIVOS	19
MATERIAL Y MÉTODO	20
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN	41
CONCLUSIONES	45
LITERATURA CITADA	46
ANEXO 1	47

RESUMEN

La reforestación usando propagación vegetativa en países como México es una alternativa poco explorada para revertir los efectos de los intensos cambios de uso del suelo. Este trabajo explora condiciones experimentales para llevar a cabo propagación vegetativa a través del método de estacas enraizadas en *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*. Estas condiciones experimentales fueron: época de colecta de las estacas, tratamientos con fitohormonas, calentamiento del sustrato y anillado de la estaca.

Como variable de respuesta se utilizó la formación de callo en las estacas, ya que únicamente se observó la formación de una raíz en 600 estacas estudiadas.

La época del año en la que se hizo la colecta tiene un efecto significativo, siendo más favorable a la formación de callos las estacas colectadas en febrero (16.6%). La respuesta a la variable calentamiento del sustrato resultó ser significativa, el sustrato al que no se le aumentó la temperatura, presentó mayor formación de callos (17%). La marca comercial Radix 10,000 ppm, tuvo un mayor efecto en la formación de callos (22.5%), y en la comparación de estas marcas con el control resultó más efectivo el talco con Radix 10,000 ppm (20.4%) que Raizone plus o talco inerte (9.5% y 5.8% respectivamente). El análisis del anillado de las estacas presenta una respuesta no significativa.

Las estacas colectadas en septiembre no presentaron respuesta significativa al calentamiento en el sustrato, tratamientos hormonales, ni anillado. Sin embargo, presentaron una respuesta significativa la combinación entre el calentamiento del sustrato y el anillado de las estacas, donde este último aumenta la respuesta de callos en las estacas sembradas sin calentamiento en el sustrato (18.4%). Además, la colecta de septiembre alcanza su respuesta más alta al presentarse la siguiente combinación de variables, Raizone plus concentrado, con anillado practicado y sin temperatura (42%).

Para las estacas colectadas en febrero la respuesta de las estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* a la variable calentamiento del sustrato fue significativa, siendo mas alta la formación de callos sin calentamiento del sustrato (25%). Los tratamientos hormonales produjeron una respuesta significativa. La mayor respuesta se obtuvo con la hormona Radix 10,000 ppm concentrada (40%). La comparación entre las marcas comerciales utilizadas presenta una diferencia significativa en la respuesta, resultando más eficiente la marca Radix 10,000 ppm. La práctica de anillado es una variable que no resulta ser significativa, así como estuvo ausente la interacción de las variables calentamiento del sustrato con anillado, aunque si se obtuvo mayor respuesta con la combinación del tratamiento hormonal y el calentamiento del sustrato. El tratamiento con Radix 10,000 ppm sin calentamiento del sustrato es el más exitoso (54%). La formación de callos en las estacas fue mayor (60%), con la combinación: colecta de las estacas en invierno, ausencia de calentamiento en el sustrato, anillado practicado y tratamiento hormonal Radix 7,500 ppm. El conjunto de resultados obtenidos sugiere no poderse concretar a una fórmula para todas las épocas del año, y que el calentamiento del sustrato no favorece el enraizamiento de esta especie, lo contrario a la práctica de anillado.

ABSTRACT

Reforestation using vegetative propagation in countries like Mexico is a little known alternative to revert the effects of the intense changes in the use of the ground. This work explores experimental conditions to accomplish a vegetative propagation through the method of rooted cuttings in *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*. This experimental conditions were: harvest time of the cuttings, treatment with hormones, warming of the subsoil and ringing of the cuttings.

The formation of the callus in the cuttings was used as a response variable, because out of 600 studied cuttings the formation of only one root was observed.

The season in which the recollection was made had a significant effect, being more favourable to the formation of callus in the cuttings collected in February (16.6%).

The answer to the variable warming of the subsoil turned out to be significant, the subsoil to which no temperature was added, presented a larger formation of callus (17%). The commercial brand Radix 10,000 ppm had a higher effect on the formation of callus (22.5%), and comparing this brand with another and with the control, the most effective was the talcum with Radix 10,000 ppm (20.4%). In contrast Raizone Plus or inert talcum were less effective (9.5% and 5.8% respectively). The analysis of the ringing of the cuttings did not present a significant response.

The cuttings collected in September didn't show a significant response to the warming of the subsoil, hormone treatments nor ringing. However the combination of the warming of the subsoil and the ringing of the cuttings did show a significant response in which the ringing of the cuttings augmented the response of the callus in the cuttings planted without warming the subsoil (18.4%). Furthermore, September collection reaches its highest response when the following combination of variables is present, concentrated Raizone plus, with ringing practice and without temperature (42%).

For the cuttings collected in February the response of *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* to the variable warming of the subsoil was significant, the formation of callus being higher without warming of the subsoil (25%). The hormone treatments produced a significant response. The greyest response was obtained with the concentrated Radix hormone 10,000 ppm (40%). The comparison between the commercial brands used showed a significant difference in the response, the brand Radix 10,000 ppm being the more efficient. The practice of ringing is a variable that did not turn out to be significant. The interaction of the variable warming of the subsoil with ringing was absent, even though a larger response was obtained with the combination of the hormone treatment and the warming of the subsoil. The treatment with Radix 10,000 ppm without warming of the subsoil is the most successful (54%). The formation of the callus in the cuttings was higher (60%), with the following combination: recollection of the cuttings in winter, absence of warmth in the subsoil, the ringing practice and the hormone treatment Radix 7500 ppm. The set of the results obtained suggests it is not possible to define a single formula for all the seasons of the year, and that the warming of the subsoil doesn't favour the rooting of this species, whereas the practice of ringing does.

INTRODUCCIÓN

Este trabajo pretende contribuir al uso de los productos maderables de México a través de la aplicación de métodos de regeneración utilizando técnicas biotecnológicas clásicas que incluyen el uso de hormonas vegetales en la propagación de pinos. En particular estamos interesados en la regeneración de *Pinus ayacahuite* Ehrenberg ex. Schlechtendal .

Consideramos que en México, se debe aprovechar al máximo el potencial que brinda la diversidad biológica y el territorio. Por ello, la presente investigación se desarrolla a partir de la importancia ecológica, y comercial que tiene *Pinus ayacahuite*.

En México se reforesta muy frecuentemente con *Pinus ayacahuite* (inifap.gob.mx). En zonas boscosas encontramos que esta especie es una de las mas utilizadas, sin embargo, debido a la operación de los viveros debe ser plantada durante el primer año, lo que disminuye la sobrevivencia en el exterior después de sembradas, esta desventaja podría ser eliminada si los individuos para reforestación fueran el producto de la propagación vegetativa ya que este método tiene numerosas ventajas, entre las que sobresalen, los beneficios de importantes reducciones en el tiempo de crecimiento, ya que acelera el proceso de maduración de las plantas.

En el ámbito económico, *Pinus ayacahuite*, es utilizada para plantaciones comerciales en donde los fines son la producción de madera y la producción de árboles de Navidad. En este caso, la propagación vegetativa constituye una herramienta importante de apoyo para el desarrollo de programas de mejoramiento genético forestal. Otro de los beneficios, consiste en la posibilidad de reproducir de forma uniforme y masiva genotipos individuales selectos y preservar genotipos a través de bancos clonales (Zobel y Talbert, 1994).

Si los resultados de este proyecto fueran operativamente viables, la reducción en los costos de operación serian significativas, ya que el aprovechamiento de algunas especies de este género, para la industria maderera, debe esperar a que los árboles alcancen diámetros, que en su hábitat tardan entre 30 y 35 años, en plantaciones comerciales, puede ser reducido diez años y si es manejado exitosamente con propagación vegetativa y un programa de mejoramiento genético podría ser cosechado a los 15 años, como es el caso de *Pinus caribaea* y *Pinus radiata* en Colombia y Chile (com. personal Adriana Marín, 2000). Así mismo, se estaría contrarrestando la deforestación, ya que los individuos generados con este procedimiento necesitarían menor asistencia humana después de ser sembrados. Esto sería porque al

compararlos con individuos originados de semilla soportarían mejor las inclemencias climáticas, el forrajeo de animales y los de impactos humanos, como lo harían si fueran individuos fisiológicamente maduros (Zobel y Talbert, 1994).

La propagación vegetativa

El proceso de la propagación vegetativa implica la duplicación íntegra de los cromosomas y del citoplasma asociado a la célula progenitora a través de duplicaciones mitóticas (Hartmann y Kester, 1990). Es decir, la propagación vegetativa es la reproducción de individuos a partir de porciones vegetativas que poseen la capacidad de regeneración. Esto es posible, ya que cada una de las células de las plantas posee todos los genes para desarrollar un individuo idéntico. Esta capacidad se llama totipotencialidad (Iglesias et al., 1996). Esto permite que las células maduras vuelvan a una condición meristemática indiferenciada y desarrollen un punto de crecimiento nuevo (Hartmann y Kester, 1994).

Existen dos formas de crecimiento, el plagiotrópico, que se refiere a la situación en la cual un propágulo vegetativo no toma la forma de un árbol, sino que continua creciendo como una rama y el crecimiento ortotrópico se refiere a que el propágulo asume la forma erecta o normal del árbol (Zobel y Talbert, 1994).

Los métodos para la propagación vegetativa

La propagación vegetativa puede efectuarse a través de injertos, acodos aéreos, cultivo de tejidos, fascículos aciculares y estacas. Cada método ha tenido diferente desarrollo y aplicación. El éxito de cada uno depende principalmente de la especie, de la edad de la planta, de la época de colecta del material vegetativo y de las condiciones de la reproducción (Iglesias et al., 1996).

Injerto

El injerto consiste en unir dos plantas, con el propósito de perpetuar una o varias características genéticas de las mismas. Se coloca el injerto de la planta que se desea propagar (púa), sobre la parte de la planta que la soportará (patrón, pie o porta injerto). La púa o injerto es un trozo de rama separada de la planta madre que contiene una o varias yemas en reposo, que al ser unidas al patrón crece sobre él (Hartmann y Kester, 1994). En los ensayos

que se han realizado con especies del género *Pinus* se ha encontrado que el éxito del injerto es afectado fisiológicamente por la edad, Así Ahlgren (1962), mostró que la sobrevivencia de púas en *Pinus strobus* fue mas alta cuando los patrones eran mas jóvenes, sin embargo, los de mayor edad produjeron mas conos ovulíferos (Barbosa, 1987).

Los métodos desarrollados para los pinos del sur de Estados Unidos, el éxito de injertado ha ascendido desde niveles bajos hasta 90% y han sido descritos por Dorman (1976; citado por Zobel y Talbert, 1994). En México, Barbosa (1987) desarrolló el manual de injertos de especies forestales, enfocado principalmente a pinos mexicanos.

Acodado aéreo

El proceso del acodado aéreo, es aquel en el cual las raíces nacen de una rama intacta por medio del cinchado y la estimulación con fitohormonas. Es una técnica utilizada para obtener directamente propágulos para el establecimiento de huertos semilleros y evitar la incompatibilidad del injerto (Barnes, 1969; En Zobel y Talbert, 1994). En ocasiones se ha utilizado en especies donde ha sido muy difícil obtener estacas enraizadas como es el caso de *Pinus caribaea* en Venezuela. Los acodos aéreos se desprenden después de la formación de callo y se enraízan en camas convencionales con buen nivel de éxito (Zobel y Talbert, 1994).

Cultivo de tejidos u órganos

El cultivo de tejidos u órganos es el método de propagación vegetativa más reciente, es del que más se publica y se avanza muy rápidamente. Una gran ventaja es la reducción del espacio necesario para la plantación. Sin embargo esta metodología aún no es utilizada operativamente. Esto se debe a la dificultad para trasladarlos propágulos al campo y los costos asociados a ello (Zobel y Talbert, 1994).

Enraizamiento de fascículos aciculares

El método de enraizar fascículos aciculares de pino, se ha utilizado desde hace varias décadas. Es un método en el que generalmente los brotes no se desarrollan satisfactoriamente. La idea que los genetistas propusieron para su desarrollo fue la obtención de un gran número de propágulos, a partir de una especie y un individuo de ésta y que a su vez sea un árbol maduro elegido por su fenotipo (Zobel y Talbert, 1994).

Estacado

Una estaca es un trozo de madera dura de cualquier parte vegetativa del individuo que es colocada en condiciones favorables para desarrollar callos, raíces y brotes (Hartmann et al., 1998).

Según la parte de la planta de donde se obtienen los segmentos (cortes) se ha dividido en cortes de: hojas, de brotes o renuevos, de raíz y de ramas. A continuación se mencionan algunas de las características de los diferentes tipos de cortes (Vázquez et al., 1997):

Cortes de hojas. Algunas especies herbáceas, como las violetas africanas y las peperonias, producen raíces a partir de sus hojas y posteriormente tallos; sin embargo, esto no ocurre con facilidad en la mayoría de los árboles. Los cortes que incluyen además de la hoja una yema axilar y un fragmento de rama son adecuados para propagar algunas plantas (como las camelias y los rododendros, que son especies leñosas) y también se utilizan para propagar árboles cuando la cantidad disponible de otro tipo de segmentos es escasa.

Cortes de raíz. La capacidad de muchos árboles de producir ramas a partir de sus raíces (en condiciones adecuadas de crecimiento) se utiliza para propagar algunas plantas, como los plátanos y los guayabos.

Cortes de ramas. La propagación vegetativa mediante segmentos de ramas o brotes es uno de los métodos más usados para propagar plantas leñosas en vivero. Según las características de madurez de la madera de donde se obtienen las ramas o brotes, los cortes se han dividido en los siguientes: maderas duras, semiduras y suaves. Las técnicas de propagación de árboles por medio de cortes de ramas se dividen en dos tipos básicos: de segmentos foliados y de segmentos defoliados, esta diferencia se relaciona con la acumulación de reservas en los tejidos del tallo. En los árboles caducifolios, de los cuales se obtienen los segmentos defoliados, antes de la caída de las hojas hay acumulación de reservas, las cuales están destinadas a formar posteriormente hojas nuevas. A partir de estas reservas se generan las raíces y las hojas en el segmento; en cambio, los segmentos foliados por lo general proceden de árboles de hoja perenne, que no acumulan reservas en el tallo y que deben continuar fotosintetizando para producir los recursos necesarios para generar nuevo crecimiento.

Formación de las raíces adventicias.

Las raíces adventicias son aquellas que no se originan del meristemo de raíz y proporcionan la capacidad de absorber agua a las plantas propagadas vegetativamente (Vázquez, 1997). Estas pueden ser de dos tipos: raíces preformadas y raíces de lesiones (Hartmann y Kester, 1990).

Las primeras se desarrollan naturalmente en los tallos o ramas aun adheridos a la planta, las raíces de lesiones se desarrollan solo después de que se ha hecho la estaca, una respuesta al efecto de lesión al preparar la misma. Cuando se hace una estaca, las células vivientes que están en las superficies cortadas son lesionadas, quedando expuestas las células muertas, y conductoras del xilema. El proceso subsecuente de cicatrización y regeneración ocurre en tres pasos (Hartmann y Kester, 1990):

Primero, al morir las células externas lesionadas, se forma una capa necrótica que sella la herida con un material suberoso (suberina) y tapa el xilema con goma. Esta placa protege las superficies cortadas de la desecación.

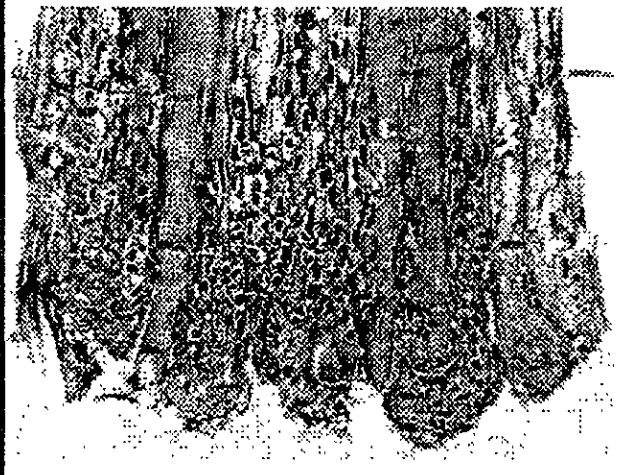
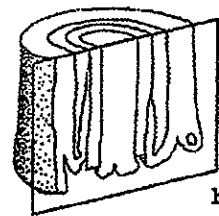


Figura 1. a: Un callo de la base de *Pinus ayacahuite*; b: Corte transversal de un callo de una estacas de *Pinus taeda*.

Segundo, después de unos cuantos días, las células que están detrás de esa capa empiezan a dividirse, y se puede formar una capa de células de parénquima (callo). Como se muestra en la Figura 1.

Tercero, en ciertas células cercanas al cambium vascular y al floema comienzan el desarrollo de raíces adventicias.

En la mayoría de las plantas, la formación de callo y de raíces adventicias son procesos fisiológicamente diferentes que ocurren al mismo tiempo debido a condiciones ambientales, sin embargo, en algunas especies parece que la formación de callo es precursora de la formación de raíz (Hartmann y Kester, 1990), mas las raíces no son derivadas de callos (com, personal Mario González).

Los tejidos que intervienen en el proceso de la formación de raíces adventicias.

La ubicación precisa dentro del tallo donde se originan las raíces adventicias ha intrigado a las anatomistas vegetales durante siglos. El primer estudio de este fenómeno fue hecho por el dendrólogo francés, Duhamel du Monceau, en 1958 (Hartmann et al., 1998). En las plantas leñosas perennes, en las cuales hay una o más capas de xilema y floema secundarios, en las estacas de tallo, usualmente se originan de células de parénquima vivientes, primordialmente en las células del xilema secundario joven (Figura 2), como a veces lo hacen de otros tejidos como los radios vasculares, el cámbium, el floema, las lenticelas o la médula (Figura 3).



Figura 2. Tejidos que intervienen en la formación de raíces adventicias en las estacas de madera dura. (cx = corteza; ffp = fibras del floema primario; p = primordio radical; f = floema; r = radios; c = cámbium ; x = xilema) (Hartmann y Kester, 1994).

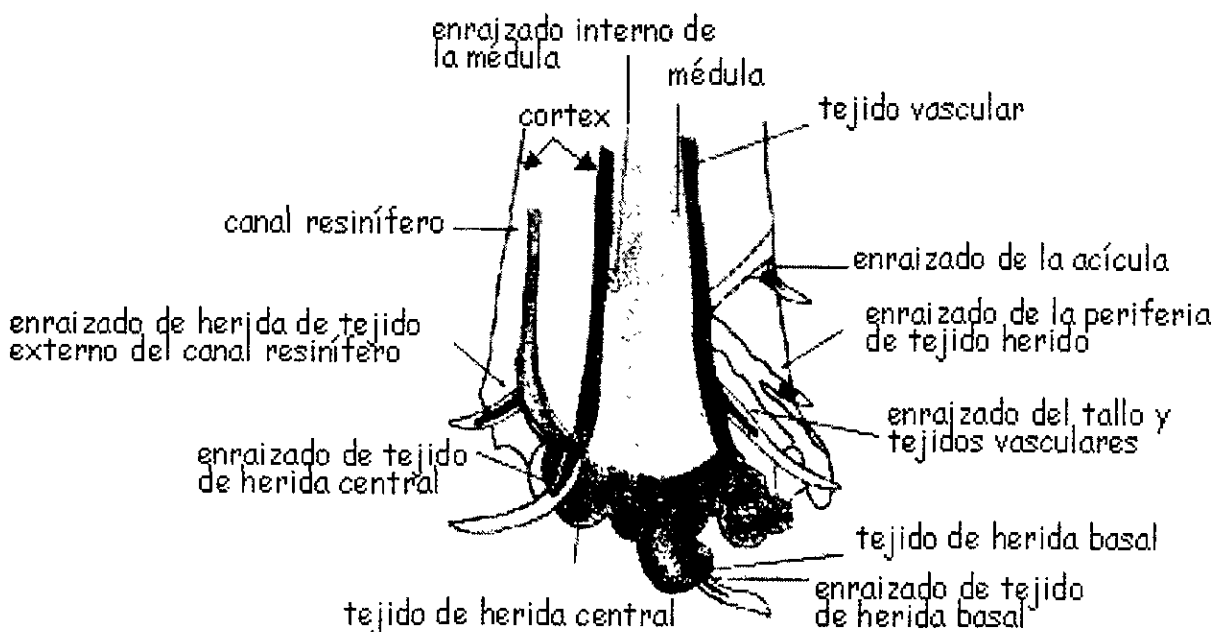
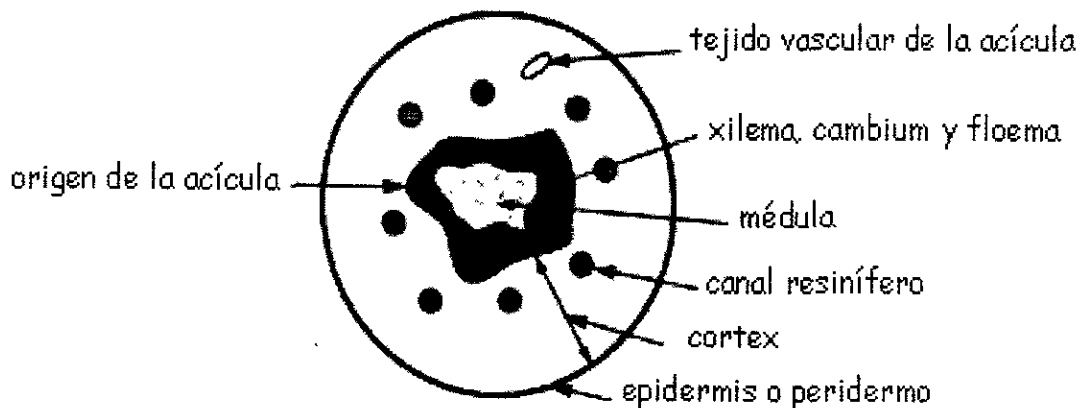


Figura 3. Formación de raíces adventicias, originadas de diferentes tejidos de la misma estaca. Arriba; corte transversal del epicotilo de un año de edad de *Pinus sylvestris*. Abajo; Corte longitudinal, ejemplificando los tejidos potenciales para la formación de raíces (Hartmann et al., 1998).

Importancia de la propagación vegetativa por estacas enraizadas.

La propagación vegetativa facilita la producción masiva de genotipos seleccionados, conserva la superioridad genética de clones preseleccionados (Carson, 1986), y permite obtener una gran

cantidad de plantas de una fuente deseable, aunque existan en cantidades reducidas (Gill, 1983; Baldwin y Mason, 1986; Iglesias et al., 1996). Pueden capturarse las características de los árboles que se desea permanezcan en las plantas propagadas, ofrece la oportunidad de realizar mejoramiento genético y satisfacer la demanda de planta para reforestaciones, o al menos hasta que la producción de semilla se realice en huertos semilleros (Zobel y Talbert, 1988). Así, el enraizamiento de estacas, es una herramienta importante para el desarrollo de programas de mejoramiento genético forestal (Prieto, 1992), satisfaciendo por un lado la demanda de planta para reforestaciones y por el otro permitiendo el establecimiento de huertos semilleros.

Las ventajas de la propagación vegetativa con estacas enraizadas

Las ventajas de la propagación por el método de estacas enraizadas son: en primer lugar reproducir de forma uniforme y masiva genotipos individuales selectos, este método es el utilizado para reproducir arbustos ornamentales y para la reproducción de árboles frutales, y plantas de ornato con flores. Las especies fáciles de propagar por este método tienen la ventaja que de a partir de pocas plantas pueden obtenerse una gran cantidad; resultando rápido (comparado con la reproducción sexual), sencillo y económico. Por ello se ha convertido en el método principal de reproducción clonal en países como Brasil, Sudáfrica, Portugal y el Congo (Simoes, 1981; Iglesias et al., 1996). Las plantas obtenidas de estacas enraizadas permiten preservar genotipos y complejos genéticos en bancos clonales y *arboreta*. Asimismo, esta técnica resulta muy eficaz para la valoración genética de material, incluyendo estudios de interacción genotipo-ambiente y determinación de correlaciones ambientales y genéticas. También se pueden trasladar plantas valiosas a un establecimiento central, como laboratorio o invernadero, para estudios y mejoramiento genético intensivo, así como el acortamiento del ciclo reproductivo para procesos de entrecruzamiento y prueba. Esto último ha funcionado en Venezuela con estacas o a través de injertos y, en el caso de algunos estudios, para la disminución de la variabilidad genética (Zobel y Talbert, 1994).

En el área de propagación vegetativa, se desarrollan huertas para la producción de semillas, aumentando en las plantaciones comerciales la variación genética. Por último, proporciona un potencial para obtener uniformidad en las cosechas de los árboles, lo cual reduce en gran cantidad los costos de las plantaciones y obteniendo características heredables

para la selección continua de los individuos, proceso que es muy lento a través de polinización controlada (Zobel y Talbert, 1994).

Las desventajas de la propagación vegetativa con estacas enraizadas

La propagación vegetativa es difícil de realizar, especialmente en especies de interés, si se trata de árboles fisiológicamente maduros, edad en la que es posible apreciar el genotipo. En ciertas especies, sobre todo en coníferas, la multiplicación por este método es costosa; por ejemplo, en el género *Pinus*, se requieren equipos y procedimientos especiales para reproducirlo vegetativamente, por esta razón todavía es incosteable propagar este género operativamente y se ha hecho solo a nivel de investigación (Iglesias et al., 1996).

Otras desventajas que puede tener este método son, la baja resistencia de las raíces a condiciones desfavorables, y el crecimiento anormal. Este último ocurre cuando propágulos vegetativos idénticos crecen en forma distinta, debido a su posición original en la planta madre, o el tiempo en el que se obtuvieron los propágulos.

Edad fisiológica de la estaca

Es importante la edad fisiológica de la parte del árbol para obtener las estacas del mismo individuo, una explicación a este fenómeno es que se ha encontrado que en los tallos leñosos de un año o más edad es en donde se han acumulado carbohidratos en las bases de las ramas y, posiblemente bajo la influencia de sustancias promotoras del enraizamiento procedentes de las yemas y las hojas, se han formado en las partes basales que son primordios de raíz y, en este caso, el mejor material para estacas se encuentra es la porción basal. Además, en estacas terminales existe menos desdiferenciación habiendo más células que pueden convertirse en meristemáticas (Hartmann y Kester, 1994).

En muchos árboles, especialmente en latifoliadas, existe un cono de juvenilidad cerca de la base del árbol, esto puede observarse en *Quercus* y *Fagus* en la época de caída de las hojas, donde las hojas juveniles se retienen por más tiempo que las hojas maduras superiores. Las estacas obtenidas de esta área son mucho más fáciles de enraizar que las obtenidas del área madura del árbol (Zobel y Talbert, 1994).

En plantaciones del género *Pinus*, principalmente *Pinus taeda*, *P. radiata* y *P. caribaea* es necesario mantener a los árboles donantes de las estacas jóvenes, a través de podas de las cuales se obtiene mayor número de estacas de uno o dos años de edad (Buijten y Shaw, 1999).

Época del año

En algunos casos, la estación del año en la que se obtienen las estacas puede tener enorme influencia en los resultados obtenidos, y puede ser la clave para obtener un enraizamiento exitoso. Para las estacas de especies deciduas de madera dura, se sabe que se pueden tomar estacas en la época de reposo o bien durante la temporada de crecimiento. Se pueden preparar estacas de madera suave de especies foliosas o de madera suculenta utilizando partes maduras. Las especies perennifolias tienen, durante el año, uno o más períodos de crecimiento y se pueden obtener estacas en varias épocas, relacionadas con dichos periodos. En las especies perennifolias de hoja angosta, como por ejemplo, casuarinas, eucaliptos o leguminosas, los mejores resultados son de esperarse en el período comprendido de fines del otoño a fines del invierno (Hartmann et al., 1998).

Algunas especies como truenos (*Ligustrum spp*) enraízan durante cualquier época del año, mientras que *Ficus infectoria*, enraíza solo en primavera o verano (Hartmann y Kester, 1994).

Mezies et al. (1999), encontraron que los ensayos de propagación vegetativa con *Pinus radiata* en Nueva Zelanda, son más exitosas cuando se realizan antes de la primavera, mientras que Van Buijten y Shaw (1999), describen con el mismo método de propagación vegetativa, con *Pinus taeda* en Estados Unidos que la época que obtiene mejor resultado es entre el otoño y el invierno, sin embargo, estos investigadores sostienen que la diferencia del éxito en el enraizamiento se disminuye cambiando las condiciones para cada época del año. Aun así, de estacas obtenidas durante el verano no pudieron obtener enraizamiento.

Las fitohormonas

Las fitohormonas son compuestos orgánicos distintos a los nutrimentos, producidos por las plantas los cuales, en concentraciones bajas, regulan los procesos fisiológicos vegetales. De ordinario en una planta se mueven de un sitio de producción a uno de acción. Las sustancias reguladoras del crecimiento en las plantas son fitohormonas o compuestos sintéticos que

modifican los procesos fisiológicos de las plantas, regulan el crecimiento, e influyen en la síntesis, destrucción, traslocación o (posiblemente) modificando sitios de acción de otras fitohormonas. Varias clases de reguladores de crecimiento, como las auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico y etileno, influyen en la formación de raíces adventicias (Hartmann y Kester, 1994).

Entre las auxinas encontramos que las hay de origen natural, como el ácido indolacético (AIA), y sintéticas, como el ácido indolbutírico (AIB) y el ácido naftalenacético (ANA). Todas pueden estimular la formación y el desarrollo de las raíces cuando se aplican a la base de las estacas (Vázquez et al., 1997).

La función de las auxinas en la promoción del enraizamiento tiene que ver con la división y crecimiento celular (estimulan la elongación de la pared celular de manera que entre agua a la célula y en consecuencia se induce el alargamiento celular; Iglesias et al., 1996). Además, las auxinas inducen la atracción de nutrimentos y de otras sustancias al sitio de aplicación, modificando además de las relaciones hídricas y fotosintéticas de las estacas, entre otros aspectos. La mayoría de las especies forestales enraízan adecuadamente con AIB, aunque se ha observado que para algunos clones la adición de ANA resulta más benéfica (Vázquez et al., 1997).

La manera en que a nivel celular actúan las auxinas, ha sido estudiada en la Universidad de Osaka por Inohara (Granell y Carbonell, 1995), quienes encontraron que no todas las proteínas que se enlazan a la hormona son receptores, también se unen a moléculas y estructuras, e identificó y caracterizó en el coleoptilo del maíz, a la proteína que se une a la auxina en el retículo endoplasmático y en la parte exterior de la membrana plasmática. Además ha encontrado que al bloquear esta proteína se provocan modificaciones en los canales que regulan la entrada y salida de potasio a través de la membrana celular. Esta reacción dura pocos minutos pero provoca alcalinización del pH. Así se ha propuesto que esta involucrada en la respuesta primaria a la auxina, se ha podido asegurar que dicha proteína es el receptor de auxinas (Granell y Carbonell, 1995).

Anillado

Practicar heridas basales es benéfico para el enraizamiento de estacas de ciertas especies, en especial en estacas que tiene madera vieja en la base. Con frecuencia después de las lesiones,

la formación de callo y el desarrollo de raíces es mayor en los márgenes de la herida. Es evidente que en esos casos se estimula a los tejidos heridos para que entren en división celular y para producir primordios radicales. Esto se debe a una acumulación natural de auxinas y de carbohidratos en el área lesionada y a un incremento en la tasa de respiración. Además los tejidos lesionados con las heridas son estimulados para que produzca etileno, del cual se sabe que promueve la formación de raíces adventicias (Hartmann y Kester, 1994).

Enraizamiento en coníferas

La propagación vegetativa ha sido utilizada durante varios siglos con éxito por los horticultores, floricultores y en dasonomía (ciencia que trata de la conservación, cultivo y aprovechamiento de los bosques) (Zobel y Talbert, 1994).

Existen registros bibliográficos de estacas enraizadas desde finales de siglo XIX de *Cryptomeria japonica*, un árbol de la familia Taxodiaceae (Zobel y Talbert, 1994).

En Malasia se realizaron en 1978 ensayos de propagación vegetativa con una conífera: *Podocarpus imbricatus*. En ellos se utilizaron estacas de 15 a 20 cm, con todas las hojas y varios entrenudos, también se emplearon dos tipos de donantes, maduros y juveniles. Los resultados mostraron que con las estacas mas largas de donantes juveniles se obtuvieron mejores tasas de enraizamiento (Momose, 1978).

En Chile se realizó un ensayo de propagación vegetativa de *Podocarpus saligna* a partir de estacas, las cuales fueron tratadas con ácido indolbutírico (1000 ppm) y sembradas en aserrín de *Pinus radiata*. En el sustrato se aplicaron tres diferentes niveles de temperatura: 18, 21 y 24 °C. Las estacas fueron tomadas de árboles jóvenes regenerados bajo el dosel, a 80 cm de altura y de 3 a 9 años de edad. A los diez meses se evaluó la sobrevivencia y emisión de raíces, teniendo mejores resultados (84.5% de sobrevivencia) para el tratamiento a 24°C (Santelices, 1991).

En Nueva Zelanda, para el enraizamiento de estacas de la conífera *Dacrydium cupressinum*, se evaluaron varios sustratos, uno de estos conformado por partes iguales de turba y aserrín de coníferas (generalmente *Pinus radiata*) que presentó los mejores resultados y mejorando tanto el porcentaje como la calidad del enraizamiento, a diferencia del sustrato utilizado generalmente que era aserrín, turba, y piedra pómez (3:1:1) (Cowan, 1973; Marín 1998).

Menzies et al. (1999) realizaron un trabajo donde se describen los procesos de la propagación vegetativa de *Pinus radiata* en Nueva Zelanda, con la meta de plantar 40,000 ha por año en el programa nacional. En el hemisferio sur del planeta se realizan plantaciones con esta especie, y siguen los procedimientos de mejoramiento genético forestal, dentro de los cuales esta la propagación vegetativa para el establecimiento de los huertos semilleros. El proceso comienza en la elección de los árboles de donde se va obtener la semilla para plantar a los donadores de estacas, que son cosechadas entre los tres y cinco años. Otra opción es realizar injertos de árboles jóvenes para que sean donadores de estacas. En este caso las estacas son tomadas de las producidas en el último año, porque las estacas de árboles mas viejos presentan mayor cantidad de malformaciones. Por otro lado se han manipulado las condiciones de las camas según las procedencias originales de las estacas, sin embargo, el método mas utilizado es el de enraizamiento de fascículos aciculares, con el que se ha obtenido el 90% de enraizamiento, también se han utilizado técnicas de micropropagación y polinización cruzada en el programa operativo del mejoramiento genético. Menzies et al. (1999) también llevaron a cabo el estudio para estimar los costos de operación de los diferentes métodos, resultando muy económica la micropropagación, después el cultivo de estacas enraizadas y de fascículos aciculares, y por ultimo la siembra de semillas.

Van Buijten y Shaw (1999), realizaron un estudio sobre las técnicas de propagación vegetativa en *Pinus taeda*. Esta ha sido una especie en la que se han aplicado enraizamiento de estacas enraizadas, injertos y cultivo de tejidos. Los injertos son practicados con éxito desde hace 30 años en esta especie, sin embargo, son poco utilizados debido a su alto costo. Las estacas enraizadas son un método difícil debido a dos factores importantes, que son la necesidad de cosechar las estacas de árboles muy jóvenes y la correcta irrigación, resultando en una inversión muy alta para su operación. Los costos de esta técnica se incrementan por la alta concentración de hormonas que se utilizan. La mezcla comercial más comúnmente usada es la llamada Hare's y contiene ácido indolbutírico, fungicidas, insecticidas, pero su peculiaridad es que se aplica líquido disuelto en acetona a una temperatura específica. Además, se requieren cuidados ambientales adicionales, como el enriquecimiento de la atmósfera con dióxido de carbono y el riego con redes de nebulizadores para evitar la desecación de las estacas, en los cuales se agregan altas cantidades de fertilizantes que contienen doce elementos de los que se encuentran en mayor concentración sodio, potasio, fósforo y calcio. Esta técnica tiene un alto

potencial en esta especie ya que se desarrolla bien en el hemisferio sur, donde se han establecido grandes plantaciones porque el cuidado de las estacas después de establecidas es escaso. Van Buijten y Shaw (1999) mencionan que el cultivo de tejidos puede ser considerado como una técnica alternativa para el desarrollo forestal.

Becerra (1992), trabajó con estacas de *Pinus greggii* para las que aplicó cinco tratamientos, los primeros tres realizados a base del enraizador de la marca Rooter de la empresa Química Foliar (talco y líquido), uno con la preparación en polvo de la marca Radix 10,000 ppm, y el último con la mezcla en polvo de la marca Raizone Plus, que contiene otras sustancias, además de hormonas, como insecticidas. También comparó la diferencia entre las épocas de colecta de las estacas (diciembre, marzo y julio). Los resultados positivos fueron únicamente para Raizone plus, ya que el resto de los tratamientos no mostraron diferencia con el control, e incluso los tratados con Rooter enraizaron menos. La época del año que resultó significativa fue la correspondiente a la colecta de marzo.

Hamann (1998), realizó un estudio sobre la edad de las estacas y la pérdida de la capacidad de éstas para enraizar en *Pinus taeda*, cosechándolas de árboles de 3, 5 y 7 años que eran podados de dos a tres veces por año, también árboles de tres años que no habían sido podados y los comparó con plantas de semilleros. El enraizamiento se realizó en un invernadero, manteniendo la temperatura durante el día a 27° C y en la noche a 20° C, utilizando un sistema de calefacción en el área de las raíces para mantener la zona a 25° C, el riego lo realizó con un sistema automático basado en la intensidad de la luz y no fueron utilizadas hormonas. Encontró que la formación de raíces adventicias en estacas de *Pinus taeda* consiste en mas o menos cuatro estados: 1) Proliferación de células en la base de la estaca. 2) desdiferenciación del tejido vascular herido y del peridermo. 3) desdiferenciación de la zona cercana al cambium y al floema heridos, en forma de inicios de raíz. 4) formación del meristemo de raíz. Los cambios anatómicos descritos durante la formación de la raíz adventicia de estacas provenientes de donadores con diferentes tipo y edades. Las estacas de plantas de semilleros y las de 3 a 7 años podadas fueron mejores que las de tres años no podadas, razón por la cual concluye, que la pérdida de la capacidad de enraizar en *Pinus taeda* es causada por los efectos de las podas y no por efecto de la edad de la planta donadora de las estacas.

En la Universidad Autónoma de Chapingo se realizó, un estudio sobre el enraizamiento de estacas duras de *Populus* y *Acer*, en el cual se analizaron diferentes variables y las

interacciones entre estas (suelos, fechas y número de yemas), para obtener los resultados realizaron análisis de varianza (ANOVA) sin repeticiones, ya que aunque las que habían contemplado murieron por diferentes causas, resultando que la interacción de las tres variables (suelos, fechas y número de yemas) fue la de mayor éxito para *Populus alba*. Una de las variables que contemplaron en la investigación fue la fecha de colecta (diferentes días del invierno en dos años), para la discusión debieron incluir los datos de lluvias en ambos años, ya que comparaban dos inviernos (1976 y 1977) muy extremos (Hernández y Musalem, 1978).

OBJETIVOS

Objetivo general

Explorar condiciones experimentales para llevar a cabo propagación vegetativa en *Pinus ayacahuite* Ehrenberg ex Schlechtendal var. *veitchii* G.R. Shaw.

Objetivos particulares

Determinar cual es la época de colecta más eficaz para enraizar estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*.

Determinar cual es la marca comercial de hormonas más eficaz para enraizar estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*.

Determinar cual es la concentración de hormonas más eficaz para enraizar estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*.

Determinar si el aumento de la temperatura del sustrato favorece el enraizamiento de la especie.

Determinar si la presencia de anillado favorece el enraizamiento de la especie.

Hipótesis

Si se manipulan las condiciones experimentales (tratamientos con fitohormonas, calentamiento del sustrato, época de colecta de las estacas y anillado) entonces se puede producir condiciones que favorezcan el enraizamiento de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pinus ayacahuite

Se decidió trabajar con el pino blando, *P. ayacahuite*, (subsección *Strobi*, sección *Strobus*, subgénero *Strobus*) porque, es una especie mexicana que tiene importancia ecológica y económica, además de presentar características aprovechables, como su rápido crecimiento y su belleza ornamental, así como, la necesidad de superar los problemas de la reforestación que se presentan al utilizar esta especie. Su nombre común en diferentes partes de México es ayacahuite, aclote, salacahuite, pino blanco y constituye una de las 50 especies de nativos de México (Perry, 1991).

Pinus ayacahuite es de madera de muy buena calidad, y es utilizada normalmente en chapa, pulpa, postes, construcciones y artesanías, además es utilizado en las programas reforestación y, como especie ornamental, utilizada en plantaciones comerciales y de árboles de Navidad (Farjon, 1997; Perry, 1991; beta.semarnap.gob.mx/pfnm/Pinusayacahuite.html).

El género *Pinus* es uno de los más importantes desde el punto de vista económico, debido a las superficies que ocupan sus especies y que sustenta parte de la industria templado-frío del país (Farjon, 1997).

Pinus ayacahuite var. *veitchii*

Con *Pinus ayacahuite* variedad *veitchii* fue realizado este trabajo. Es un árbol de 20, 30 o más metros de altura, con un diámetro de 60 a 70 cm, tiene las ramas extendidas, grisáceas. Los fascículos con 5 acículas, de 11 a 13 cm de largo, de color verde oscuro.

Los conos son subcilíndricos atenuados, de 20 a 35 cm, encorvados color ocre, resinosos, y se encuentran generalmente en pares. Las semillas son oscuras, de 12 mm, con ala desarrollada de 1.5 a 2 mm de largo por 6 a 10 mm de ancho, y un peso aproximado de 0.3 g (Eguiluz, 1978; Perry, 1991; Campos, 1993).

Pinus ayacahuite se caracteriza por formar poblaciones aisladas de tamaño variado, en diversas regiones montañosas del país tiene una amplia distribución en el eje neovolcánico. Se lo reporta en los estados de Puebla, Morelos, Veracruz, Hidalgo, Tlaxcala, Michoacán, Guerrero, México Y DF., su rango altitudinal va desde los 1900 a los 2900 msnm (Perry, 1991) y se encuentra en pequeños grupos de individuos asociados a otros pinos, abetos y otros árboles

(*P. montezumae*, *P. teocote*, *Abies religiosa*, *Alnus sp.*, *Arbustus sp.*, *Quercus spp.*) (Eguiluz, 1978; Perry, 1991).

Pinus ayacahuite var. *brachiptera*

La variedad *brachiptera* se encuentra restringida a las montañas del norte de México, en lugares húmedos, elevados y sombríos, como las barrancas. Algunas veces forma masas puras, pero es más frecuente encontrarlo asociado con *P. teocote*, *P. cooperi*, *P. duranguensis*, *P. rudis*, *P. herrerae*, *P. arizonica*, *P. engelmannii*, *Pseudotsuga sp.*, *Abies spp.* y *Juniperus spp.* (Eguiluz, 1978; Perry, 1991).

Pinus ayacahuite var. *ayacahuite*

Pinus ayacahuite var. *ayacahuite* se diferencia del típico ayacahuite por la forma y tamaño del cono, presenta ala de 3 a 5 veces más larga que ancha (Campos, 1993), en comparación a la variedad *veitchii* en la que esta diferencia es solo dos veces. Se localiza en el eje neovolcánico, en Chiapas y Oaxaca (Eguiluz, 1978; Perry, 1991).

P. ayacahuite y *Pinus cembroides* son las únicas dos especies del subgénero *Strobos* que tienen una amplia distribución en nuestro país. La mayor parte de los pinos de este grupo se encuentran en zonas semidesérticas, donde *P. ayacahuite* no puede vivir, sin embargo, hacia el sur puede coexistir con otra especie de este subgénero, *P. chiapensis* (Mart.) Andersen. (Perry, 1991; Salas, 1998; Farjon, 1997).

Colecta de las estacas

Las colectas se realizaron en "Las Lagunas de Zempoala", área que fue decretada como parque nacional en 1936, esta ubicada en las siguientes coordenadas Latitud 19°13'12'' - 17°53'24'' N Longitud 99°42'36'' - 98°37'48'' W (www.conabio.gob.mx). Presenta suelo Feozem, que son oscuros, suaves y ricos en materia orgánica y nutrientes, además de Vertisoles, Castañozem, Andosoles y Rendzinas (www.conabio.gob.mx).

El clima es templado subhúmedo, cálido subhúmedo y semicálido subhúmedo con lluvias en verano y principios de otoño (www.conabio.gob.mx). La temperatura media anual 15.5°C y la precipitación total anual 1500-2300mm (www.mor.inegi.gob.mx).

Las estacas fueron colectadas cortando una rama del árbol donador y separándola en estacas de 25 cm, que contenían hojas y vértices.

A partir del momento de la colecta las estacas permanecieron en posición vertical (90 °C) con respecto al suelo, debido a recomendaciones para evitar el inútil movimiento de hormonas, que puede causar crecimientos anormales posteriores (Hartmann y Kester, 1994).

El enraizamiento también se favorece colocando los segmentos a temperatura baja (5-8° C) por algunas semanas, ya que esto estimula la síntesis de hormonas en plantas que proceden de climas en los que hay una estación fría (Vázquez et al., 1997). Después de ser colectadas las estacas fueron trasladadas a un cuarto frío a 5.5 grados centígrados, y posteriormente fueron trasladadas al sitio de establecimiento.

Anillado

La técnica de lesionado o anillado se aplicó a unas estacas colectadas con una tijera, presionándola sobre la superficie y girando la estaca, a un centímetro de la parte inferior de la misma.

Tratamientos

Los enraizadores utilizados fueron sustancias comerciales en concentraciones diferentes, el tratamiento 1 (uno) consistió en Radix 10,000 ppm, en el 2 (dos) Radix 7500 (esta concentración se preparo con 3 partes de Radix 10,000 y una parte de talco inerte). En el tratamiento 3 (tres) se aplicó Raizone Plus puro, mientras que en el tratamiento 4 (cuatro) en la dilución 3:1 de dicha preparación (Tabla 1), el 5 (quinto) y último tratamiento con talco.

El último tratamiento fue utilizado como el control del experimento el talco inerte, y con el cual se siguieron las mismas especificaciones al aplicarlo que para el resto de los tratamientos. De esta manera garantizamos que si existiese estimulación física o fuese perjudicial que las aplicaciones se realizaran con sustancias sólidas, las estacas del control no manifestarían la diferencia. Todas las aplicaciones fueron sólidas, en polvo de tal manera que pudieron ser colocadas humedeciendo la superficie inferior o directamente cuando las resinas aun no solidificaron. Los tratamientos fueron aplicados a grupos de sesenta estacas.

Tabla 1. Contenidos de las preparaciones comerciales (peso sobre peso)

<u>Radix 10,000 ppm</u>		<u>Raizone Plus</u>	
AIB	1 %	Alfa-naftilacetamida	0.12 %
ANA	0.3 %	Acido indol-3-butirico	0.06 %
VEHICULO CBP	98.70 %	Thiran	5.0 %
		Captan	3.0 %
		Inertes	91.82 %

Características ambientales

El invernadero fue acondicionado para el establecimiento de las estacas, con las características que a continuación se describen.

Material esterilizado

Un ambiente controlado debe ser forzosamente esterilizado, dentro de las posibilidades, con productos que puedan eliminar hongos e insectos principalmente; en este caso los materiales resistentes al autoclave fueron esterilizados directamente o fueron limpiados con cloro si no era posible. Además las fuentes de intercambio de aire con el exterior fueron controladas o eliminadas, como por ejemplo, los sistemas de aire y la puerta.

Camas

Las camas utilizadas fueron recipientes de trato duro, de plástico, utilizadas en el transporte de alimentos (70 de largo, 40 de ancho y 30 de altura), autoclaveables, a las que se les realizaron orificios idénticos en cada una para permitir el drenaje adecuado.

Sustrato

Las características que según Hartmann (1997) debe tener el sustrato son muy importantes para el éxito: mantener las estacas en su lugar durante el periodo de enraizamiento, proporcionar humedad a las estacas y permitir la entrada de aire a la base de la estaca.

El sustrato que se utilizó fue una mezcla de agrolita industrial, con arena sílica (10-20 μ), en proporciones iguales, proporcionando en conjunto: retención de la humedad, y de las estacas en su sitio, aireación y drenaje para no ahogar a las estacas, todas características fundamentales para el desarrollo de las raíces. El uso de aserrín no satisfacía las necesidades de este experimento, ya que no garantiza la aireación, ni el drenaje adecuado, además por ser materia orgánica puede aportar diferentes compuestos a las estacas, tales como hormonas (giberelinas) o nutrimentos, características que no podemos garantizar se aporten a todas las camas en las mismas concentraciones.

Calentamiento en el sustrato

Para obtener las camas con calentamiento en el sustrato fueron equipadas con resistencias fabricadas por Hummer de México diseñadas para este fin que mantenían la temperatura constante (entre 24 y 25°C) durante el tiempo que estuviesen encendidas. El control de las mismas fue realizado con termómetros de tierra instalados para cada una de las camas, los cuales permitieron el análisis sin variaciones temporales de temperatura.

Temperatura ambiental

La temperatura ambiental se mantuvo con un aparato de aire acondicionado tradicional con sensor de temperatura para equilibrarse automáticamente y mantenerse a 20°C, el cual funcionó para reciclar el aire en el interior y para provocar su movimiento. Para el enraizamiento de estacas foliosas la temperatura ambiental debe estar entre 18^o y 27^o C (Hartmann y Kester, 1994).

Humedad

Debido a la presencia de hojas que continúan transpirando activamente y a las condiciones diferenciales de madurez en las ramas jóvenes, los segmentos pueden deshidratarse muy fácilmente. Por esto, es necesario mantenerlos en compartimentos húmedos hasta que enraízan y toman del suelo suficiente agua (Vázquez et al., 1997)

La humedad fue controlada con un humidificador, equipado con sensor automático para el control de la misma, de 80% a 85%, de humedad relativa. La presencia de hojas en las estacas constituye un fuerte estímulo para la formación de raíces adventicias, sin embargo, la pérdida

de agua a través de estas puede reducir el contenido de agua de las estacas, por esta causa es importante el control de la humedad relativa.

Luz

La luz, fue colocada con una red de focos de luz incandescente de 100W sobre las camas y dos lámparas con dos tubos de luz fluorescente de manera que todas las estacas tuvieran la misma incidencia de luz. La luz fue controlada por un reloj que encendía de acuerdo al promedio estacional del exterior. La cantidad de luz para el buen éxito de estacas con madera dura debe ser amplia esto se refiere al espectro de luz. Para algunas plantas con flor se recomienda que el espectro sea bajo, siendo importante que no sea excesiva, y que este controlado el apagado y encendido en ciclos constantes. Van Buijten y Shaw (1999) recomiendan para especies del género *Pinus* que las estacas sean sometidas a periodos muy extensos de luminosidad, sin embargo, este tratamiento podría incluirse solo como una variable en el experimento la cual no se tomó en cuenta, y por esta causa los periodos de iluminación fueron los mencionados.

Riego

El riego fue realizado con un aspersor móvil una vez por día. El aspersor móvil lo usamos como sustituto de las redes de nebulizadores que se recomiendan para el enraizamiento en *Pinus taeda*. Considerando el espacio y el tiempo que duró el experimento, el aspersor móvil fue la mejor elección, ya que las redes de nebulizadores también se utilizan para enriquecer la atmósfera con nutrimentos que en este experimento no evaluamos (Buijten y Shaw, 1999).

La cantidad de agua de riego fue evaluada cuando se eligió el sustrato a utilizar ya que esta combinación es la que nos permitió que en ningún momento se secasen, ni inundasen las camas (1 l cada 24 h por cama.).

Cuidado de las estacas durante el enraizamiento

Durante cuatro meses, después del sembrado, fueron controlados los aspectos que podían cambiar las condiciones entre estacas o en el ambiente, tales como: drenado, hongos, insectos, temperaturas, humedad, e iluminación así como la limpieza de las camas y mantenimiento del cuarto.

Las revisiones de la base para ver el desarrollo raíces (aparición o muerte de las mismas) así como de las estacas, se realizaron sin tiempos establecidos en individuos vigorosos o muy estresados así como normales anotando también características exteriores y número, acompañadas de inspecciones exhaustivas en fechas planeadas (dos meses, tres meses y cuatro meses después del inicio del experimento). Para este mismo control se aplicaron insecticidas de amplio espectro para evitar o combatir a los insectos o las larvas de los mismos. También se aplicó hipoclorito para contrarrestar los ataques de hongos principalmente en las superficies. A través de aspersores se logró una aplicación igual a todas las estacas. Esto se realizó periódicamente, en este caso realizadas con diluciones de hipoclorito al 10% cada cinco días.

En cada experimento se realizó un registro de la sobrevivencia de las hojas. También se revisaron las bases de las estacas en consecuencia de su apariencia, además del registro de las observaciones de la base de las estacas realizadas a partir del segundo mes. Con la ayuda de un microscopio estereoscópico se determinó la presencia de callo cuando no era clara la respuesta de la estaca.

El experimento se aplicó de manera idéntica en dos periodos o etapas que se fijaron en coincidencia con la cantidad de hormonas que se encuentran en los árboles en diferentes épocas del año y que por lo tanto cambian según el comportamiento fisiológico de los árboles, la primera etapa fue colectada en septiembre de 1999, y la segunda etapa fue colectada en febrero de 2000.

Análisis de resultados

La clasificación de los resultados se elaboró de acuerdo a la presencia de callos en las bases de las estacas ya que únicamente se encontró en un caso, una raíz.

La ausencia de callos fue registrada con 1 (uno) y su presencia con 2 (dos). La presencia de raíz fue codificada con 3 (tres). Los resultados fueron examinados con una matriz que contenía los 600 datos (Anexo 1) correspondientes a los análisis realizados con el total de las estacas, matriz que se dividió en dos grupos con 300 datos cada uno, equivalentes a las estacas de las diferentes colectas (ver Figura 4).

Fue necesario utilizar el programa de computo, Statistica y realizar una ANOVA-MANOVA, ya que la metodología se diseñó para el análisis de interacción entre las variables y con este análisis era posible detectarlas y visualizar las significancias. Para la aplicación de

esta metodología los resultados esperados deben tener la posibilidad de construir una curva normal, sin importar que los resultados obtenidos no mantengan esa condición, por otro lado se realizaron quince replicas de estacas, cada una de las quince tenia condiciones idénticas (se puede observar en la ultima fila de la Figura 4), puede llamarse pseudoreplicación a la técnica utilizada en este experimento, ya que las quince estacas, permanecieron en condiciones idénticas y puede dudarse si el desarrollo de las estacas hubiese sido el mismo establecidas en un sitio distinto. Se realizo el análisis también con el método no paramétrico, de chi cuadrada (χ^2) que no supone normalidad, con el cual se corroboraron las significancias descritas en los resultados de este trabajo, pero con el cual no es posible estimar la interacción entre variables.

Además llamamos grupo S al experimento resultado de la colecta en septiembre, y grupo F al experimento resultado de la colecta en febrero.

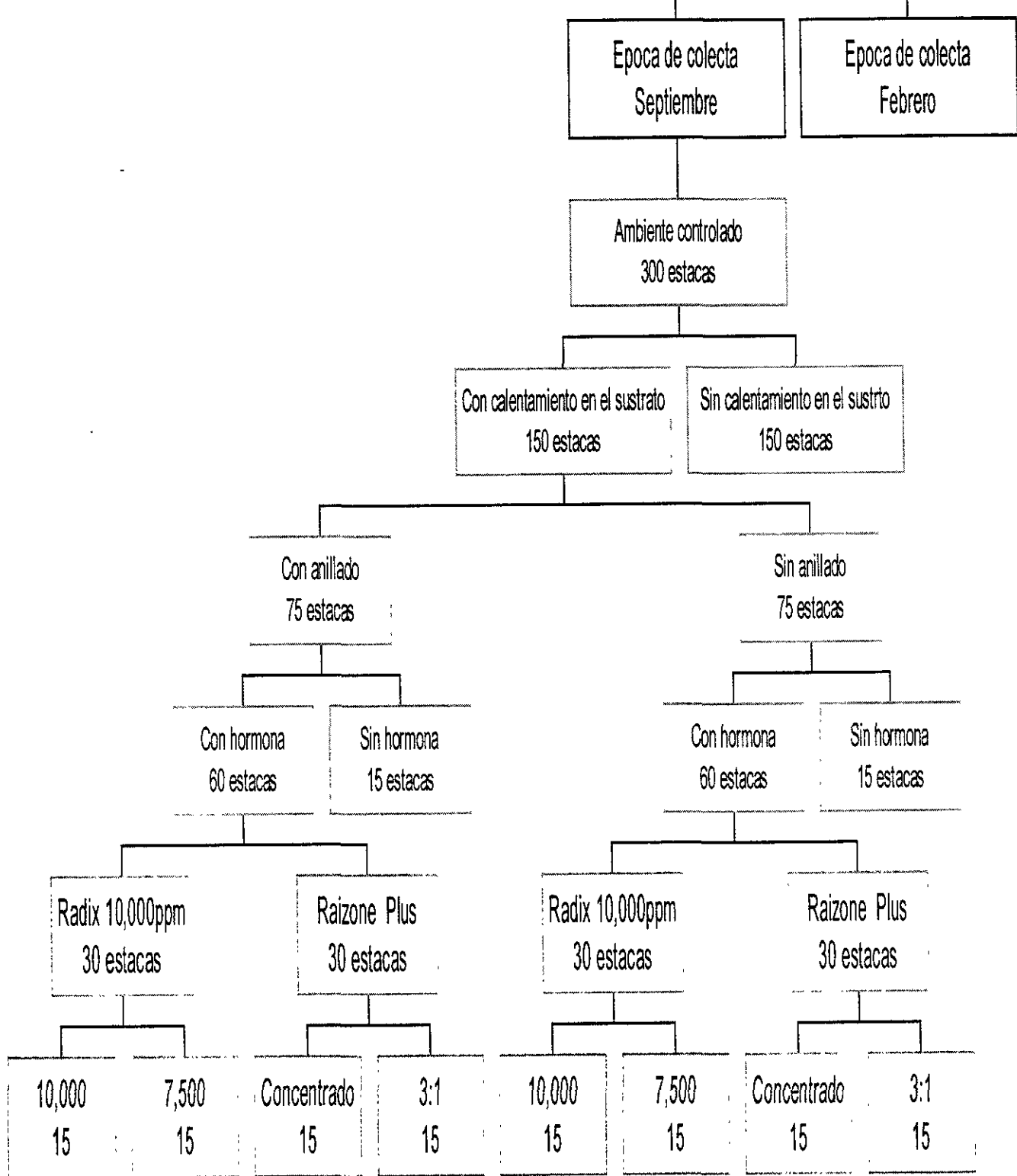


Figura 4. Diseño experimental utilizado que fue realizado de manera idéntica en ambas épocas de colecta (septiembre 1999 y febrero 2000), así como para los tratamientos, con y sin calentamiento. El grupo más pequeño de repeticiones esta conformado por 15 estacas, que corresponde a lo señalado en los cuadros inferiores. En los cuadros derivados de la marca comercial Radix las unidades son partes por millón, mientras que en los derivados de la marca Raizone Plus corresponden a las diluciones realizadas con talco inerte, en la proporción que se indica, 3:1, son tres partes de Raizone Plus por una parte de talco inerte.

RESULTADOS

La época del año en la que se realizaron los experimentos y que fue la primera variable, comprende 600 datos (Figura 4) ya que suma los dos experimentos realizados, el primer experimento se hizo con estacas cortadas en septiembre (grupo S) y el segundo en febrero (grupo F).

La época del año (grupos S y F)

La época del año en la que se hizo la colecta tiene un efecto significativo ($F_{(1,598)} = 6.29$; $p < .0124$) en la respuesta, siendo más favorable a la formación de callos la encontrada en febrero (porcentaje 16.6 en febrero y 9.6 en septiembre). Como podemos observar en la Figura 5, el tamaño de la caja que forma el error estándar es pequeño, cercano a los valores de la media, mostrando que la diferencia es significativa, no solo por el valor de la probabilidad, si no porque las cajas de la gráfica 4 no se sobrelapan. Al realizar este análisis con el método de χ^2 ($\chi^2_{(1 \text{ grado de libertad})} = 5.12 > 3.841 = \text{significativo}$), con el que corroboramos el mismo resultado obtenido con el ANOVA.

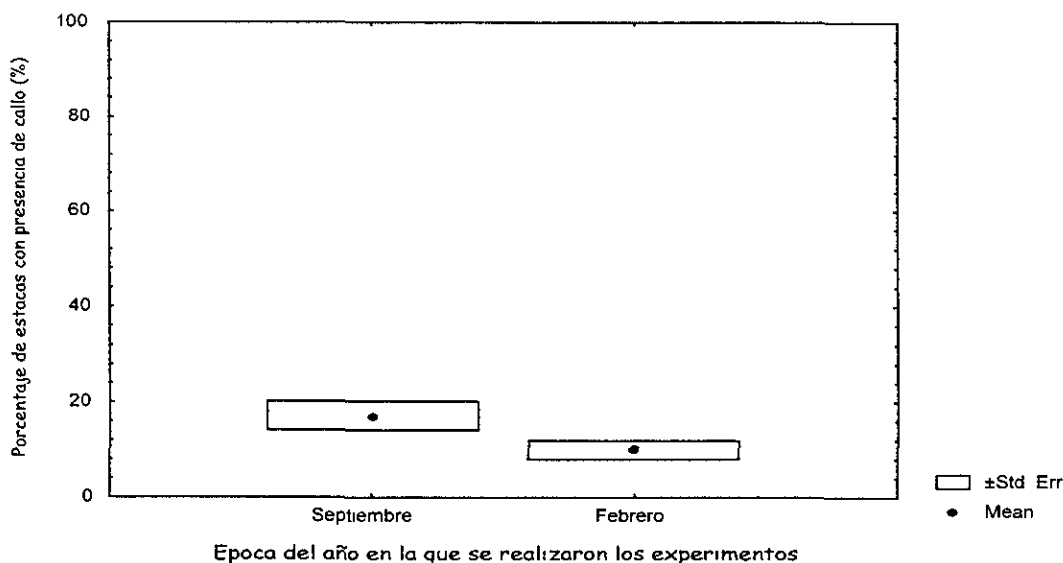


Figura 5. Efecto de la época de colecta en la presencia de callo en estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* colectadas en septiembre de 1999 y febrero de 2000.

Se observó la cantidad de hojas vivas, así como el crecimiento de las mismas, como control de las estacas y se obtuvo: que las estacas colectadas en septiembre presentaron el 50% de éstas deterioro físico (crecimiento y muerte de hojas) al mes, sin embargo, las estacas

colectadas en febrero hubo un deterioro físico en el 50% a los dos meses, y a los tres meses en el grupo F el 20% de los individuos continuaban teniendo hojas vivas, mientras que de las colectadas en septiembre (grupo S) el 100% se había muerto.

Pinus ayacahuite var. *veitchii* produce meristemas de invierno que desarrollan hojas en marzo, por esta razón las estacas colectadas en febrero formaron hojas *ex situ*, lo que nos fue útil para evaluar la sobrevivencia, sin embargo, no lo consideramos como una respuesta secundaria al tratamiento porque probablemente las hojas estaban latentes en las estacas antes de colectarlas, por lo que las estacas colectadas en septiembre no mostraron dicho desarrollo. También la presencia de hojas en desarrollo probablemente causó el ataque de tres estacas por una larva de insecto, lo que no afectó en absoluto por su bajo impacto y rápido control.

Calentamiento del sustrato (grupos S y F)

Cada experimento se realizó con 300 estacas pero es posible obtener información del análisis de todos los datos (600) que, en algunos casos, resultan relevantes como lo es la evaluación a la respuesta del calentamiento del sustrato.

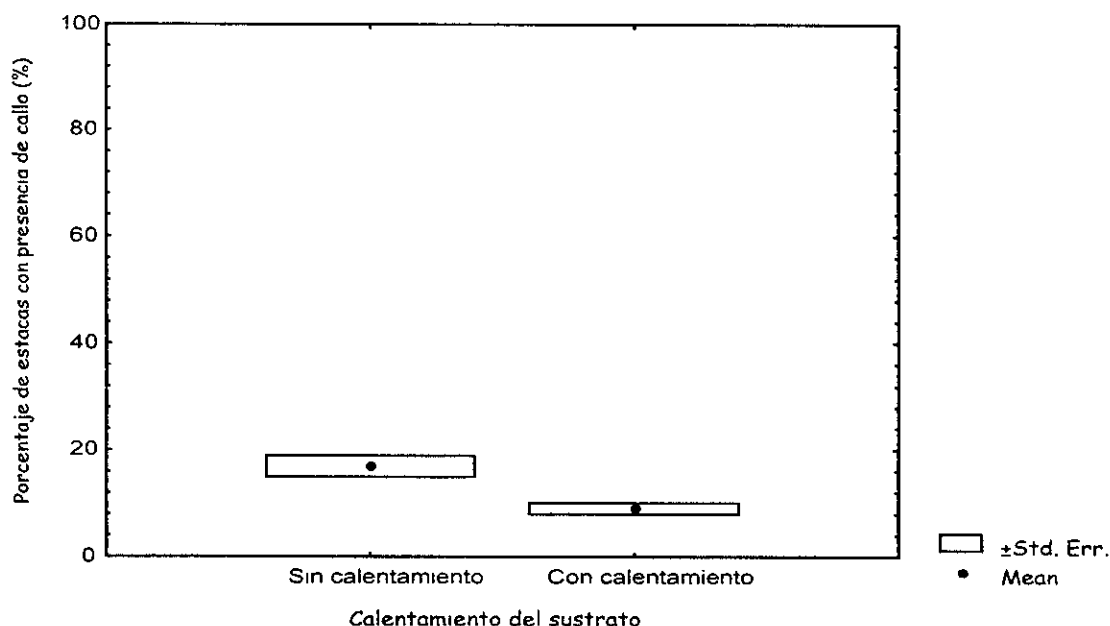


Figura 6. Efecto del calentamiento del sustrato a la presencia de callo como respuesta de estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* colectadas en febrero y septiembre.

La respuesta a la variable calentamiento del sustrato resultó ser significativa ($F_{(1,598)}=7.56$; $p < .0061$). El sustrato al que no se le aumento la temperatura, y por lo tanto se mantuvo a la temperatura ambiental presentó mayor formación de callos de las estacas (17%), comparado con el en el sustrato que se modifico la temperatura, elevándola 4 grados centígrados. La formación de callos en este caso fue significativamente menor (9.3%). Podemos observar en la Figura 6 que el error estándar, sin calentamiento del sustrato es mayor, sin embargo, las diferencias entre ambos son estadísticamente significativas al realizar un análisis de χ^2 .

Las marcas comerciales

Una variable que es posible evaluar con 600 datos (total de estacas en el experimento) es la presencia o ausencia de la marca comercial de hormona Radix 10,000 ppm; en otra evaluación se realizó con Raizone Plus la misma prueba.

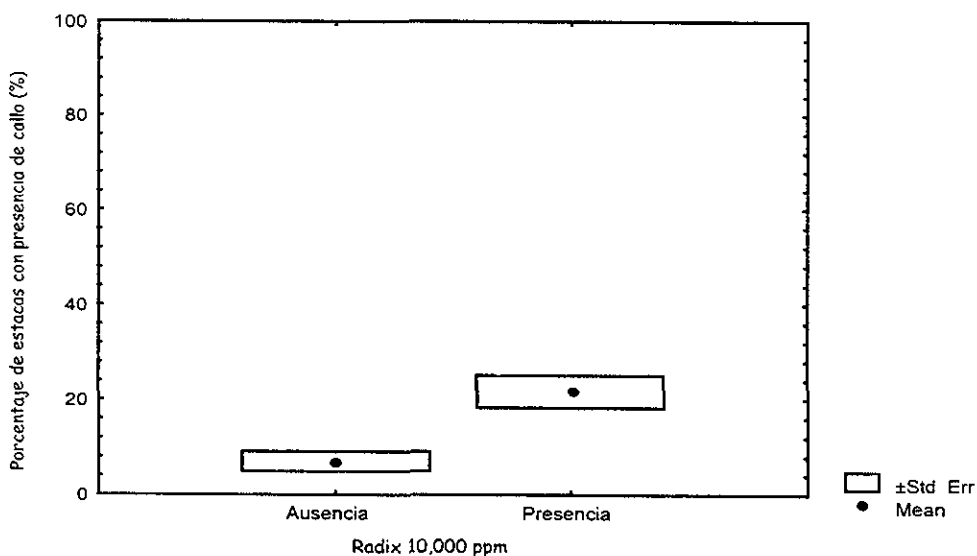


Figura 7. Efecto de la presencia de la hormona de la mezcla comercial Radix 10,000 ppm a la presencia de callo como respuesta de estacas *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* colectadas en febrero y septiembre.

Si queremos distinguir la respuesta de las estacas en presencia de la marca comercial Radix 10,000 ppm, separamos los tratamientos Radix 10,000 ppm y Radix 7,500 ppm, y los clasificamos como el grupo que contiene Radix 10,000 ppm, y englobamos en un segundo grupo a los tratamientos que contienen talco y Raizone Plus. El resultado de dicha evaluación resulta significativo ($F_{(1,598)}=31.05$; $p < .0000$) a favor de la presencia de la marca de hormona Radix

10,000 ppm como lo observamos en la Figura 7 (22.5% con Radix 10,000 ppm y en su ausencia 6.9%).

La Figura 7 muestra la gráfica de la presencia de la mezcla de Radix los compuestos de dicha mezcla se observan en la Tabla 1. No es posible determinar con este análisis cual o cuales compuestos de la mezcla Raizone plus es dañino o si la presencia del ácido naftalenacético de la mezcla Radix proporciona a las estacas la mayor estimulación para el desarrollo de callos, sin embargo como observamos en la Figura 8, el fenómeno radica en la misma pregunta, y el resultado es que la ausencia de Raizone plus es favorable para el desarrollo de callos.

Al analizar la respuesta en presencia ahora de la marca comercial de hormona Raizone Plus, arrojó como significativo la ausencia (8.7%) de la hormona analizada ($F_{(1,598)} = 6.68$; $p < .0100$), presentando mayor formación de callos las estacas que fueron tratadas en ausencia de la mezcla comercial (16.1%) Raizone plus, (Radix 10,000 ppm y Talco inerte en conjunto). Los errores estándar no sobrelapan las cajas y podemos ver que los datos no tiene mucha dispersión por el tamaño de las mismas a pesar del bajo porcentaje de estacas que presentaron callo.

La hormona

La hormona utilizada es la variable que nos permite comparar las marcas comerciales y el talco inerte, y lo que se está comparando es una hormona mezclada con fungicidas, talco sin hormona y talco que únicamente contiene la hormona. El resultado fue significativo ($F_{(2,597)} = 9.67$; $p < .0001$), resultando más efectivo el talco con hormona que corresponde a Radix 10,000 ppm (20.4%), siendo menos favorables, Raizone plus y el talco inerte (9.5% y 5.8% respectivamente). La Figura 8 muestra que los errores estándar apoyan la conclusión de que Radix 10,000 ppm es la mezcla que favorece la formación de callos. Este resultado así como los anteriores también se verificaron con una prueba de χ^2 , obteniendo el mismo resultado.

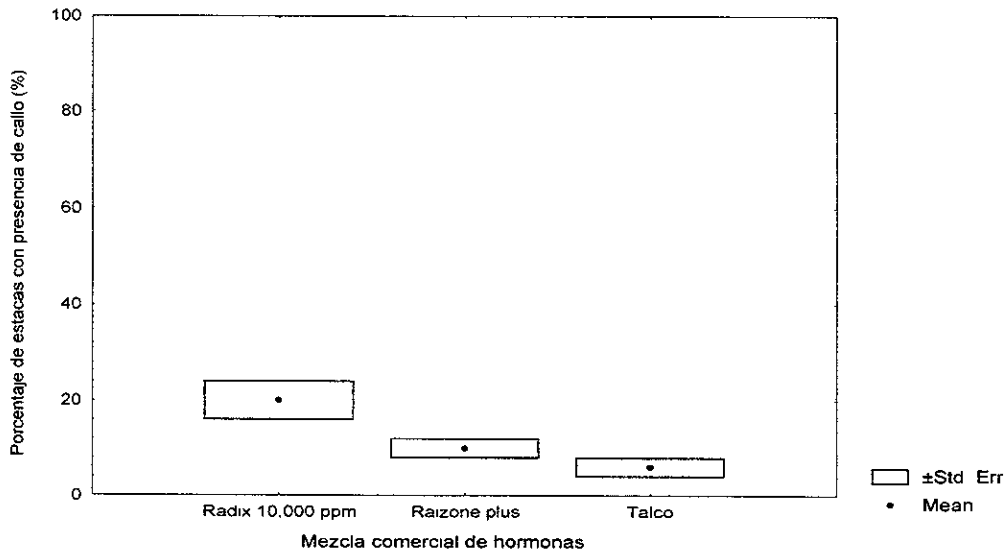


Figura 8. Efecto de la presencia de diferentes mezclas comerciales a la presencia de callo como respuesta de las estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* colectadas en febrero y septiembre.

Anillado

La práctica de anillado en la base de las estacas es otra de las variables que se utilizan para aumentar la estimulación de las estacas para la formación de callo y raíces adventicias. Esta variable también puede interactuar con las otras variables controladas como la temperatura y los tratamientos de hormona. El análisis del anillado de las estacas presenta una respuesta no significativa ($F_{(1,598)} = .35$; $p < .5526$), sin embargo veremos posteriormente que esta variable interactúa significativamente con otras.

El calentamiento en el sustrato (análisis separado de los grupos F y S)

El calentamiento en el sustrato fue aplicado a 150 estacas de las 300 que fueron utilizadas en cada etapa, mientras que en el resto de las estacas la temperatura del sustrato no fue modificada, la justificación para la incorporación de esta variable radica en la literatura donde se encontró que el calentamiento del sustrato puede favorecer el enraizamiento de las estacas (Santelices, 1991; Hamann, 1998).

Las estacas del primer experimento realizado en septiembre no muestran una respuesta significativa ($F_{(1,298)} = 1.87$; $P < .1725$), mediante el análisis con ANOVA, no con el análisis de χ^2 ($\chi^2_{(1 \text{ grado de libertad})} = .84 < 3.841 = \text{no significativo}$), sin embargo, los resultados del

segundo experimento realizado en febrero nos indican que este tratamiento si resultó significativo ($F_{(1,298)}= 5.94$; $p < .0154$), como se muestra en la Figura 9, de la misma forma para χ^2 ($\chi^2_{(1 \text{ grado de libertad})}= 4.59 > 3.841 = \text{significativo}$). Sin calentamiento se encontró una media más alta (25%) resultando este más favorable (10% con calentamiento) para la formación de callos de las estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*.

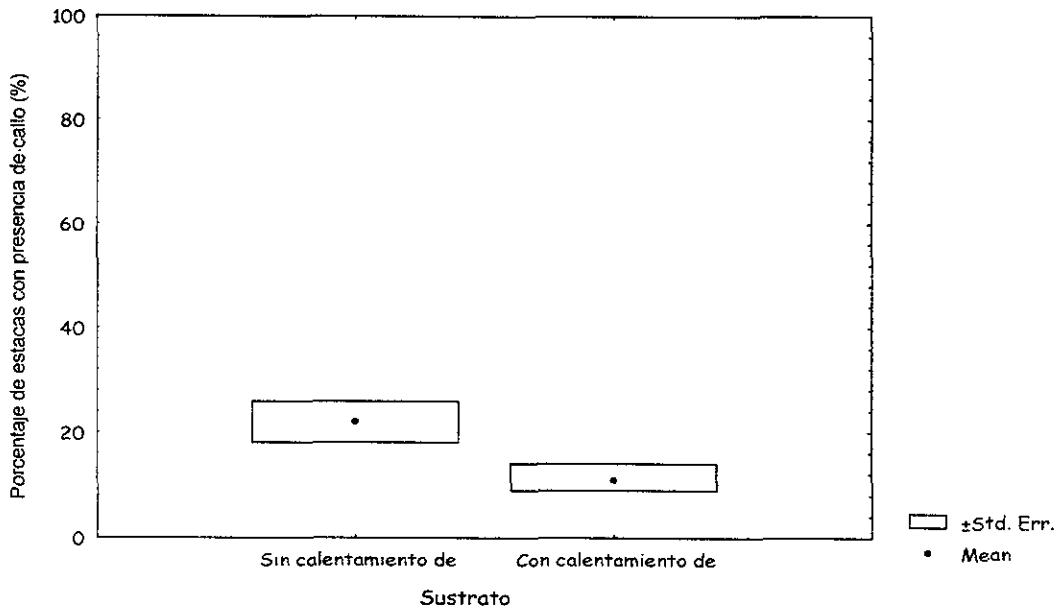


Figura 9. Efecto de el calentamiento del sustrato, a la presencia de callo como respuesta de estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* colectadas en febrero y septiembre.

Tratamientos hormonales

Los tratamientos hormonales utilizados en los experimentos son cinco diferentes, los dos primeros corresponden a la marca comercial de enraizador Radix 10,000 ppm, (el primero contiene dicho enraizador puro, el segundo contienen el enraizador diluido a 7,500 ppm cada uno con 60 estacas por experimento), el tercer tratamiento contiene enraizador puro de la marca Raizone Plus, mientras que el cuarto es de la misma marca pero en este caso diluido tres partes por una de talco inerte. El último de los tratamientos corresponde al control del experimento, es decir, no contiene hormona, se trata de talco inerte. para la colecta de febrero.

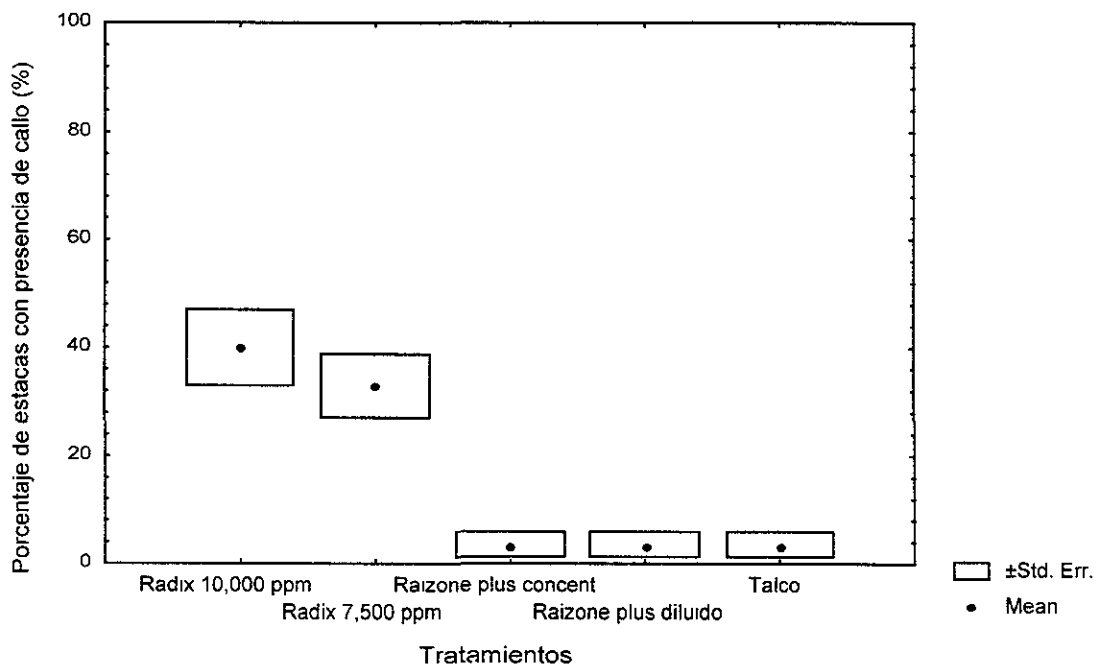


Figura 10. Efecto del tratamiento hormonal a la formación de callo de estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* colectadas en febrero.

Del experimento realizado en septiembre no se obtuvo una respuesta significativa ($F_{(4,295)} = 1.47$; $p < .2100$ y $\chi^2_{(4 \text{ grados de libertad})} = 5.9 < 9.488 = \text{no significativo}$), sin embargo, el experimento realizado en febrero si se obtiene un resultado significativo con χ^2 ($\chi^2_{(4 \text{ grados de libertad})} = 46.92 > 9.488 = \text{significativo}$), y con ANOVA ($F_{(4,295)} = 16.88$; $p < .0000$). Las mayores se obtuvieron en los tratamientos que contienen la hormona de la marca Radix 10,000 ppm, los errores estándar de estos dos tratamientos se sobrepone como vemos en la Figura 10, aunque se observa la mayor con Radix concentrado. Por ello la diferencia significativa se refiere a la diferencia entre las mezclas comerciales y no radica en la diferencia de concentración de hormona.

Mezcla comercial de hormona

La variable con la que evaluamos la marca comercial de hormona muestra la diferencia entre los siguientes factores: 1) el primero es la marca comercial Radix 10,000 ppm, 2) el segundo es Raizone Plus y 3) el último es talco inerte utilizado como control.

Las diferencias entre las marcas comerciales de hormona radica en la cantidad de hormona y en los otros componentes que puede tener la mezcla, y el control se realiza con talco inerte, para que todas las estacas reciban la misma manipulación. Las estacas sembradas en septiembre no presentan una respuesta significativa a esta variable ($\chi^2_{(2 \text{ grados de libertad})} = 6.2 < 13.34 = \text{no significativo}$), sin embargo, las estacas del segundo experimento muestran una diferencia significativa en la respuesta a la marca comercial de hormona ($F_{(2,297)} = 7.97$; $p < .0004$ y $\chi^2_{(2 \text{ grados de libertad})} = 39.9 > 13.34 = \text{significativo}$), como podemos observar en la Figura 11. La media mas alta corresponde a la marca comercial Radix 10,000 ppm, seguida por Raizone Plus que su media es menor a mitad de la primera y por ultimo al Talco inerte que obtiene un resultado superior al que nos indicaría que no se presento formación de callo, si este fuera el caso el talco inerte tendría media equivalente a uno.

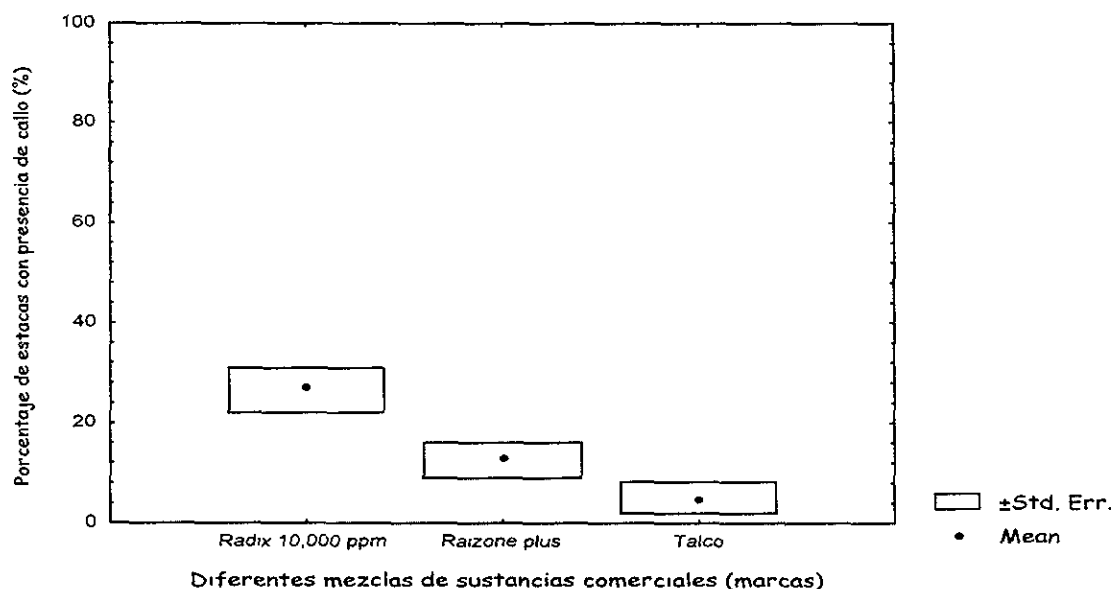


Figura 11. Efecto de la marca comercial de hormona a la formación de callo de estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* colectadas en febrero.

Anillado

La práctica de anillado en la base de las estacas se realizo en el 50% de las estacas de cada experimento, no resulto significativa en ninguno de los experimentos (septiembre $F_{(1,298)} = .04$; $P < .8457$, y febrero $F_{(1,298)} = .36$; $p < .5465$). Los resultados de los análisis con el método χ^2 en ambas fechas indican que no fue significativa la variable anillado (en septiembre, $\chi^2_{(1 \text{ grado de libertad})} = .017 < 3.841 = \text{no significativo}$ y en febrero $\chi^2_{(1 \text{ grado de libertad})} = .024 < 3.841$)

Interacciones entre las variables

Análisis de las interacciones entre dos variables.

Temperatura y anillado.

Las variables calentamiento del sustrato y anillado, al analizarse, resultan presentar una interacción significativa en el primero de los experimentos, realizado en septiembre ($F_{(1,296)}= 8.78$; $p < .003$), como se observa en la Figura 12.

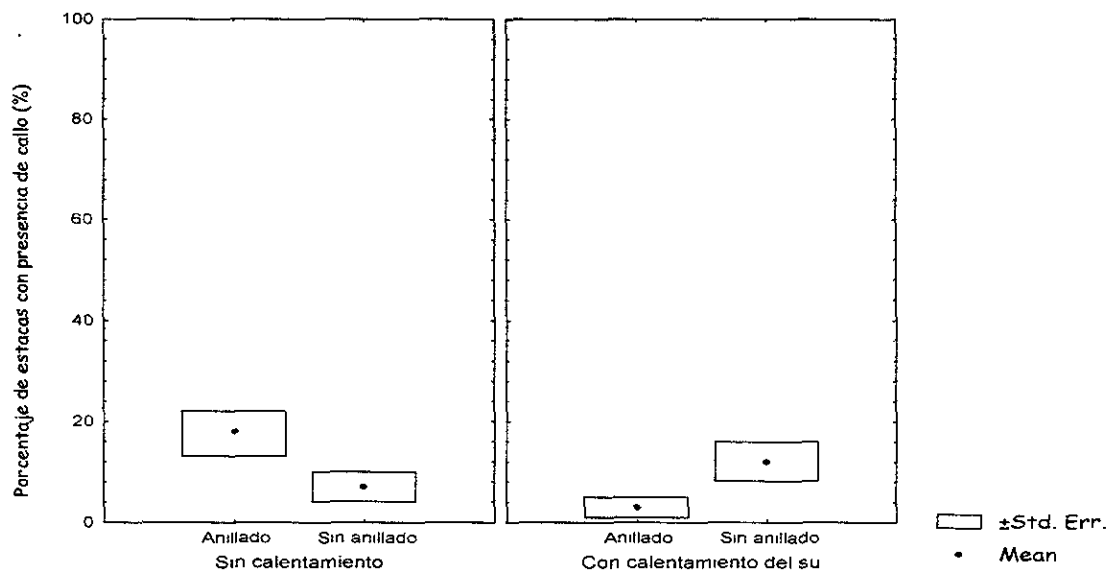


Figura 12. Efecto del anillado y el calentamiento del sustrato hormonal a la formación de callo en estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* para la colecta de septiembre.

El anillado practicado aumenta la respuesta de callos en las estacas sembradas sin calentamiento en el sustrato como podemos observar en la gráfica, sin embargo, se observa la interacción contraria cuando el sustrato es calentado, ya que la presencia del anillado esta disminuyendo la formación de callos en las estacas. Mientras que el experimento fechado en febrero no presenta dicha interacción significativa $F_{(1,296)}= .09$; $p < .7615$.

Temperatura y tratamiento hormonal

Las variables temperatura y tratamientos también muestran una interacción significativa en el experimento realizado en febrero ($F_{(4,290)}= 3.08$; $p < .0166$) pero no en el experimento realizado en septiembre ($F_{(4,290)}= 1.52$; $p < .1956$).

La Figura 13 muestra la interacción de las variables mencionadas durante el análisis de febrero, en ésta podemos ver que la forma de la gráfica es aparentemente la misma con diferencias en Raizone plus 3/1 y en el talco inerte (control). La diferencia entre los tratamientos hormonales es mucho mayor sin calentamiento que con él. El primer tratamiento donde se utiliza Radix 10,000 ppm es el más exitoso, la gráfica demuestra formación de callos en mas del 50% de las estacas de dicho tratamiento. Los errores estándar de Radix 10,000 ppm se sobrepone en ambos casos (con calentamiento y sin calentamiento), una alta dispersión de los datos, que sugiere que no existe una diferencia real entre las concentraciones de la hormona, y que las diferencias no muestran un solo tratamiento exitoso, aunque Radix concentrado en ambos casos alcanza un 10% mayor que la mezcla diluida por lo que podemos suponer que Radix concentrado es mas efectivo para la formación de callo en estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*.

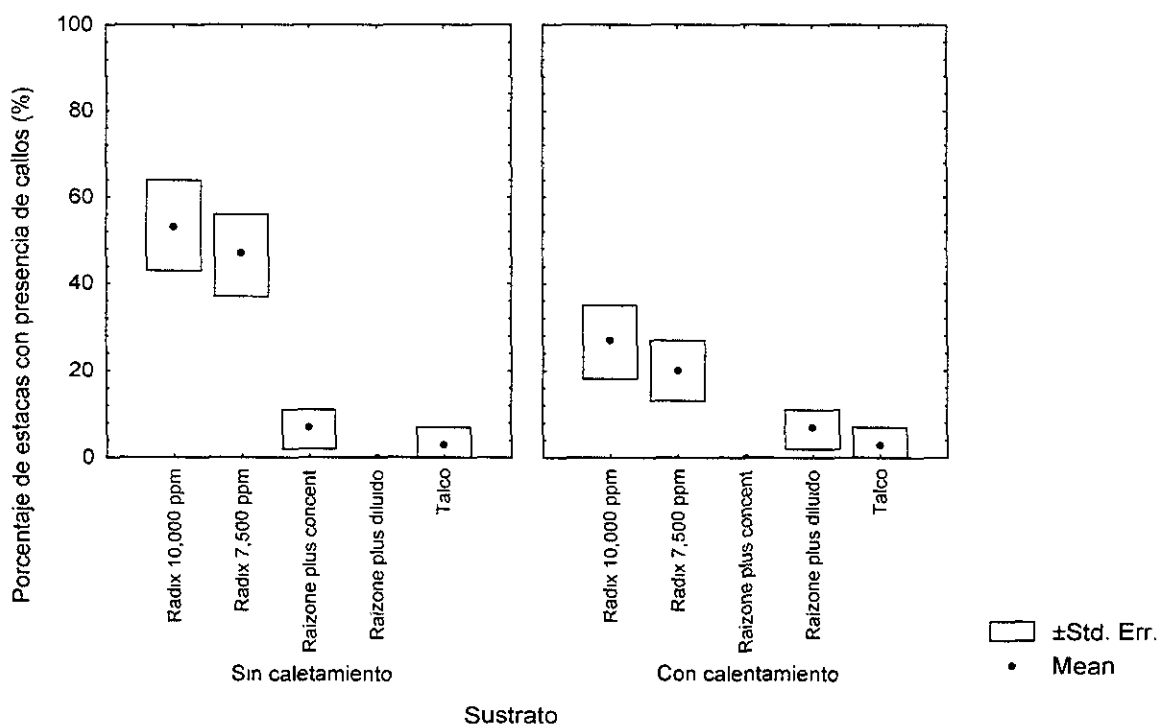


Figura 13. Efecto del tratamiento hormonal, y el calentamiento del sustrato a la formación de callos de estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* para la colecta de febrero.

Interacciones entre tres variables

Anillado, temperatura y tratamiento hormonal.

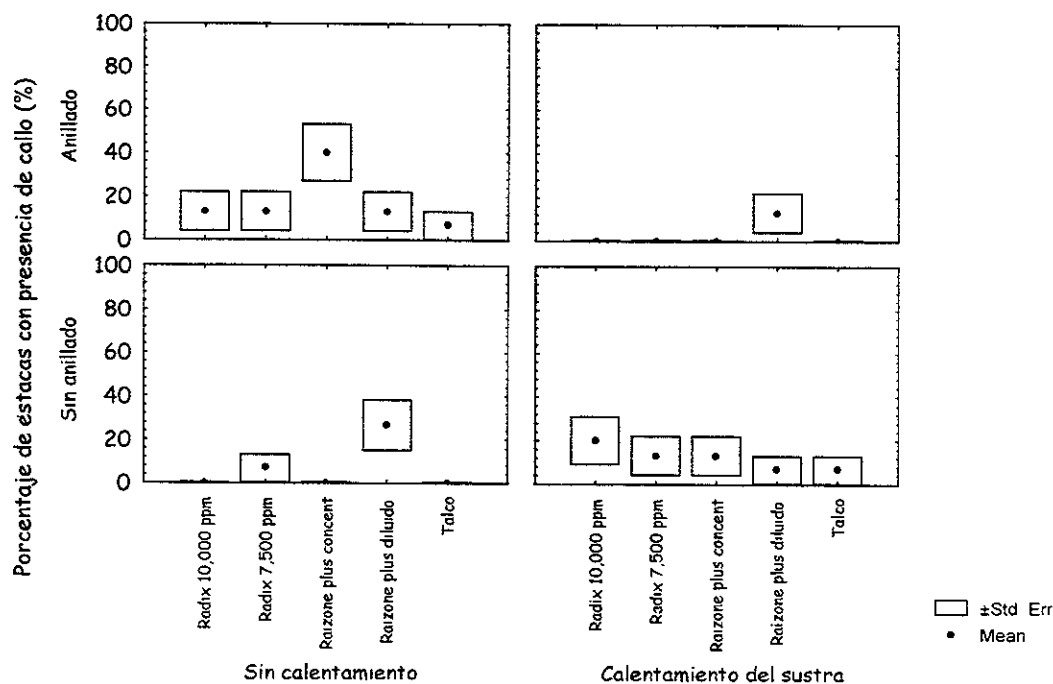


Figura 14. Efecto del anillado, el calentamiento del sustrato y el tratamiento hormonal a la formación de callos de *Pinus ayacahuite* para la colecta de septiembre.

La interacción de las variables anillado, temperatura y tratamientos del mes de septiembre fue significativa ($F_{(4,280)} = 3.34$; $p < .0108$) y se muestra en la Figura 14. El valor mas alto corresponde a Raizone plus concentrado, con anillado practicado y sin temperatura. El siguiente valor alto corresponde a la hormona Raizone plus diluido, sin anillado practicado y sin calentamiento en el sustrato, en presencia del calentamiento del sustrato, la respuesta de las estacas en menor, y diferente que sin calentamiento, el valor mas elevado corresponde a Radix 10,000 ppm, sin anillado practicado. La interacción entre anillado practicado, y calentamiento del sustrato obtuvo poca respuesta comparado con el resto de las interacciones.

La interacción de las tres variables analizadas también la encontramos en el experimento realizado en febrero, y que podemos observar en la Figura 15. La Figura 15, muestra en la primera columna (sin calentamiento en el sustrato) la mayor respuesta (Radix 7,500 ppm, con anillado practicado). La diferencia con el tratamiento de la misma marca comercial de hormona pero sin diluir no es tan grande, y el error estándar nos sugiere y que no hay una diferencia real entre los tratamientos de esta marca y que la interacción resulta significativa por la diferencia de ambas con el resto de los tratamientos hormonales aplicados.

Sin anillado encontramos que la forma es diferente ya que la mayor respuesta fue en Radix 10,000 ppm. El Raizone plus que no muestra respuesta, con un ligero efecto en el talco inerte. La segunda columna corresponde a calentamiento del sustrato, donde nuevamente tiene mayor éxito con anillado practicado Radix 10,000 ppm, con anillado practicado la mayor respuesta se encontró con Radix 7,500 ppm, y mantiene la forma que se presenta sin anillado en la gráfica sin calentamiento en el sustrato.

En el experimento realizado en febrero se formo una raíz en una de las estacas tratadas en una cama sin calentamiento en el sustrato, sin anillado practicado y tratada con Radix 7,500 ppm, esta carecía de un callo y se encontraba a 1,8 cm de la base de la estaca, y a .5 cm sobre el nodo de la base.

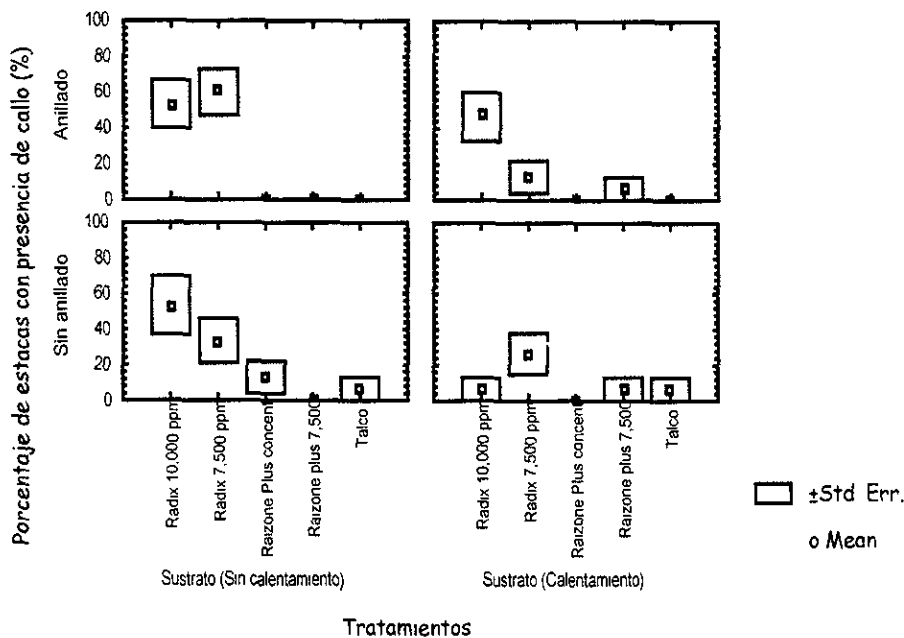


Figura 15. Efecto del anillado, el calentamiento del sustrato y el tratamiento hormonal a la formación de callos de estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* para la colecta de febrero.

DISCUSIÓN

La época del año en la que se colectan las estacas puede ser la clave para obtener mejores resultados. Según Hartmann (1994), en las especies perennifolias con hojas delgadas se pueden esperar mejores resultados desde finales de otoño hasta finales del invierno. El experimento realizado por Becerra en 1992 con *Pinus greggii* compara tres colectas, una en diciembre, otra en marzo y la última en julio. De ellos en la que se obtuvo el mejor resultado fue la realizada en marzo. Mezies et al (1999), con *Pinus radiata* en Nueva Zelanda, concluye que los mejores resultados se obtienen cuando las colectas se realizan antes de la primavera. Van Buijten y Shaw (1999), describen con *Pinus taeda* en Estados Unidos que la época de colecta de estacas que produce mejores resultados es entre el otoño y el invierno, pero creen que para cada época de colecta se deben cambiar las condiciones y que se pueden disminuir las diferencias en el enraizamiento, sin embargo, no reportan resultados en verano.

La variable con la que analizamos la época del año, indica que fue más favorable para el enraizamiento de las estacas de *Pinus ayacahuite*, fue la colecta realizada durante el invierno (febrero), coincidiendo con Hatmann, Becerra, Mezies, Van Buijten y Shaw, sin embargo hay que recordar la observación que realizan estos últimos autores sobre las condiciones para alcanzar el éxito en distintas épocas del año. Ya que en esta investigación encontramos que las condiciones en las que se obtiene el mayor porcentaje de callos en ambas fechas son distintas, como se muestra en las Figuras 14 y 15, así podemos concluir que para la época de colecta en invierno las condiciones en las que se presenta mayor porcentaje de callo, son únicamente para esa época del año y que las condiciones más favorables en verano (septiembre) no son necesariamente son iguales a las del invierno, y por lo tanto, no encontraremos una "receta" para todo el año.

La práctica de anillado fue una de las variables que se introdujo a este experimento debido a lo encontrado en la literatura eran frecuentes para el método de estacas enraizadas (Hatmann, 1994; Vázquez 1997), sin embargo, no encontramos ninguna referencia para el género *Pinus*. Como resultado de esta investigación encontramos que la presencia del anillado en las estacas aumenta la respuesta a la formación de callo únicamente cuando se presenta en ciertas condiciones de calentamiento del sustrato (ausencia) y tratamiento hormonal. Sin

embargo también pudimos observar que cuando el anillado y la presencia del calentamiento del sustrato interactúan la respuesta se ve disminuida notablemente (Figura 12).

El calentamiento del sustrato puede aumentar la respuesta de las estacas según Iglesias et al 1996, igual que en los experimentos de Santelices (1991), en los que encontró que el sustrato en el que se elevó la temperatura se obtenía mayor respuesta. En este experimento encontramos que el aumento en la temperatura del sustrato disminuye la respuesta de las estacas, de tal manera que en todos los casos resultan más exitosos los tratamientos sin calentamiento del sustrato. Este dato puede resultar de mucha utilidad para el manejo operativo de este método ya que resulta más económico.

La razón por la que obtuvimos diferentes resultados con las marcas hormonales, la encontramos en su composición. La mayoría de las especies forestales enraízan adecuadamente con AIB, pero se ha observado que para algunos clones la adición de ácido naftalenacético resulta más benéfica Vázquez (1997). Esta puede llegar ser la diferencia más importante que existe entre los tratamientos uno y dos, con tres y cuatro, la presencia de ANA, como pudimos observar en el experimento realizado con estacas colectadas en febrero al mayor porcentaje de estacas con presencia de callo se obtiene con la marca Radix en cual contiene además del AIB, una pequeña cantidad de ANA (Tabla 1). Raizone plus además de contener el AIB contiene fungicidas e insecticidas, característica que comparte con el enraizador Hare's, utilizado por Buijten y Shaw (1999) con gran éxito. Aún así no podemos concluir que la presencia de estos compuestos inhibieran la formación de raíz, además de que fue el mejor enraizador para el experimento de septiembre, en donde si le podemos atribuir a estos compuestos la respuesta obtenida, ya que las condiciones aunque fueron idénticas en el ambiente controlado, tuvieron una diferencia adicional; las estacas que fueron limpiadas profundamente y mantenidas con fungicidas e insecticidas pueden haber obtenido ventajas para el desarrollo de la respuesta de callos en sus bases. Por otro parte, encontramos que la investigación realizada por Becerra (1992) con *Pinus greggii*, de los enraizadores utilizados, incluyendo Radix 10,000 ppm, resultó ser mejor Raizone Plus e incluso el único enraizador que obtuvo respuesta.

Hernández y Musalem (1978) realizaron en su investigación un hallazgo en el que coincidimos, se trata de la observación de las interacciones de las variables, a través del mismo método estadístico, concluyeron que la presencia de tres diferentes variables aumentaba el enraizamiento de sus estacas. En este trabajo la mayor respuesta se encontró con la

combinación de la variable del tratamiento hormonal, en este caso, Raizone Plus concentrado, con la variable anillado, que en este caso es con anillado practicado y la variable calentamiento del sustrato en su modalidad de ausencia de temperatura en le sustrato, para el experimento realizado en septiembre (Figura 14) y Radix 10,000 ppm, diluido a 7,500 ppm, sin calentamiento en el sustrato y anillado practicado en el experimento realizado en febrero (Figura 15).

En la investigación realizada por Hernández y Musalem (1978), se compararon los registros de lluvias con los resultados, y evidenciaron la importancia de la precipitación con la respuesta, sin embargo, al realizar este experimento comparamos estacas que tienen como antecedente a la misma época de lluvias y por lo que los datos de lluvias y temperatura no resultan relevantes, ya que además, 1999 y 2000, fueron años que presentan similitud a los años anteriores. Este análisis sería de mayor utilidad si la comparación fuera entre varios años de colecta.

La formación de raíz no es precedida forzosamente de un callo, fue el caso de la raíz que se desarrollo en el experimento realizado en febrero, con esta evidencia podemos afirmar que la especie *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* tiene la capacidad de formar callos y raíces sin ser unos necesarios para la formación de otros, además de que la especie *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* puede ser enraizada, lo cual no fue posible en este primer ensayo, si embargo, esto puede ser el primer paso para que en estudios posteriores se logre el objetivo general de esta y otras investigaciones.

La edad de la planta madre puede ser sumamente importante para la propagación vegetativa por estacas enraizadas en especies de madera dura, y en particular en le género *Pinus* (Zobel y Talbert, 1994; Mezies, 1999; Van Buijten y Shaw, 1999). En esta investigación no se realizó preparación alguna de los individuos donadores de estacas, lo que probablemente fue una causa importante para que no se pudiese cumplir con el objetivo general.

Duryea y Dougherty (1991), mencionan que una atmósfera enriquecida de CO_2 , puede contribuir a que la sobrevivencia de las estacas sea mayor, y no pierdan vigor, evitando el estado de estrés lo que podría habernos ayudado a enraizar las estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*.

Si este trabajo fuese parte de una investigación a largo plazo, el siguiente paso sería cuidar a individuos de corta edad hasta los primeros tres años, y a través de podas consecutivas lograr gran cantidad de ramas (futuras estacas), las cuales serian colectadas en

los meses: enero, febrero y marzo, sin que estas tengan 100% de hojas secundarias, y se pondrían nuevamente a prueba los tratamientos utilizados, e incluso uno de menor concentración, ya que las estacas jóvenes pueden dañarse si la corteza no es dura, sería descartado el calentamiento del sustrato por no ser operativo, y por las bases que esta investigación aporta. Lo relevante es que se encontrará en esta investigación, es que la clave del éxito puede localizarse en la interacción de las variables adecuadas. Incluso puede realizarse con otras especies del género *Pinus*, que son importantes por diversas causas y en las cuales no se ha realizado una investigación como la que aquí se concluye.

CONCLUSIONES

Explorar condiciones experimentales para llevar a cabo propagación vegetativa a través del método de estacas enraizadas en *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*, fue el objetivo general de esta investigación. Considerando el éxito en el desarrollo del diseño experimental este objetivo si se cumplió, aunque, sin el alcance esperado. La hipótesis del trabajo fue: Si se manipulan las condiciones experimentales (tratamientos con fitohormonas, calentamiento del sustrato, época de colecta de las estacas y anillado) entonces se pueden producir condiciones que favorezcan el enraizamiento de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* ; A esta pregunta obtuvimos una respuesta positiva, sin embargo al igual que el objetivo general, sin el alcance que esperábamos, debido a que la respuesta de las estacas fue la formación de callo, respuesta con la que fueron elaborados los resultados, sin embargo, la formación de la única raíz fue la que permitió que pudiésemos afirmar la hipótesis.

Las afirmaciones que se presentan a continuación son derivadas de la raíz obtenida.

La época de colecta más eficaz para enraizar estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*, es en el invierno (febrero).

La marca comercial de hormonas más eficaz para enraizar estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*, es Radix 10,000 ppm.

La concentración de hormonas más eficaz para enraizar estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii*, es Radix 7, 500 ppm.

El aumento de la temperatura del sustrato no favorece el enraizamiento de la especie.

La presencia de anillado no favorece el enraizamiento de estacas de estacas de *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* .

Literatura citada

- ✓ Alhgren C. (1972) Some effects of inter and intraspecific grafting on growth and flowering of some five needle pines. *Silvae Genetica*. 21(3-4): 122-126.
- ✓ Baldwin E. y Mason W. (1986) An early trial of sitka spruce cuttings. *Scottish Forestry* 4Q: 176-184.
- ✓ Barbosa G. (1987) *Manual de injertos de especies forestales*. Bol. Tec. No 1 Centro de Genética Forestal, A. C. Chapingo, México.
- ✓ Barbosa G., Sánchez A. y Velazco F. (1984) *Pruebas de injertado en Pinus pseudostrobus var. oaxacana Mtz. En los altos de Chiapas*. Bol. Tec. No. 99 INIF, México.
- ✓ Becerra O. (1992) *Ensayos de propagación en Pinus greggii Engelm., por enraizamiento de estacas, injertado y acodo*. Tesis de Licenciatura para obtener el título de Biol. Esc. de estudios profesionales de Zaragoza. UNAM México.
- ✓ Campos J. (1993) *Claves para la identificación de pinos mexicanos*. Dirección de Difusión cultural. UACH. México
- ✓ Carson M. (1986) Advantages of clonal forestry for *Pinus radiata*, real or imagin? *NZ Journal of Forestry Sciences* 16(3) 403-415.
- ✓ Cowan, J (1973) Peat-sawdust mixture as a propagating médium. *Combined Proceedings of the International Plant Propagatrs' Society* 23: 384-387.
- ✓ Dakin, A. (1974) Vegetative propagation of rimu (*Dacrydium cupressinum*), with cuttings from nursery plants. *New Zeland Journal of Forestry* 19 (2): 276-285.
- ✓ Duryea M. y Dougherty (1991) *Forest regeneration manual*. Kluwer Academic Publishers. Londres.
- ✓ Eguiluz Piedra, T (1978) *Ensayo de integración sobre el conocimiento del genero Pinus*. Tesis Profesional. E.N.A.CH. Chapingo, México.
- ✓ Farjon A. (1996) *Biodiversity of Pinus (Pinaceae) in Mexico: Speciation and Paleoendemism*. Botanical Journal of Linnean Society 121: 365-384
- ✓ Gill J. (1983) *Comparisons of production cost and genetic benefit of transplants and rooted cuttings of Picea sitchensis*. *Forestry* 56(1) 61-73.
- ✓ Hamann A. (1998) *Adventitious root formation in cuttings of loblolly pine (Pinus taeda L.): developmental sequense and effects of maturation*. *Trees* 12: 175-180.

- ✓ Hartmann T. y Kester D. (1990) *Propagación de plantas*. Compañía editorial continental SA de CV. México.
- ✓ Hartmann T. y Kester D. (1994) *Propagación de plantas*. Compañía editorial continental SA de CV. México.
- ✓ Hartmann T., Kester D., Davies F. Jr y Geneve R. (1998) *Plant propagation: principles and practices*. Sixth edition. Prentice Hall. New Jersey.
- ✓ Hernández L. y Musalem S. (1978) Estudio de algunos factores que afectan el prendimiento de estacas duras de *Populus* y *Acer* en Chapingo, México: *Populus alba*. Revista bimestral de la Universidad de Chapingo, 1978 (9): 3, Editorial Nueva Época.
- ✓ Iglesias G, Pioto J. y Alarcon M. (1996) *La propagación vegetativa de plantas forestales*. Revista de Ciencia forestal en México Vol. 21. Núm. 79. Enero-Junio. México
- ✓ Lewis A. (1977) *Bioestadística*. Editorial Continental S.A. México, D.F.
- ✓ Marín, A. (1998) *Propagación vegetativa de dos podocarpáceas del bosque andinocolombiano, con problemas de propagación sexual*. Smurfit Cartón de Colombia. Informe de investigación forestal (Cali) No. 186. 11p.
- ✓ _____. (1998) *Ecología y silvicultura de las podocarpáceas andinas de Colombia*. Smurfit Cartón de Colombia. Cali.
- ✓ Menzies M., Faulds T., Dibley M. y Aitken-Christie J. (1999) *Vegetative propagation of radiata pine in New Zeland*. *Procedings of the international simposium on nursery management. Practices of Southern pines. 23/06/1999.*
<http://www.forestry.auborn.edu/sfnmc/pubs/manuscri/vegetative.pdf>
- ✓ Momose, Y. (1978) *Vegetative propagation of Malaysian trees*. The Malaysian Forester 41 (3): 219-223.
- ✓ Perry J. (1991) *The pines of Mexico and Central America* . Timber press. Portland Oregon.
- ✓ Prieto R. (1992) *Estudio de algunos factores que influyen en la propagación por estaquillas de Cupresus guadalupensis S Wats*. Tesis de maestría en ciencias de la división de ciencias forestales. Univ. Autónoma de Chapingo. Chapingo México.

- ✓ Richardson D. y Higgins S. (1998) Pines as invaders in the southern hemisphere. En: Richardson D. (ed). *Ecology and biogeography of Pinus*. Cambridge University Press. Reino Unido
- ✓ Salas L. R. (1998) *La inferencia filogenética como una aproximación a la historia natural del género de hongos endófitos Lophodermium Chev. (Ascomycota) en dos especies mexicanas de pinos*. Tesis de licenciatura. Facultad de ciencias. UNAM.
- ✓ Santelices, R. (1991) Propagación vegetativa de tepa (*Laurelia philippiana*), lingue (*Persea lingue*), y manio (*Podocarpus saligna*) a partir de estacas. *Ciencia e investigación forestal* 5 (2): 195-202.
- ✓ Scheffler W. (1981) *Bioestadística*. Fondo Educativo interamericano. México, D.F.
- ✓ Simoes J. et al (1981) *Formacao manejo exploracao de florestas com especies de rapido crecimiento*. IBDF Brasil.
- ✓ Taiz L. y Zeiger E. (1992) *Plant physiology*. The benjamin/cumming publishing Company, Inc. Redwood City California.
- ✓ Van Buijtenen J. y Shaw D. (1999) Vegetative propagation of loblolly pine. *Proceedings of the international simposium on nursery management. Practices of Southern pines. 23/06/1999*. <http://www.forestry.auborn.edu/sfnmc/pubs/manuscri/vegetative.pdf>
- ✓ www.beta.semarnap.gob.mx/pfnm/PinusAyacahuite.html
- ✓ www.conabio.gob.mx
- ✓ www.dendrome.ucdavis.edu/rangemap/ayacahuite.gij
- ✓ www.inifap.gob.mx
- ✓ www.mor.inegi.gob.mx
- ✓ Zobel B. y Talbert J. (1994) *Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales*. LIMUSA. México

ANEXO 1

La columna SEP indica la respuesta de las estacas de *Pinus ayacahuite* Ehrenberg ex Schlechtendal var. *veitchii* G.R. Shaw, colectadas en septiembre de 1999:

1. Sin respuesta.
2. Formación de callos
3. Presencia de raíz

La columna FEB indica la respuesta de las estacas colectadas en febrero de 2000:

1. Sin respuesta.
2. Formación de callos
3. Presencia de raíz

La variable calentamiento del sustrato corresponde a la columna SUSTRATO:

1. Sin calentamiento del sustrato
2. Con calentamiento del sustrato

La variable tratamiento hormonal corresponde a la columna TRATAMIENTO:

1. Radix 10,000 ppm
2. Radix 7,500 ppm
3. Raizone Plus concentrado
4. Raizone Plus diluido
5. Talco

La variable practica de anillado corresponde a la siguiente columna:

1. Sin anillado practicado
2. Con anillado practicado

La variable HORMONA (siguiente columna), contiene a los tratamientos separados por en marcas de hormonas utilizadas.

1. Radix 10,000 ppm.
2. Raizone Plus.
3. Talco.

SEP	FEB	SUSTRATO	TRATAMIENTO	ANILLADO	HORMONA	
1	2	1	1	1	2	1
1	2	1	1	1	2	1
1	2	1	1	1	2	1
1	2	1	1	1	2	1
1	2	1	1	1	2	1
1	2	1	1	1	2	1
1	3	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	2	1
1	1	1	1	1	2	1
2	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1	1

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

