

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Estimulación del Encallado en Estacas de Manzano con IBA Acidificado y

Falta de Oxigenación

Por:

JOSÉ DE JESÚS MEDINA BASURTO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila, México

Octubre de 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Estimulación del Encallado en Estacas de Manzano con IBA Acidificado y

Falta de Oxigenación

Por:

JOSÉ DE JESÚS MEDINA BASURTO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

Aprobada

Dr. Marco Antonio Bustamante García

Asesor Principal

Dr. Juan José Galván Luna

Coasesor

Dr. Víctor Manuel Reyes Salas

Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera

Coordinación
División de Agronomía
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Octubre de 2014

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por brindarme la oportunidad de culminar este esfuerzo, por permitirme regresar a mi Escuela, de la cual solo he recibido satisfacciones y bellos recuerdos y darme cuenta del inmenso cariño y agradecimiento que le tengo. Hoy regreso después de 25 años de experiencias profesionales y de vida con la intención de mostrar lo que gracias a ella ahora soy. Gracias Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”.

A la familia Velázquez Gámez, quienes fueron parte fundamental para ingresar y permanecer en la “Antonio Narro”.

A mis maestros y compañeros, los que están y los que ya no, por formar parte de mi formación profesional y humana.

Al Dr. Marco Antonio Bustamante por creer en mí a pesar de haber transcurrido tanto tiempo, por dirigir y orientar este trabajo dándole validez y certeza a través de su experiencia y sus conocimientos.

A mi hermana Rosa María que en los inicios de este trabajo me brindó su apoyo para realizar los primeros bosquejos de este.

A mi prima Lety Gracia, por compartirme sus conocimientos para dar valor estadístico de manera formal a este trabajo.

A mi primo Migue y a toda su familia, por abrirnos las puertas de su casa en todos los viajes a Saltillo que fueron necesarios para la culminación de este trabajo.

A mis Padres por creer en mi y brindarme la oportunidad de estudiar, de crecer y realizarme como un hombre de bien.

A mi familia: Maggy, Ximena y Chuchino, por siempre estar a mi lado sin condiciones y por el apoyo que me han brindado para la realización de este sueño, al igual que todos los sueños que hemos emprendido como siempre, juntos. Por su paciencia, esfuerzo, ayuda, cariño y comprensión GRACIAS.

DEDICATORIA

Bien me dice Maggy que los tiempos de Dios son perfectos, y que las cosas suceden cuando tienen que suceder. Hoy 25 años después he tomado la decisión de concluir este trabajo y este tiempo me ha permitido tener contacto con muchas personas que hace 25 años no lo tenía y de alguna u otra forma se han hecho presentes a lo largo de estos años y que ahora son parte importante de mi vida por lo tanto me permite dedicarles con todo mi corazón este trabajo.

Existen personas que han estado en mi vida a lo largo de estos 25 años de vida profesional y personal; a quienes me une un lazo sentimental y afectivo y a quienes no hubiese podido dar esta muestra de afecto si no hubiera dejado que este tiempo transcurriera, mis amigos, los nuevos y los de siempre, los Armadillos, los Jefes, mis primos con sus familias que también son mi familia; mis tías, mi nueva familia, Lourdes, Lulú, Carolina, Estefy.

Existen también personas que estuvieron desde los primeros años de mi vida y que son de gran importancia en la formación del ser humano que soy y que lamentablemente no están ya conmigo y lamento no poderles decir cuánto los quiero. Se lo orgullosos estarían de mí por este logro y que felices serían si les pudiera entregar este trabajo en sus manos y que les dedico con todo mi cariño: mis Abuelos Mundita, Pepe, Yolanda y Chucho, los quiero.

Hay personas que han estado presentes en mi vida todo este tiempo, mis hermanas Rosa y Alicia, a quienes les dedico este trabajo al igual que a sus hijos: Alis, Pepe, Pete y Juan Pablo.

A mis Padres, los seres que me dieron la vida y quienes hoy, al igual que hace 25 años, y a lo largo de toda mi vida han estado a mi lado brindándome su apoyo incondicional y su cariño infinito, con ese mismo cariño les dedico este trabajo y les digo gracias por ser los Padres que son y le agradezco a Dios la bendición de tenerlos y poderles dar esta muestra de mi respeto y cariño.

Existen dos seres que se han convertido el motor de mi vida y que son el mayor regalo que Dios y Maggy me han podido dar: Ximena y Chuchino. La razón más poderosa para que a pesar del tiempo que ha pasado haya decidido concluir este esfuerzo que inició hace más de 25 años y ahora se los dedico con todo mi corazón, como una muestra del amor infinito que les tengo y una constancia de que todo lo que uno quiere en la vida es posible, siempre y cuando uno lo desee, trabaje y luche con todo su corazón hasta lograrlo.

Por último a Maggy, mi roca, mi fortaleza, el amor de mi vida quien siempre me ha apoyado en cada uno de los proyectos que he emprendido en mi vida desde que está a mi lado, por tu amor incondicional, por el impulso que siempre me has dado, por darme tu vida, te dedico este trabajo, el cual te pertenece y del cual eres parte fundamental, como muestra de mi amor inagotable por ti, desde hace 25 años y hasta el fin de mis días.

INDICE DE CONTENIDO

	INDICE DE TABLAS	vi
	INDICE DE FIGURAS	ix
	RESUMEN	xi
I	INTRODUCCION	1
1.1	OBJETIVOS.....	2
1.2	HIPOTESIS.....	2
II	REVISION DE LITERATURA	3
2.1	ORIGEN Y CLASIFICACION TAXONOMICA.....	3
2.2	IMPORTANCIA MUNDIAL DEL MANZANO.....	4
2.3	IMPORTANCIA DEL MANZANO EN MEXICO....	5
2.4	PROPAGACION DEL MANZANO.....	8
2.4.1	Propagación de las Variedades.....	8
2.4.1.1	Injertado.....	8
2.4.2	Propagación de los Portainjertos.....	9
2.4.2.1	Propagación por semilla.....	10
2.4.2.2	Propagación por acodo.....	11
2.4.2.3	Propagación por estacas.....	15
2.4.2.4	Micropropagación.....	20
2.5	ANATOMIA Y FISILOGIA DEL ENRAIZAMIENTO	24
2.5.1	Anatomía.....	24
2.5.2	Fisiología.....	26
2.6	FACTORES QUE AFECTAN EL ENRAIZAMIENTO	29
2.6.1	Auxinas.....	29
2.6.2	Etileno.....	41
2.6.3	Lesionado.....	58
2.6.4	Oxígeno.....	70
2.6.5	pH.....	86
III	MATERIALES Y METODOS	98
3.1	UBICACIÓN DEL LUGAR.....	98
3.2	EXPERIMENTO 1: Efecto del pH del Acido Indol-3-Butírico en el Encallado de Varetas del Portainjerto de Manzano MM-111.....	98
3.2.1	Material Utilizado.....	98
3.2.2	Métodos Utilizados.....	99
3.2.3	Tratamientos.....	99
3.2.4	Encallado.....	101
3.2.5	Evaluaciones.....	102
3.3	EXPERIMENTO 2: Efecto de la falta de Aireación En el Encallado de Varetas del Portainjertos de Manzano MM-106 Tratados con Ácido Indol Butírico y sin Ácido Indol Butírico	103
3.3.1	Material Utilizado.....	103
3.3.2	Métodos Utilizados.....	104
3.3.3	Tratamientos.....	104

3.3.4	Encallado.....	105
3.3.5	Evaluaciones.....	106
3.4	EXPERIMENTO 3: Influencia de la Profundidad En la Cama sobre el Encallado de Varetas de Portainjertos de Manzano.....	106
3.4.1	Materiales y Métodos Utilizados.....	106
3.4.2	Tratamientos.....	106
3.4.3	Encallado.....	107
3.4.4	Evaluaciones.....	107
3.5	ANALISIS ESTADISTICO.....	108
3.5.1	Diseño Experimental.....	108
3.5.2	Análisis de Varianza	108
IV	RESULTADOS	109
4.1	EXPERIMENTO 1: Efecto del pH del Acido Indol-3-Butírico en el Encallado de Varetas del Portainjerto de Manzano MM-111.....	109
4.1.1	Tamaño de Callo.....	110
4.1.2	% Varetas Encalladas.....	110
4.1.3	% Varetas Enraizadas.....	111
4.1.4	Numero de Raíces.....	112
4.1.5	Longitud de Raíces	112
4.2	EXPERIMENTO 2: Efecto de la falta de Aireación en el Encallado de Varetas del Portainjerto de Manzano MM-106 tratados con Ácido Indol Butírico y sin Ácido Indol Butírico.....	113
4.2.1	Tamaño de Callo.....	114
4.2.2	% Varetas Encalladas.....	115
4.2.3	% Varetas Enraizadas.....	116
4.2.4	Numero de Raíces.....	117
4.2.5	Longitud de Raíces	118
4.3	EXPERIMENTO 3: Influencia de la Profundidad En la Cama sobre el Encallado de Varetas de Portainjertos de Manzano.....	118
4.3.1	Tamaño de Callo.....	120
4.3.2	% Varetas Encalladas.....	122
4.3.3	% Varetas Enraizadas.....	124
4.3.4	Numero de Raíces.....	124
4.3.5	Longitud de Raíces.....	124
4.3.6	% Supervivencia.....	125
V	DISCUSION	125
5.1	EXPERIMENTO 1: Efecto del pH del Acido Indol-3-Butírico en el Encallado de Varetas del Portainjerto de Manzano MM-111.....	126
5.2	EXPERIMENTO 2: Efecto de la falta de Aireación En el Encallado de Varetas del Portainjerto de Manzano MM-106 tratados con Ácido Indol Butírico y sin Ácido Indol Butírico.....	128

5.3	EXPERIMENTO 3: Influencia de la Profundidad en la Cama sobre el Encallado de Varetas de Portainjertos de Manzano.....	131
VI	CONCLUSIONES	132
VII	LITERATURA CITADA	135
VIII	APENDICE	150

INDICE DE TABLAS

No. de Tabla	DESCRIPCION	Pág.
1	Principales países productores de manzana	4
2	Efectos del Oxígeno en el enraizamiento de estacas de portainjertos de manzano	74
3	Tratamientos EXPERIMENTO 1	100
4	Acomodo de los tratamientos en bloques completamente al azar EXPERIMENTO 1	101
5	Programa de riegos y aplicaciones en cama de encallado de estacas de manzano.	102
6	Tratamientos EXPERIMENTO 2	105
7	Acomodo de los tratamientos del EXPERIMENTO 2	105
8	Acomodo de los tratamientos del EXPERIMENTO 3	107
9	Bloques con respecto a la profundidad en la cama de encallado EXPERIMENTO 3	107
10	Promedios de los parámetros evaluados EXPERIMENTO 1	109
11	Promedios de los parámetros evaluados EXPERIMENTO 2	114
12	Parámetros evaluados EXPERIMENTO 3	119
13	Promedios de los parámetros evaluados EXPERIMENTO 3	120
A1	Promedio del tamaño del callo en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 1)	150
A2	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 1 (Tamaño de callo)	150
A3	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 1 (Tamaño de Callo)	151
A4	Promedio del porcentaje de varetas encalladas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 1)	151
A5	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 1 (%Varetas Encalladas)	152
A6	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 1 (% de Varetas Encalladas)	152
A7	Promedio del porcentaje de varetas enraizadas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 1)	153
A8	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 1 (% Varetas Enraizadas)	153
A9	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 1 (% Varetas Enraizadas)	154
A10	Promedio del número de raíces en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 1)	154

A11	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 1 (Número de Raíces)	155
A12	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 1 (Número de raíces)	155
A13	Longitud promedio de raíces por varetas enraizadas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 1)	156
A14	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 1 (Longitud de Raíces)	156
A15	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 1 (Longitud de raíces)	157
A16	Promedio del tamaño de callo en varetas encalladas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 2)	157
A17	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 2 (Tamaño de Callo)	158
A18	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 2 (Tamaño de Callo)	158
A19	Prueba LSD Tamaño de callo en varetas encalladas EXPERIMENTO 2	159
A20	Promedio del porcentaje de varetas encalladas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 2)	159
A21	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 2 (% de Varetas Encalladas)	160
A22	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 2 (% de Varetas encalladas)	160
A23	Promedio del porcentaje de varetas enraizadas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 2)	161
A24	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 2 (% Varetas Enraizadas)	162
A25	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 2 (% de Varetas enraizadas)	162
A26	Promedio del número de raíces por varetas enraizadas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 2)	163
A27	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 2 (Número de Raíces)	164
A28	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 2 (Número de Raíces)	164
A29	Prueba LSD Número de raíces en varetas enraizadas EXPERIMENTO 2	165
A30	Promedio de la longitud de raíces en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 2)	165
A31	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 2 (Longitud de Raíces)	166
A32	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 2 (Longitud de Raíces)	166

A33	Promedio del tamaño de callo en varetas encalladas en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA EXPERIMENTO 3	167
A34	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (Tamaño de Callo)	168
A35	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 (Tamaño de Callo)	168
A36	Promedio del % de Varetas Encalladas en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA EXPERIMENTO 3	169
A37	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 % (Varetas Encalladas)	170
A38	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 (% Varetas Encalladas)	170
A39	Prueba LSD % Varetas Encalladas EXPERIMENTO 3	170
A40	Promedio del % de Varetas Enraizadas en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA EXPERIMENTO 3	171
A41	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (%Varetas Enraizadas)	172
A42	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 (% Varetas Enraizadas)	172
A43	Promedio del Número de Raíces en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA EXPERIMENTO 3	173
A44	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (Número de Raíces)	174
A45	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 (Número de Raíces)	174
A46	Promedio de la Longitud de Raíces en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA. EXPERIMENTO 3	175
A47	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (Longitud de Raíces)	176
A48	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 (Longitud de Raíces)	176
A49	Promedio del Porcentaje de Supervivencia en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA. EXPERIMENTO 3	177
A50	Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (% de Supervivencia)	178
A51	Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 (% de Supervivencia)	178
A52	Prueba LSD % Supervivencia EXPERIMENTO 3	178

INDICE DE FIGURAS

No. De Figura	DESCRIPCIÓN	Pág.
1	Frutos del manzano	3
2	Consumo per cápita de manzano en el mundo	6
3	Selección de manzana en México	7
4	Injerto de yema	9
5	Injerto de púa	11
6	Acodo de punta	12
7	Acodo simple	13
8	Acodo compuesto o serpentino	13
9	Acodo aéreo	13
10	Acodo de montículo	14
11	Propagación por estacas	16
12	Laboratorio de cultivo de tejidos	21
13	Importación de la micropropagación en Anturios	22
14	Micropropagación	22
15	Cultivo de tejidos en laboratorio	23
16	Partes de la raíz	24
17	Regiones de desarrollo celular	25
18	Partes de la raíz (corte transversal)	26
19	Estructura del Acido Indolacético (IAA)	31
20	Acido Naftalenacético (NAA); Acido Indolbutírico (IBA)	31
21	Modelo propuesto para la redistribución de auxinas en respuesta al gravitropismo	33
22	Anabolismo y Catabolismo	40
23	Molécula de etileno	42
24	Transductor sensor de posición, usado como un auxanómetro de raíces	43
25	Coleóptilo	47
26	Acido Indol-3-Acético 2-C ¹⁴	48
27	Mitosis	56
28	Lesionado	59
29	Sistema vascular de una estaca	60
30	Formación de raíces adventicias	62
31	Comparación de descortezado basal y corte longitudinal en Marianna 2624	63
32	Anillado o anillo de corteza	64
33	Elicitores	67
34	Enraizamiento de estacas de sauce	72
35	Respuesta hiponástica	73
36	Aparato experimental usado para la medición simultánea de la producción de etileno en tallos y raíces	75

37	Porcentaje de esquejes de nochebuena enraizados después de inmersión en agua durante diferentes períodos de tiempo	77
38	Respiración celular, producción de ATP	79
39	Plántulas de trigo cultivadas bajo condiciones de aireación	84
40	Puntas de las primeras raíces seminales de trigo bajo condiciones de aireación	85
41	Formación de aerénquima en raíces seminales de plántulas de trigo bajo condiciones de aireación y estancamiento	86
42	Célula vegetal	90
43	Incremento en la elongación de raíces por un pH ácido	91
44	Inhibición del crecimiento en respuesta al ácido por la auxina	92
45	Tratamiento de varetas con IBA	100
46	Modelo de cama de encallado de estacas	101
47	Tamaño del callo de los diferentes tratamientos con IBA acidificado	110
48	Porcentaje de varetas encalladas en los diferentes tratamientos con IBA acidificado	111
49	Porcentaje de varetas enraizadas en los diferentes tratamientos con IBA acidificado	111
50	Número de raíces en los diferentes tratamientos con IBA acidificado	112
51	Longitud de raíces en los diferentes tratamientos con IBA acidificado	113
52	Tamaño del callo en diferentes tratamientos de aireación con IBA y sin IBA	115
53	Porcentaje de varetas encalladas en diferentes tratamientos de aireación con IBA y sin IBA	116
54	Porcentaje de varetas enraizadas en diferentes tratamientos de aireación con IBA y sin IBA	116
55	Número de raíces en diferentes tratamientos de aireación con IBA y sin IBA	117
56	Longitud de Raíces en diferentes tratamientos de aireación con IBA y sin IBA	118
57	Comparación del tamaño del callo en diferentes tratamientos con respecto a los BLOQUES	121
58	Comparación del tamaño del callo en diferentes tratamientos promediando resultados por BLOQUES	121
59	Comparación del porcentaje de encallado y el porcentaje de sobrevivencia en diferentes tratamientos con respecto a los BLOQUES	122
60	Comparación del porcentaje de encallado, el porcentaje de enraizamiento y el porcentaje de sobrevivencia en diferentes tratamientos promediando resultados por BLOQUES	123
61	Comparación del porcentaje de encallado y el porcentaje de sobrevivencia en tratamientos por BLOQUES	123

RESUMEN

Se realizaron tres diferentes experimentos para identificar los tratamientos que promuevan el encallado de estacas de portainjertos de manzano. El primer experimento consistió en ajustar el pH de una solución de Ácido Indol Butírico (IBA) con tres diferentes ácidos [Clorhídrico (HCl), Cítrico (AC) y Ascórbico (AA)], con el cual se trataron estacas de portainjertos MM-111 para promover su enraizamiento, encontrando que el pH entre 6 y 7 estimula el encallado, obteniendo los mayores porcentajes de varetas encalladas y el mayor tamaño de callo cuando el pH fue ajustado a estos valores, con cualquiera de los tres diferentes ácidos. El Ácido Ascórbico fue el ácido con el que se obtuvieron los mejores resultados, mostrando las mismas tendencias en el porcentaje de varetas enraizadas, así como en el número y longitud de las raíces. El testigo sin ningún tratamiento de acidificación del IBA presentó los resultados más bajos. El segundo experimento consistió en los tratamientos de ausencia o presencia de oxígeno durante diferentes periodos de tiempo a estacas de portainjertos MM-106, desde 0 hasta 32 horas sin aireación, seguidos por períodos de aireación provista por bombas aireadoras, además de dar tratamientos con auxinas (IBA), o sin ellas. Los mejores resultados se obtuvieron en los tratamientos en que se aplicó IBA y mostrando los mejores resultados en los tratamientos de 1 y 2 horas sin aireación, seguidos por 31 y 30 horas con aireación. Por último, se evaluó la profundidad de las estacas en la cama de encallado (5, 20 y 35 cm), encontrando que a una profundidad de 35 cm existe menor encallado, menor enraizamiento y menor porcentaje de sobrevivencia de las estacas de portainjertos MM-111 y MM-106.

ABSTRACT

Three different experiments were carried out to determine the best treatments to promote the callus formation of cuttings of Apple rootstocks. The first experiment consisted in adjust the pH of the Indole Butyric Acid (IBA) solution with three different acids [Chlorhydric (HCl), Citric (AC) and Ascorbic (AA) to promote rooting of rootstock MM-111 cuttings. We found that the pH between 6 and 7 stimulates the callus formation, obtaining the highest percentages of cuttings with callus formation and the larger size of callus when the pH was adjusted to those values with any of three different acids. Ascorbic Acid treatments were the best ones, showing the same trends in the percentage of rooted cuttings as well as in the number and length of roots. The control without any treatment of acidification of the IBA solution showed the lower results. In the second experiment treatments of absence or presence of oxygen during different periods of time to MM-106 rootstocks cuttings, from 0 to 32 hours without aeration, followed by aeration with air pumps, in addition to treatment with Auxin (IBA), or without them. The best results were obtained when we applied IBA, and showing the best results in treatments with 1 and 2 hours without aeration followed by 31 and 30 hours with aeration. Finally the depth of cuttings in the rooting bed was evaluated (5, 20, and 35 cm) finding that the deeper the cuttings the lower callus formation in cuttings, with lower rooting and lower percentage of survival of cuttings of rootstocks MM-111 and MM-106.

PALABRAS CLAVE: Encallado, pH, Oxigenación, Etileno, Acido Indol butírico, Portainjertos, Manzano

I. INTRODUCCIÓN

México cuenta con plantaciones de manzana en 22 estados de la república, pero son cinco los más importantes, con Chihuahua a la cabeza que con el 33% de la superficie sembrada, produce el 69% de la producción total; Coahuila, Durango y Puebla cuentan con el 46% de la superficie y producen el 20%.

El estado de Coahuila, y en particular la Sierra de Arteaga, ocupan un lugar importante en la producción de manzana del país, por esta razón el cultivo del manzano es una importante fuente económica del estado.

El manzano se propaga asexualmente injertando las variedades deseadas en patrones enraizados u obtenidos mediante acodado de montículo principalmente. Los patrones, que son producidos por semilla o clonados utilizando cultivo de tejido o acodo, se dejan crecer durante 1 año. Cuando el nuevo árbol está preparado, se corta una vareta del cultivar deseado y se injerta, acortando el tronco y eliminando las ramas superiores del portainjertos. Con el tiempo, las dos secciones crecen juntas, dando los frutos de la variedad que se injertó.

Como método de propagación comercial, el acodado requiere considerable mano de obra y es laborioso y caro. Por esta razón las tendencias en propagación se han orientado a cambiar el acodado por otros procedimientos a medida que se desarrollan. El acodado en manzano puede ser sustituido con procedimientos mejorados para la propagación de estacas de madera dura.

Otro problema que se presenta en la propagación por acodo es el desperdicio de material o madera del patrón, ya que al momento de injertar, aproximadamente un metro de la vareta ya enraizada se desperdicia. Para solucionar este problema se pretende aprovechar el material sobrante, enraizando las estacas que se pudieran tomar de esta madera.

El enraizado de estacas de manzano es difícil y bajo, lo cual se trata de remediar dando tratamientos complementarios a las estacas, los cuales pueden elevar su porcentaje de enraizamiento.

Se ha demostrado que aplicar Acido Indol-3-Butírico (IBA), a 1500 ppm mediante una rápida inmersión por 10 segundos es efectivo en la inducción del enraizamiento en estacas de madera dura de patrones de manzano MM-106 y EM-111(Ashiru, 1967).

Otros tratamientos que pudieran mejorar el enraizamiento de las estacas son el acidificar la solución del IBA para facilitar la absorción de éste por las estacas; así como someter a las varetas a condiciones anaeróbicas, seguidas

por aireación para promover la síntesis de etileno, el cual también puede estimular el encallado y enraizamiento en las estacas.

Por otra parte, no se conoce cuál es la profundidad adecuada para colocar las varetas en la cama de encallado.

1.1 OBJETIVOS

- 1.1.1 Determinar si ajustando el pH de la solución de IBA con diferentes ácidos, se mejora el encallado y enraizamiento de estacas del portainjertos de manzano MM-111.
- 1.1.2 Determinar si dando tratamientos de falta de oxígeno en la base de las estacas, seguidos por aireación, además de aplicar o no aplicar IBA pudieran mejorar el encallado y enraizamiento de estacas del portainjertos de manzano MM-106.
- 1.1.3 Determinar cuál es la profundidad ideal para realizar el encallado de los portainjertos de manzano MM-111 y MM-106.

1.2 HIPOTESIS

El encallado y enraizamiento de las estacas de los portainjertos de manzano MM-111 y MM-106, estará influenciado por el pH de la solución de IBA y el ácido utilizado, por los tratamientos de oxigenación a la base de las estacas tratadas o no tratadas con IBA, así como por la profundidad a la cual se coloquen las estacas en las camas de encallado.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ORIGEN Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Se cree que el manzano cultivado es originario del oeste de Asia; este de Europa y sudoeste de Siberia. Varios manzanos silvestres y otras especies de “*malus*” son asimismo, nativas de China, India y Norteamérica.

Es un árbol de tamaño mediano (12 m de altura), caducifolio, de copa redondeada, abierta y numerosas ramas que se disponen casi de manera horizontal. Posee hojas ovaladas, suavemente dentadas en los bordes y de fuerte color azul con pubescencia en el envés.

El nombre del género *Malus* proviene de latín *malus*: manzana, que a su vez procede del griego *mêlon*: manzana (Figura 1).

Clasificación Taxonómica

Phylum: Angiospermas (Angiospermae)
Clase: Dicotiledónea
Tipo: Rosácea
Familia: Rosáceas
Subfamilia: Pomoideas
Género: *Malus*
Especie: *Malus Domestica*

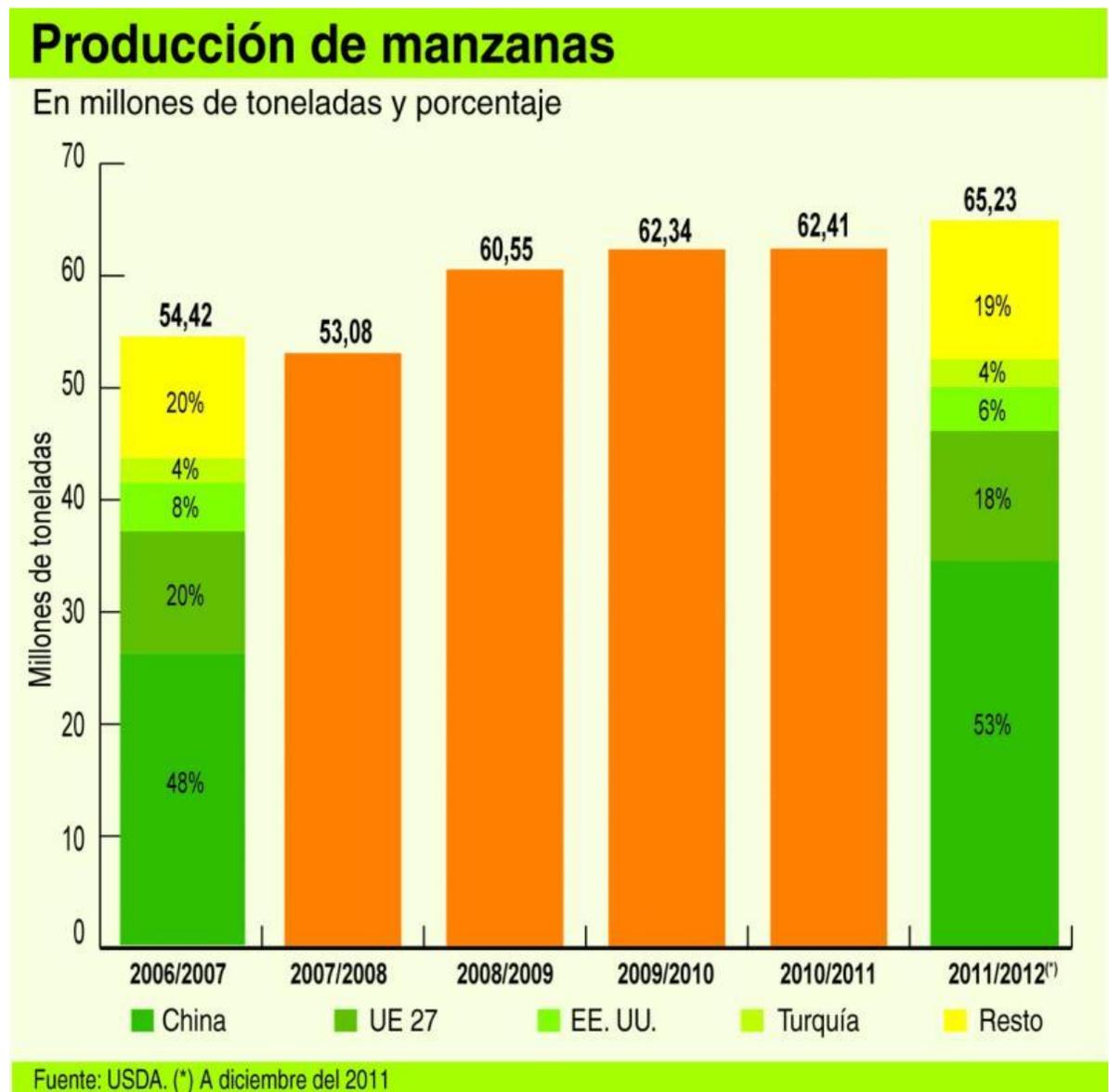


FIGURA 1: Frutos del manzano

2.2 IMPORTANCIA MUNDIAL DEL MANZANO

El manzano se cultiva en más regiones del mundo que cualquier otra especie frutal, y se ha considerado como el principal frutal de clima templado, pues representa la mitad de la superficie plantada en el mundo de este tipo de frutales.

TABLA 1: Principales países productores de manzana. USDA, Diciembre 2011



La producción mundial, la diversidad de formas en que puede ser consumido su fruto, sus propiedades alimenticias y terapéuticas, así como sus posibilidades de conservación confirman su importancia.

Los países productores de manzana más importantes en el mundo son: Estados Unidos, Italia, Alemania Federal, Francia, Japón y China.

.A escala mundial se producen aproximadamente 65.23 millones de toneladas de manzana al año en una superficie de 5.6 millones de hectáreas, siendo China el principal productor con más de 20 millones de toneladas, seguido de Estados Unidos de América con 5.0 millones. Estos países aportan el 45% de la producción mundial, mientras que México aporta 0.46 millones de toneladas al año (Tabla 1) (USDA 2011).

Este volumen es un 4% superior respecto del correspondiente al año anterior y un 11% en comparación con el promedio de las últimas cinco temporadas (06/07-10/11).

Así lo detalla un reciente estudio elaborado por el Departamento de Estado de Agricultura de Estados Unidos en el que se destaca que la participación de China en la oferta global de esta especie continúa creciendo en desmedro del resto de los países productores (USDA, 2011).

2.3 IMPORTANCIA DEL MANZANO EN MEXICO

En México los estados con mayor superficie y producción de manzana son en orden de importancia Chihuahua, Durango y Coahuila. Las tendencias nacionales son estables en superficie pero inestables en cuanto a la producción dado a factores climáticos como lo pueden ser las heladas tardías y el granizo entre otros.

Debido a que el consumo per cápita de manzana en México aumentó de 3.7 a 7.9 Kg de 1980 al 2000, la importación de manzana ha cobrado cada vez mayor auge, ya que la producción nacional no abastece las necesidades de los consumidores en el país, lo que obliga a nuestros productores y empresarios a ser más competitivos, ya que debe satisfacerse primero la demanda del mercado nacional y después buscar posicionarse de mejor manera internacionalmente (SAGARPA-SIAP, 2010).

La manzana como fruta fresca ha mostrado un crecimiento sostenido positivo en el consumo e importación en México, según datos de SAGARPA-SIAP; y si consideramos que de acuerdo al censo de población 2010 de INEGI, México tiene 112 Millones de habitantes, obtenemos que el consumo de manzana para este año fuera de 7.2 Kg/Persona (Figura 2).

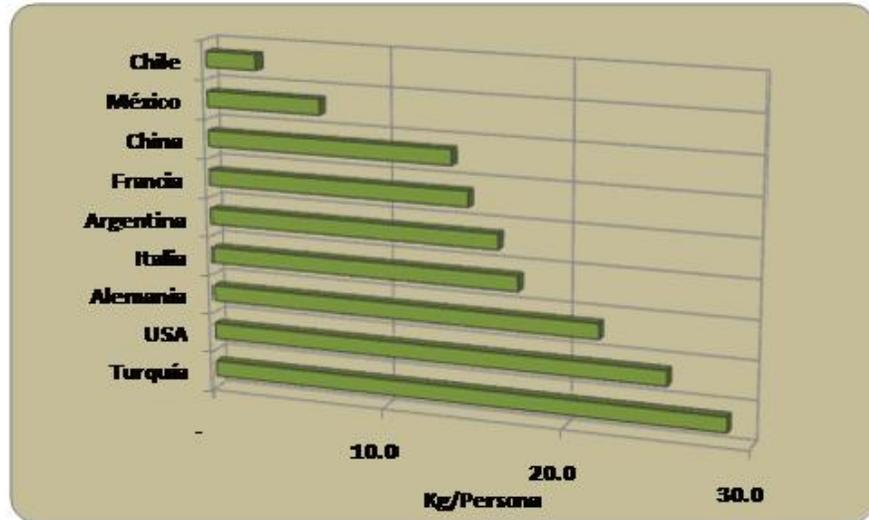


FIGURA 2: Consumo per cápita de manzano en el mundo SAGARPA-INEGI 2010.

En la última década, la superficie plantada de manzana en México ha permanecido estable. En el 2011, ésta ascendió a 61,292 hectáreas, la producción nacional de manzana registró su récord al alcanzar 630,500 toneladas, nivel que representa un crecimiento de 3.6% en relación con el año previo.

Cabe destacar que en 2007, las heladas tardías y granizadas que se registraron en la Sierra de Arteaga hicieron disminuir la producción de esta fruta, la cual, en un inicio, esperaban que fuera de alrededor de 40 mil toneladas.

Durante el 2008 la producción de manzana en el municipio de Arteaga fue de un millón 400 mil cajas, aproximadamente unas 28 mil toneladas, un 30 por ciento menor que lo obtenido en 2007.

Para 2010 se logró la cosecha en Coahuila de 1.8 millones de cajas, en más de siete mil hectáreas establecidas. En el 2011, para el cultivo de manzano se tienen establecidas 7,018 hectáreas de las cuales el 44% son de riego, esperándose obtener una producción de 50 mil toneladas (2 millones de cajas) cifra superior en un 12.5% al año anterior; el rendimiento por hectárea es de 5.27 toneladas por hectárea.

Los Municipios productores se conforman con Arteaga y General Cepeda; en Arteaga se cuenta con una superficie de 7,015 hectáreas, el valor que genera esta producción es de 235.5 millones de pesos y General Cepeda se suma con 3 hectáreas con un monto de 117 mil pesos. Lo anterior suma un total de 7,018 hectáreas con un valor en la producción de 235.5 millones de pesos. La producción de Manzana está referida básicamente al municipio de

Arteaga con una producción de 36,984 toneladas y un precio medio rural de 6,368 por tonelada (SAGARPA 2012).

Debido a las condiciones climáticas, altitud y calidad de los suelos de la región de la Sierra de Arteaga, el manzano ha encontrado en ella un hábitat favorable para su desarrollo, y este es el motivo por el cual se ha incrementado con los años la superficie de este cultivo y ha estimulado a los fruticultores regionales a mejorar variedades y a poner en práctica mejores métodos de manejo del cultivo, hasta llegar a ser Coahuila el segundo productor a nivel nacional.

USDA-FAS en su reporte Global Agricultural Information Network en Noviembre del 2011 (México, Fresh Deciduous Fruit Annual), pronostica una producción de manzana en México para 2011/12 de 605,000 Toneladas, con un incremento respecto a la cosecha anterior del 3.4%. Señala que el Estado de Chihuahua incrementará su producción con el año anterior ya que existieron mejores condiciones ambientales, sin embargo un medio ambiente seco resultó en un menor tamaño de las manzanas (Figura 3).

Los costos de producción se ubican en el rango de \$2,240 a \$3,200 Dlls USA/Ha, con tendencia a la alza si se dispone de equipo para el control de heladas y nuevos sistemas de riego, aumentando también costos de electricidad, combustibles y empaque.

El pronóstico de consumo para 2012 es de 710,740 Ton., a nivel nacional, y se espera un comercio de manzana importada ligeramente superior al año anterior debido a los mejores precios por la eliminación del arancel.



FIGURA 3: Selección de manzana en México

2.4 PROPAGACIÓN DEL MANZANO

2.4.1. PROPAGACIÓN DE LAS VARIEDADES

2.4.1.1 INJERTADO.

Las variedades de manzano se propagan injertando la variedad o cultivar deseado en un patrón de otro cultivar dado.

El injerto consiste en unir dos porciones de tejido vegetal viviente, de tal forma que posteriormente crezcan y se desarrollen como una sola planta.

Existen varias razones para injertar, o bien, el injerto se utiliza con varios fines, tales como:

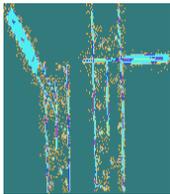
- Perpetuar clones que no se pueden reproducir con facilidad por estacas, acodos, división u otros métodos de propagación asexual.
- Obtención de beneficios de otros patrones.
- Cambio de cultivares en plantas establecidas.
- Aceleración del crecimiento de plántulas seleccionadas.
- Obtención de formas de crecimiento especiales.
- Reparación de partes dañadas de árboles.
- Estudio de enfermedades virosas.

Comercialmente hablando, el manzano se injerta ya que sus variedades comerciales no tienen capacidad de reproducirse asexualmente por estacas, acodos, etc. ya que tienen un bajo porcentaje de enraizamiento. Otra razón para injertar es la aceleración del crecimiento del cultivar seleccionado, en otras palabras, reducir el periodo en que la planta entra en productividad, ya que una plántula requiere de 5 a 10 años para fructificar, e injertando se reduce considerablemente este periodo. Los primeros 3 años el árbol no produce fruto, sólo madera y hojas, del 2º al 6º año empieza a dar fruto, a partir del 6º año hasta el 15 hay un equilibrio entre fructificación y producción de madera.

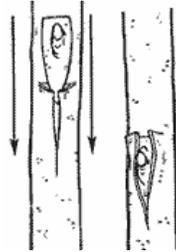
Por último lo que se busca al injertar manzano es aprovechar los beneficios de los patrones existentes, tales como tolerancia a suelos pesados o excesiva humedad, tolerancia a sequía, resistencia a plagas y enfermedades, portainjertos enanizantes, que aceleren la entrada de la fructificación, buen enraizamiento, anclaje, etc., debido a que los cultivares con buenas cualidades de sus frutos no poseen las características de los patrones arriba mencionados.

En la propagación del manzano se usa el injerto de yema en "T" (Figura 4), practicado en otoño o en primavera; injertar por astilla también tiene éxito.

En algunos lugares se usan injertos de raíz, por lo general de raíz entera.



Corte en "T" del patrón



Inserción de la yema



Atado de la yema

FIGURA 4: Injerto de yema.

El injerto de yema en T o de escudete es el más utilizado para producir árboles frutales. Se injertan yemas de variedades de árboles sobre patrones obtenidos de semilla (principalmente) o bien, patrones obtenidos de estacas.

Los cultivares de manzano injertados en patrones obtenidos de semilla producen un árbol más grande que los injertados en la mayoría de los patrones clonales.

2.4.2 PROPAGACIÓN DE LOS PORTAINJERTOS

El empleo de patrones o portainjertos enanizantes en Manzano acelera la entrada en producción de la plantación.

Para plantaciones semi-intensivas se recomienda la utilización de portainjertos clonales de vigor medio (Ascasíbar y Otero, 2013), entre los cuales se aconsejan:

MM 106: Para terrenos equilibrados, y resistente al pulgón lanígero. Vigor medio. (Variedad usada en este trabajo).

MM 7: Buen comportamiento en terrenos húmedos, tolerante a la pudrición del cuello. Vigor medio.

MM 111: (Material vegetativo utilizado en este trabajo). Buena opción en terrenos secos, mayor adaptación a la sequía. Vigor elevado.

Los patrones de manzano se pueden propagar por semilla, por acodo, por estacas y más sofisticadamente por micropropagación o cultivo de tejidos.

2.4.2.1 PROPAGACIÓN POR SEMILLA

El cultivo de plántulas se emplea en la propagación de más especies y cultivares que cualquier otro medio de propagación. Es posible cultivar comercialmente plantas leñosas perennes a partir de semilla, aunque también puede haber otros métodos vegetativos.

Por semilla tiene el inconveniente de que no se obtienen plantas exactamente iguales a la planta madre, ya que es el resultado de la combinación de genes del padre y de la madre. Por tanto, quizás la descendencia no conserve las buenas características que nos interesan de la planta madre.

Existen varios tipos de tratamientos previos para romper la latencia y posibilitar así la germinación:

1. **Estratificación fría:** someterlas a unos meses de frío (+4° C).
2. **Escarificación:** rajar o erosionar la capa externa de las semillas.
3. **Agua hirviendo:** introducir en agua en ebullición y luego en agua fría.
4. **Uso de sustancias químicas:** Como los reguladores de crecimiento

Generalmente el manzano requiere de un proceso de escarificación (quitar cascara a la semilla para facilitar la germinación), previo a un proceso de estratificación a temperaturas de 2 a 5° C durante 1 o 2 meses. Otras semillas no precisan ningún tratamiento y se siembran directamente.

Los patrones de manzano procedentes de semilla se usan ampliamente en los Estados Unidos.

La fuente principal de semillas es el bagazo de las manzanas procesadas. Para la siembra en primavera las semillas requieren para germinar estratificación de 60 a 90 días, a temperaturas de 2 a 7° C. Algunos viveros plantan las semillas en otoño para que reciban el enfriamiento natural del invierno. Para evitar que las plántulas sean forzadas en a salir de la costra del terreno, este se debe rastrillar en la primavera. Para obtener un sistema radicular ramificado, se puede hacer un corte debajo de las plántulas cuando están pequeñas para impedir que desarrollen una raíz pivotante. Sin embargo, cuando se injerta de banco, se prefiere una raíz recta. Las plántulas que no alcancen un tamaño satisfactorio en un año se deben eliminar.

Los patrones obtenidos de semilla son moderadamente rústicos y presentan resistencia a la agalla de la corona. Algunos cultivares de manzano

se propagan por semilla como portainjertos y algunos tienen características achaparrantes.

La propagación sexual es una práctica común para obtener portainjertos francos sobre los cuales se puede injertar de púa o de yema las variedades deseables (Figura 5).



FIGURA 5: Injerto de púa

2.4.2.2 PROPAGACIÓN POR ACODO

El acodado es un método de propagación en el cual se provoca la formación de raíces adventicias a un tallo que está todavía adherido a la planta madre. Luego, el tallo enraizado, acodado, se separa para convertirlo en una nueva planta que crece sobre sus propias raíces.

El acodo tiene ventajas sobre el estacado, ya que la rama acodada sigue recibiendo agua y minerales debido a que no se corta el tallo y el xilema permanece intacto, mientras que una rama separada (estaca) depende de mantenerse un período de tiempo antes de que se efectúe el enraizado.

Existen cuatro usos principales del acodado:

1. La propagación de especies de plantas como la frambuesa negra y la zarzamora rastrera que se reproducen naturalmente por ese método.
2. La propagación de clones de plantas cuyas estacas no enraízan con facilidad, pero son suficientemente valiosos como para justificar el costo y el trabajo requeridos para acodarlos. Por ejemplo, los avellanos se propagan por acodo simple y las vides muscadina por acodos compuestos. Se reproducen por acodo en montículo o de trinchera patrones clonales específicos que controlan el tamaño de manzanos,

perales y otros árboles frutales. Ciertos frutales tropicales como el mango y el litchi se propagan por acodo aéreo.

3. El acodado es útil para producir plantas de tamaño grande en un tiempo corto. El acodo aéreo se usa en los invernaderos para propagar ejemplares relativamente grandes de la planta de caucho y de crotos. La dieffenbachia y plantas similares se pueden propagar por acodo simple.
4. El acodado simple o aéreo es valioso para producir un número relativamente grande de plantas de buen tamaño con un mínimo de instalaciones de propagación.

Hay varios tipos de acodo que son:

-Acodado de punta: El enraíce tiene lugar en la punta de las ramas de la estación en curso. Las ramas se doblan hacia el suelo y clavan a unos 7 u 8 cm de profundidad. Se sujetan con alambres. La punta de la rama empieza a crecer en el suelo hacia abajo pero se curva para producir en el tallo una vuelta pronunciada en donde se desarrollan las raíces. (Figura 6).



FIGURA 6: Acodo de punta

-Acodado simple: Se usan ramas bajas, flexibles, que se pueden doblar fácilmente hasta el suelo (Figura 7). Es necesario elegir ramas jóvenes, vigorosas y flexibles, de 1 ó 2 años. Se hace un corte en la zona a curvar, por la cara de abajo, de 2,5 cm de largo y en sentido diagonal para retener ahí la savia para que se formen raíces. Esta zona del corte irá enterrada. El corte se mantendrá abierto mediante una pequeña cuña de madera o rama. En lugar de un corte, se puede extraer un anillo de corteza alrededor de la rama, de unos 2 ó 3 cm. de longitud.

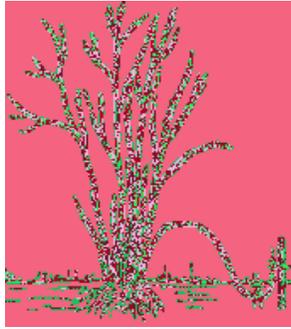


FIGURA 7: Acodo simple



FIGURA 8: Acodo compuesto o serpentino

-Acodado compuesto o serpentino: Se realiza como el acodo simple, con los mismos principios, pero enterrando la rama en varios puntos, en vez de en uno sólo. En esta forma se pueden tener varias plantas nuevas de una sola rama. (Figura 8).

-Acodado aéreo: Se selecciona una buena rama ó tallo. Se puede acodar a la vez hasta el 70% de la copa de un árbol o arbusto. Hay que hacer un anillo de corteza a unos 30 cm. de la punta de la rama, se efectúan con un cuchillo dos cortes paralelos y se extrae con cuidado la corteza de entre los dos cortes. Se aplica polvo de hormonas de enraizamiento; se coge un trozo de plástico transparente, se rodea con él la ramita y se ata con una cuerda en su parte inferior, se rellena con unos puñados de turba, se ata fuertemente con una cuerda para que la turba contacte perfectamente con el anillo de la corteza, inyectamos agua con una jeringuilla para humedecer. En un acodado resulta fundamental que no entre luz en las partes en que se desea se formen raíces. (Figura 9).

-Acodado en trinchera: El acodado en trinchera consiste en cultivar una planta o rama de planta en posición horizontal en la base de una trinchera o surco, y cubrir con tierra los brotes nuevos a medida que crecen, de tal manera que se ahílen sus bases al carecer de luz y emitan raíces.

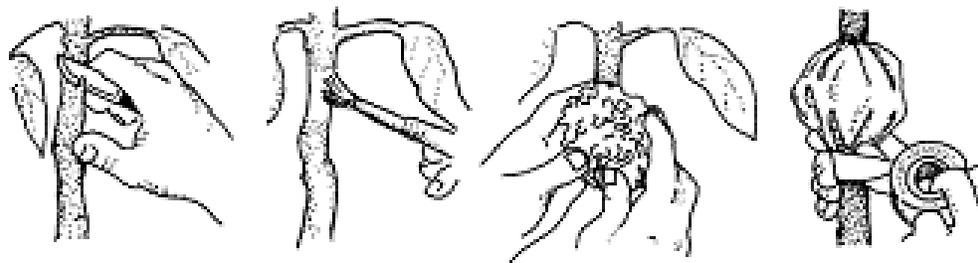


FIGURA 9: Acodo aéreo

-Acodo de montículo o banquillo: Para este tipo de acodado se corta la planta hasta el suelo, en la estación de reposo (invierno), y se amontona en primavera tierra, mantillo, turba o mezcla de ellos, alrededor de la base de los brotes nuevos para estimular la emisión de raíces. (Figura 10).

Los patrones de manzano se propagan comercialmente por acodo de montículo o banquillo.

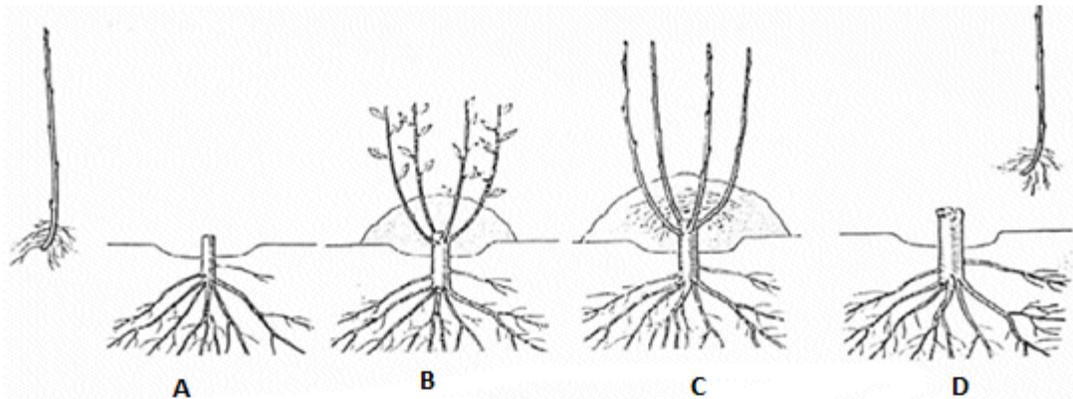


FIGURA 10: Acodo de montículo. A) Preparación de planta madre. B) Recalce o aporque de los brotes emitidos. C) Aparición de raíces en los brotes nuevos. D) Planta madre después del corte de las varetas enraizadas.

Una cama de banquillos se establece plantando material madre sano, de tamaño adecuado (8 a 10 mm. de diámetro), en un suelo fértil, suelto, bien drenado, unos años antes de que se vaya a empezar la propagación. Las plantas madre se deben colocar en el surco a una distancia de 30 a 38 cm., pero el espaciamiento entre surcos varía con las diversas condiciones y el tipo de equipo de vivero que se use.

Antes de que se inicie el crecimiento nuevo de la primavera siguiente, todas las plantas se recortaran hasta unos 2.5 cm. arriba del suelo (Figura 10-A). En el segundo año, usualmente se desarrollan de la corona de dos a cinco brotes, (Figura 10-B), pero en los años siguientes se producen más. Cuando los brotes han alcanzado una altura de 7.6 a 12.7 cm. se aporcan con tierra suelta, aserrín, o una mezcla de tierra y aserrín hasta la mitad de su altura. Una vez que alcanzan de 19 a 25 cm. de alto se hace un segundo aporcado. Se va añadiendo medio de enraizamiento adicional alrededor de las bases de las ramas, pero siempre no más de la mitad de su altura total. A mediados del verano se hace un tercer y último aporcado, cuando las ramas han llegado a una altura aproximada de 45 cm. Para entonces la base de las mismas está cubierta con tierra a una altura de 15 a 20 cm. (Figura 10-C).

Las ramas acodadas de plantas de propagación fácil deben haber enraizado lo suficiente al final de la estación de crecimiento como para ser separadas del banquillo materno y pasarse a los surcos de vivero. Los acodos enraizados se cortan cerca de su base para conservar baja la altura del

banquillo materno. Estos acodos enraizados se manejan como plántulas enraizadas y se trasplantan directamente a los surcos del vivero. (Figura 10-D).

Después de haber cortado las ramas, los banquillos maternos quedan expuestos hasta que las nuevas ramas han crecido de 8 a 13 cm., que es cuando se da principio a los aporques para el año siguiente.

Como método de propagación comercial, el acodado requiere considerable mano de obra y es laborioso y caro. Se han establecido camas especiales para acodar o “camas banquillos”, pero su manejo es difícil. Sin embargo, para aquellas plantas que requieren acodado, los viveros han desarrollado técnicas de manejo efectivas. No obstante, las tendencias en propagación se han orientado a cambiar el acodado por otros procedimientos a medida que se desarrollan. El acodado en manzanos puede ser sustituido con procedimientos mejorados para la propagación de estacas de madera dura.

2.4.2.3 PROPAGACIÓN POR ESTACAS

En la propagación por estacas, se corta de la planta madura una porción de tallo, raíz u hoja, después de lo cual esa porción se coloca en ciertas condiciones favorables y se induce a formar raíces y tallos obteniéndose con ello una planta nueva, independiente, que en la mayoría de los casos es idéntica a la planta madre.

Existen varios tipos de estacas, que se clasifican de acuerdo a la parte de la planta de que proceden, como sigue:

- Estacas de tallo
- Estacas de hoja
- Estacas con hoja y yema
- Estacas de raíz

Las estacas de tallo, que son el tipo más importante, se pueden dividir en cuatro grupos de acuerdo con la naturaleza de la madera que se use: madera dura (que son en las que se clasificarían las estacas de manzano), madera semidura, madera suave y herbáceas.

En la propagación por estacas de tallo, se obtienen segmentos de ramas que contienen yemas terminales o laterales, y que en condiciones apropiadas formarán raíces adventicias y se obtendrán plantas independientes (Figura 11).



FIGURA 11: Propagación por estacas

Las estacas de madera dura (de especies deciduas), son aquellas que se hacen de madera dura, madurada, después de que se han caído las hojas y antes de que aparezcan nuevos brotes en primavera. El uso de estacas de madera dura constituye uno de los métodos más baratos y fáciles de propagación vegetativa. Las estacas de madera dura son fáciles de preparar, no se echan a perder con facilidad, de ser necesario pueden ser enviadas a grandes distancias y durante el enraizamiento requieren poco o ningún equipo especial.

Las estacas de madera dura se preparan durante la estación, a fines de otoño, en invierno, o a principios de primavera, usualmente del crecimiento de la estación anterior.

El material de propagación para estacas de madera dura debe ser tomado de plantas madre sanas, de vigor moderado, que crezcan a plena luz solar. La madera escogida no debe proceder de crecimiento muy lozano con entrenudos anormalmente largos, o de ramas débiles de poco crecimiento del interior. La madera más adecuada es aquella de tamaño y vigor moderados. Las estacas deben tener una amplia provisión de nutrientes almacenados para alimentar a las raíces y ramas en desarrollo hasta que la nueva planta se vuelva autosuficiente. Las puntas de ramas, que de ordinario tienen pocas reservas alimenticias, se descartan. Las mejores estacas se obtienen de la parte central y basal.

Las estacas de madera dura pueden ser de una longitud muy variable, de 10 a 75 cm. Las estacas largas, cuando se usan como patrones de árboles frutales, permiten insertar la yema de la vareta del cultivar en la rama original después de que ha enraizado, en vez de hacerlo en una rama más pequeña que salga de la estaca original, tal y como se haría en una vareta enraizada por acodo. Esta podría ser una ventaja adicional en la propagación de portainjertos de manzano por estacas.

La estaca debe tener cuando menos dos nudos. El corte basal de ordinario se hace justo debajo de un nudo y el superior de 1.5 a 2.5 cm., por arriba del nudo superior. Sin embargo, al preparar estacas de tallo de entrenudos cortos, se presta por lo general, poca atención a la posición el corte basal, en particular cuando se preparan en grandes cantidades y de cierto tamaño.

El diámetro de las estacas puede variar desde 0.6 hasta 2.5 cm., y a veces hasta 5 cm., dependiendo de la especie (Hartmann y Kester, 1995).

Existen varios métodos para la preparación y manejo de las estacas antes de plantarlas (Hartmann y Kester, 1995):

1. Encallado en el invierno.

Durante la estación de reposo se preparan las estacas de tamaño uniforme, atándolas en manojos, colocando todas las puntas (extremo superior) hacia el mismo lado y se almacenan en condiciones húmedas y frías hasta la primavera. Los manojos de estacas se pueden enterrar a la intemperie en un suelo arenoso, en arena o aserrín en un sitio bien drenado. Se les puede colocar en posición horizontal o vertical pero en sentido invertido, teniendo cuidado que el extremo basal quede unos centímetros más abajo del nivel del suelo, con lo cual se logra que los extremos basales estén en condiciones algo más calientes y mejor aireados que los extremos superiores de las estacas. Este procedimiento tiende a estimular la iniciación de raíces en la base, mientras que retarda el desarrollo de las yemas en la punta. Al llegar en la primavera la época de plantar las estacas, los manojos se desentierran y se plantan con la orientación correcta. En regiones con invierno benigno, a menudo las estacas se almacenan durante el período de encallamiento en grandes cajas con arena, aserrín o musgo turboso húmedos, ya sea en un cuarto sin calefacción o a la intemperie. Sin embargo es probable que en regiones con temperaturas inferiores a cero, esta forma de almacenamiento no proporcione protección suficiente a las estacas. En esos climas, un sótano frío pero con temperaturas superiores a cero resulta satisfactorio. Si se dispone de cuartos refrigerados, las estacas se pueden almacenar sin riesgo durante el período de encallado a temperaturas de alrededor de 4.5°C hasta que legue el tiempo de plantarlas.

2. Plantación directa en primavera.

En especies que enraízan con facilidad, a menudo es suficiente coleccionar el material para estacas durante la estación de reposo, envolverlo en papel grueso o en polietileno con musgo turboso ligeramente húmedo y almacenarlo a temperaturas de 0 a 4.5°C hasta la primavera. Durante el almacenamiento no se debe permitir que el material para estacas se seque o esté húmedo en

exceso. En la época de plantación, se cortan las estacas al tamaño adecuado y se plantan en el vivero.

El material para estacas almacenado se debe examinar con frecuencia; si aparecen señales de desarrollo de yemas, se deben usar temperaturas de almacenamiento más bajas y plantarse sin demora. Si para cuando se plantan las estacas las yemas ya están muy desarrolladas, se formarán hojas antes de que aparezcan las raíces y las estacas morirán debido a la pérdida de agua por las hojas.

3. Plantación directa en otoño.

En regiones de invierno benigno, es posible hacer las estacas en otoño y plantarlas de inmediato en el vivero. Es posible que el encallado y el enraizado se efectúen antes de que inicie la estación de reposo, o bien, la formación de ramas y raíces se haga de manera simultánea en la primavera siguiente.

4. Encallado con temperaturas cálidas.

Se toman las estacas en el otoño mientras que las yemas están ya, o están por entrar, en el período de reposo, se tratan con alguna sustancia estimuladora del enraizamiento y luego se almacenan en condiciones húmedas a temperaturas relativamente cálidas, de 18 a 21° C, durante 3 a 5 semanas, para estimular el enraizamiento; después de ello, en climas benignos se plantan en el vivero o se mantienen en almacén frío (de 2 a 4.5° C) hasta la primavera.

5. Encallado con calor en el fondo.

Este método ha resultado exitoso en especies difíciles de enraizar, como patrones para manzano, peral, y ciruelo. Las estacas se colectan, ya sea en el otoño o a fines del invierno, tratándose los extremos basales con sustancias estimuladoras del enraizamiento (IBA a razón de 2500 a 5000 ppm) y colocándolas luego con las puntas hacia arriba durante unas cuatro semanas en material de empaque húmedo, con calor en el fondo de 18 a 21° C, pero dejando la parte superior expuesta a las frías temperaturas de la intemperie. Es mejor hacer el trabajo bajo techo, pero ventilado, para evitar la humedad excesiva de las lluvias. Las estacas se deben trasplantar antes que comience el crecimiento de las yemas, lo cual de ordinario se hace cuando empiezan a emerger las raíces. Para evitar la pudrición debe evitarse el exceso de agua en el medio de enraizamiento. En tanto se proporcione el estímulo correcto, no es esencial esperar la emergencia de las raíces para efectuar el trasplante.

6. Almacenamiento en bolsa de plástico.

Las estacas de madera dura se toman durante la estación de reposo, se sumergen las bases durante unos segundos en un material estimulador del enraizamiento, y se sellan las bolsas de polietileno, las cuales se colocan en la

oscuridad a una temperatura de unos 10° C. Aunque con este método se puede obtener un elevado porcentaje de enraizamiento, puede resultar difícil obtener la supervivencia de las estacas después del trasplante.

En la propagación por estacas es de gran importancia la fuente u origen del material. Las plantas madre de las cuales se obtengan, deben ser fieles al nombre y tipo, deben estar libres de plagas y enfermedades, y deben encontrarse en el estado fisiológico adecuado; de manera que las estacas que se tomen de ellas tengan probabilidades de enraizar.

Para obtener el material apropiado para estacas existen varias fuentes posibles, tales como: plantas que crecen en el paisaje, plantas jóvenes de vivero o plantas madres mantenidas como fuente de material para estacas, la cual es la fuente más adecuada.

Las estacas de muchas especies enraízan con facilidad en una gran diversidad de medios, pero en aquellos que lo hacen con dificultad puede tener gran influencia el tipo de medio de enraíce que se utilice, no solo en el porcentaje de estacas enraizadas sino también en la calidad del sistema radical formado.

En las estacas de tallo se puede estimular la producción de raíces lesionando su base. Se puede hacer con una navaja afilada un corte de 2.5 a 5 cm. a cada lado de la estaca, que pasen por la corteza y lleguen a la madera. Para obtener mayor beneficio, después de lesionadas, las estacas se deben tratar con algún compuesto que estimule el enraizamiento, ya sea preparada en talco o en solución, haciendo que el material penetre la herida.

El objeto de tratar estacas con sustancias reguladoras del crecimiento (hormonas), del tipo auxinas, es aumentar el porcentaje de estacas que forman raíces, acelerar la iniciación de ellas, aumentar el número y la calidad de las raíces producidas por estaca y aumentar la uniformidad del enraizamiento. El mejor uso de las hormonas del enraizamiento es en estacas de plantas que enraízan con dificultad. Sin embargo, el empleo de estas sustancias no permite que se ignoren otras buenas prácticas de la propagación por estacas, tales como el mantenimiento de las relaciones apropiadas de agua, luz y temperatura.

Las sustancias químicas que se han encontrado como más efectivas para estimular la producción de raíces adventicias en estacas son el Ácido Indolbutírico (IBA) y el Ácido Naftalenacético (NAA), aunque se pueden utilizar otras. El IBA es probablemente el mejor material para uso general, debido a que no es tóxico para las plantas en un amplia gama de concentraciones, y es efectivo para estimular el enraizamiento en un gran número de especies de plantas.

Existen básicamente tres métodos de aplicación:

- En polvo
- Remojo en solución diluida (24 hrs.)
- Inmersión en solución concentrada (5 segundos)

A menudo se obtiene mayor supervivencia sumergiendo las bases de las estacas en una combinación de IBA + Fungicida, que con solo el tratamiento de IBA.

Como una precaución contra las infecciones fungosas, es aconsejable dar al material de estacas una inmersión en una preparación fungicida (Hartmann y Kester, 1995).

2.4.2.4 MICROPROPAGACIÓN

La micropropagación consiste en producir plantas a partir de porciones muy pequeñas de ellas, de tejidos o células cultivadas asépticamente en tubos de ensayo u otro recipiente en que se puedan controlar estrictamente las condiciones de ambiente y la nutrición. La capacidad de ciertos tejidos vegetales, como el callo y las suspensiones de células, así como aquella de varios órganos de plantas, tales como tallos, flores, raíces y embriones, de crecer de manera más o menos indefinida, se ha utilizado durante muchas décadas en los laboratorios científicos como un instrumento de investigación por genetistas, botánicos y fitopatólogos. A estos métodos se les ha llamado cultivo de tejidos o micropropagación. Los procedimientos de cultivo de tejidos utilizan un sistema de producción *in vitro*, que requiere de instalaciones de tipo de laboratorio y técnicas asépticas similares a las empleadas para cultivar hongos, bacterias y otros microorganismos (Figura 12).

La aplicación de técnicas de cultivo de tejidos a la regeneración y propagación comercial de plantas es un desarrollo más reciente, que se ha convertido en una alternativa importante de los métodos convencionales de propagación por una amplia gama de especies de plantas.

En la propagación, los sistemas de cultivo de tejidos tienen dos usos principales:

- La propagación rápida en masa de clones.
- El desarrollo, mantenimiento y distribución de clones específicos probados para organismos patógenos.



FIGURA 12: Laboratorio de cultivo de tejidos

Secundariamente, los sistemas de cultivo *in vitro*, tienen potencial para hacer embarques de material de propagación a distancias grandes y el almacenamiento a largo plazo de material clonal.

Actualmente en México se importan variedades comerciales de plantas ornamentales obtenidas por cultivos de tejidos libres de patógenos y enfermedades desde Holanda y otros países, tales como orquídeas y anturios, los cuales se cultivan para obtener plantas de calidad y alto valor comercial (Figura 13).

En los sistemas de cultivo de tejidos hay cinco tipos fundamentales de regeneración vegetativa:

- a) Alargamiento de las puntas
- b) Producción axilar de ramas
- c) Iniciación adventicia de ramas
- d) Organogénesis
- e) Embriogénesis

De manera general los sistemas de micropropagación se clasifican en:

CLASE I. Regeneración de nuevas plantas a partir de estructuras vegetativas o tejidos (Explantos Vegetativos).

CLASE II. Reproducción de plantas por escisión de estructuras reproductivas existentes (Explantos Reproductivos).

Sin embargo, la micropropagación tiene sus problemas. Las instalaciones necesarias son costosas y en muchas especies de plantas es posible que las consideraciones económicas no justifiquen su empleo comercial. Para efectuar las operaciones se necesita adiestramiento específico. Los errores en identidad, introducción de organismos patógenos desconocidos o la aparición de un mutante desapercibido, pueden multiplicarse a una escala considerable en un tiempo muy corto. Se requiere una verificación del cultivar que se maneje (Figura 15).



FIGURA 15: Cultivo de tejidos en laboratorio

En algunos cultivares y con ciertos sistemas de cultivo se pueden originar clases específicas de modificaciones genéticas y epigenéticas que pueden alterar las plantas producidas. En un programa dado de micropropagación se debe tener conocimiento de estos problemas potenciales y efectuar una evaluación de sus efectos en la producción de ciertos cultivares.

Muchos métodos para la propagación de cultivares y portainjertos de manzano in vitro han sido desarrollados exitosamente (Went & Thimann, 1937).

2.5 ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL ENRAIZAMIENTO

2.5.1 ANATOMÍA

El sistema radicular tiene como funciones principales: la absorción de agua y minerales del ambiente que lo rodea; anclaje de la planta al suelo; almacenamiento de alimento que fue procesado en las hojas mediante la fotosíntesis que puede ser usado posteriormente por la planta para su crecimiento y su supervivencia.

La salud de una planta está directamente relacionada con sus raíces, raíces débiles y enfermas disminuyen la salud de la planta, las raíces necesitan de un crecimiento continuo para mantenerse sanas.

Cuando una semilla germina la primera estructura que aparece es la raíz o radícula que se convierte en la raíz primaria, usualmente la raíz más importante de algunas plantas, otras raíces brotan de la raíz primaria y son las raíces secundarias.

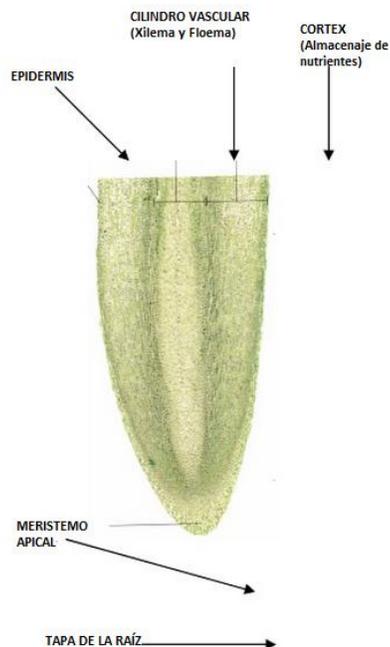


FIGURA 16: Partes de la raíz

El meristemo apical se encuentra en las puntas de las raíces, y es donde se desarrollan nuevas células, este está cubierto por la tapa de la raíz, la cual lo protege de daños como el paso a través de este de partículas de suelo muy gruesas (Figura 16).

La superficie de la raíz está protegida por células de piel llamadas epidermis, donde el agua y los minerales entran a la raíz mediante osmosis y difusión, largas proyecciones parecidas a pelos crecen como tales y son llamados pelos radicales, los cuales incrementan la superficie de la raíz lo que permite mayos contacto con el agua.

El desarrollo celular ocurre principalmente en la punta de la raíz, las células más viejas se localizan lejos del ápice de las mismas (Figura 17).

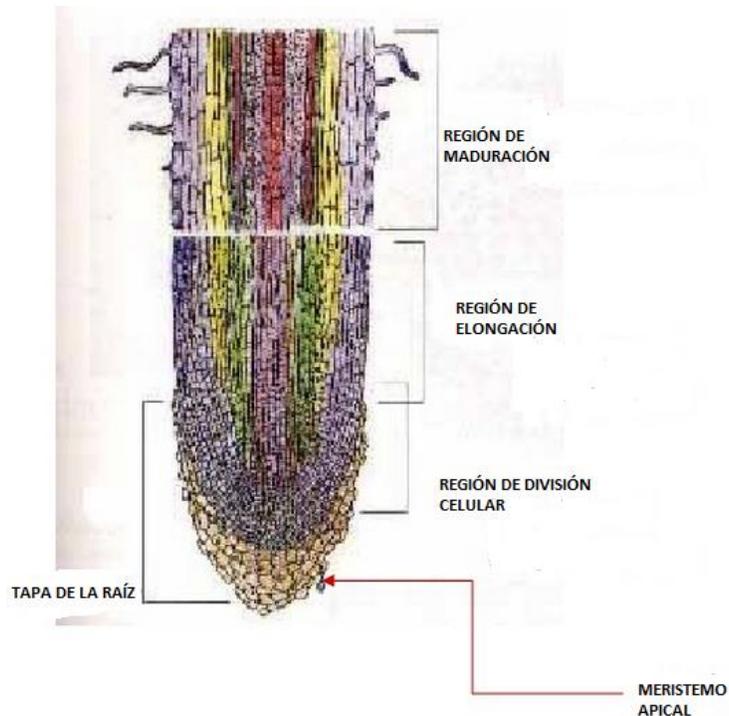


FIGURA 17: Regiones de desarrollo celular

Dentro de la raíz existen otras capas de células:

Córtex: Es donde las raíces almacenan los nutrientes producidos por las hojas; está hecho de tejido parenquimatoso.

Endodermis: Límite interno del córtex, capa gruesa de una célula; controla el movimiento de agua y minerales en el xilema y el floema.

Periciclo: Una capa encontrada dentro de la endodermis, la cual produce raíces laterales, también produce cambium vascular en dicotiledóneas.

Cilindro vascular: O estela; forma el cilindro central de la raíz y está hecho de dos tejidos de transporte secundarios:

1. **Xilema:** Transporta agua tomada por los pelos radicales y la epidermis hacia la parte de arriba de la planta hacia tallos y hojas.
2. **Floema:** Transporta los alimentos producidos por las hojas hacia las raíces para ser almacenados en el córtex.

Al inducir el enraizamiento ocurren varios eventos anatómicos durante la formación de raíces adventicias. Harbage, et al. (1993), observaron los cambios durante los estados de inducción y post-inducción en micro esquejes de manzana "Gala". Al analizar la inducción de raíces con 1.5 μ M IBA + 4 mM de sacarosa después de 4 días y encontraron que algunas células parenquimatosas del floema formaron un citoplasma denso, con un núcleo con un nucléolo prominente después de 1 día; la actividad meristemática en el floema fue generalizada después de 2 días; una continua división de las células parenquimatosas del floema avanzó hacia el córtex después de 3 días; y primordios radicales identificables se hicieron presentes a los 4 días.

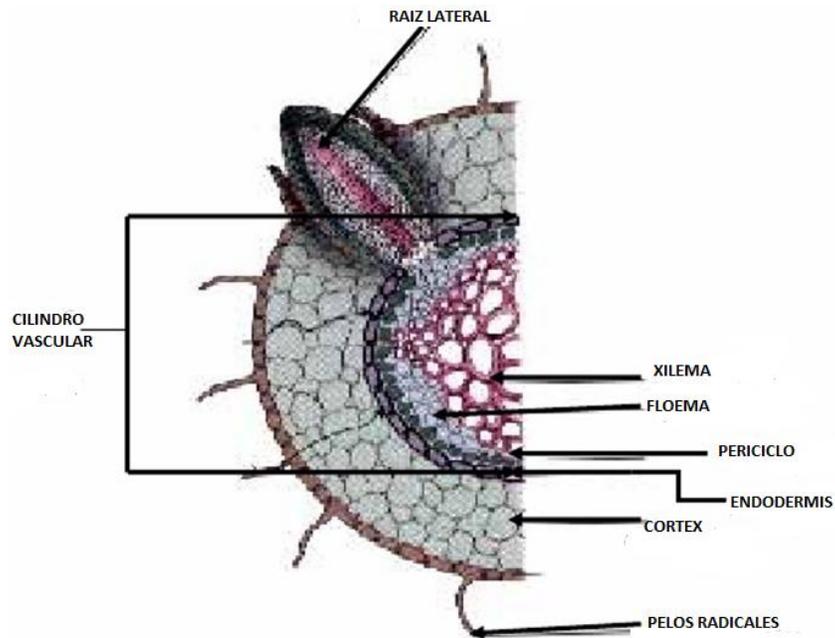


FIGURA 18: Partes de la raíz (corte transversal)

2.5.2 FISIOLÓGÍA

Para explicar el proceso de inducción de raíces, normalmente se recurre a la teoría de rizocalina de Bouillene (1955). La cual establece que un compuesto fenólico específico (posiblemente dihidroxifenol) actúa como cofactor del enraizamiento. Este cofactor es producido en las hojas y las yemas de la estaca y es translocado a la región del enraizamiento, donde en presencia de un factor no específico, que es translocado y que se encuentra en concentraciones bajas en los tejidos (la auxina), y de una enzima específica, localizada en las células de ciertos tejidos (polifenol-oxidasa), completan un complejo (la rizocalina), que actúa como estimulante de la rizogénesis (Hartmann y Kester, 1995).

Posteriormente, se obtuvo evidencia de que la auxina al formar un complejo con un determinado factor móvil desconocido, podía inducir la

formación de raíces, lo que coincidía por lo propuesto por Bouillene, pero se rechazó el concepto de la intervención de una enzima no móvil, afirmándose que la auxina misma produce la desdiferenciación celular y determina el sitio de formación de las raíces (Hartmann y Kester, 1995).

Actualmente las hipótesis más aceptadas están en relación con la existencia de receptores específicos capaces de reconocer a la hormona, así como la sensibilidad del tejido para responder a su acción (Pardos, 1985).

Las raíces adventicias se forman como resultado de la estimulación auxínica y de otros factores que emigran a dicha zona (Pardos, 1985).

En especies de fácil enraizamiento se ha observado que la aplicación exógena de una auxina sintética incrementa el movimiento de carbohidratos, compuestos nitrogenados y otros, desde el ápice hacia la base de la estaca, favoreciendo el enraizamiento, aunque se reconoce que el efecto del regulador de crecimiento depende de la especie y del grado de madurez del árbol, o del órgano donde se extrae la estaca. A pesar de esto, se reconoce que la formación de raíces en estacas es un fenómeno complejo, en que cada una de sus fases se encuentra controlada en distinta forma por el balance entre hormonas, inhibidores y otros compuestos bioquímicos.

Los ácidos fenólicos, flavonoides y terpenos, son capaces de modificar los procesos de crecimiento y desarrollo vegetal, generando una modificación en el nivel de auxina en los tejidos, mediante la activación o inhibición de las enzimas que regulan su metabolismo. Estos compuestos parecen no inhibir la acción específica de la hormona, sino que actúan sobre procesos metabólicos generales, indispensables para cualquier forma de crecimiento.

Se ha confirmado que las auxinas solo aumentan una potencialidad ya existente en las especies fáciles de enraizar, enfatizando el desarrollo de primordios previamente formados (Pardos, 1985), y observándose que la aplicación exógena de auxinas no resulta efectiva en estacas de difícil enraizamiento (Celestino, 1985). También se ha confirmado, después de aislar algunos compuestos que actúan en forma sinérgica con la auxina, que esta no es el único factor determinante de la rizogénesis, y que su acción es potenciada por compuestos de naturaleza fenólica.

En general, los compuestos fenólicos desempeñan papeles importantes en diferentes procesos, entre ellos la regulación de procesos morfogénicos.

La capacidad de enraizamiento de las estacas puede depender, al menos parcialmente, de las diferencias en el contenido fenólico, el cual varía de acuerdo a la edad del material donde las estacas son tomadas, y hace que se pierda la capacidad de enraizamiento conforme esta edad avanza (Gutiérrez, 1995).

La capacidad de enraizamiento también se ha correlacionado positivamente con la cantidad de antocianinas formadas en las hojas de las estacas, de tal forma que el ácido giberélico que ha demostrado ser un poderoso inhibidor de la síntesis de antocianinas, tiene también un efecto inhibidor del enraizamiento.

La iniciación de raíces requiere de energía. Considerando que las sustancias lipídicas no son abundantes en los tallos, la degradación de carbohidratos constituye probablemente la única fuente energía en las estacas para activar el proceso rizogénico. Los hidratos de carbono y los compuestos nitrogenados están involucrados en el proceso de enraizamiento, pudiendo modificar la formación de raíces (Hartmann y Kester, 1995).

Muchos investigadores han correlacionado positivamente los niveles de carbohidratos en las estacas con su capacidad para iniciar primordios radicales, reconociendo que una adecuada reserva de estos, en combinación con una relación C:N alta favorecen el enraizamiento (Gutiérrez, 1995).

Okoro y Grace (1976) describieron los cambios en los niveles de carbohidratos y las tasas de fotosíntesis en el enraizamiento de estacas de álamo. No se encontró evidencia que soporte que la falta de enraizamiento fuera causada por insuficientes reservas de carbohidratos. En estacas de madera dura sin hojas, los niveles de carbohidratos fueron inicialmente muy altos (14-19%), pero cayeron rápidamente (5 a 10%) conforme las raíces, callos, o brotes se desarrollaron. En estacas de madera suave, se observó una acumulación constante de reservas de carbohidratos, aumentando de 5-10% en la plantación a 15-25% cuando las raíces se habían desarrollado.

2.6 FACTORES QUE AFECTAN EL ENRAIZAMIENTO

Existe un gran número de plantas, que es necesario sean propagadas vegetativamente, tanto por las dificultades que implica la propagación por semilla, como por la gran variedad de formas que no reproducen semillas verdaderas. Una gran cantidad de estas plantas son propagadas por esquejes, los cuales cuando son situados en condiciones adecuadas se desarrollan en plantas completas.

Curtis (1918), realizó investigaciones para determinar el efecto de varios compuestos químicos en el periodo de reposo en plantas leñosas realizado en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad de Cornell, encontrando que cuando se trataron brotes de *Ligustrum ovalifolium* Hassk ¹, por una solución de Permanganato de Potasio (KMnO₄) las raíces desarrollaron una mayor extensión que los testigos o los que fueron tratados con otros componentes.

Para la iniciación de raíces adventicias, algunas concentraciones de materiales que ocurren natural o artificialmente, tienen una acción más favorable que otras para iniciar el enraizamiento.

Varias clases de reguladores de crecimiento como las auxinas, citoquininas, giberelinas, ácido abscísico, y etileno, influyen en la iniciación de raíces. De ellos las auxinas son las que ejercen mayor efecto en la formación de raíces en las estacas. Además de estos grupos, existen otros materiales o mecanismos para estimular el desarrollo de raíces adventicias, que aún no han sido bien definidos.

2.6.1 AUXINAS

Las auxinas fueron las primeras hormonas vegetales descubiertas. Darwin en su libro "The Power of Movement in Plants" presentado en 1880, describe los efectos de la luz en coleóptilos de pasto canario *Phalaris canariensis*. Con este experimento sugirió que la punta del coleóptilo era el tejido responsable de percibir la luz y producir algunas señales las cuales eran transportadas hacia la parte baja del coleóptilo donde ocurrían respuestas fisiológicas.

Los requerimientos fisiológicos para la formación de raíces en estacas y la importancia de sustancias de crecimiento han sido estudiados por muchos investigadores. Bouillene y Went (1933) sugirieron el nombre de Rizocalina

¹ La alheña o ligustro es el nombre común de las especies botánicas pertenecientes al género *Ligustrum*, el cual abarca cerca de 40-50 especies aceptadas de arbustos y pequeños árboles perennifolios, semi-perennifolios o caducifolios. Pertenecen a la familia del olivo, las oleáceas.

a la sustancia producida por las hojas en presencia de luz. Posteriormente se encontró que esta sustancia era idéntica al IAA.

El tratamiento de estacas con auxinas sintéticas para promover la formación de raíces ha sido usado en la horticultura comercial aproximadamente desde los años 40's. (Went y Thimann, 1937).

Salkowski descubrió en 1885 el Acido Indol-3-Acético (IAA) en medios de fermentación. No se aisló el mismo producto de tejidos vegetales sino hasta casi 50 años después. (Arteca, 1966).

Hacia 1935, Thimann y Koepfli, en referencia a las hormonas formadoras de raíces, encontraron las siguientes evidencias:

- 1) La hormona es un ácido orgánico.
- 2) La hormona tiene casi las mismas solubilidades en varios solventes orgánicos y destilan a la misma temperatura que la auxina.

Las preparaciones de auxina cristalina muestran actividad de formación de raíces, y su actividad es destruida mediante agentes oxidantes.

El término auxina se deriva del Griego *auxein* que significa "para crecer". Se consideran auxinas aquellos compuestos que son capaces de inducir la elongación celular en tallos o en otras palabras se parecen al Acido Indolacético (la primer auxina aislada) en su actividad fisiológica.

El crecimiento de las raíces resulta de múltiples interacciones, pero estas interacciones no operan en ausencia de las auxinas (Street, 1966).

Una auxina es un componente endógeno o exógeno (de carácter conocido o supuesto) el cual promueve, inhibe o afecta el crecimiento o algún otro proceso de desarrollo de la raíz.

La presencia y el papel de las auxinas en las raíces ha sido discutida desde los años 30, cuando el Acido Indol-3-Acético fue identificado y aplicado a las raíces por primera vez.

Los estudios efectuados sobre la fisiología de las auxinas mostraron que estas intervenían en actividades de la planta tan variadas como el crecimiento del tallo, la formación de raíces, la inhibición de las yemas laterales, la abscisión de hojas y frutos y en la activación de las células del cambium.

Las auxinas son necesarias pero no exclusivas en el control de la diferenciación normal de diferentes tejidos radiculares (Torrey, 1976).

El Acido Indol-3-Acético (IAA) se identificó como un compuesto de ocurrencia natural que tenía una actividad considerable de Auxina (Thimann, 1935), y pronto se encontró que promovía la formación de raíces adventicias (Kraus et al, 115; Went, 1934; Thimann, 1935).

Posteriormente se probó el IAA sintético (Figura 19) respecto a su actividad para promover la formación de raíces en segmentos de tallo.

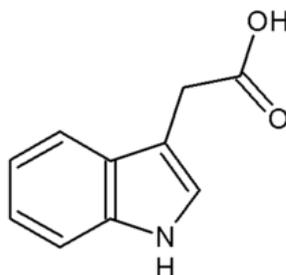


FIGURA 19: Estructura del Acido Indolacético (IAA)

También se demostró que el Acido Indol-Butírico (IBA) y el Acido Naftalenacético (NAA) (Figura 20), aunque no son de ocurrencia natural, eran aún más efectivos que el IAA. Se ha confirmado muchas veces que la auxina natural o aplicada artificialmente, es un requerimiento para la iniciación de raíces adventicias en tallos (Gautheret, 1969) y hasta se ha demostrado que la división de las primeras células iniciales depende de la presencia de la auxina, ya sea aplicada o endógena (Haissig, 1972).

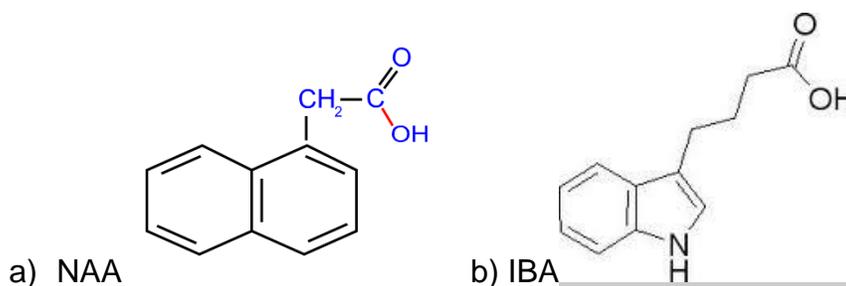


FIGURA 20: Acido Naftalenacético (NAA); Acido Indolbutírico (IBA)

Khalid (2003), encontró que el enraizamiento de estacas de olivo depende de las concentraciones de IBA que se utilizan, encontrando que la concentración óptima depende de la variedad en que se aplica para promover el enraizamiento.

Se ha demostrado que la formación y el desarrollo de las raíces se efectúan en dos períodos básicos:

1.- Un período de iniciación en el cual se forman los meristemas de la raíz.

2.- Un período de alargamiento y crecimiento de la raíz, durante el cual la punta de la raíz crece hacia fuera a través de la corteza, emergiendo finalmente de la epidermis del tallo. Entonces en los primordios de la raíz se desarrolla un sistema vascular y se conecta con los haces vasculares adyacentes. En este período no se registra respuesta a la auxina.

a) TRANSPORTE DE AUXINAS

El grueso de las evidencias acumuladas indica que las auxinas son transportadas en las raíces, de la base de las mismas hasta su ápice, esto es, en una dirección acropétala y que el transporte es polarizado (Torrey, 1976), es decir, hacia la zona de elongación celular (Aberg, 1957). Esto ha sido revisado en detalle (Scott, 1972). La evidencia de que las auxinas aparecen a altas concentraciones en los tejidos estelares. Greenwood et al., (1973), sugieren que este movimiento ocurre de manera predominante en los tejidos vasculares o en las células vivas del cilindro central. El transporte polar de la auxina ha sido confirmado en las raíces de muchas especies de plantas, usando segmentos de raíces, raíces cultivadas y raíces de plantas intactas (Roderick et al., 1972), y sugieren fuertemente que el movimiento acropétalo del IAA tiene lugar tanto en los tejidos estelares como en el córtex², pero con mucha mayor eficiencia en el primer tejido.

El transporte acropétalo de la auxina depende de la energía metabólica, es acrecentado por la luz y es sensible a la temperatura. El transporte polar existe a lo largo del eje de la raíz, pero es estrechamente cercano al ápice. Las velocidades de transporte de la auxina van de 4 hasta 10mm/hora. Esto se puede visualizar en plántulas y plantas jóvenes, se observa un continuo flujo de auxinas del ápice del tallo hacia abajo del mismo y llegando adentro de la raíz hasta sus partes extremas.

² Córtex es la región de la raíz comprendida entre la rizodermis y el cilindro vascular y su función principal es la de almacenar sustancias de reserva, tales como el almidón. Las capas más externas del córtex, debajo de la rizodermis, pueden diferenciarse como un tejido especializado, llamado «exodermis». La capa más interna del córtex forma, a su vez, otra estructura especializada en las espermatófitas: la endodermis.

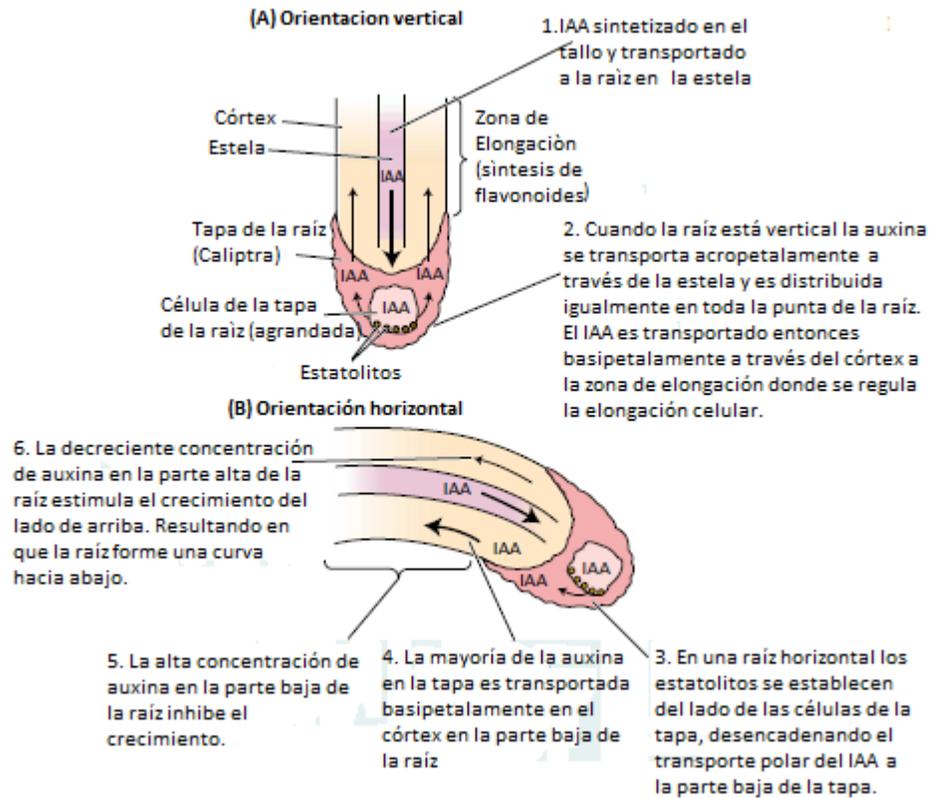


FIGURA 21: Modelo propuesto para la redistribución de auxinas en respuesta al gravitropismo en raíces de maíz.

El movimiento basipétalo del IAA en la raíz es mucho menor que el acropétalo y aparece con la misma eficiencia en tejido estelar y en el córtex (Bloch, 1943) (Figura 21).

El transporte en raíces cultivadas es hacia la punta de estas, aún cuando otros componentes como azúcares, aminoácidos o iones inorgánicos pueden ser distribuidos simétricamente hacia la punta y base de la raíz desde un punto de aplicación.

Las auxinas aplicadas de manera exógena en los tallos se mueven rápidamente hacia las puntas de la raíz, aún cuando se aplica en cotiledones o en hojas. (Torrey, 1976).

El tratamiento con auxinas sintéticas para promover la formación de raíces adventicias ha sido usado en la horticultura comercial por casi 50 años.

b) OCURRENCIA Y NATURALEZA DE LAS AUXINAS NATURALES EN LAS RAÍCES

Se han desarrollado métodos para el uso de espectrofotofluorimetría en la identificación y estimación de compuestos índoles en extractos de plantas (Burnett y Audus, 1964).

-Acido Indolacético.- Se conoce que el IAA existe en la raíz, pero que su presencia puede ser enmascarada por otras sustancias. Sin embargo no hay que pensar que el IAA es la única auxina en las raíces o que este se encuentra universalmente en todas ellas.

Audus y Gunning (1958); Burnett (1964), Burnett et al. (1965); Lahiri y Audus (1960) han demostrado que existen auxinas de raíces, solubles en agua, probablemente índoles, que tienen la misma o más actividad que el IAA, pero quizás no idénticas a este. Incluso Street et al y Woodruffe et al (1970), han demostrado que índoles solubles al éter, aislados y purificados encontrados en raíces de trigo y tomate no incluyen IAA.

Existe información contrapuesta en los cambios del Acido Indol-3 Acético de ocurrencia natural durante el proceso de formación de raíces. En algunos casos los niveles de IAA en estacas o esquejes se incrementan sustancialmente inmediatamente después de ser removidos de las plantas madre (Weigel, 1984), o un poco después (Blahova, 1969). En otros casos el IAA se reduce durante la fase de inducción de raíces adventicias, y luego se incrementa durante la fase de iniciación (Gaspar et al., 1977).

En estacas de cultivares de fácil enraizamiento, tales como *Hibiscus* y *Bougainvillea*, el nivel de IAA endógeno declina durante la formación de raíces (Bose et al., 1973). Esto sugiere que el IAA endógeno tiene importancia como promotor de raíces adventicias solo después de la conclusión de la fase de inducción (primeras 24 horas) (Norcini et al., 1985).

c) METABOLISMO DE LAS AUXINAS EN LAS RAICES

La mayor parte de la literatura relaciona al metabolismo de la auxina en las raíces con la destrucción oxidativa. El catabolismo de la auxina sugiere que el control del nivel de auxina en la raíz puede ser correlacionado positivamente con el control de la tasa de crecimiento.

d) PAPEL DE LAS AUXINAS EN LAS RAÍCES

Existen varias evidencias de que las auxinas juegan un papel esencial en el enraizamiento y la promoción del crecimiento radicular:

- 1.-El IAA a varias concentraciones puede incrementar significativamente la elongación de raíces intactas y aisladas.
- 2.-Las auxinas incrementan el crecimiento de raíces cortadas mantenidas en cultivo.
- 3.-Raíces aisladas o intactas cuyo crecimiento ha sido inhibido por inhibidores naturales o sintéticos, pueden recuperar el crecimiento como resultado de la aplicación de una auxina, o bien, el crecimiento radicular inhibido por auxinas puede ser reversible y estimulado por la adición de antagonistas de las auxinas o antiauxinas.

La relación de la auxina con el crecimiento radicular se puede tratar en tres diferentes niveles: i) La auxina como factor limitante en el crecimiento radicular; ii) El mecanismo de acción de la auxina en el crecimiento; y iii) La interacción de la auxina con otras sustancias en la promoción del crecimiento.

i) LA AUXINA COMO FACTOR LIMITANTE EN CRECIMIENTO RADICULAR Y GEOTROPISMO

La auxina puede inhibir o promover el crecimiento radicular, por ejemplo el NAA puede promover la elongación de raíces, pero conforme se aumenta la concentración del mismo este proceso se va acortando.

-Distribución de la auxina en las raíces.- La promoción o inhibición del crecimiento radical está relacionado con la distribución de la auxina en la raíz. Existe evidencia de que auxinas endógenas son sintetizadas en el ápice de la raíz, ya que se ha encontrado mayor actividad de la auxina en el ápice que en la base de la raíz, e incluso se han podido obtener auxinas de ápices de raíz.

-Fuente de la auxina en las raíces.- La porción aérea de la plántula o del retoño fue propuesta como la fuente de la hormona que promueve el crecimiento radicular "rizocalina" (Bouillenne y Went, 1933).

El modo de acción de la mayoría de los promotores e inhibidores del enraizamiento es oscuro. No existe una buena evidencia que la rizocalina, la hormona postulada originalmente como formadora de raíz, consista en una conjugación de una auxina con fenoles; y otras explicaciones para la acción de fenoles no están bien sustentadas (Wilson y Van Staden, 1990).

Thimann (1934) puntualizó que la auxina encontrada en la raíz podría provenir del tallo. Experimentos de duración prolongada con plántulas intactas indicaron que auxinas difusibles se pueden mover del tallo a la raíz. De hecho no existen evidencias de que el tallo sea la única fuente de auxinas en la planta,

pueden existir fuentes alternativas tales como el ápice de la raíz primaria o dentro de la raíz misma, o bien, pueden estar presentes inmediatamente afuera de la planta (Cane y Wilkins, 1970).

Sheldrake (1971), ha comentado que la fuente de auxinas más probable dentro de la raíz son las células de diferenciación del xilema. Sheldrake y Northcote (1968) fueron los primeros en sugerir que la muerte de estas células es un mecanismo de producción de auxina y que esta xilogénesis puede producir auxina hormonal.

Lahiri y Audus (1960) encontraron en extractos de raíces de plántulas de *Vicia faba* la presencia de al menos tres auxinas.

La última fuente alternativa de auxinas puede ser externa a la raíz la cual se piensa vienen de epifitas relacionadas con la biosfera.

-Geotropismo en la raíz.- El tópico geotropismo ha sido estudiado por Audus (1969) y Ball (1969). Ball menciona que:

- a) La producción de auxina por la punta de la raíz no ha sido satisfactoriamente demostrada
- b) La presencia de una concentración supra óptima de auxina en la punta de la raíz no ha sido realmente verificada.

Los diferentes resultados de una decapitación moderada (un rápido decremento de la tasa de crecimiento y una estimulación de la elongación de raíces), fueron fácilmente entendibles debido a que diferentes respuestas geotrópicas ocurren como resultado de un transporte de auxinas hacia abajo en órganos colocados horizontalmente bajo la influencia de la gravedad (Aberg, 1, 1957).

Audus y Lahiri (1961) compararon el contenido de auxina en ápices de raíces horizontales de 5 mm de *Vicia faba*, con ápices de raíces verticales, mostrando un efecto de la gravedad en el metabolismo de la auxina.

Burström (1969) cuestionó el uso de los términos supra y sub óptimo en las concentraciones de auxina cuando se usan en referencia al crecimiento radicular. El sugiere que el efecto de la gravedad en raíces de trigo mantenido verticalmente podría incrementar la cantidad de auxina en la región de crecimiento, lo cual podría resultar en un mayor crecimiento lineal de la raíz. El demostró que raíces verticales crecieron a una velocidad mayor que las que crecieron horizontalmente en un clinostat, (dispositivo que reduce el efecto de la gravedad sobre los organismos y que se utiliza principalmente con plantas). También concluyó, en el caso de raíces horizontales, que un diferencial en la respuesta de crecimiento en la secuencia de “paso uno” y “paso dos”, se debe a que diferentes cantidades de las concentraciones de auxinas en las mitades alta y baja, resultan en una curvatura positiva descendente. Estas dos conclusiones podrían parecer contradictorias, una solo necesita agregar que

células radicales son altamente sensibles a una relativamente pequeña concentración de auxinas.

ii) MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA AUXINA EN EL CRECIMIENTO RADICULAR

Claramente no se ha identificado una simple molécula, célula o tejido como el lugar de acción primario de la auxina. Solamente la pared celular persiste como el lugar más importante donde la auxina tiene su primer efecto.

Ray (1969), señala que determinar el tiempo de iniciación de la respuesta de crecimiento mediante la auxina es crítico para interpretar su mecanismo de acción. Como es el caso en tallos, la auxina puede producir casi inmediatamente respuestas de crecimiento en las raíces.

Hejnowicz (1961), y Hejnowicz y Erickson (1968) han registrado respuestas muy rápidas de las raíces a las auxinas. Mediante fotografías continuas de la elongación de raíces tratadas con IAA (10⁻⁶, 10⁻⁷M), mostraron que separar el IAA de la solución nutritiva, resultó en una rápida reanudación de la elongación, a menos que el tratamiento con IAA fuera menor a 60 minutos. Si este era más corto, la recuperación era retrasada, o sea que esta ocurría alrededor de una hora después del inicio del tratamiento.

Existen evidencias convincentes de que la acción de las auxinas en la elongación celular, al menos inicialmente, es en las propiedades mecánicas de la pared celular (Burström et al., 1970), y después, en la membrana del plasma (Cocking, 1961).

De cualquier modo existen reportes de que la influencia de la auxina en la síntesis de ácidos nucleicos, síntesis metabólica y síntesis y activación de enzimas, juega papeles importantes en el desarrollo radicular.

iii) LA INTERACCION DE LA AUXINA CON OTROS REGULADORES DE CRECIMIENTO ENDÓGENOS

Se ha demostrado positivamente que al menos dos de las sustancias importantes promotoras del crecimiento, giberelinas y citoquininas se encuentran en las raíces. Es completamente posible que las interacciones entre las auxinas y estas dos sustancias tengan significancia fisiológica.

-Giberelinas.- La presencia de giberelinas en las raíces se ha demostrado por Carr et al (1964), Jones y Philips (1966), Philips y Jones (1964), Skene (1967), y otros. Más aún, existe evidencia de que las giberelinas son sintetizadas por la raíz y exportadas al tallo (Brown et al., 1968; Jones y Philips, 1966).

La mayoría de los reportes que describen el efecto de las giberelinas en la raíz, muestran la inhibición del crecimiento de raíces intactas resultante de su aplicación, ya sea en presencia o ausencia de la aplicación de auxinas.

Reportes de Odhnof (1963) y Lacoppe y Gaspar (1968) sugieren que las giberelinas tienen un efecto de opacado en las auxinas en las raíces.

Sin embargo Tognoni et al (1967) experimentando como era afectado por sustancias reguladoras el crecimiento de plantas de tomate y frijol absorbidas por la raíz, encontraron que las giberelinas no tuvieron efecto en las tasas relativas de crecimiento de estas especies de plantas, pero el ácido naftalenacético tuvo efecto en el crecimiento de las raíces y en promover la formación de brotes laterales.

-Citoquininas.- Se ha encontrado actividad de las citoquininas en extractos de raíces.

Al igual que las giberelinas, las citoquininas cuando son aplicadas solas o junto con las auxinas, pueden causar una inhibición del crecimiento. (Lacoppe y Gaspar, 1968; Manos, 1961; Tognoni et al., 1967). No existen explicaciones satisfactorias para este efecto en el crecimiento radicular. Sin embargo, debido a que la actividad de las citoquininas está fuertemente asociada con el metabolismo del RNA (Skoog Y Armstrong, 1970), puede parecer que los efectos del crecimiento ocurren al nivel de división celular y esta cercanamente relacionada a la expresión genética.

e) PAPEL DE LA AUXINA EN DIFERENCIACIÓN EN RAÍCES

-División celular.- Se conoce que el IAA estimula la división celular en el ápice de la raíz primaria y raíces laterales (Davidson y MacLeod, 1966; 1968; 1965), y en el cambium vascular (Torrey y Loomis, 1967, 1967). Los resultados de experimentos en los cuales la división celular era inhibida por colchicina en ápices de raíz de *Vicia* (1966, 1965), indican que la reactivación y la reorganización de un nuevo meristemo es estimulada por la aplicación de IAA. Con esto se deduce que la auxina influye en la inducción de la actividad meristemática en la raíz, pero no es sintetizada como resultado de esta.

-RNA y Metabolismo de las Proteínas.- Street (1966) ha realizado reportes que han demostrado una conexión entre la distribución y el tratamiento de la auxina con la síntesis y activación de RNA y varias enzimas proteicas en las raíces.

Woodstock y Skoog (1960), mostraron una correlación entre el incremento del contenido del RNA (pero no DNA), con la tasa de crecimiento en raíces de maíz. Mostraron evidencias de que el papel del RNA, sintetizado en el ápice de la raíz, está asociado con el control de la tasa de crecimiento de la

raíz, pero no con la duración del mismo. Concluyeron que el RNA influye en el momento de la división celular más que en la elongación.

Pilet y Braun (1967), investigaron la correlación entre las auxinas y el metabolismo del RNA en raíces de lentejas. Tanto el IAA como el NAA causaron un considerable aumento en el nivel del RNA de raíces de lentejas germinadas, aunque no se encontró ningún efecto causado por el IAA en los niveles de DNA. En raíces no tratadas se encontró una relación directa entre el RNA y el contenido de auxina, y una relación indirecta entre el contenido de RNA y la actividad de auxina-oxidasa. Lo cual sugiere que los niveles de RNA son controlados por los niveles de auxinas, los cuales pueden ser controlados por los niveles de auxina-oxidasa.

Otros investigadores indican que la auxina puede ser responsable para la síntesis de RNA en el ápice de la raíz (Miassod et al, 1970; Pilet y Braun, 1967; Pilet y Chavignac, 1970). Esto deriva de la correlación positiva entre niveles de auxina y niveles de RNA en varios tejidos de raíces de *Lens*³ Una hipótesis alternativa es que la auxina disminuye el catabolismo (Figura 22) del RNA a través de una inhibición de actividad de RNAsa en el ápice de la raíz.

Tanto las citoquininas como las auxinas son claramente necesarias para la disposición final de las interacciones genéticas y metabólicas de la planta, que ocurren durante el desarrollo radicular, existen varios ejemplos de la secuencia y polaridad en los que la diferenciación celular toma lugar, la cual enfatiza la importancia de la dirección que proviene la auxina. Por ejemplo: la regeneración del xilema cuando es estimulada directamente por la aplicación de la auxina a la raíz, toma lugar en dirección acropétala (Simon, 1908; Sachs, 1968).

La inducción por auxinas de la iniciación y desarrollo de raíces laterales en raíces de *Convolvulus*⁴ y trigo, tiene lugar de la base al ápice (Bonnett y Torrey, 1965); y la activación del cambium vascular, en raíces de rábano cultivados, va también de la base hacia el ápice (Torrey y Loomis, 1967, 1967).

³ Lentejas (*Lens culinaris*)

⁴ *Convolvulus* es un género con unas 250 especies de plantas de flor en la familia de las Convolvulaceae, con una distribución cosmopolita. Son plantas anuales ó perennes de porte herbáceo ó vides y algunas especies de mayor porte arbustos, alcanzando de 0.3 a 2 m de altura. Las hojas se distribuyen en espiral, y las flores tienen forma de trompeta, presentando colores sobre todo blanco o rosado, pero también en azul, violeta, púrpura o amarillo en algunas especies.

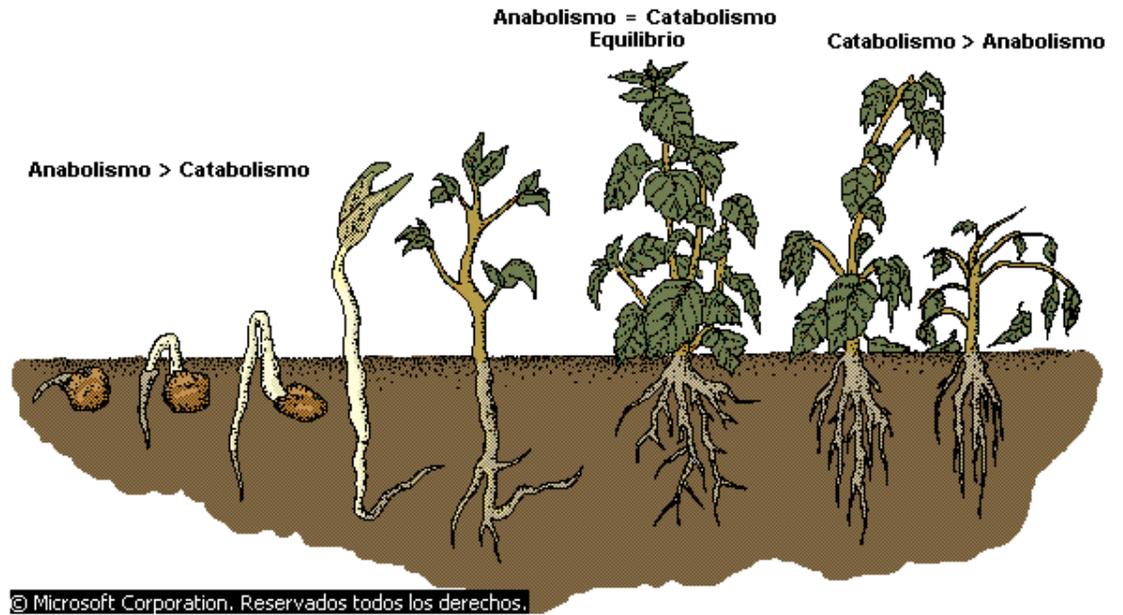


FIGURA 22: Anabolismo y Catabolismo: Las primeras fases de la vida de una planta constituyen un periodo de crecimiento, caracterizado por el predominio de la actividad anabólica sobre la catabólica. Cuando anabolismo y catabolismo se igualan, la planta se estabiliza. Y cuando el catabolismo supera al anabolismo, se marchita y muere.

En conclusión, se podría repetir que el movimiento preferencial de la auxina es consistentemente de la parte alta morfológica hacia la parte baja de la planta y normalmente de acuerdo con el vector gravitacional; y las características de la regulación de la auxina del crecimiento y desarrollo radicular aparecen como consecuencia de este movimiento.

Husein y Shoushan (1945) mostraron que la formación de raíces en esquejes de tallo y hoja depende de muchos factores, de los cuales las auxinas y los carbohidratos son los más importantes.

El papel de la auxina en el desarrollo de raíces incluye las siguientes características esenciales:

1.- La auxina es necesaria en la elongación de las células de la raíz, y esta puede ser estimuladora a concentraciones en las cuales promueven el crecimiento de tallos.

2.- La auxina regula el crecimiento radicular mediante la inhibición de la duración de la elongación celular.

3.- El IAA puede no estar presente como tal en la raíz, pero puede existir como un complejo o como un miembro del grupo de otros promotores o inhibidores.

4.- La auxina se mueve predominantemente en dirección de la base al ápice de la raíz en un activo sistema de transporte polar.

5.- El metabolismo de la auxina en la raíz es complejo, y algunas de estas muchas características pueden ser relacionadas directamente con el crecimiento y diferenciación celular.

2.6.2 ETILENO

El etileno es un material gaseoso, que es producido por las plantas y tiene efectos hormonales, aunque no se ajusta de manera exacta a la definición de una hormona. (Figura 23). A diferencia del resto de las hormonas vegetales es una hormona gaseosa (Abeles, 1972; Abeles, 1973)

El etileno es producido por todas las plantas superiores a partir de metionina en básicamente todos los tejidos. Su producción varía dependiendo del tipo de tejido, especie de planta y también del estado de desarrollo.

Se conoce que el etileno afecta varios procesos de las plantas:

- Estimula el rompimiento de la dormancia
- Estimula el crecimiento de tallos y raíces y la diferenciación (Triple respuesta)
- Interviene en la formación de raíces adventicias
- Estimula la abscisión de hojas y frutos
- Estimula la inducción de la floración en bromelias
- Estimula la apertura de botones florales
- Estimula senescencia en flores y hojas
- Estimula maduración de frutos

La producción de etileno por células vegetales y su implicación en una gran variedad de respuestas en el desarrollo de las plantas está firmemente establecido (Torrey, 1976). Como el etileno es un gas no encaja dentro del modelo usual aplicado a las otras hormonas vegetales conocidas.

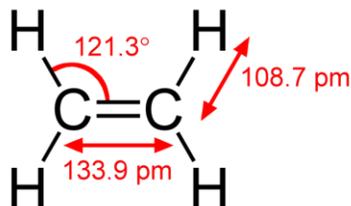


FIGURA 23: Molécula de etileno, el etileno o eteno es un compuesto químico orgánico formado por dos átomos de carbono enlazados mediante un doble enlace. Se halla de forma natural en las plantas

Zimmerman y Hitchcock (1933), mostraron que el etileno aplicado en concentraciones de alrededor de 10 ppm ocasiona la producción de raíces en tejidos de tallos y de hojas, así como el desarrollo de raíces preexistentes en los tallos. Tratamientos con etileno mostrados por Zimmerman y Hitchcock (1933), causaron la iniciación de raíces adventicias y crecimiento hacia afuera de primordios de raíz preexistentes en los tallos de muchas especies de plantas y en algunos casos en sus hojas y raíces.

También Zimmerman y Wilcoxon (1935) mostraron que las aplicaciones de auxina pueden regular la producción de etileno y se puede pensar que el etileno inducido por la auxina puede explicar la capacidad de la misma para inducir la iniciación de raíces. La centrifugación de estacas de *Salix* en agua (o solo su remojo en agua caliente o fría) estimula la producción de etileno en los tejidos, así como el desarrollo de raíces, surgiendo una posible relación causal entre la producción de etileno y el subsecuente desarrollo de raíces (Kawase, 1971; 1972). Al parecer la centrifugación aumenta el contenido de agua de las estacas, la cual puede bloquear la difusión del etileno fuera de la estaca; y el aumento de la concentración de etileno estimula la formación de raíces (1976).

Crocker, et al (1913), encontraron que las plántulas de chícharo etioladas eran sensibles al etileno en concentraciones de menos de una parte por millón de aire. Más aún, encontraron que ningún otro gas producía una respuesta similar excepto en concentraciones mucho más altas.

El hecho de que el etileno es producido por las plantas y que este causa respuesta de crecimiento en las mismas, nos lleva a sugerir que el etileno por sí mismo debe ser considerado como una hormona vegetal de crecimiento (Crocker, Hitchcock y Zimmerman, 1935).

Si la reducción del crecimiento es provocada por la acción del etileno, el etileno podría actuar en uno o más de los siguientes procesos: (1) Producción de auxinas; (2) Transporte de auxinas; (3) Destrucción de auxinas; (4) Sensibilidad de las plantas a la auxina (Michener, 1938).

Michener (1938) demostró que las auxinas fueron destruidas más rápidamente en la superficie del corte basal en puntas de plantas tratadas con

etileno que en puntas de plantas normales. Si se elimina esta diferencia lavando la superficie del corte, entonces se encontró que el etileno incrementa la destrucción de auxina solo en la superficie del corte y que en plantas intactas el etileno no afecta la producción de auxina.

Existen evidencias de que tratamiento con gas etileno y "ETHREL" estimularon también la formación de raíces (Krishnamoorthy, 1970).

Otros estudios (Krishnamoorthy, 1970), mostraron que la aplicación de "ETEPHON", un compuesto que genera etileno en estaca de frijol mungo⁵, estimuló las raíces. Aparentemente, las relaciones entre auxina, etileno y la formación de raíces adventicias son muy complejas, implicando más que una simple alteración de las concentraciones de etileno.

Como ya se mencionó, el etileno es un gas cuya formación es estimulada marcadamente siguiendo tratamientos de tejidos con auxinas, estas últimas a concentraciones mayores de $10^{-6}M$, y quizás por otras hormonas.

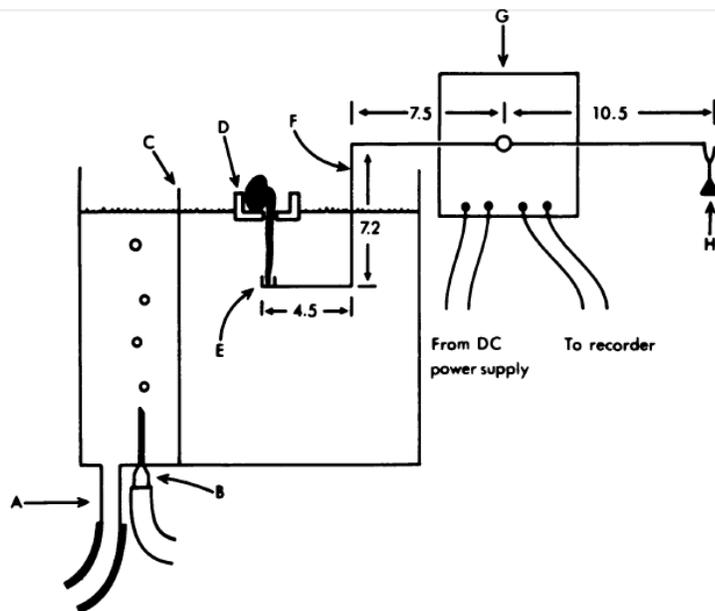


FIGURA 24: Transductor sensor de posición, usado como un auxanómetro de raíces. A= Puerto de drenaje operado por un solenoide; B= Aguja de jeringa de acero inoxidable; C= Panel deflector; D= Plataforma de la plántula; E= Tubo capilar para guiar la punta de la raíz; F= Brazo del transductor; G= Transductor; H= Medidor de peso. Los números representan la longitud en cm. El volumen total de la cámara desde el fondo hasta la plataforma de la plántula es de 450 ml.

⁵ El frijol mungo, *Vigna radiata* es una leguminosa de origen tropical, con variedades que se producen bien a temperaturas que oscilan entre 18 y 33 °C; de ciclo de cultivo entre 45 y 100 días, de apariencia bastante parecida a la del frijol negro o rojo. El mungo no se cosecha como los demás frijoles, arrancando o cortando la mata, sino cortando las vainas en la parcela, contiene tanta vitamina A como el limón, tanta tiamina como el aguacate, tanta riboflavina como la manzana desecada, tanta niacina como el plátano y tanta vitamina C, como la piña.

El etileno es producido por raíces de *Pisum sativum* a niveles muy bajos, pero su formación se incrementa marcadamente tratando las raíces con IAA 10⁻⁴ M.

La producción de etileno por las raíces es proporcional a la concentración de auxinas aplicadas externamente, provenientes de IAA 10⁻⁶ M. El etileno aplicado externamente causa un 50% de inhibición en la elongación radicular a una concentración de 0.2 ppm. Con esto se concluye que la auxina induce una inhibición de la elongación radicular cuando hay producción de etileno (Torrey, 1976).

Son varios los efectos directos del etileno en la iniciación de raíces. Zobel (1974) comenta que raíces de tomate cultivadas normalmente y expuestas a etileno en forma de gas (arriba de 1 ppm), mostraron incremento en la formación de raíces laterales. Chadwick y Burg (1967) mostraron que el etileno (1000 ppm) indujo formación de pelos radicales en raíces de chícharo, pero no hubo reporte del efecto del etileno en la iniciación de raíces laterales.

Mediante el uso de auxanómetros⁶ de raíces (Figura 24), se determinó el crecimiento de raíces primarias individuales intactas de chícharo *Pisum Sativum* L. El crecimiento de las raíces de chícharo fue inhibido tanto por el IAA como por el etileno durante 20 minutos. Una concentración máxima de etileno inhibió el crecimiento radicular menos que concentraciones de 5 a 20 mM de IAA indicando que la inhibición del crecimiento por la auxina no fue hecha únicamente por la inducción del IAA en la producción de etileno (Rauser y Horton, 1975). Esto sugiere que la inhibición por IAA no es del todo mediada por el etileno.

Se ha encontrado que tratando las raíces con IAA pueden inhibir la elongación de las mismas (Scott, 1972). El crecimiento radicular puede ser inhibido también por tratamientos con etileno. Chadwick y Burg (1970) presentaron evidencias que sugieren que una gran parte del IAA inhibió el crecimiento de cortes de puntas de raíces de chícharos y virtualmente estas inhibiciones del crecimiento en raíces de chícharo intactas fueron el resultado de la producción de etileno dependiente del IAA. Andreae et al. (1968) presentaron datos que sugieren que existen marcadas diferencias entre los efectos de adicionar IAA y etileno en el crecimiento de raíces de chícharo. En un intento por resolver algunos de los conflictos aparentes en la interpretación de estos datos Rauser y Horton (1975) reexaminaron los efectos de los reguladores en el crecimiento extendido de raíces de chícharo, usando auxanómetros de raíces.

⁶ Auxanómetro (Gr. *auxain*, crecer + *metron*, "medida") es un aparato para medir aumento o la tasa de crecimiento de las plantas. Auxanómetros sensibles permiten la medición del crecimiento tan pequeño como un micrómetro, que permite la medición de crecimiento en respuesta a los cambios a corto plazo.

Un efecto promotor del etileno en la formación de raíces adventicias por esquejes de frijol mungo fue demostrado usando un sistema de cultivo de solución recirculante para aplicar etileno disuelto. El número de raíces se incrementó en proporción al tiempo de exposición al gas.

Mullins (1972) encontró que el etileno aplicado en un amplio rango de concentraciones en segmentos de plántulas de tallo de frijol mungo etiolado, inhibieron la formación de primordios de raíces adventicias. Batten y Mullins (1978), usando segmentos similares de frijol mungo encontraron que no había influencia del gas en el enraizamiento, sin embargo sus resultados son difíciles de evaluar ya que el etileno se aplicó en combinación con auxinas.

El papel del agua en la promoción de raíces por centrifugación, el efecto de la centrifugación en la concentración de etileno en estacas y el efecto del etileno en la formación de raíces fueron investigadas usando esquejes de madera suave de *Salix fragilis* (Kawase, 1971).

Kawase encontró que cuando se centrifugaron las estacas con agua, se formaron más raíces incrementando la profundidad del agua. Remojando previamente las estacas en agua por un período de 24 horas se estimuló la formación de raíces y se produjeron más raíces conforme la profundidad del agua fue incrementada, con la sumersión las estacas produjeron el más alto número de raíces. Remojando las estacas con agua caliente por 1 hora, también se estimuló la formación de raíces, obteniendo la mejor formación de raíces a 40°C.

Sumergiendo en agua, o centrifugando con agua la concentración de etileno en las estacas se incrementó. Kawase encontró que tratamientos con gas etileno y ETHREL estimularon la formación de raíces. Esto sugiere que sumergir en agua las estacas incrementa la concentración de etileno en estacas de madera suave de *Salix fragilis*, lo cual se traduce en una estimulación de la formación de raíces en las estacas.

El ETHREL también estimuló la formación de raíces en estacas de madera dura.

Previamente Kawase (1964) demostró que centrifugando estacas de *Salix alba* se promovía la formación de raíces, y mientras más fuerte era la centrifugación más raíces se formaban. Se encontró una concentración proporcionalmente más alta de sustancias promotoras del enraizamiento en las estacas de *Salix alba* conforme la fuerza basipétala centrífuga se incrementó.

Después de que se centrifugaron las estacas por 1 hora en agua a una profundidad de 2.5 cm, la concentración de etileno en las estacas se incrementó notablemente, obteniendo la mayor concentración después de 20.5 horas, después empezó a declinar. En estacas no centrifugadas la mayor

concentración se obtuvo después de 19.5 horas aunque la máxima concentración solo alcanzó el 20 % de la obtenida en estacas centrifugadas, lo que deja claro que la centrifugación con agua incrementa la concentración de etileno en esquejes de madera suave.

Cuando las estacas fueron completamente sumergidas, o remojadas en agua destilada a 2.5 cm (Testigo), la concentración de etileno en el gas extraído de las estacas empezó a incrementarse rápidamente después de 10 horas de tratamiento. La concentración más alta de etileno tanto en estacas sumergidas como en el Testigo fue después de 17 y 21 horas respectivamente, aunque la concentración de etileno en las estacas siempre fue más alta en las sumergidas.

Cuando se trataron estacas en un rango de tiempo entre 0 y 120 min con etileno en forma de gas, estas formaron más raíces que aquellas que no se trataron, obteniendo los mejores resultados con tratamientos por arriba de los 30 min. (Kawase, 1964).

Las evidencias descritas en este experimento sugieren que la sumersión de estacas en agua incrementa la concentración de etileno, lo cual estimula el enraizamiento. Wada (1961) encontró que coleoptilos de arroz crecieron mejor cuando se sumergieron que cuando se mantuvieron flotando en agua, posiblemente por una concentración más alta de IAA en los coleoptilos sumergidos. (Figura 25).

Finalmente Kawase (1971) mostró que centrifugando las estacas con agua, se incrementó el contenido de agua en las mismas. Esto sugiere que este incremento en el contenido de agua juega un papel similar a la sumersión de estacas descrita líneas arriba.

La aplicación de IAA a las raíces invariablemente causa una inhibición de la elongación (Aberg 1, 1957). Se han presentado evidencias (Chadwick y Burg, 43, 1967), de que las auxinas estimulan la producción de etileno en las raíces, para la inhibición del crecimiento en raíces de chícharo, justo igual que en yemas de chícharo y tallos etiolados de chícharo.

El etileno inhibe el crecimiento de la raíz como el IAA, y la inhibición es suprimida en gran parte por el dióxido de carbono. Se ha observado una estimulación por el dióxido de carbono de varios sistemas en desarrollo afectados por las auxinas, incluyendo los coleoptilos de pastos y se piensa que el dióxido de carbono es un inhibidor competitivo del etileno. Muchos de los efectos que se habían atribuido previamente a las auxinas son causados por la sola aplicación del etileno. Dado que las raíces están encerradas en el suelo, el etileno ahí producido no se difunde al exterior tan rápido, así que pueden alcanzarse concentraciones efectivas de este. Por lo tanto parece probable que el etileno tenga importancia como mediador de los efectos de las auxinas en las raíces (1967).

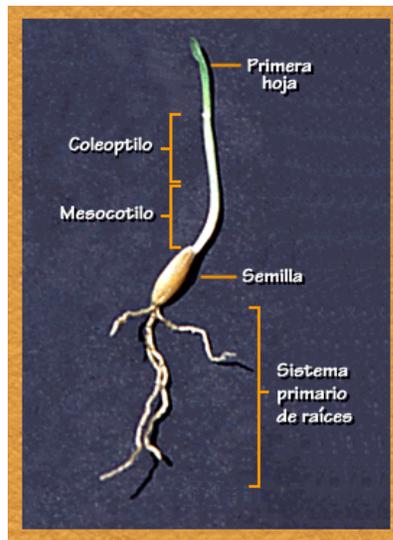


FIGURA 25: Coleoptilo

Un gran problema en el estudio de etileno es el de separar sus efectos de los de las auxinas. Queda claro que el IAA causa producción de etileno en los tejidos y que muchos de los efectos que se atribuían al IAA realmente son efectos secundarios causados por el etileno que se produce como resultado de la estimulación por el IAA.

Los experimentos han demostrado que el efecto del IAA sobre la raíz es diferente al del etileno mostrando que causan reacciones separadas. Sin embargo, la aplicación de una auxina causa producción de etileno en las raíces, de modo que es difícil estudiar independientemente los efectos del IAA del etileno. En algunas plantas la óptima estimulación característica de los tejidos por el IAA se ha adscrito al etileno. El IAA continúa teniendo un efecto estimulante a concentraciones muy altas por sí mismo, pero el efecto inhibitorio del etileno, producido como resultado de la acción del IAA, se sobrepone a dicha estimulación y eventualmente determina inhibición cuando se alcanza un nivel crítico de IAA.

Morgan y Gausman (1965), estudiaron el efecto del etileno en la toma o consumo, distribución, y transporte polar de C^{14} proveniente del ácido Indol-3-Acético, $2-C^{14}$ (FIGURA 26), y ácido Naftalenacético $1-C^{14}$ en secciones de tejido de algodón (*Gossypium hirsutum*, L), y frijol caupi (*Vigna sinensis*, Endl.). Generalmente la incubación con etileno de tejido o de plantas intactas redujo el grado de transporte polar de la auxina. El etileno inhibió el movimiento de ambas auxinas en tejidos de tallo y del IAA en tejidos de peciolo de algodón. El efecto del etileno en el movimiento de la auxina en frijol caupi fue más complejo. El etileno aparentemente inhibió el transporte en tejido de peciolos jóvenes y de tallo, pero estimuló el proceso en un grado pequeño pero significativo en segmentos basales de peciolo.

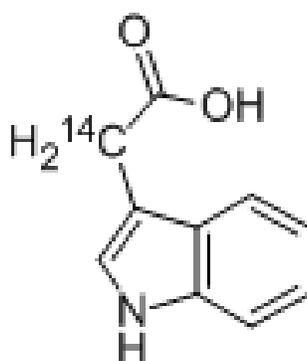


FIGURA 26: Acido Indol-3-Acetico 2-C¹⁴

En algunos experimentos el etileno redujo la toma de C¹⁴ (auxina). Esta reducción fue consistentemente más pequeña que la inhibición del transporte. Se observaron efectos en el transporte aun cuando los efectos en la toma o consumo de la auxina no fueron diferentes. Las diferencias en el consumo declinaron conforme el periodo de incubación con la auxina fue alargándose, pero el transporte fue inhibido por arriba de las 23 horas de incubación. Todo esto propuso que el etileno puede, a través de su efecto en el transporte, causar escasez y/o excedentes localizados de auxinas, lo cual contribuye a explicar los síntomas asociados con la respuesta de especies sensitivas al etileno.

Aunque ocurren muchos efectos similares del etileno y las auxinas en los procesos vegetales (Crocker et al., 1935), los 2 reguladores son generalmente antagonistas en la abscisión, dominancia apical y dormancia de yemas. La existencia tanto de efectos similares como diferentes de auxinas y etileno en las plantas, sugiere varias explicaciones, una de las cuales es que un regulador puede influenciar la síntesis, la destrucción o el movimiento del otro.

Zimmerman y Wilcoxon (1935), reportaron que las auxinas inducían la aceleración de la liberación del etileno, y sugirieron que esta interacción está relacionada con los efectos similares de estos dos reguladores.

Muchos procesos fisiológicos han mostrado respuestas análogas tanto para las auxinas como para el etileno. Estos procesos incluyen iniciación de raíces, formación de tumores o hinchazones, epinastia (Crocker et al., 1935), maduración de frutos, iniciación floral en piña, rompimiento de la dormancia de yemas y abscisión de hojas.

Debido a que el etileno y la auxina tienen muchos efectos en común y que se ha encontrado que la auxina estimula la evolución del etileno, algunos de los efectos atribuidos a las llamadas sustancias de crecimiento podrían ser indirectamente provocados por el gas hidrocarburo insaturado en los tejidos (Zimmerman y Wilcoxon, 1935).

Sin embargo antes de poder establecer la relación auxina-etileno, es necesario mostrar que el aumento de la evolución del etileno por la auxina ocurre en una variedad de material vegetal, y que la evolución del etileno puede ser controlada por niveles de auxina tanto exógenos como endógenos. Abeles y Rubinstein (1964) demostraron la importancia de la regulación de la evolución del etileno por parte de la auxina en un proceso fisiológico mediante la investigación de la abscisión de explantes de peciolo de frijol.

Abeles y Rubinstein demostraron que aplicaciones de ácido naftalenacético (NAA) tenían la habilidad de estimular la evolución del etileno de raíces, tallos y hojas de 9 especies diferentes de plantas. En hipocotíleos de frijol, la evolución del etileno es igualmente estimulada por ácido Naftalenacético como por la hormona de ocurrencia natural IAA. Auxinas débiles como ácido Indolbutírico (IBA) y ácido Indolpropiónico tienen efectos más pequeños que el IAA.

Los cambios en la evolución del etileno pueden ser correlacionados con cambios en los niveles exógenos de auxina. Si el nivel de auxina interna es bajado por decapitación, anillado, o aplicaciones de retardantes de crecimiento, la evolución del etileno es reducida. Si el nivel de auxina interna es incrementado por aplicaciones de IAA o ácido giberélico, la producción de etileno es incrementada.

Las auxinas inducen la formación de etileno en varias plantas (Zimmerman y Wilcoxon, 1935) y en segmentos cortados de raíces, tallos y frutos (Abeles y Rubinstein, 1964). Si el etileno altera el metabolismo de la auxina, como se ha sugerido, entonces esta formación de etileno inducida por la auxina puede interferir con estudios de consumo, transporte y destrucción de la hormona de crecimiento aplicada. Más aún, el etileno sintetizado nuevamente puede enmascarar o modificar una respuesta al gas aplicado y esto puede complicar cualquier investigación del efecto del etileno en el metabolismo de la auxina (Burg y Burg, 1966). En conclusión el IAA induce la formación de etileno en una gran variedad de secciones de tallo. El etileno causa el hinchamiento y la inhibición del crecimiento en tejidos de chícharo, y de girasol, lo cual se atribuye directamente a una alta concentración de auxina. En secciones de tallo de chícharo el etileno detiene el transporte lateral de auxinas, lo cual es la base para todas las respuestas tropísticas al gas.

Chadwick y Burg (1967) encontraron que bajas concentraciones de Acido Indol-3-acético inhibieron el crecimiento de secciones de raíces de chícharo, mediante la inducción de la formación de etileno en forma de gas. El etileno es producido entre 15 y 30 minutos después de que se aplicó el ácido indol-3-acético y las raíces comenzaron a hincharse inmediatamente después de que fueron expuestas al gas. El dióxido de carbono inhibe de manera competitiva la acción del etileno en las raíces, impide su respuesta geotrópica⁷, y restablece parcialmente la inhibición del crecimiento a la auxina. Esto concluye que el etileno participa en la respuesta geotrópica de las raíces, pero no en la de los tallos.

Concentraciones relativamente bajas de auxina inhibieron el crecimiento de raíces, y concentraciones algo más altas el de las yemas, y de la mayoría pero no de todos los tallos. El exceso de auxinas induce la formación de etileno, el cual causa el hinchamiento celular. Y se ha encontrado evidencia de que un mecanismo similar aparece en la inhibición del crecimiento de las raíces por una auxina.

Chadwick y Burg (1967) demostraron que las raíces de chícharo produjeron pequeñas cantidades de etileno, pero dentro de los siguientes 15 a 30 minutos después de la aplicación de IAA 0.1mM el índice aumento a más del doble, y después este se incrementó rápidamente. La cantidad de etileno producida es controlada por la concentración de IAA, y está estrechamente relacionada con la inhibición del crecimiento causado por la auxina. Para demostrar si el etileno inhibe la acción de la auxina, ya que este retarda el crecimiento radicular, se cultivaron secciones de raíces en varias concentraciones de IAA en la presencia o ausencia de etileno a 1000 ppm, una cantidad de gas que causa el máximo retraso de crecimiento radicular. Si el etileno está involucrado en la inhibición del crecimiento inducido por la auxina, la presencia de una concentración supra óptima del gas podría prevenir la respuesta de las raíces a las auxinas aplicadas.

El etileno tiene un amplio rango de efectos, desde fuertemente estimulantes hasta muy inhibitorios. Generalmente se le clasifica como una hormona inhibitoria.

El IAA estimula la producción de etileno en la región nodal de tallos de chícharo (Burg y Burg, 1968) y el gas inhibe el crecimiento de yemas. A todas las concentraciones de IAA existe una cercana correlación entre la intensidad y la duración de la producción de etileno con la inhibición de yemas que resulta.

⁷ El geotropismo es un tipo de tropismo, propio de las plantas, que se refleja en un crecimiento en respuesta a la aceleración de la gravedad. Permite el crecimiento basípeto de las raíces, que deben hundirse en el suelo para su correcto funcionamiento, y el crecimiento de los tallos hacia el medio aéreo. Es de especial importancia durante la germinación de las semillas, se ve definido por la concentración diferencial de auxina sintetizada en el ápice, allí posee su máximo nivel, que decrece conforme el tallo se aleja de aquél.

Estudios preliminares con semillas germinadas de tomate y secciones de raíz de frijol mungo, girasol, avena y *Ricinus*, indicaron que el IAA inhibía la elongación de las raíces, en todos los casos mediante la inducción de formación de etileno. El rol del etileno propuesto como mediador de las inhibiciones de IAA en las raíces es consistente con otros numerosos efectos que se atribuyen a las auxinas. Por ejemplo cuando el IAA retarda el crecimiento longitudinal en las raíces. La auxina no disminuye el peso seco, la frecuencia de la mitosis, o la extensibilidad plástica de las raíces, excepto a un nivel tóxico, nos hace concluir que “la inhibición del crecimiento longitudinal causada por la auxina ciertamente no es el resultado de una disminución de la intensidad del proceso de crecimiento en general, pero si para provocar un cambio en su curso (Aberg, 1, 1957)”. Lo mismo se puede decir de la acción del etileno, el gas no previene la estimulación del crecimiento y la respiración provocado por la auxina.

Andreae et al (1968) compararon los efectos del etileno y el IAA en el crecimiento de secciones removidas de raíz de chícharo bajo ciertas condiciones. Después de 16 horas de tratamiento la acción inhibitoria del IAA es completamente reversible transfiriendo las raíces a soluciones libres de IAA. En contraste, la inhibición provocada por el etileno es casi totalmente irreversible. El IAA inhibe el crecimiento desde el momento inicial del tratamiento; el etileno permanece generalmente sin efecto dentro de las primeras 3 a 6 horas. La acción inhibitoria del etileno depende de factores tales como edad del tejido y composición de la solución, lo cual no tiene mayor efecto en la inhibición por IAA. La producción de etileno es incrementada por IAA a concentraciones de 100 μ M, pero bajo condiciones en las cuales se reduce la tasa de evolución del etileno 2 a 3 veces a la misma concentración de IAA no afectan la acción inhibitoria del IAA en la elongación. Esto hace ver poco probable que el etileno puede jugar más que un pequeño papel en la inhibición del crecimiento de raíces en chícharo por el IAA.

Ha sido sugerido que la inhibición del crecimiento de raíces de chícharo la cual ocurre en respuesta a la aplicación de IAA, no es una acción directa del IAA, pero si por la formación de etileno inducida por la auxina (Chadwick y Burg, 1967).

Mientras el etileno ciertamente es producido en respuesta al IAA, los efectos del etileno aplicado y del proveniente de la acción del IAA pueden ser distinguidos de varias maneras, lo cual muestra dudas si las muy pequeñas cantidades de etileno evolucionado pueden ser de mayor significancia en la intervención en la acción inhibitoria del IAA.

Chadwick y Burg (1967) mostraron que la evolución del etileno proveniente de raíces de chícharo es grandemente estimulada por IAA 100 μ M. Reportaron una tasa máxima de evolución a las 4 horas, seguida de un baja progresiva hasta después de 16 horas. Este patrón es más probable hecho por el metabolismo de la auxina aplicada. Si la concentración de IAA es mantenida mediante renovación de soluciones o si es aplicada una auxina

substancialmente no degradable como 2,4-D, entonces la tasa de evolución del etileno muestra relativamente pequeños cambios hasta en un periodo por encima de 24 horas.

Finalmente concluyeron que la inhibición del crecimiento a concentraciones de IAA de 10 μM y por abajo es ampliamente atribuible a la evolución del etileno, en tanto que la inhibición a concentraciones más altas es de un carácter esencialmente diferente, tóxico e irreversible.

Chadwick y Burg (1970) demostraron que una gran porción de IAA inhibió la formación de puntas de raíces removidas y virtualmente toda esta inhibición de raíces intactas son el resultado de la producción de etileno dependiente del IAA. Bajo ciertas condiciones un efecto adicional del IAA cuenta para una pequeña porción de la inhibición de puntas de raíces removidas. La producción de etileno en respuesta al IAA aplicado es gobernada por el nivel de la auxina aplicada encontrada dentro de la raíz. Esta evidencia es presentada para confirmar la participación del etileno en la respuesta geo trópica de las raíces. Sustentaron la idea de que el etileno es el intermediario normal en la inhibición del crecimiento radicular provocada por la auxina, tanto en plantas intactas como en secciones separadas de raíz, y también como el etileno juega un importante papel en el geotropismo de las raíces.

La aplicación de IAA a las raíces invariablemente causa una inhibición de la elongación (Aberg, 1957). Se ha presentado evidencia (Chadwick y Burg, 1967) de que la auxina media o interviene en la cantidad de etileno producido para la inhibición en raíces de chicharo, al igual que lo hace en yemas (Burg y Burg, 1968) y tallos etiolados (Burg y Burg, 1966).

Se concluyó que la inhibición del crecimiento radicular inducida por las auxinas, es completamente mediada por la formación de etileno estimulada por el IAA en puntas de raíces expuestas a concentraciones moderadas y bajos volúmenes de soluciones de auxina (Chadwick y Burg, 1970).

Batten y Mullins (1978), determinaron las respuestas del enraizamiento y la producción de etileno por esquejes de hipocotíleo de plántulas etioladas de frijol mungo, tratados con ácido naftalenacético (NAA), ácido indolbutírico (IBA) y ácido 2,4,5 -triclorofenoxipropiónico. No se encontró relación entre las capacidades de las auxinas para inducir la formación de raíces y sus capacidades para inducir la producción de etileno. Estudios con mezclas de IAA, un pobre estimulador del enraizamiento, pero un efectivo inductor de la producción de etileno, e IBA, un efectivo estimulador del enraizamiento pero un pobre inductor de la producción de etileno, con la exposición de estacas a etileno o ácido fosfónico (2-cloroetil) (ETEPHON), almacenaje hipobárico (150 mb) de estacas tratadas, y con la exposición de estacas tratadas con auxinas a CO_2 al 7%, también indicaron que el etileno no está directamente involucrado en la iniciación de raíces adventicias en frijol mungo.

La medida de la participación del etileno en la formación de raíces no está claro, algunos investigadores (Zimmerman y Hitchcock, 1933; Krishnamoorthy, 1972; Kawase, 1971) han encontrado que el etileno o ETEPHON son promotores de la formación de raíces adventicias, algunos han encontrado que el etileno o ETEPHON no tienen este efecto (Krishnamoorthy, 1972; Mullins, 1972), reportando la inhibición de la formación de raíces en estacas de hipocotíleos de frijol mungo.

En varios casos se ha notado que el etileno promueve la formación de raíces adventicias en plantas intactas o en estacas con hojas, pero no presenta efectos en el enraizamiento de estacas leñosas o en segmentos de tallos etiolados (Zimmerman y Hitchcock, 1933; Krishnamoorthy, 1972). Es posible que los efectos promotores del etileno en la formación de raíces estén basados en los fenómenos correlativos que involucran hojas y yemas. Para evitar complicaciones asociadas con dichos fenómenos correlativos, Batten y Mullins usaron segmentos aislados de hipocotíleos de plántulas etioladas de frijol mungo en su estudio de formación de raíces adventicias, y presentaron evidencia de que el etileno no está directamente involucrado en las raíces de este material vegetal. Demostraron que el IBA es una auxina efectiva en la inducción del enraizamiento, pero relativamente ineficiente en la inducción de la producción de etileno por el tejido, que el NAA no solo es una auxina efectiva en la inducción de raíces, sino que también es un estimulador muy efectivo de la producción de etileno. Esto aparentemente demuestra que no existe relación entre la eficacia de una auxina en la inducción de la formación de raíces adventicias y su capacidad de estimular la formación de etileno.

El etileno inhibe la división celular, la síntesis de DNA, y el crecimiento de los meristemos en las raíces, tallos y yemas axilares sin la influencia de la síntesis de RNA. La dominancia apical frecuentemente es rota cuando el etileno es removido, aparentemente porque el gas inhibe el transporte polar de la auxina irreversiblemente, reduciendo en consecuencia el contenido de auxinas en los brotes justo donde el ápice ha sido removido. Las respuestas trópicas son inhibidas cuando el etileno previene reversible y rápidamente el transporte lateral de auxinas. En la mayoría de estos casos la acción del etileno es mimetizada por la aplicación de una auxina, debido a que las auxinas inducen la formación de etileno. Burg (1973)

Batten y Mullins (1978), confirmaron que el IAA es un efectivo inductor de la producción de etileno en hipocotíleos etiolados de frijol mungo (Mullins, 1972).

Serek et al. (1998) trataron estacas de tres especies: Crisantemo (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitam); Geranio (*Pelargonium zonale* L.); e Hibisco (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) con 1-Metilciclopropeno (1-MCP)⁸ o Tiosulfato de plata (STS)⁹ para determinar el efecto de inhibición o la acción del etileno en la calidad y la capacidad de enraizamiento con y sin almacenamiento. El almacenaje disminuyó la calidad de estacas o esquejes de *Pelargonium* e *Hibiscus*, causando amarillamiento de las hojas y degradación de la clorofila. En esquejes de *Dendranthema* no se encontró amarillamiento de las hojas independientemente del tratamiento.

El almacenamiento inhibió el enraizamiento de los esquejes, particularmente en *Pelargonium*, donde el enraizamiento fue reducido a la mitad.

La inhibición química de la acción del etileno retardó el amarillamiento en las hojas inducido por el almacenaje, pero también redujo la capacidad del enraizamiento en esquejes tanto frescos como almacenados.

El amarillamiento de las hojas es un problema de calidad importante durante el transporte y almacenaje de esquejes y se ha reportado que el etileno es un factor importante en la senescencia de las hojas. Sin embargo con STS como inhibidor de la acción del etileno, se ha podido prevenir este fenómeno (Purer y Mayak, 1988).

Recientemente se ha encontrado una nueva herramienta para estudiar los efectos del etileno en las plantas, el 1-metilciclopropeno (1-MCP) (Serek et al., 1994, Serek et al., 1995; Sisler et al., 1996). Este gas inhibe por completo los efectos del etileno, es igual de efectivo que el STS como inhibidor de la acción del etileno, pero a diferencia del STS no es tóxico para los tejidos de la planta en concentraciones mucho más altas que las que estas requieren para lograr una máxima inhibición.

Se ha reportado que el etileno está involucrado en la formación de raíces adventicias. Robbins et al, (1985) demostraron que el tratamiento con etileno de cortes de plántulas de frijol mungo incrementaba dramáticamente el enraizamiento. Esto plantea la posibilidad de que el tratamiento de esquejes vegetativos con inhibidores del etileno, lo que previene su deterioro por medio del etileno durante el almacenaje, puede reducir simultáneamente su capacidad de enraizamiento.

⁸ 1-MCP: Es un regulador vegetal de síntesis que actúa como inhibidor de la acción del etileno. La acción del etileno puede bloquearse por una variedad de elementos y compuestos químicos, entre los que se cuentan el CO₂ y el ión Ag⁺.

⁹ STS: El uso del ión Ag⁺ como agente «anti-etileno» fue descubierto a partir de la aplicación de otro producto, el tiosulfato de plata (Ag₂SO₃). Probablemente el ión Ag⁺ inhibe la transmisión de la señal a nivel de los receptores del etileno.

En general los tratamientos con STS y 1-MCP redujeron el enraizamiento tanto en esquejes frescos como almacenados de *Dendranthema*, sin embargo en *Pelargonium* se incrementó. Se puede concluir que el 1-MCP no afecta la capacidad del enraizamiento y el STS inhibe el enraizamiento y disminuye la calidad de la raíz.

a) EFECTOS DEL ETILENO EN LA DIVISIÓN CELULAR

Cuando se cultivaron continuamente plántulas de chícharo en la presencia de alguna traza de etileno, el tallo se elongó fuertemente y el crecimiento radicular fue inhibido alrededor del 60%. Se desarrolla una zona hinchada por detrás de la punta de la raíz, proliferan los pelos radicales, y la raíz se desvía plageotrópicamente¹⁰ en el campo gravitacional (Chadwick y Burg, 1967); en el tallo ocurren cambios similares.

La mayor causa de la inhibición del crecimiento en general es el retardación o cesación del proceso mitótico (Figura 27), en el meristemo de las raíces, tallos y yemas axilares. Dentro de pocas horas después de que el etileno es aplicado el número de figuras mitóticas en el ápice del tallo comienza a declinar, y alrededor de 10 horas después la mitosis casi se detiene.

Existen auxinas que causan el mismo efecto al menos en parte, mediante la estimulación de la producción de etileno en el ápice; inhiben la mitosis en el ápice de la raíz hasta en un 60 % tanto las auxinas como el etileno, pero concentraciones muy altas de auxinas estimulan la mitosis en la zona de elongación de la raíz justo como en la zona de elongación del tallo. Tanto las auxinas como el etileno bloquean la división celular en los meristemos en algún estado previo a la profase, y las auxinas aparecen para funcionar en este caso a través de la intervención del paso en el cual el etileno es producido. En raíces, tallos y yemas laterales de plantas etioladas de chícharo existe una cuantitativa relación entre las inhibiciones de la síntesis del DNA, la división celular y el crecimiento causado por el etileno.

¹⁰ Las plantas responden frente a estímulos externos mediante movimientos (tropismos). El plagiotropismo es la acción de la gravedad por la que ciertos órganos de las plantas toman una dirección horizontal. Es el fenómeno por el cual una planta u órgano vegetal asume una posición oblicua en relación a la dirección de la luz.

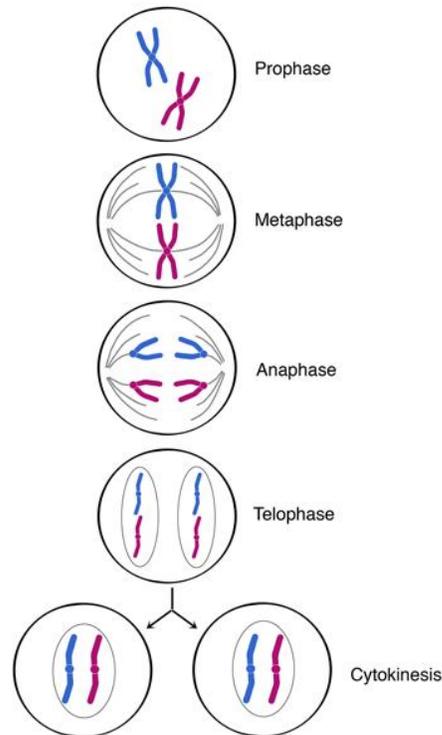


FIGURA 27: Mitosis: Proceso que ocurre en el núcleo de las células eucarióticas y que precede inmediatamente a la división celular, consistente en el reparto equitativo del material hereditario (ADN) característico. Este tipo de división ocurre en las células somáticas y normalmente concluye con la formación de dos núcleos separados (cariocinesis), seguido de la partición del citoplasma (citocinesis), para formar dos células hijas.

b) EFECTOS DEL ETILENO EN LA EXPANSION CELULAR

El rango de elongación de varios tipos de plántulas intactas, incluido chícharo etiolado, es fuertemente inhibido por el etileno dentro de los primeros 15 minutos de aplicación. La inhibición de la expansión celular no es completa en la zona de crecimiento del chícharo. A diferencia de cuando existe la presencia de etileno y las células continúan expandiéndose lentamente, en una manera isodiamétrica, por un tiempo aparentemente indefinido, las mismas células en plantas control se diferencian en pocos días.

En muchos tejidos una concentración muy alta de auxinas, especialmente del tipo sintético no degradable, causa una inhibición adicional, el efecto herbicida, el cual ocurre independientemente de y en adición a la acción del etileno (Chadwick y Burg, 1967; Chadwick y Burg, 1970). La inhibición inducida por auxinas del crecimiento en raíces de chícharo también es explicada en términos de la inducción de la producción de etileno, y bajo

ciertas condiciones adicional y directamente del efecto de herbicida por parte de la auxina (Chadwick y Burg, 1967; Chadwick y Burg, 1970).

c) OTROS PROCESOS INFLUENCIADOS POR EL ETILENO

La regulación por parte del etileno se extiende a los estadios de formación floral, expresión sexual, debilitamiento de la flor y crecimiento y maduración de fruto. El polen es una fuente rica de auxina y libera suficiente hormona de crecimiento para estimular la producción de etileno en el estigma.

d) FACTORES QUE CONTROLAN LA SINTESIS DE ETILENO

Dos factores naturales que controlan la tasa de síntesis de etileno han sido identificados, las auxinas y la luz roja. La inducción de la síntesis de etileno por una auxina ocurre después de 30 a 60 minutos, y de acuerdo a los estudios de la inhibición podría involucrar la *novo* síntesis de una enzima requisito.

e) MECANISMO DE ACCION DEL ETILENO

Para actuar como etileno una molécula debe tener un carbón terminal adyacente a un lazo insaturado.

Átomos sustituyentes¹¹ retiran electrones del lazo insaturado o inhiben estéricamente¹² que se le aproximen, reduciendo la actividad.

Existe una relación cuantitativa entre la habilidad aglutinante del metal y la actividad biológica; y un conocido aglutinante de metales el monóxido de carbono, puede reemplazar el etileno en todas estas acciones a una concentración alta.

La naturaleza transitoria del aglutinamiento es también revelada por el hecho de que muchas respuestas del etileno son reversibles rápidamente; por ejemplo la inhibición del crecimiento en tallos etiolados de chícharo o raíces y la acción del gas en el transporte lateral (33, 1966).

¹¹ En química orgánica, un **sustituyente** es un heteroátomo, grupo funcional o grupo alquilo, que ocupa el lugar de un átomo de hidrógeno de un hidrocarburo o de un grupo saliente de un compuesto orgánico en general.

¹² El **efecto estérico** (o **efecto de la orientación**) es un impedimento descrito en la química orgánica causado por la influencia de un grupo funcional de una molécula en el curso de una reacción química.

f) BIOSINTESIS DEL ETILENO

El precursor *in vivo* del etileno en frutos y tejidos vegetativos es la metionina¹³. El etileno surge de los carbonos 3 y 4, el carbón 1 es convertido en CO₂, el carbón 2 cede formiato¹⁴, pero no CO₂, y el S-metil es retenido en el tejido en una forma no volátil. Durante la síntesis de etileno el S-metil es transferido intacto, o incorporado como dimetil mercaptan, en homoserina en forma de homocisteína, la cual es reciclada a través de varios pasos en metionina.

La producción de etileno es un proceso aeróbico, lo cual indica su dependencia del O₂ en el proceso oxidativo.

El sustrato para la producción de etileno, la metionina, es formado a partir de ácidos orgánicos producidos en la mitocondria. Para ser convertido en etileno, la energía aportada por la mitocondria aparece para ser requerida, y los electrones liberados de la metionina tienen que ser acarreados por un cofactor al sistema respiratorio de transporte de electrones. Presumiblemente debido a estas numerosas interacciones entre la mitocondria y el sistema productor de etileno, no ha sido posible aún reunir un sistema libre de células capaz de desarrollar el gas (Burg, 1973).

2.6.3 LESIONADO

En las estacas de tallo se puede estimular la producción de raíces lesionando su base. Esta práctica ha resultado útil en cierto número de especies.

En estacas de especies siempre verdes de hoja angosta, las lesiones se pueden producir arrancando las ramas laterales de la parte inferior de la estaca. También puede bastar hacer con la punta de una navaja un corte de 2.5 a 5 cm a cada lado de la estaca, que pase por la corteza y llegue a la madera. Una lesión mayor se produce con un instrumento que lleva hojas de afeitar, el cual consiste de cuatro navajas de un solo filo, soldadas en su lomo, logrando hacer en una sola operación cuatro cortes simultáneos.

¹³ La metionina (abreviada como Met o M) es un α -aminoácido con la fórmula química HO₂CCH(NH₂)CH₂CH₂SCH₃. Este aminoácido esencial está clasificado como no polar. Este aminoácido es usado también por las plantas en la síntesis del etileno. Este proceso es conocido como el ciclo de Yang o el ciclo de la metionina.

¹⁴ Los formiatos o metanoatos son sales resultantes de la combinación del ácido fórmico con diversas bases y alcaloides.

Las estacas de mayor tamaño pueden ser lesionadas en forma más efectiva removiendo en cada lado de su base una capa delgada de corteza de unos 2.5 cm de largo, expandiendo el cambium pero sin cortar profundamente la madera. Para obtener mayor beneficio, después de lesionarse las estacas se deben tratar con algún compuesto que estimule el enraizamiento, ya sea preparada en talco o en solución concentrada, haciendo que el material penetre en la herida.

Practicar heridas basales es benéfico para el enraizamiento de las estacas de ciertas especies, en especial en estacas que tienen madera vieja en la base. Con frecuencia, después de las lesiones, la producción de callo y el desarrollo de raíces son mayores 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 a producir primordios radicales. Esto se debe a una acumulación natural de auxina y de carbohidratos en el área lesionada y a un incremento en la tasa de respiración. Además las heridas en los tejidos lesionados son estímulos para que se produzca etileno, del cual se sabe que promueve la formación de raíces adventicias (Krishnamoorthy, 1970; Zimmerman y Hitchcock, 1933).

En estacas donde se removió completamente el cambium se formaron raíces más fuertes (Figura 28), mientras que en estacas donde no se removió el cambium muestran múltiples lugares donde los posibles pelos radiculares se ven como si se fueran a romper a través de la corteza. En estas estacas simples las raíces que se forman se ven débiles y dispersos comparados con las estacas con la mayoría de cambium removido.



FIGURA 28: Lesionado: Izquierda= Estaca simple sin cortes; Centro= Cambium removido completamente; Derecha= Solo una parte del cambium removido.

Esto sucede ya que el centro de la estaca tiene la “tubería” que jala el agua hacia arriba a través de la transpiración (a través del canal de células muertas en el xilema). (Figura 29).

La transpiración es la evaporación del agua de la estaca. En una simple estaca, una solución almidonada es directamente llevada hacia abajo a través del floema. Si el floema es dañado, este es reparado vía la capa del cambium. Removiendo el floema y el cambium (Figura 28, Centro), el transporte de fluidos es bloqueado en el corte. Las hormonas inician la formación de raíces a partir de la capa del cambium en la parte alta del corte tipo anillo.



FIGURA 29: Sistema vascular de una estaca

Es probable que las estacas lesionadas absorban del medio más agua que las que no lo están, y que el lesionado permita que los tejidos que se encuentran en la base de la estaca efectúen una mayor absorción de los reguladores de crecimiento aplicados. En el tejido de tallo de ciertas especies existe un anillo esclerenquimatoso de células fibrosas duras con la corteza y externo al punto de origen de las raíces adventicias; y se cree que las raíces de nueva formación tengan dificultad para penetrar en esa banda de células (Beakbane, 1969; Ciampi y Gellini, 1958). Una herida superficial corta a través de ellas y tal vez así se permita que se haga con menor dificultad la penetración hacia afuera de las raíces en desarrollo.

Existen evidencias de que estacas de *Juniperus Sabina* lesionadas, tuvieron un mayor encañado y enraizamiento que las estacas no lesionadas en su base, para ayudar a evidenciar la necesidad de lesionado, las estacas se trataron con Acido Indolbutírico en talco a 8000 ppm y en solución concentrada a 4000 ppm y un testigo sin dicho tratamiento.

Se han descrito varios métodos de lesionado de estacas de azalea para incrementar el porcentaje de enraizamiento y estimular un mejor enraizamiento (Ticknor y Bobula, 1960).

Ticknor y Bobula (1960), usaron estacas de 3” a 5”, de los cuales se removieron los botones florales al tiempo del lesionado. Se usó IBA en talco al 0.8 y 1%, usando peat moss con arena 1:1 como medio de enraizamiento.

Los métodos de lesionado fueron:

1. Control- Sin lesionado
2. Hendidura- Cortes verticales a través de la corteza a una distancia de 1 ½" de la base del tallo.
3. Lesionado de un lado- Un pequeño corte de corteza de la base hacia el cambium removida de la parte basal 1 ½".
4. Lesionado de ambos lados- Dos cortes de corteza removida de lados opuestos del tallo de la misma manera que en el método 3.
5. Rajado- Tres cortes hacia arriba, cada uno de aproximadamente 3/8" de longitud y ½" separados, dentro de la corteza.
6. En tiras- Corteza removida 1" de la parte basal de la estaca.

Generalmente el lesionado incrementó el porcentaje de enraizamiento en las estacas usadas independientemente de la variedad.

Las estacas lesionadas en uno o dos lados de los tallos produjeron consistentemente resultados deseables y consumieron menos tiempo que los métodos de lesionado de en rajos o en tiras (Ticknor y Bobula, 1960).

Primordios radiculares se diferenciaron alejados del tejido vascular existente gracias a la lesión por división o incisión de estacas de invierno. Estos son precedidos por callosidad abundante de las heridas y de la superficie del corte basal. La mayoría del callo es cortical en origen, pero el callo es también formado como resultado del daño del cambium. En el tratamiento de incisión, un nuevo cambium se diferencia dentro el callo cambial proveniente del cambium no dañado en cualquier lado a fin de formar un punto exterior saliente incluyendo xilema orientado al azar (Mackenzie et al, 1986) (Figura 30).

Dos tipos de salientes son formados en la división de la base del tratamiento resultando que cada mitad se comporta como una estaca separada. Las salientes son subdivididas horizontalmente en proyecciones parecidas a dedos, hechas para la disposición de los brotes en los bordes de la lesión. Una vez que se forma el primordio radical, la diferenciación de tejido parecido al procambium entre este y una o más proyecciones ocurren rápidamente, seguidas del crecimiento hacia afuera de la raíz.

Las raíces emergen del callo basal y en pliegues verticales del callo lesionado. El tratamiento de división incrementa 16 veces el número de estacas enraizadas sobre el control, mientras que el tratamiento de lesionado por incisión incrementa el enraizamiento 4 veces; esto está asociado con el hecho de que más sitios rizogénicos (formas salientes) son formados mediante la separación de la base.

Lemus (1987), comparó porcentaje de enraizamiento y número de raíces, peso y diámetro, con tratamientos con y sin IBA en diversos portainjertos de ciruelo, obteniendo los más altos porcentajes de enraizamiento en tratamientos con IBA. El peso fresco de la raíz, número de raíces, y diámetro de la base de las mismas fueron similares entre todos los portainjertos. Sin embargo en portainjertos Marianna 2624, un corte longitudinal de 5 cm en la base incrementó el enraizamiento, comparado con remover la corteza 2 cm en ambos lados de la base de cada estaca.

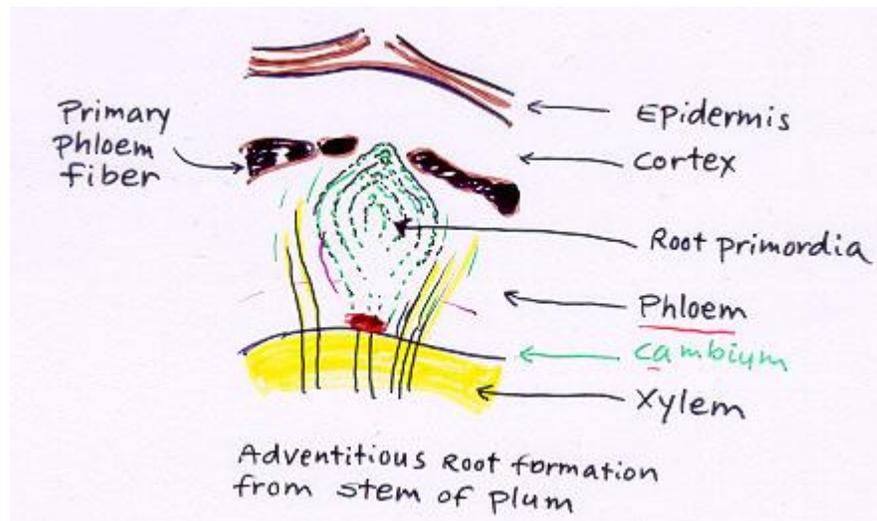


FIGURA 30: Formación de raíces adventicias, se muestra el cortex, cambium, xilema y primordios radicuales.

La recolección de estacas se hizo en julio de 1984 y en junio de 1985. En el primer año el material se estratificó entre 4° y 6°C por 30 días en bolsas de polietileno con aserrín húmedo, y en el segundo, se plantó inmediatamente después de recolectado. La estaca se descortezó alrededor de 2 cm, en ambos lados de la base, para facilitar la producción de callo y la emisión de raíces. En 1985, este descortezado se comparó en Marianna 2624, con un corte longitudinal de 5 a 10 cm desde la base de la estaca (Figura 31).

La diferencia entre descortezado y corte longitudinal fue notoria respecto al número de raíces por estaca. La ubicación de raíces fue también diferente, debido a que, en general, las raíces surgieron de la base de la estaca, excepto cuando se hizo el corte longitudinal, en que las raíces aparecieron a lo largo de 5 a 10 cm desde la base.

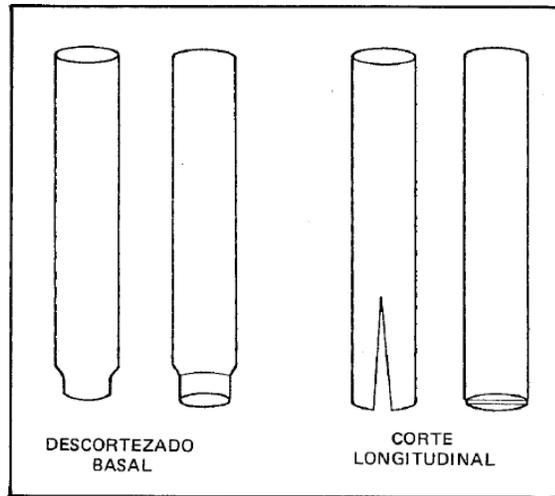


FIGURA 31: Comparación de descortezado basal y corte longitudinal en Marianna 2624. 1985/1986.

Una herida adicional en la base de estacas de tallo de un nudo de *Eucalyptus grandis* incrementó el enraizamiento (Wilson, 1994). Tallos anillados intactos redujeron el enraizamiento en estacas cosechadas de estos, mientras estacas anilladas directamente, tuvieron un pequeño efecto en el enraizamiento (Figura 32), sugiriendo que el floema interno fue activado en el transporte basipétalo en el tallo.

La distribución vertical de raíces en estacas lesionadas adicionalmente sugiere también, un cambio en el patrón de eflujo¹⁵ o descarga del floema interno, como un incremento en la absorción de agua. En esquejes de una hoja emergen más raíces del sector donde existen trazas de la hoja que de la parte donde no existían hojas. En esquejes de dos hojas la distribución circunferencial de las raíces fue uniforme.

Wilson y Staden (1990), sugirieron que la acción de muchos promotores e inhibidores del enraizamiento, es afectada por daños o lesiones químicas. Independientemente de su identidad química, concentraciones subletales promueven el enraizamiento, mientras que altas concentraciones son inhibitorias.

Las fases sucesivas en el proceso de enraizamiento son descritas por De Klerk et al (1999) y los posibles roles de componentes relacionados con el lesionado, auxinas, etileno y compuestos fenólicos durante estas fases específicas.

¹⁵ El eflujo se refiere a cualquier flujo de iones, moléculas u otras sustancias del espacio intracelular al extracelular.

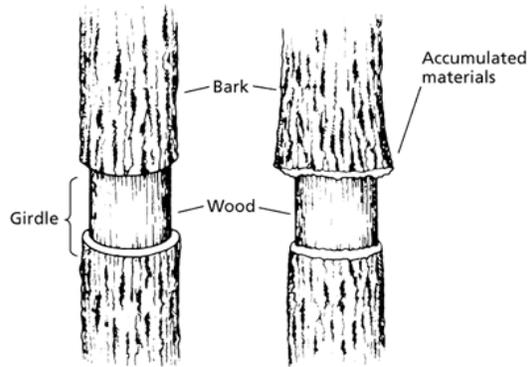


FIGURA 32: Anillado o anillo de corteza, es la eliminación completa de una tira de corteza (consistente en cambium del corcho, floema, cambium, y a veces entrando en el xilema) de alrededor de toda la circunferencia del tronco o rama.

Fraser et al (2004) examinaron por daño secciones de raíces de 1 m de álamo temblón (*Populus tremuloides* Michx.). Raíces no dañadas fueron sujetas a uno de tres tratamientos de lesionado (raspado, cortado, o control sin lesionado) y fueron entonces enterrados nuevamente, tanto en la profundidad normal de la capa orgánica como a un tercio de la profundidad normal. Después de una temporada de crecimiento, las raíces fueron re expuestas y evaluadas para el número de retoños de álamo y tasas de crecimiento. Los resultados indican que las raíces dañadas produjeron dos veces más retoños que raíces no lesionadas. Es decir, raíces lesionadas produjeron más retoños por raíz, y estos retoños fueron más grandes y tenían mayor área foliar. Finalmente sugirieron que el lesionado de raíces de álamo incrementa los retoños inicial, número y tasa de crecimiento.

Rodríguez, et al (2001) enraizaron estacas terminales y basales de *Leucospermum cordifolium* para estudiar si el lesionado (dos incisiones opuestas superficiales) solas o combinadas con tratamientos con IBA podrían mejorar el proceso de enraizamiento. La falta de tratamiento hormonal retrasó significativamente el enraizamiento en esquejes basales y terminales lesionados o no. Lo más cercano al enraizamiento comercialmente adecuado (73.3%) fue obtenido 6 semanas después de la plantación cuando se usaron estacas basales lesionadas tratadas con 4000 ppm de IBA. Estacas terminales no lesionadas tratadas con 4000 ppm de IBA dieron el mejor resultado (86.7 % de estacas trasplantables) 12 semanas después. El lesionado por si solo o combinado con IBA no mejoró significativamente el enraizamiento comparado con el tratamiento hormonal por sí solo. En estacas lesionadas aparecieron dos filas de nódulos de callos a lo largo de los bordes de cada incisión. Las raíces emergieron asociadas con las filas de nódulos de callos, pero también emergieron a través de la corteza en áreas no lesionadas entre las incisiones.

Perez, et al (2001), lesionaron estacas terminales de aproximadamente 15 cm con dos incisiones opuestas en la corteza basal. La formación de raíces

adventicias fue principalmente localizada en el área lesionada y en la superficie del corte basal. Sin embargo, algunas raíces se desarrollaron de tejidos no dañados.

Los efectos del lesionado fueron evaluados en estacas de *Arbutus andrachne* L. El lesionado, haciendo dos incisiones longitudinales opuestas en la base de la estaca, incrementó el enraizamiento. (Al-Salem y Karam, 2001).

Las estacas fueron tomadas de tallos de las temporadas anteriores y recolectadas en febrero. Las estacas basales se lesionaron tal y como ya se mencionó; y se usaron estacas no lesionadas para control. Las estacas fueron tratadas con IBA en forma ácida a 24 o 36 mM. El enraizamiento fue significativamente afectado por el lesionado. El porcentaje de enraizamiento, número de raíces, longitud de raíces, y pesos fresco y seco fueron aproximadamente tres, seis, diez, ocho y ocho veces mayores respectivamente en estacas lesionadas que en las no lesionadas. El tratamiento con IBA 24mM produjo más y más largas raíces que el tratamiento con IBA 36mM. El lesionado basal también fue benéfico para el enraizamiento de portainjertos de manzano M.26 *Malus x domestica* B. (Mackenzie et al, 1986) y *Parkia biglobosa* (Teklehaimanot et al., 1996).

Varias plantas tienen la habilidad de formar raíces adventicias (Hartman y Kester, 1995). Las raíces adventicias también se pueden formar naturalmente en estacas de tallo o desarrollarse en respuesta al lesionado en la estaca. El desarrollo de raíces adventicias de portainjertos de manzano M.26 han sido descritos por Mackenzie et al. (1986) como primordios de raíz diferenciados alejados del tejido vascular existente del lesionado en estacas de invierno (Koyuncu, 2004).

Los tratamientos con lesionado se efectúan conjuntamente con aplicaciones de auxinas en polvo, y líquido mediante inmersiones basales rápidas, particularmente en estacas difíciles de enraizar de especies leñosas (Blythe et al., 2007). Las técnicas de lesionado incluyen: arrancar las hojas o ramas en la base de la estaca, haciendo una o más incisiones verticales en la base de la estaca, dividiendo la base del tallo (dejando ambos lados, o removiendo un lado de la base dividida), o removiendo una capa superficial o profunda de tejido de un lado (o capas de los dos lados), del lado proximal de estacas de tallo leñosas, con el fin de exponer más tejido del cambium a la auxina (Fraser et al., 2004; Howard et al., 1984). El lesionado incrementa la cantidad de auxina absorbida por las estacas de madera de durazno (*Prunus pérsica* L.). Examinando el etileno liberado (Scalabrelli y Couvillion, 1986). Howard et al (1984) encontraron una respuesta significativa al lesionado en estacas de madera dura de portainjertos de manzano M 26, solo cuando se aplicó IBA, pero cuando el lesionado precedió al tratamiento con IBA. Mackenzie et al (1986) concluyeron que el factor crítico en mejorar el enraizamiento de estacas de portainjertos M 26, lesionados mediante la división de la base de la estaca, previo al tratamiento con solución de IBA fue la

exposición de una gran cantidad de tejido susceptible a la influencia promotora del enraizamiento de la auxina aplicada. Investigaciones hechas por Edwards y Thomas (1979) demostraron que la influencia de un tratamiento de lesionado para promover el enraizamiento puede variar dependiendo de factores como especie de planta, tipo de lesionado y concentración de auxinas.

Stuart y Marth (1938) prepararon estacas de acebo americano (American holly) (*Ilex opaca*¹⁶) abriéndolas con cortes de 6.4 cm (2.5”) de longitud con 2 cortes en ángulo recto previo a remojar las estacas con IBA a 100 mg/ litro por 18 horas. Estas estacas enraizaron al 100% y produjeron sistemas radiculares que fueron más grandes y mejor distribuidos que las estacas no lesionadas. Las estacas no lesionadas y no tratadas con IBA no enraizaron, aunque estacas lesionadas pero no tratadas con IBA prácticamente no enraizaron. Otro grupo de estacas fue preparado e insertado en una cama de enraizamiento para producir callo, pero las estacas no fueron tratadas con IBA sino hasta 76 días después. Estacas lesionadas mediante la remoción de dos pequeñas capas de corteza de lados opuestos de la estaca justo arriba del callo basal previo al tratamiento retrasado de IBA, mostraron un mejor enraizamiento que estacas lesionadas sin aplicación de IBA.

Chadwick y Swartley (1941) lesionaron estacas de junípero “Pfitzer” (*Juniperus pfitzeriana*¹⁷), haciendo dos ranuras opuestas en la parte baja de las estacas de aproximadamente 1”, moviendo ligeramente la navaja con la que las ranuras se hicieron creando una ligera ranura. Las estacas lesionadas se trataron con IBA en polvo al 52%, mientras que las estacas no lesionadas se trataron con IBA al 24%. Las estacas lesionadas tuvieron la tendencia a producir más raíces que las no lesionadas. Wells (1955) reportó un alto porcentaje de enraizamiento de estacas de junípero “Pfitzer” en respuesta al lesionado mediante una incisión de 1 ½” seguida por tratamientos con IBA en polvo a 4000 ppm (0.4%), o a 8000 ppm (0.8%), comparados con tratamiento solo de auxina, sin tratamiento, o lesión por incisión seguida por remojo en solución de IBA a 40, 60 u 80 mg/litro. Wells (1962) también encontró que la combinación de IBA y lesionado es efectiva en varios cultivares de coníferas, aunque en estacas de tejos (*Taxus x media*) tratadas de esta manera fue descrita como excesiva en comparación con estacas no lesionadas tratadas con IBA.

¹⁶ *Ilex opaca*, es una especie de árbol perteneciente a la familia Aquifoliácea *Ilex opaca* es un árbol de tamaño mediano siempre verde que alcanza un tamaño de hasta 10-20 m de altura, excepcionalmente hasta 30 m de altura, con un diámetro de tronco de hasta 50 cm, excepcionalmente 120 cm.

¹⁷ El híbrido entre *Juniperus chinensis* y *Juniperus sabina*, conocido como *Juniperus x pfitzeriana* (sin. *J. x media*) es también muy común como planta cultivada. Se mantiene siempre como arbusto, siendo apropiado para jardines pequeños

Ahkami et al, (2009), analizaron en términos de anatomía, expresión genética, actividades enzimáticas y niveles de metabolitos, la formación de raíces adventicias en la planta modelo *Petunia hybrida* cv. Mitchell. Este estudio se enfocó en la participación de la respuesta al lesionado y el metabolismo primario. Tres días después de la separación de las estacas de las plantas madre, aparecieron las primeras células meristemáticas las cuales se desarrollaron en primordios radicales y finalmente en raíces adventicias.

Los Elicitores activan mecanismos de defensa en la planta

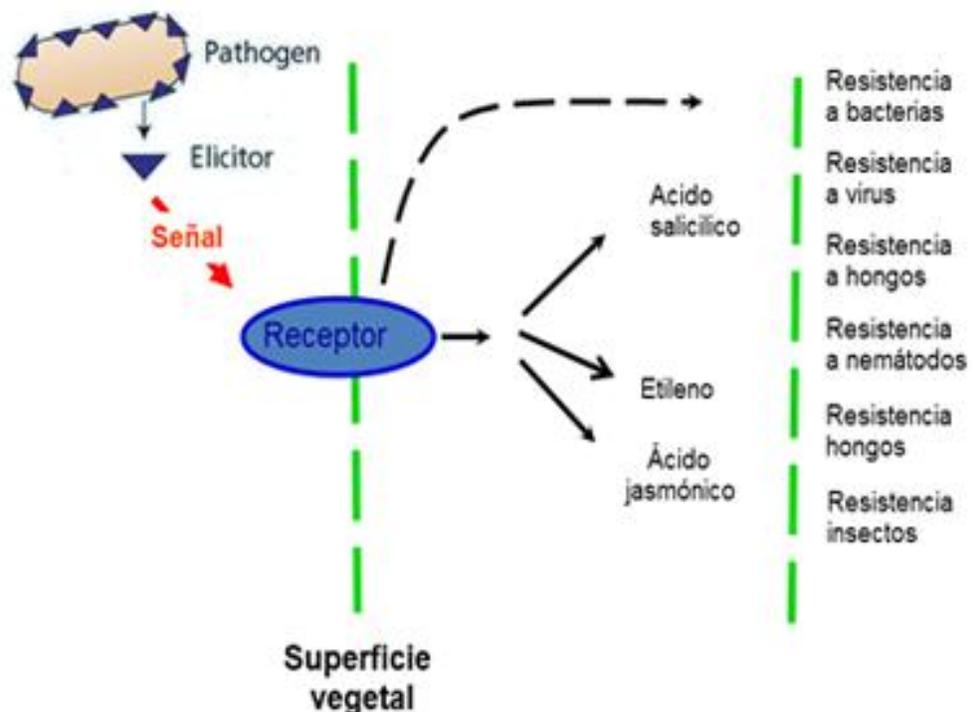


FIGURA 33: ELICITORES= Las interacciones Planta/Patógeno dependen de un sistema de reconocimiento. Se demostró que moléculas “señal” (o elicitores) del patógeno son capaces de desencadenar una respuesta de la planta que va a sintetizar metabolitos que le permiten defenderse. Numerosas moléculas que vuelven a entrar en estos mecanismos de “élicitación” son Oligosacáridos.

La escisión de estacas conduce a un rápido y transitorio incremento en la hormona de lesionado ácido jasmónico (JA)¹⁸.

El papel del JA en la defensa de la planta ha sido respaldado mediante el descubrimiento de que el lesionado y elicitores¹⁹ de patógenos inducen la acumulación de JA (Figura 33).

Los niveles de Acido Jasmónico en los tejidos vegetales varían con el desarrollo, tipo de tejido y presencia o ausencia de estímulos externos (lesiones, patógenos o mecánicos).

Existe una clara evidencia de que la formación de raíces adventicias es también dependiente de la acción del etileno (Clark et al., 1999), cuya producción es causada por el lesionado durante el proceso de estacado.

En la mayoría de las plantas el lesionado también conduce a un incremento en jasmonatos (Schilmiller y Howe, 2005) y el rol de los jasmonatos en la formación de raíces adventicias aún es desconocido. El incremento endógeno de los niveles de jasmonato después del lesionado lleva a una expresión genética específica.

El estudio se ha enfocado en la contribución del JA como un importante regulador de la respuesta del lesionado y del metabolismo primario incluyendo la acumulación de sacarosa y almidón.

En muchas plantas, tejidos dañados localizados, provocan una gama de respuestas de defensa sistémicas contra el ataque de los herbívoros. El progreso para entender el señalamiento a larga distancia que controla estas respuestas ha sido ayudado por la identificación de mutantes que fallan en montar defensas sistémicas al lesionado. Experimentos de injertado en tomate indicaron que el señalamiento sistémico requiere tanto la biosíntesis del ácido jasmónico en el sitio del lesionado, como la habilidad de percibir señales de jasmonatos en tejidos remotos. Este y otros estudios soportan la hipótesis de que el JA regula la producción de, o actúa como, una señal móvil de lesionado (Schilmiller y Howe, 2005).

¹⁸ El ácido jasmónico es un regulador de crecimiento natural que aparece en las plantas superiores. Se han descrito varios roles de este compuesto (o de su compuesto relacionado metil-jasmonato) durante el desarrollo de la planta. (Creelman y Mullet, 1995). Tiene un importante papel en la respuesta de las plantas al lesionado.

¹⁹ Los elicitores son moléculas del patógeno que interactúan con receptores de la planta, activando en ella, respuestas de defensa y la reacción de hipersensibilidad (RH). Son sustancias capaces de accionar la producción de fitoalexinas, moléculas cuya síntesis se induce en los vegetales en respuesta a distintos factores de tensión y que poseen un poder inhibitor respectivo a un amplio abanico de microorganismos patógenos. Los oligosacaridos elicitores son muy específicos y activos, regulando los genes esenciales del crecimiento y desarrollo de la planta.

Bastos et al (2009), verificaron la influencia del sombreado, de la lesión en la base de las estacas y de la aplicación de IBA en el enraizamiento de estacas de madera de carambolos (Star Fruit). Las estacas fueron estandarizadas con tres yemas, dos hojas y 12 cm de longitud.

El experimento fue completamente al azar con el esquema factorial 3 x 4 donde los factores de estudio fueron los tipos de estacas (madera dura sombreados, madera dura con lesión en la base, y madera dura, considerados como control) y las diferentes concentraciones de IBA (0; 3000; 6000 y 9000 mg-L). El sombreado se inició 45 días antes de remover las estacas de la rama principal, envolviendo la base de las futuras estacas con cinta plástica negra. La incisión en la base de las estacas fue llevada a cabo en el momento en que fueron removidas de la rama, haciendo dos cortes en la base. Las estacas fueron mantenidas en una cámara bajo rocíos intermitentes y después de 75 días, se evaluó el porcentaje de enraizamiento, porcentaje de sobrevivencia, porcentaje de formación de callo y longitud de raíces por estaca. Se concluyó que las estacas de madera dura sin los tratamientos de sombreado y lesionado en la base y con aplicación de IBA mostraron los mejores resultados de enraizamiento.

En estudios previos clones de ciprés calvo [*Taxodium distichum* (L.) Rich], fueron seleccionados para determinar las combinaciones de tratamientos que aportaran la cantidad óptima de raíces (porcentaje) y calidad de estaca enraizada (número de raíces, longitud, masa seca, y masa seca del brote) en estacas vegetativas para un clon representativo (King, et al, 2011). Las estacas fueron tratadas con combinaciones factoriales de una de cuatro concentraciones de sales de potasio de IBA (K-IBA), lesionadas y no lesionadas (incisión basal de 1 cm de longitud), y enraizados en tres sustratos diferentes. Las estacas lesionadas tuvieron un efecto deteriorante en las medidas de la calidad de raíces. La longitud total de raíces fue aproximadamente de 14.5 cm para estacas no lesionadas y aproximadamente 10.8 cm para estacas lesionadas.

El promedio de raíces por estaca se incrementó a 1.6 con estacas lesionadas plantadas en un medio de peat moss al 100%, a 3.1 con estacas no lesionadas plantadas en perlita al 100%. En conclusión los resultados sugieren que las estacas de madera suave de alta calidad de ciprés calvo no deben ser lesionadas, tratadas con 15000 mg-L (-1) K-IBA, y enraizados en un sustrato con una capacidad de retención de agua intermedia para proveer un balance aceptable entre porcentaje de enraizamiento y los objetivos de calidad en estacas enraizadas.

Rodríguez-Pérez et al., (2011), analizaron la influencia de las auxinas y el lesionado en el enraizamiento de estacas de tallo de Protea²⁰ “Susara” (*P. magnifica* x *P. susannae*) obtenidos de brotes prolépticos²¹. Se llevaron a cabo dos experimentos. Estacas terminales de 10 a 15 cm de longitud, tratadas con 4000 mg-L de IBA y lesionadas o no fueron usadas en el primer experimento. La combinación de lesionado + IBA no mejoró significativamente el enraizamiento, comparado con el uso de IBA únicamente (70% y 53% de estacas trasplantables respectivamente).

En el segundo experimento fueron usados tres niveles de IBA (0, 2000 y 4000 mg-L), con y sin lesionado, y estacas incluyendo la longitud total del brote. Al final del tratamiento (24 semanas), las estacas lesionadas tratadas con 2000 mg-L ó 4000 mg-L de IBA, aportaron 90% de estacas trasplantables. La combinación de IBA+ lesionado favoreció significativamente el enraizamiento en comparación con el uso de IBA o lesionado solos (Rodríguez-Pérez et al., 2011).

2.6.4 OXIGENO

El oxígeno ha sido conocido como estimulador del desarrollo de la raíz de esquejes en un medio de cultivo líquido y en el suelo (Zimmermann, 1930).

La presencia de oxígeno disponible en el medio de enraizamiento es indispensable para la producción de raíces, aunque los requerimientos varían con las diversas especies. Las estacas de sauce por ejemplo, forman con facilidad raíces en agua con un contenido de oxígeno tan bajo como 1 ppm, pero la hiedra inglesa requiere de unas 10 ppm para el desarrollo adecuado de raíces (Zimmermann, 1930).

El enraizamiento de estacas de clavel y de crisantemo aumentó marcadamente a medida que el agua en que se estaban haciendo enraizar fue aireada con cantidades crecientes de oxígeno de 0 a 21% (Tinga, 1952). Agregando oxígeno complementario a los cajones en los que se estaban haciendo enraizar estacas de manzano se obtuvo un notable aumento del enraizamiento (Howard, 1975).

²⁰ Protea es el nombre botánico y el nombre común en castellano de un género de plantas florales. El nombre del género Protea fue creado en 1735 por Carlos Linneo en honor al dios griego Proteo que podía cambiar de forma a voluntad, dado que las proteas tienen muchas formas diferentes.

²¹ BROTES PROLEPTICOS - Nacen de una yema lateral que estuvo en receso vegetativo en la primavera, verano o en el otoño anterior

Livingston y Free (1917), usaron contenedores de suelo sellados, los cuales podían ser regados por auto-irrigación y aireados, concluyeron que las plantas varían en sus requerimientos de oxígeno, por ejemplo el sauce requiere niveles bajos de oxígeno y los coleos requieren altos niveles del gas. La ausencia total de oxígeno causa la muerte de especies sensibles como coleos y heliotropos. Las raíces son incapaces de absorber agua y en consecuencia mueren.

Bergman (1920), observó que raíces de plantas de tierra no viven en una sumersión prolongada, las raíces mueren pronto y se desarrollan nuevas cerca de la superficie del agua, pero cuando el agua es aireada, las raíces sobreviven a la inmersión.

Zimmermann (1930) mostró algunos de los efectos de cantidades conocidas de oxígeno disuelto en agua en el crecimiento radicular. Sumergió esquejes de sauce (*Salix péndula*) en agua a diferentes profundidades. El experimento consistió en esquejes aireados y no aireados puestos en agua superficial, medio profunda y profundamente. La aireación fue dada por burbujeo de aire u oxígeno provenientes de cilindros a través del agua en que estaban sumergidos los esquejes. En algunos de los casos se suministraron compuestos oxidantes como permanganato de potasio y peróxido de hidrógeno a intervalos regulares al agua simple en que los esquejes fueron cultivados, pero aunque aumentaron el enraizamiento, estos no fueron efectivos en la aireación.

En la mayoría de los casos se usó agua simple y para iniciar con agua con menos oxígeno, esta se hirvió. También en algunos casos se puso aceite de parafina sobre la superficie del agua para disminuir la absorción de oxígeno proveniente del aire. Se sumergió la parte basal del esqueje en agua, mientras que las hojas y partes aéreas quedaron fuera del recipiente con agua.

El enraizamiento ocurrió en los tratamientos en que se aireó con oxígeno desde la base del esqueje. En los tratamientos en que no se suministró oxígeno, el enraizamiento ocurrió cerca de la superficie, donde hay mayor cantidad de oxígeno proveniente del aire, pero en los que la superficie fue sellada y no se suministró oxígeno no hubo enraizamiento. Con esto se demostró que el oxígeno es un factor limitante del enraizamiento (Figura 34). Como conclusión tenemos que cuando las raíces se producen solo en la superficie del medio de enraizamiento, es probable que la provisión de oxígeno de medio sea inadecuada.

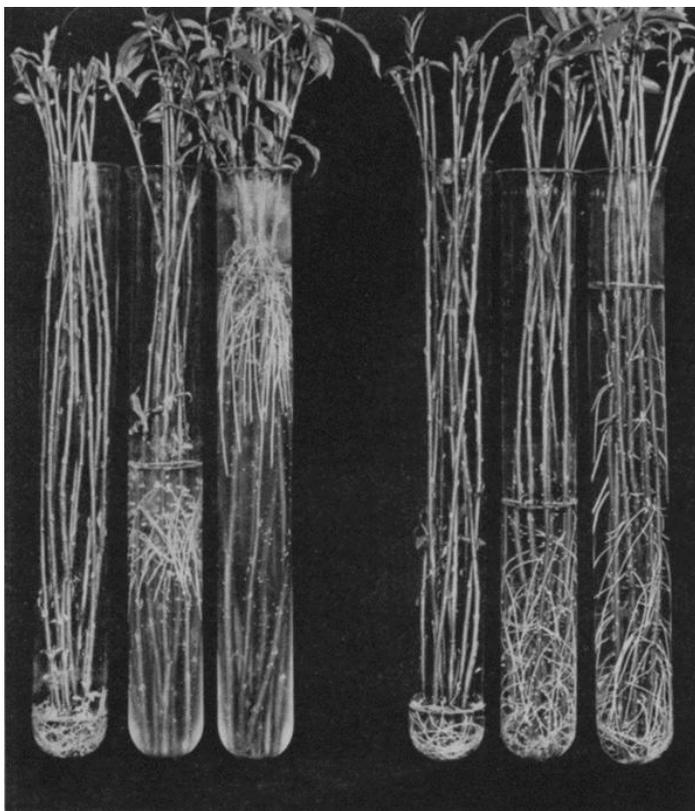


FIGURA 34: Enraizamiento de estacas de sauce. Izquierda= Tubos sin aireación. Derecha= Tubos aireados con oxígeno.

Phillips (1964), estudió las interacciones de la inundación del sistema radicular con otros tratamientos simultáneos en plantas de girasol (*Helianthus annuus*). Se indujo epinastia²² de las hojas en plantas intactas mediante el ahogamiento, pero este efecto de anegamiento del sistema radicular fue eliminado cuando el tallo fue decapitado. La adición de ácido indol-3-acético (IAA) en lanolina en la superficie de corte de las plantas restauró la epinastia inducida por el efecto de inundación. Esto se tomó como evidencia de que la inundación produce un incremento en el contenido de auxinas en el tallo. En plantas no anegadas la decapitación resultó en un movimiento hiponástico de las hojas²³, mientras que aplicaciones de IAA a la punta del tallo antagonizaron esto (Figura 35).

²² EPINASTIA: Enfermedad vegetal en la que las hojas experimentan una curvatura hacia abajo de las hojas, debida a un exceso de luz y calor, terminando las hojas por marchitarse rápidamente.

²³ HIPONASTIA: Término botánico, se refiere al crecimiento más rápido de la cara inferior de un órgano, como la hoja, en donde produce la curvatura hacia arriba del limbo. Es un pliegue hacia arriba de las hojas u otras partes de la planta resultante del crecimiento del lado de abajo. Esto se puede observar en muchas plantas terrestres y se cree que está ligada al etileno.

El anillado de plantas inundadas resultó en una gran reducción de la tendencia a formar raíces adventicias en la región por debajo del anillado. El engrosamiento y varios cambios morfológicos se produjeron en el hipocotíleo como resultado del ahogamiento del sistema radicular. Los efectos de la inundación pueden ser simulados en la región alta del tallo de plantas no ahogadas mediante el anillado de más región basal del tallo.



FIGURA 35: Respuesta hiponástica, cuando el pliegue hacia arriba de las hojas o la elongación del peciolo restauran el intercambio de gases normal con la atmósfera. Las plantas producen etileno que se disuelve normalmente en el aire fácilmente. Pero cuando las plantas se sumergen el etileno queda atrapado en la planta, las plantas que se exponen a altos niveles de etileno muestran una respuesta hiponástica.

Estos resultados son interpretados como indicadores de que el sistema radicular puede servir normalmente como un centro para la inactivación oxidativa de auxinas sintetizadas en exceso en el tallo, regulando los niveles de auxinas en el tallo.

Agregando oxígeno complementario a los cajones de enraizamiento de manzano se obtuvo un notable aumento del enraizamiento (Howard, 1975). Se realizaron experimentos en los que el oxígeno fue suministrado por debajo del medio de enraizamiento mediante un piso poroso a un rango aproximado de 1 l de oxígeno por 1 l de mezcla de suelo por 5 segundos a intervalos de entre uno y tres días, demostrando un gran mejoramiento en la sobrevivencia y enraizamiento de estacas de portainjertos de manzano. (Tabla 2).

TABLA 2: Efectos del oxígeno en el enraizamiento de estacas de portainjertos de manzano.

PORTAINJEROS	% MUERTO EN LA BASE		% ENRAIZAMIENTO	
	Oxígeno	Control	Oxígeno	Control
MM 106	0	42	90	16
MM 111	-	-	65	28
M 26	4	28	80	48

La inundación del suelo conduce a una deficiencia de oxígeno en las raíces, mediante el impedimento del reemplazo del oxígeno usado en la respiración a través de difusión proveniente de la atmósfera (Grable, 1966). El intercambio de gas con el ambiente también puede causar la captura de etileno endógeno dentro de los tejidos sumergidos, incrementando su concentración (Kawase, 1972; Konings y Jackson, 1979). Similarmente el etileno producido por microorganismos acumulados en suelos inundados, frecuentemente alcanza concentraciones que retardan la extensión de las raíces (Smith y Russell, 1969). Además, la producción de etileno por tejidos del tallo pueden ser estimulados por raíces expuestas a condiciones de anoxia o falta de oxígeno (Jackson y Campbell, 1976; Bradford y Dilley, 1978).

Bradford y Dilley (1978) hicieron experimentos para determinar las fuentes de etileno que causan la epinastia en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* M.) sumergidas en agua; midiendo el etileno sintetizado por raíces y tallos de plantas de tomate expuestas a atmosferas aeróbicas y anaeróbicas en la zona de la raíz (Figura 36). Cuando la zona de la raíz se hizo anaeróbica, se observó epinastia del peciolo y una síntesis acelerada del etileno por los tallos. En plantas cultivadas en el suelo, la síntesis del etileno en el complejo raíz-suelo se incrementó bajo condiciones anaeróbicas, pero cuando se cultivaron en medios inertes bajo las mismas condiciones, la síntesis del etileno por las raíces se mantuvo constante o declinó durante el periodo de rápido crecimiento epinástico por los peciolos. Al aplicar nitrato de plata, un inhibidor de la acción del etileno, se previno completamente la epinastia. Demostrando que el etileno es el agente responsable de los síntomas del anegamiento. Estos resultados indican que la privación de oxígeno a las raíces es el efecto primario de los suelos inundados, y esto es suficiente para causar un incremento en la síntesis de etileno en el tallo.

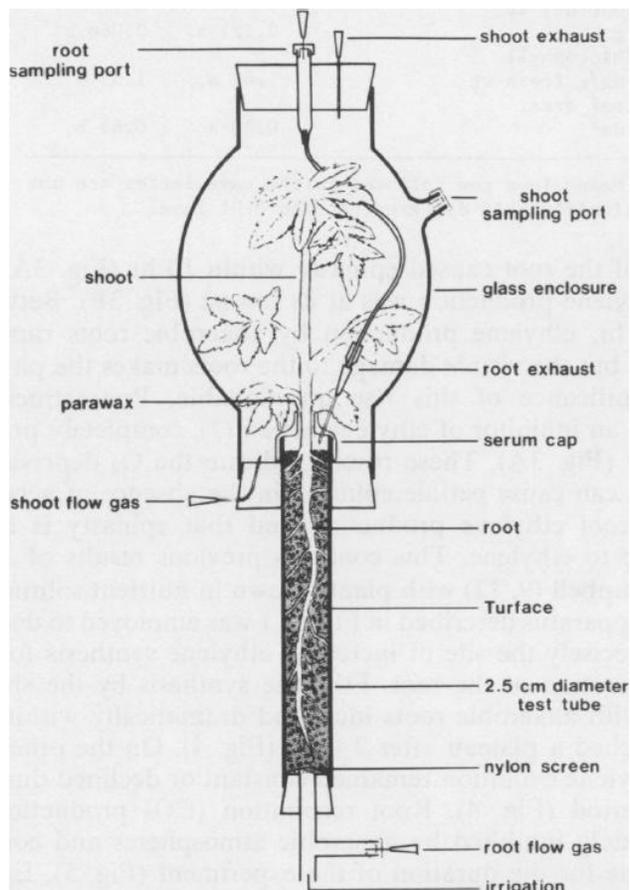


FIGURA 36: Aparato experimental usado para la medición simultánea de la producción de etileno en tallos y raíces usado por Bradford y Dilley.

Drew et al (1979), dieron tratamiento de aireación a las raíces y la base del tallo de plantas de maíz de 10 días de edad, las cuales fueron cultivadas en soluciones nutritivas; fueron aireadas continuamente con etileno ($5 \mu \text{l}^{-1}$) en el aire o con aire únicamente. El tratamiento con etileno aceleró la emergencia de raíces adventicias (nodales) de la base del tallo, pero hicieron más lenta su extensión subsecuente. El etileno también promovió el colapso de células en el córtex de esas raíces, con el desarrollo lisígeno²⁴ de prominentes espacios de aire (Aerénquima²⁵).

²⁴ Lisígeno: Espacio intercelular originado por lisis de las células que lo rodean.

²⁵ Aerénquima: Tejido vegetal parenquimatoso con grandes espacios intercelulares llenos de aire, presentando sus células constituyentes por finas membranas no suberificadas; en unos casos es un tejido primario y en otros, producto del felógeno de un meristemo parecido. Es propio de plantas acuáticas sumergidas o de las palustres que se desarrollan en medios pobres en oxígeno.

La solución de nutrientes no aireada causó la producción endógena de etileno que se acumuló en las raíces, y estimuló tanto la emergencia de raíces adventicias como la formación de espacios corticales de aire en estas. Con el tratamiento de no aireación la concentración de oxígeno no fue menor al 1% en la fase de equilibrio del gas (aire=20.8%). La completa desoxigenación de la solución nutritiva, produjo nitrógeno libre, previniendo tanto la formación de espacios de aire como la evolución de etileno por segmentos de raíz.

Estos resultados sugieren que la formación de raíces adventicias y la formación de espacios de aire corticales en las raíces nodales en *Zea mays* puede ser estimulada por concentraciones mejoradas de etileno endógeno resultantes del aprisionamiento del gas por capas de agua sin agitar alrededor de las raíces y/o por el incremento de la biosíntesis. Estos resultados son considerados conducentes para la sobrevivencia en suelos anegados.

Loach (1986), sugiere que los beneficios de la difusión gaseosa relativamente libre a través de medios de propagación convencionales y también que la difusión de oxígeno a través de la porción aérea de los esquejes hacia su base, pueden suministrar la mayoría de oxígeno que estos necesitan. También demostró que películas de agua, tanto alrededor como dentro de la base del esqueje obstruyen el paso libre de oxígeno para desarrollar raíces iniciales, por lo cual sugiere una obvia y consistente relación entre el enraizamiento y el aire volumétrico y el contenido de agua en el medio. Tomando en cuenta estos factores se puede determinar el medio de propagación a usar, basado en la consideración del tipo de esqueje, temporada y sistema de propagación.

Matkin (1965), concluyó que un medio de enraizamiento debe tener alrededor de un 20% de su volumen como espacio poroso llenado de aire. El medio de enraizamiento tiene tres funciones esenciales: 1) Soporte de la estaca; 2) Agua; y 3) Aireación, es decir, oxígeno para el desarrollo de los procesos metabólicos en la formación de raíces.

El oxígeno puede llegar a la base del esqueje vía dos diferentes rutas, a través del medio, o por la difusión hacia abajo a través de los tejidos del mismo esqueje. Una gran diversidad de esquejes se ha puesto a enraizar con sus bases en agua y, debido a que la difusión de oxígeno a través del agua es 10,000 veces más lenta que a través de un medio gaseoso, podemos asumir que la última vía mencionada, a través del esqueje, es importante en estos casos. Komissarov (1969).

Es importante que el medio tenga un adecuado balance entre agua y aire disponible para el esqueje (Maronek, 1985). Se ha demostrado que mientras el porcentaje de agua en el medio de enraizamiento disminuye, y a la vez el porcentaje de aire aumenta, se incrementa el enraizamiento (Loach, 1986). Lo que es importante determinar es que el contenido de agua no equivale al porcentaje de humedad disponible en el medio de enraizamiento.

Milbocker y Stefani, mostraron en un experimento en el cual el agua fue usada como solvente para agroquímicos, que el agua simple produjo un enraizamiento más temprano cuando se comparó con esquejes no sumergidos. La significancia de este fenómeno fue estudiada con esquejes de nochebuena, *Euphorbia pulcherrima*, los cuales fueron puestos en inmersión en agua a temperaturas de 5, 25 y 35°C, durante 0, 3, 6 y 12 horas.

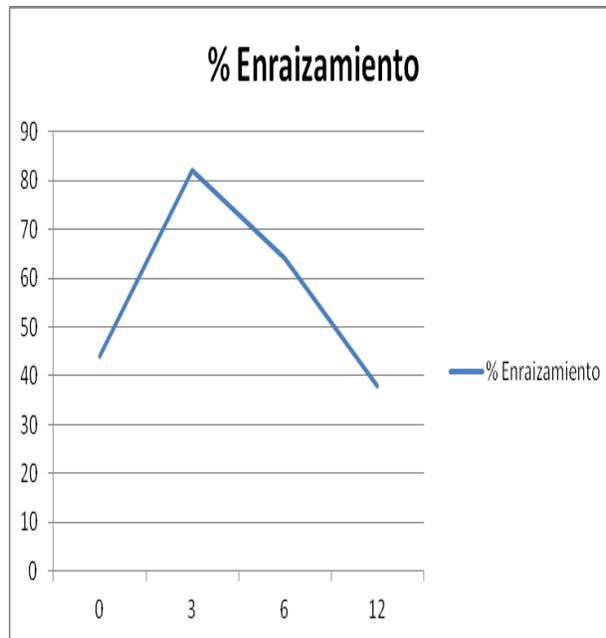


FIGURA 37: Porcentaje de esquejes de nochebuena enraizados después de inmersión en agua durante diferentes períodos de tiempo, y propagación por 3 ½ semanas.

Se encontró que los esquejes de Nochebuena sumergidos en agua por 3 horas, iniciaron raíces más pronto que los que no fueron sumergidos o los que fueron sumergidos por períodos de tiempo más largos. (Figura 37). Debido a la iniciación temprana de raíces, estos esquejes produjeron más y más largas raíces en el mismo período de tiempo requerido para los demás esquejes para empezar la iniciación de raíces. Adicionalmente se encontró que la temperatura ideal del agua para este procedimiento fue de 15°C.

La formación y crecimiento subsecuente de las raíces de esquejes de Nochebuena, Rosa, Hortensia y Azalea en varios medios de propagación bajo diferentes condiciones de aireación fueron investigados por Gislerod (1983). Al mismo tiempo que estudió las interrelaciones de los efectos de contenido de aire del medio, temperatura e intensidad de la luz en el enraizamiento de esquejes de nochebuena.

Con bajos contenidos de aire (0 cm de tensión de humedad) en el medio de propagación, la formación y crecimiento de raíces fue fuertemente inhibida. El enraizamiento de rosa fue el menos afectado por la pobre aireación. Incrementando el contenido de aire se mejoró el enraizamiento, pero los mejores resultados se obtuvieron a tensiones de humedad de 4 a 8 cm. El enraizamiento parece ser mejor correlacionado con el índice de difusión de oxígeno, que con el contenido de aire.

En otros experimentos se encontró que un medio bien aireado es mucho más eficaz que uno pobremente aireado. Richey (1985), encontró que con tres veces más aire que agua en una mezcla de suelo se pueden plantar 25% más esquejes por charola que con una mezcla con un rango 1:1 en relación aire:agua. Así mismo encontró que las raíces iniciales se forman más rápido y desarrollan más raíces secundarias en un medio con mejor aireación.

Soffer y Burger (1988) enraizaron estacas de *Ficus benjamina* L y *Chrysanthemum x morifolium* de manera aerohidropónica para estudiar el efecto de concentraciones de oxígeno disuelto en el rango de 8 mg/ litro (saturación ambiental), a 0 mg/ litro, encontrando que el oxígeno disuelto es esencial para la formación de raíces adventicias y el crecimiento radicular. Las estacas leñosas (*Ficus*) y las suaves (*Crisantemo*) respondieron de manera similar. Bajando la concentración de oxígeno disuelto se incrementó el tiempo requerido para formar raíces adventicias, reduciendo el porcentaje de enraizamiento, el número de raíces formadas por estaca, y la longitud promedio de las raíces. Las comparaciones entre agua agitada y no agitada sugirieron el desarrollo de un área con una concentración pobre de oxígeno (capa límite) en la interfaz tallo-agua en estacas sumergidas en agua sin agitar. Las estacas en agua agitada enraizaron constantemente más pronto y formaron más raíces que las enraizadas en agua sin agitar. El mayor enraizamiento se produjo en secciones de estacas rociadas (con altas concentraciones de oxígeno disueltas), suspendidas en las cámaras aerohidropónicas.

Pharr y Motomura (1989) estudiaron el efecto de la anaerobiosis o falta de oxígeno impuesta durante la germinación de semillas de calabaza (*Cucumis sativas* L.). Las condiciones anaeróbicas inhibieron la movilización de reservas de los cotiledones y la ganancia de peso seco por el eje del embrión. Esta inhibición del crecimiento durante la anaerobiosis puede ser el resultado en parte de la privación de carbohidratos del eje del embrión²⁶.

²⁶ Eje del embrión: La mayor parte del embrión, consistente en el tallo, mesocotilo y la raíz.

Las plantas exhiben un amplio rango de respuestas anatómicas, bioquímicas y fisiológicas al anegamiento, incluyendo la formación de tejido aerenquimatoso en tallos y raíces, lenticelas hipertrofiadas, producción de productos finales alternativos metabólicos como el etanol, incremento o disminución en la producción de hormonas, disminución del intercambio de gases y asimilación de carbón, y muerte de la planta (Koslowski, 1984).

Voesenek, et al (1993) estudiaron la síntesis del etileno y su atrapamiento al sumergir y privar de oxígeno dos especies contrastantes de *Rumex*, una resistente al anegamiento (*Rumex palustris*) y otra sensitiva a este (*Rumex acetosa*). Se aplicó el método fotoacústico para determinar las concentraciones internas de etileno en plantas sumergidas. Ambas especies de *Rumex* se caracterizaron por el aumento en las concentraciones de etileno en el tallo después de 24 horas de sumersión. Esto no se relaciona con el aumento en la síntesis de etileno pero sí con la producción continua del mismo y su entrapamiento físico.

Las plantas en su ambiente natural frecuentemente experimentan una disponibilidad limitada de oxígeno ya sea por un ahogamiento pasajero o continuo. La lenta tasa de difusión de gases en el agua limita el suministro de oxígeno, lo cual afecta la respiración aeróbica de la raíz, así como muchos procesos bioquímicos en todas las partes de la planta (Horchani, et al., 2011).

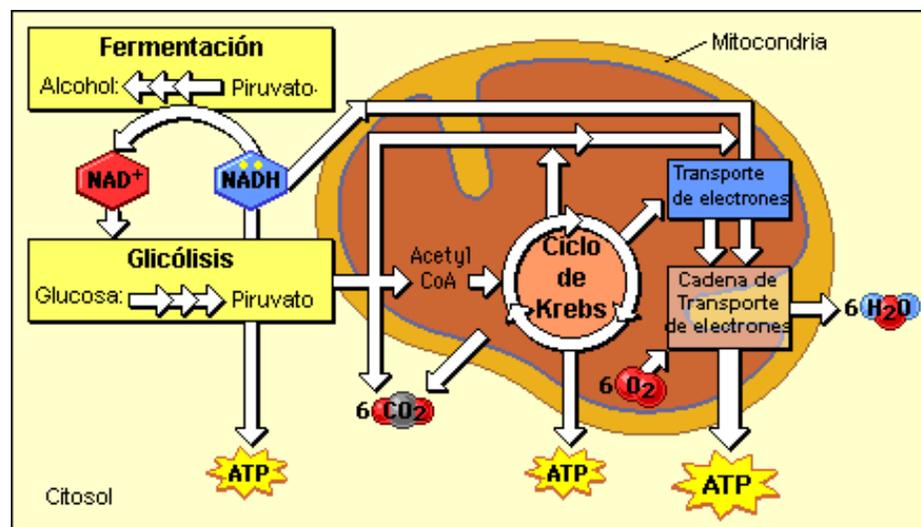


FIGURA 38: Respiración celular, producción de ATP: En la respiración celular, la energía química de varios nutrientes, como la glucosa, es transferida al ATP. En esta forma puede ser transportada para proveer de la energía necesaria para llevar a cabo las funciones metabólicas. El diagrama ilustra las relaciones entre varios aspectos de la respiración celular.

La saturación de agua en el suelo tiene dramáticas consecuencias en los procesos de difusión de gases, ya que los gases se difunden 10^4 veces más rápido en el aire que en el agua (Mommer et al., 2004). Consecuentemente uno de los mayores efectos del ahogamiento es un bajo fondo de O_2 disponible en las partes de las plantas sumergidas. Esta baja en el O_2 es aumentada por los procesos aeróbicos que toman lugar en la rizosfera (respiración microbiana, por ejemplo). De acuerdo con esto, las condiciones de hipoxia pueden desarrollar una reducción en la producción de ATP (Figura 38), y una consecuente disminución en el metabolismo de la raíz (Ricard et al., 2006).

Se distinguen tres tipos de stress en respuesta al anegamiento basados en el nivel de O_2 en el ambiente de la raíz:

- 1) Normoxia: Condiciones bajo las cuales la respiración aeróbica y el metabolismo ocurre normalmente y la mayoría del ATP es generado vía fosforilación oxidativa²⁷.
- 2) Hipoxia: Condiciones bajo las cuales la reducción de O_2 disponible empieza a ser un factor limitante para la producción de ATP a través de la fosforilación oxidativa (La glicólisis aporta una gran proporción de la producción de ATP).
- 3) Anoxia: Condiciones bajo las cuales el ATP únicamente es producido a través de la glicólisis y no existe O_2 disponible.

La formación de raíces adventicias aerenquimatosas es una aclimatación morfológica a la inundación del suelo en muchas plantas de tierra húmeda. Los grandes espacios de aire en estas raíces facilita la difusión de gases entre tallo y raíz (Visser, et al., 1996).

Visser et al. (1996), al estudiar la formación de raíces adventicias en especies del género *Rumex* encontraron grandes diferencias en el número y la morfología de las raíces adventicias entre especies estrechamente relacionadas. *R. hydrolapathum*, una especie casi permanentemente de suelos anegados, mostró solo un crecimiento lento de raíces adventicias, pero estas raíces fueron extremadamente porosas y muy gruesas. *R. palustris*, la cual es anegada muy frecuentemente pero no permanentemente, desarrollo un gran número de raíces adventicias con un alto contenido de aerénquima. Por otro lado, las raíces adventicias en *R. thyrsiflorus* y *R. acetosa*, especies de hábitats raramente inundados, fueron más bien pobres y las raíces adventicias contuvieron únicamente espacio aéreo muy pequeño. Un grupo de especies de pastizales regularmente inundados (*R. crispus*, *R. conglomeratus* y *R. obtusifolius*) mostraron una respuesta intermedia a la inundación del suelo.

²⁷ Fosforilación oxidativa: Es un proceso metabólico que utiliza energía liberada por la oxidación de nutrientes para producir adenosín trifosfato (ATP). Se le llama así para distinguirla de otras rutas que producen ATP con menor rendimiento, llamadas "a nivel de sustrato". Se calcula que hasta el 90% de la energía celular en forma de ATP es producida de esta forma

Dos especies contrastantes, *R. palustris* y *R. thyrsiflorus*, mostraron emergencia de raíces adventicias dentro de los dos días después del inicio del anegamiento. Aunque el tiempo de inicio de raíces adventicias fue similar en estas dos especies, el sistema radicular lateral primario de *R. palustris* fue completamente sustituido por raíces adventicias en una semana, independientemente de la edad de las plantas. En contraste, la biomasa de raíces adventicias en *R. thyrsiflorus* después de una semana de anegamiento nunca fue mayor a un tercio de la biomasa del sistema radicular lateral primario. Visser et al. (1996), concluyeron que la capacidad de las especies para formar raíces adventicias durante condiciones de suelos inundados y las características adaptativas de estas raíces estaban estrechamente relacionadas a la frecuencia de las inundaciones e estas especies en su hábitat natural.

La deficiencia de oxígeno en la zona de enraizamiento ocurre con un drenaje pobre después de la lluvia o el riego, causando una disminución en el crecimiento y pérdidas de especies de tierras secas, en contraste con las especies nativas de suelos húmedos que toleran dichas condiciones. Drew (1997), examinó como las raíces son dañadas por la deficiencia de O₂ y cómo cambia el metabolismo durante la aclimatación de las plantas a bajas concentraciones de O₂.

En el meristemo apical de la raíz, la sobrevivencia de la célula es importante para el futuro desarrollo; los cambios metabólicos bajo condiciones de anoxia ayudan a mantener la sobrevivencia de la célula mediante la generación de ATP anaeróbicamente y minimizando la acidosis citoplasmática asociada con la muerte celular. Detrás del ápice donde las células son completamente expandidas, la muerte dependiente del etileno y la lisis ocurren bajo condiciones de hipoxia de forma continua, los canales llenos de gas (aerénquima) transporta O₂ a las hojas. Este sacrificio selectivo de células puede parecerse a la muerte programada de células y es distinta a la muerte celular causada por la anoxia (Drew, 1997).

Las dos señales internas gaseosas, etileno y oxígeno, son frecuentemente asociadas con las respuestas de las plantas o partes de ellas rodeadas por agua (Drew, 1997). La sumersión tiene un dramático efecto en las concentraciones endógenas de estos dos componentes debido a la muy lenta difusión de gases en el agua comparada con el aire (Jackson, 1985). En órganos no fotosintetizadores, como las raíces, los niveles de oxígeno declinan rápidamente debido al continuo consumo del gas en la respiración y al muy lento suministro de oxígeno aéreo a la raíz (Visser et al., 1996). Por otro lado el etileno se acumula a niveles fisiológicamente activos en los tejidos sumergidos, debido a la producción en casi cada órgano y dificultando su difusión a la atmósfera (Voesenek y Bloom, 1999). Sin embargo, un prerrequisito para la continua producción de etileno es la presencia de al menos algo de oxígeno molecular, debido a que la conversión del etileno precursor 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) a etileno, catalizado por ACC oxidasa, usa oxígeno molecular como co-sustrato (Kende, 1993). Los niveles elevados

de etileno son importantes para la inducción de rasgos morfológicos y anatómicos sobre la inundación del suelo, tales como la formación de aerénquima y raíces adventicias (Ricard et al., 2006).

El oxígeno es otra señal interna gaseosa que cambia dramáticamente con la sumersión. El stress inducido por las muy bajas concentraciones de oxígeno no es exclusivo de ambientes anegados, ya que puede ocurrir en tejidos caracterizados por tasas de metabolismo rápidas (meristemas radiculares, tejido del floema). En estos tejidos, la tasa de suministro de oxígeno vía difusión es muy lenta para mantener el ritmo con su consumo (Geigenberger, 2003).

Debido a la hipoxia en la rizosfera, el anegamiento puede perjudicar el rendimiento de cormófitos²⁸ terrestres, y de este modo tiene un gran impacto en la composición de especies en sitios propensos al anegamiento (Mommer, et al., 2004). Es bien conocido que durante el anegamiento muchas especies tolerantes a este desarrollan una variedad de cambios morfológicos y fisiológicos para mantener las condiciones normales lo más posible (Blom y Voesenek, 1996). Estos cambios, los cuales incluyen la formación de raíces adventicias y desarrollo de aerénquima, son considerados como facilitadores del transporte de oxígeno a tejidos anaeróbicos (Aschi-Smiti et al., 2003).

Durante el stress de anegamiento han sido descritas otras interacciones hormonales. El sinergismo entre IAA y etileno ha sido propuesto durante la formación de raíces adventicias (Grichko y Glick, 2001). El desarrollo de raíces adventicias en la base del tallo es una importante adaptación al anegamiento y es iniciada muy poco después de la sumersión (Aschi-Smiti et al., 2003). Aunque las concentraciones endógenas de IAA permanecen sin cambio durante la inducción de raíces por anegamiento, un transporte basipétalo del tallo a la zona de la raíz fue esencial para mantener las concentraciones de auxina estables. Otros cambios morfológicos inducidos por el anegamiento, observados comúnmente, como la formación de raíces laterales, pueden ser también inducidos por la aplicación de IAA (Visser, et al., 1996). La participación del IAA en la respuesta del anegamiento es soportada por el incremento transitorio en los niveles de transcripción de dos genes sensibles a la auxina durante el tratamiento de hipoxia de cultivo de raíz de *Arabidopsis* (IAA2, IAA3) (Klok et al., 2002).

Se cree que la inundación del suelo reduce la producción de citoquininas a concentraciones bajas de O₂, en el sitio de producción de estas, el meristemo apical de la raíz (Visser, et al., 1996).

²⁸ Cormófitos: Son los vegetales diferenciados en raíces tallos y hojas. En el sentido en el que suele utilizarse el término hoy día comprende a las plantas con flores (Fanerógamas) y a los pteridófitos (Criptógamas).

Al igual que los animales, las plantas son obligadamente organismos aeróbicos. El oxígeno es esencial como el aceptador terminal de electrones en el ciclo de la fosforilación oxidativa, la cual provee la mayor parte del ATP para el metabolismo celular mediante la regeneración de NAD^+ a partir de NADH ²⁹.

Las plantas carecen de sistemas eficientes para el suministro de oxígeno. El anegamiento transitorio, el encharcamiento, o la actividad microbiana en los suelos pueden conducir a la privación de oxígeno en las raíces.

El oxígeno puede descender a bajas concentraciones dentro de los tejidos de las plantas, tanto por factores ambientales que disminuyen la concentración de oxígeno externo, o por el movimiento de oxígeno a través de los tejidos de las plantas que no pueden mantener el ritmo al cual es consumido por estas (Geigenberger, 2003). Recientes estudios han documentado que las plantas pueden disminuir su consumo de oxígeno en respuesta a concentraciones bajas de oxígeno para evitar la anoxia interna. Estas respuestas adaptativas implican una restricción de la respiración y la consecuente disminución en el consumo de ATP que da como resultado la inhibición de un amplio rango de procesos de biosíntesis.

Geigenberger (2003), discutió las respuestas adaptativas del metabolismo de las plantas a un descenso de la concentración interna de oxígeno y que posibles mecanismos sensitivos al oxígeno desencadenan estas respuestas. Particularmente se enfocó en un aspecto crucial de respuesta a bajos niveles de oxígeno muy ignorado: aún cuando la concentración de oxígeno externo es alta, el oxígeno en los tejidos de la planta puede caer en bajas concentraciones, debido a que es requerido un gran gradiente de difusión para llevar oxígeno a través de la planta a una tasa de velocidad suficiente para mantenerse arriba de la tasa de consumo de oxígeno.

Los tejidos de las plantas son propensos para entrar ellos mismos en anoxia, lo cual puede tener serias consecuencias en el crecimiento y la salud cuando el oxígeno externo está disponible libremente y puede agravar el impacto de la disminución de oxígeno externo. No obstante, las plantas poseen estrategias metabólicas evolutivas para evitar o retrasar la reducción de oxígeno a concentraciones que pueden limitar la fosforilación oxidativa.

Recientes estudios han demostrado que el oxígeno cae a bajas concentraciones dentro de los meristemos de la raíz (4 a 10%) (Ober y Shar, 1996).

²⁹ Dinucleótido de nicotinamida y adenina: Más conocido como nicotinamida adenina dinucleótido (abreviado NAD^+ en su forma oxidada y NADH en su forma reducida), es una coenzima encontrada en células vivas y compuesta por un dinucleótido, ya que está formada por dos nucleótidos unidos a través de sus grupos fosfatos, siendo uno de ellos una base de adenina y el otro de nicotinamida. Su función principal es el intercambio de electrones e hidrogeniones en la producción de energía de todas las células

Se ha observado una rápida disminución en el flujo de aminoácidos en proteínas en puntas de raíces de maíz cuando la concentración de oxígeno disminuye a un 3% (Chang, et al, 2000).

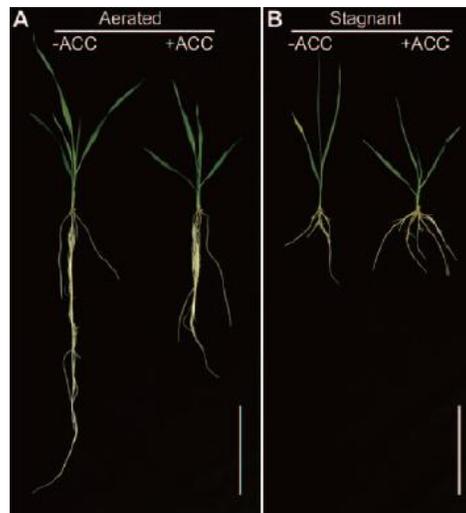


FIGURA 39: Plántulas de trigo cultivadas bajo condiciones de aireación (A) y bajo condiciones de estancamiento (B) con o sin pretratamiento de ACC

Los cambios en los niveles constantes de RNA mensajero (mRNA³⁰) de los genes que están involucrados en la síntesis de etileno, señalización de etileno, muerte programada de células y pérdida de la pared celular son inducidas por bajas concentraciones de oxígeno (Klok et al., 2002; Olson et al., 1995). El etileno está involucrado en una cascada de señales que llevan a muerte de células programada y a la formación de aerénquima lisígeno³¹ en el córtex de la raíz. (Drew y Morgan, 2000). Incrementando la formación de aerénquima proporciona respuestas adaptativas a largo plazo que restringen la actividad metabólica de un tejido y mejoran su suministro de oxígeno (Drew, 1997; Ober y Shar, 1996; Drew y Morgan, 2000). En el primer caso, la formación de aerénquima reduce el número de células consumidoras de oxígeno dentro de un tejido y la tasa de respiración por unidad de volumen de tejido, permitiendo altas concentraciones de oxígeno interno para ser establecido. En el segundo caso, la formación de grandes espacios intercelulares reduce la resistencia para la difusión de oxígeno interno e incrementa la entrada de oxígeno y su suministro a tejidos internos. En adición a las adaptaciones metabólicas a corto plazo, las adaptaciones morfológicas proporcionan una estrategia a largo plazo para evitar la anoxia interna en importantes tejidos de las plantas.

³⁰ El RNA mensajero (mRNA de su nombre en inglés) es el ácido ribonucleico que contiene la información genética procedente del ADN, es decir, determina el orden en que se unirán los aminoácidos. El ARN mensajero es un ácido nucleico monocatenario, al contrario que el ADN que es bicatenario de doble hebra helicoidal.

³¹ El aerénquima lisígeno es el resultado de la muerte selectiva de las células de la corteza de la raíz, dejando espacios de aire

La zona de la raíz de un suelo, más precisamente la rizosfera, es un sistema muy dinámico. Algunos de los procesos clave son la toma de agua y la respiración de las raíces. Rudolph, et al. (2011), desarrollaron un novedoso método para medir en tiempo real la distribución de la concentración de agua y oxígeno en la rizosfera como una interacción biogeoquímica en el suelo. Esto ayudó a entender donde y cuando las raíces son activas con respecto a la respiración radicular y la toma de agua y como el suelo responde a esto.

Rudolph, et al. (2011), observaron que para una alta saturación de agua, la concentración de oxígeno disminuye, concluyendo que los déficits de oxígeno observados cerca de las raíces resultaron de la respiración de las raíces y mostrando que la re aireación proveniente de la atmósfera por transporte de gas es restringida por la alta saturación de agua.

Tras definir el anegamiento del suelo bajo una perspectiva vegetal, encontramos una reducción de oxígeno en ellos y una acumulación de etileno. Se contempla la presencia en exceso de agua en el suelo como un estrés para las plantas desatando efectos fisiológicos, anatómicos y morfológicos, relacionados con la sobreproducción de etileno, cuya aplicación exógena produce efectos similares (Pardos, 2004).

Exponiendo a las plantas a condiciones de hipoxia, mejora notablemente su tolerancia al estrés por anoxia mediante el mejoramiento de las actividades de glicólisis y fermentación en las raíces (Yamauchi, et al., 2013). El etileno también puede estar involucrado en estas respuestas adaptativas ya que su síntesis es incrementada en las raíces bajo condiciones de hipoxia. Yamauchi, et al. (Yamauchi, et al., 2013), reportaron que haciendo pre tratamientos de plántulas de trigo con un precursor del etileno, ácido 1-aminociclopropanocarboxílico (ACC), se mejoró la acumulación de etileno en las raíces de las plántulas, y se mejoró su tolerancia a condiciones de deficiencia de oxígeno (Figuras 39 y 40).

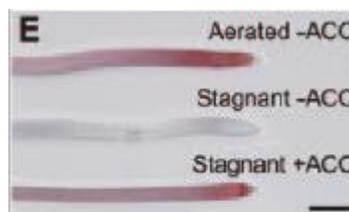


FIGURA 40: Puntas de las primeras raíces seminales de trigo bajo condiciones de aireación sin pre tratamiento de ACC y bajo condiciones de estancamiento con o sin pre tratamiento de ACC. La zona coloreada indica la tinción con TCC (Cloruro de 2,3,5-Trifeniltetrazolium), indicando que las células están vivas.

La formación de aerénquima lisígeno en la raíz fue inducida por el pre tratamiento con ACC y fue aún más inducida por el crecimiento bajo condiciones de deficiencia de oxígeno (FIGURA 41). Estos resultados sugieren que el etileno y las especies reactivas al oxígeno (ROS) están involucrados en la adaptación de plántulas de trigo a condiciones de deficiencia de oxígeno, a través de controlar la formación de aerénquima lisígeno y la expresión de genes codificadores de enzimas fermentadoras del etanol.

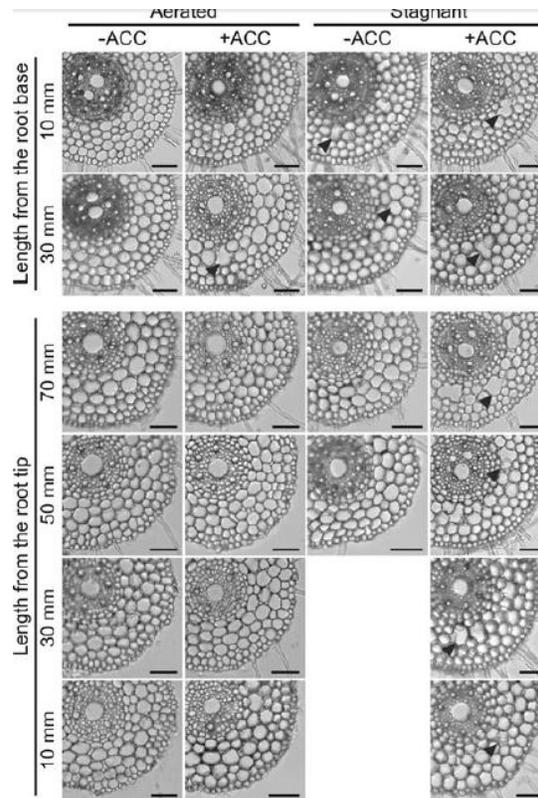


FIGURA 41: Formación de aerénquima en raíces seminales de plántulas de trigo bajo condiciones de aireación y estancamiento con o sin pre tratamiento de ACC. Secciones transversales a diferentes distancias de la punta de la raíz y de la unión tallo-raíz en mm. El aerénquima lisígeno se indica con una flecha negra.

2.6.5 pH

En su libro de 1881, "The Power of Movement in Plants", Darwin describió un experimento clásico ahora, en el cual dirigió un pequeño rayo de luz solar sobre la punta de una plántula de pasto. La región debajo de la punta del coleoptilo se curvó consecuentemente hacia la luz, llevando a la noción de un estímulo de crecimiento transmisible emanado de la punta. Dos generaciones más tarde, los fisiólogos de plantas holandeses Fritz Went y otros

realizaron trabajos en seguimiento al experimento de Darwin que condujeron al descubrimiento de las auxinas (Cosgrove, 1998).

A.J.N. Heyn, encontró que células de crecimiento respondieron a la auxina haciendo sus paredes celulares más "plásticas" es decir, más extensibles o relajadas. Este efecto de la auxina se explica en parte en la década de 1970 por el descubrimiento del "crecimiento estimulado por el ácido": las células vegetales crecen más rápido y sus paredes se convierten más extensibles en un pH ácido.

El pH del medio de enraizamiento puede ser una consideración importante en la producción de raíces adventicias. En estudios con estacas de *Thuja occidentalis* puestas a enraizar en perlita saturada con soluciones mantenidas a diversos valores de pH, se obtuvo el mejor enraizamiento con un pH 7. Aumentando la acidez del medio se inhibió marcadamente el enraizamiento, pero la alcalinidad elevada no lo redujo de manera significativa (Bruckel, 1969).

También existen datos obtenidos en pruebas con frijol mungo (Zucconi, 1978), que indican que el pH en el que se cultivan las plantas madre y en el que se hacen enraizar, tienen un marcado efecto en la iniciación de raíces. En estas pruebas, se obtuvo un mejor enraizamiento con pH 6.5 que con pH 4.5 ó pH 7.5.

Cormack (1965) efectuó un estudio anatómico comparativo de tejido de callo producido en esquejes de álamo (*Populus balsamifera L.*) cultivados en agua destilada y en soluciones saturadas de CaSO_4 y con un pH-6 hasta pH 11. Cormack observó grandes diferencias en la morfología, dureza y estructura celular del callo. Demostró que la acidez retrasa y la alcalinidad acelera el rango de calcificación, lo cual sugiere que la calcificación o endurecimiento de la lámina media puede estar en función del rango al cual el ácido péctico es neutralizado.

La emergencia y crecimiento subsecuente de raíces adventicias disminuyó marcadamente con el aumento de la alcalinidad, hasta que a pH 11 la mayoría de las masas de callo aparecieron sin raíz, aunque seccionando los esquejes se encontraron raíces bien desarrolladas a cierta distancia por debajo de la superficie. La razón por la que la mayoría de las raíces adventicias no emergiera en las soluciones fuertemente alcalinas, Cormack la atribuyó a la naturaleza fuerte y compacta del callo formado.

Cuando se cultivaron esquejes de álamo en solución saturada de CaSO_4 (pH-11) por 10 días y luego transferidos a agua destilada por otros 10 días, la masa de callo resultante mostró dos diferentes clases de tejidos (Cormack y Lemay, 1966). Cuando el proceso fue revertido la posición de los dos tipos de callo en una sola masa de callo fue correspondientemente revertida.

Los esquejes fueron cultivados en agua destilada y en soluciones saturadas de Sulfato de Calcio desde un pH-6 hasta un pH-11.

En general, las masas de callo producidas en esquejes cultivados en agua destilada son más grandes, formadas más irregularmente, y más suaves que los desarrollados en la solución de CaSO_4 (pH-6). Con el incremento de la alcalinidad las masas de callo se volvieron progresivamente más pequeñas y uniformes hasta llegar a la solución saturada de CaSO_4 (pH-11), en la que tuvieron una formación totalmente uniforme y con una textura firme y calcárea.

Los callos que se produjeron en agua destilada consistieron en células grandes arregladas de una forma irregular, mientras que en la solución alcalina las masas de callo consistieron en células isodiamétricas, arregladas de manera compacta en columnas. Estas diferencias en la estructura celular son atribuidas a la disponibilidad de calcio mientras las células crecen. Estos resultados están de acuerdo con la teoría de que el calcio es necesario para la firmeza de la pared celular y que el pH regula el rango en que la calcificación toma lugar.

En conclusión se puede decir que el calcio es necesario para cementar las paredes celulares de células adyacentes, y que el pH regula el rango al cual el proceso de cementación tiene lugar.

Smith y Jacobs (1969) realizaron un estudio en hipocotíleos de frijol encontrando que la cantidad de IAA-C^{14} transportado basipetalmente a través de secciones de hipocotíleos de *Phaseolus vulgaris* fue fuertemente afectada por el pH de los bloques donantes, menos que por el pH de los receptores. El efecto del pH del donador fue mayormente en la toma. La pequeña cantidad de movimiento acropétalo no fue afectado notablemente por el pH. Usaron plántulas de frijol cultivadas en la oscuridad a 78° F en bloques de agar que fueron colocados en la superficie de corte para actuar como bloque donador de IAA (1mg/l) o como bloque receptor (conteniendo solución buffer fosfato-citrato).

El pH del medio acuoso externo tuvo un marcado efecto en la toma de IAA en células de algas y secciones de epicotíleos (Albaum et al., 1937). Smith y Jacobs encontraron que esto sucede también en plantas superiores. Ajustando a diferentes pH de los bloques donadores y receptores con buffer fosfato-citrato se tuvieron efectos sorprendentes en el movimiento de IAA. A un pH mayor a 5 en los bloques donadores hubo una caída drástica en el movimiento basipétalo de IAA, relativamente no influenciado por el pH de los bloques receptores. En general un pH de 4 en los bloques donadores dio el máximo movimiento basipétalo. Aunque el pH de los bloques receptores tuvo un efecto más pequeño que el del pH de los donadores, altos pH's de estos disminuyeron el movimiento basipétalo.

El movimiento acropétalo no fue afectado relativamente por el pH. Se encontró un pequeño movimiento acropétalo a cualquier pH.

Albaum et al. (1937), notaron que además de los bajos valores de pH los cuales parecían ser tóxicos a las células aún durante períodos cortos de exposición, el valor del pH de los contenidos de las células permanece prácticamente constante a 5.2 cuando las células son puestas en soluciones amortiguadoras de diferentes concentraciones de iones hidrógeno³². Estos resultados indican que las células contienen sistemas amortiguadores eficientes por lo cual no se puede afectar el crecimiento de las raíces alterando simplemente el pH de la solución externa.

La penetración del IAA dentro de las células tiene lugar más rápidamente con valores de pH bajos.

Entre valores de pH entre 4 y 7, los cambios en la concentración de iones hidrógeno del medio externo no producen cambios significativos en el pH de los contenidos de células de *Nitella*.

Albaum et al. (1937), sugirieron que la distribución de IAA entre las células de *Nitella* y la solución o medio de baño es determinada por el transporte pasivo de IAA no disociado al plasmalema³³ y el tonoplasto³⁴, y el pH de las tres fases involucradas (medio, citoplasma y vacuola) (Figura 42). De esta manera, parece que la concentración del IAA no disociado es la misma en las diversas fases, con aniones de IAA presentes.

Se conoce que existe un componente pasivo no metabólico de la toma o acarreo de IAA y de la auxina sintética 2,4-D en los tejidos de las plantas el cual ha sido atribuido a la difusión del ácido no desintegrado a través de la membrana celular, la cual posee sitios vinculantes y es probable que sea el primer sitio de acción de la hormona (Rubery y Sheldrake, 1973). La toma y transporte de auxina está relacionado linealmente a la concentración del ácido no desintegrado lo cual está en función del pH y pK ³⁵ del medio de incubación.

³² Ion hidrógeno es el término recomendado por la IUPAC como un término general para todos los iones de hidrógeno y sus isótopos. Dependiendo de la carga eléctrica del ion, se pueden distinguir dos clases: Cationes y Aniones.

³³ Plasmalema, es la membrana que limita al protoplasto, es diferencialmente permeable y es capaz de realizar transporte activo, impidiendo la salida de algunas sustancias o permitiendo la entrada de otras aún en contra de un gradiente de concentración.

³⁴ El tonoplasto es la membrana que delimita la vacuola central en las células vegetales. Es selectivamente permeable y permite incorporar ciertos iones al interior de la vacuola. Es responsable de la turgencia celular y permite a las células de las plantas incorporar y almacenar agua con muy poco gasto de energía.

³⁵ Constante de disociación ácida, K_a , (también conocida como constante de acidez, o constante de ionización ácida) es una medida cuantitativa de la fuerza de un ácido en solución. Un ácido débil tiene un valor de pK_a en un rango aproximado de -2 a 12 en agua. Los ácidos con valores de pK_a menores que aproximadamente -2 se dice que son ácidos fuertes.

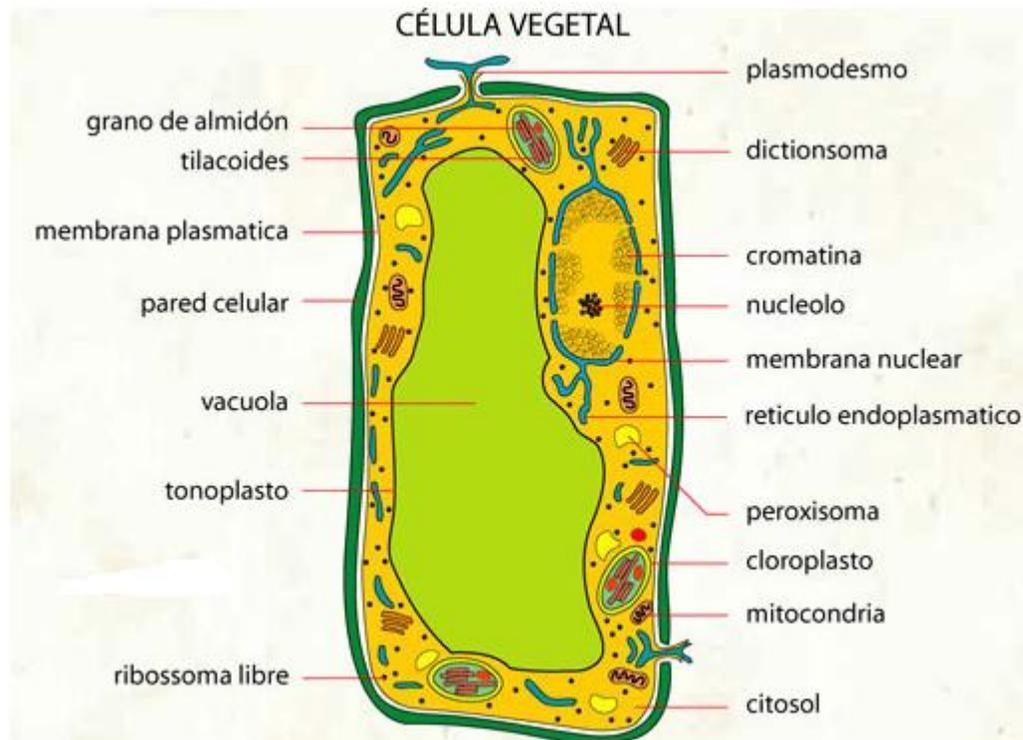


FIGURA 42: Célula vegetal= Es un sistema muy complejo que es el centro de intercambios intensos en energía y que presenta áreas extensas de la interfase. Como todos los seres vivos, la célula se nutre, crece, se multiplica y muere. Tonoplasto= Membrana vacuolar. Vacuola= Cavidad del citoplasma celular que contiene sustancias diversas. Membrana Plasmática= Envoltura hecha de plasma.

El IAA es un ácido débil (pK_a 4.60-4.75) (Rubery y Shelldrake, 1973) con un peso molecular de 175 y un coeficiente de partición éter-agua de 20. Esta consideración llevó a Collander (1959) a sugerir que la forma no ionizada del ácido, presente en cantidades significativas a valores fisiológicos de pH, puede tener una alta permeabilidad pasiva en membranas biológicas.

Al exponer raíces de chícharo a un pH 4, resulta en un incremento del doble o el triple en la tasa de elongación, iniciando alrededor de un minuto después del tratamiento con el ácido. La elongación inducida por el ácido continúa a una tasa constante por al menos 160 minutos y puede ser reiniciada repetidamente mediante el cambio entre pH 4 y 6.5. La auxina inhibe la elongación inducida por el ácido ya sea antes o después de la acidificación, y una exposición transitoria a la auxina, hace relativamente insensibles a las raíces intactas, al ácido por al menos una hora después de retirar la hormona (Evans, 1976).

Existen numerosos reportes que abordan la interacción del ácido y la auxina en la regulación de la elongación de tejido de tallo (Cleland, 1975;

Evans, 1974; Rayle, 1973). Está claro que soluciones acidas promueven fuertemente la elongación de segmentos de tallo y parece ser posible que los iones de hidrógeno puedan ser los mediadores en al menos una porción de la inducción de la elongación por parte de la auxina de algunos tejidos.

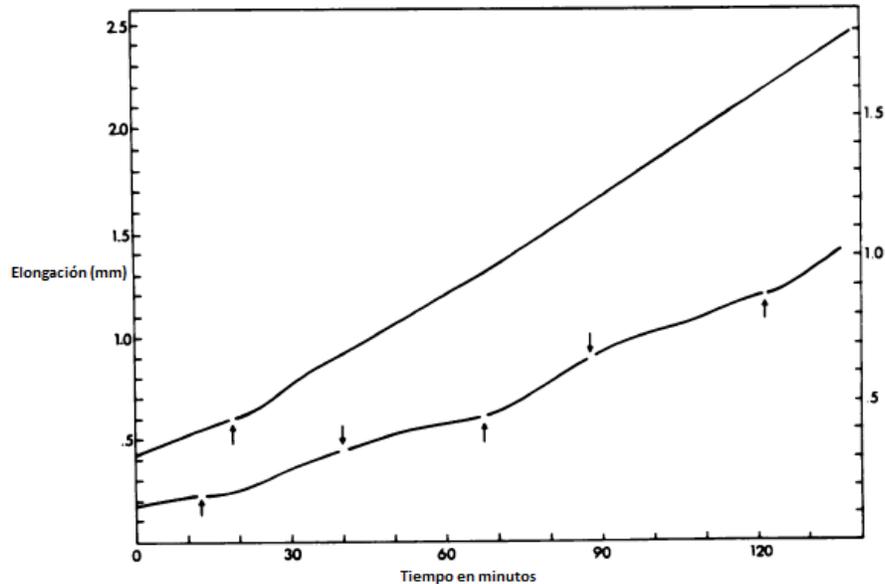


FIGURA 43: Incremento en la elongación de raíces por un pH ácido. Curva superior= Ácido cítrico agregado en el punto marcado por la flecha para disminuir el pH de 6.5 a 4. La raíz continuó creciendo a un ritmo acelerado por 160 minutos, y no se registró crecimiento más allá de ese tiempo. Curva inferior= Reinicio del crecimiento de raíces en respuesta al ácido. El medio se acidificó a pH 4 (ácido cítrico) en cada punto marcado por una flecha hacia arriba y se reajustó el pH a 6.5 (NaOH) en cada punto marcado con una flecha hacia abajo. En los ejes de elongación la escala izquierda aplica para la curva inferior y la derecha para la curva superior.

No se ha prestado mucha atención al rol de los iones de hidrógeno en la modificación de la elongación de las raíces por las auxinas. Se ha establecido que las auxinas son inhibidores de la elongación de las raíces (Thimann, 1936), pero existe evidencia que puede ocurrir estimulación de la elongación en algunas raíces a concentraciones muy bajas de auxina (Burström, 1969). Edwards y Scott (1974) demostraron que la respuesta de crecimiento al ácido es aun más fuerte en segmentos de raíces de maíz que en segmentos de coleótilos, pero notaron diferencias significativas en la respuesta del crecimiento a la naturaleza del ácido en segmentos de raíz comparados con segmentos de tallo. Evans (1976), describió el uso de un nuevo tipo de auxanómetro en un estudio preliminar de la influencia de la auxina y de los iones H^+ en la elongación de raíces primarias intactas de chícharo (Figura 24, pág. 45).

Evans (1976), mostró evidencia de que raíces intactas de chícharo muestran un crecimiento en respuesta al ácido. Se agregó solución de ácido cítrico al medio de enraizamiento, el cual tenía un pH inicial de 6.5, para bajarlo hasta un pH de 4 (Figura 43).

El incremento en la tasa de crecimiento inició dos minutos después de la adición del ácido, lo cual sugiere un periodo de latencia en la respuesta del crecimiento al ácido de las raíces intactas de chícharo de alrededor de un minuto.

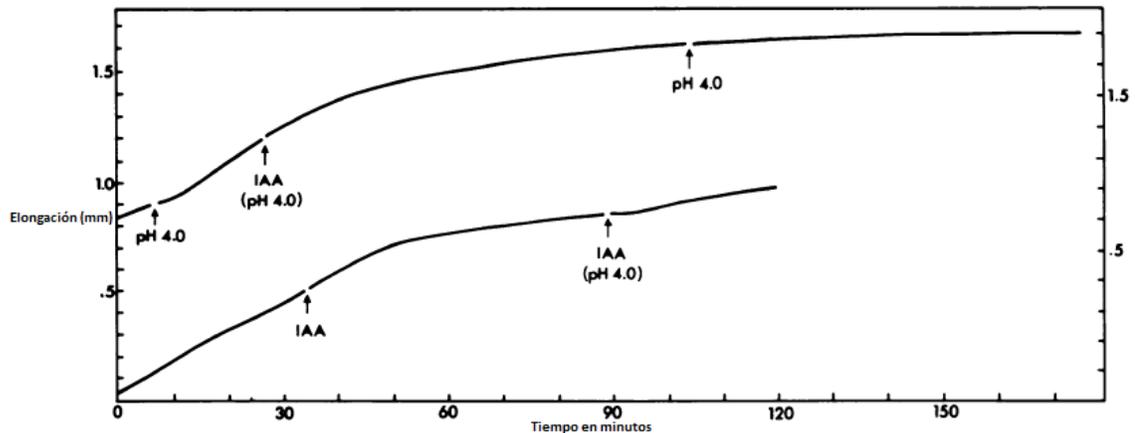


FIGURA 44: Inhibición del crecimiento en respuesta al ácido por la auxina. Curva superior= Medio ajustado de pH 6.5 a pH 4 (ácido cítrico) en la primer flecha. El medio cambió a 0.01mM IAA a pH 4 en la segunda flecha y a pH 4 en ausencia de IAA en la tercera flecha. Curva inferior= 0.01mM de IAA agregado en la primer flecha. Medio con IAA ajustado a pH 4 en la segunda flecha. En el eje de la elongación, la escala izquierda aplica para la curva inferior, la derecha para la superior.

Ya que se ha observado que la auxina inhibe el crecimiento de las raíces fuertemente, también se ha observado que el ácido promueve el crecimiento fuertemente, la pregunta apunta a cual efecto domina si la auxina es ajustada a pH 4. El IAA es capaz de inhibir fuertemente la promoción de la elongación por el ácido si la hormona es agregada antes o después de la acidificación (Figura 44).

Edwards y Scott (1974), encontraron que la adición de la auxina al medio de crecimiento a un pH de 6.5 lleva a una máxima inhibición de la elongación de las raíces en alrededor de 40 minutos. Si el medio que contiene la auxina es acidificado a pH 4 la respuesta al ácido del crecimiento resultante es pequeña (alrededor de 25% de lo normal).

El efecto del pH sobre la tasa de elongación de los segmentos subapicales de 2 mm de longitud de raíces de maíz (*Zea mays* L.) fue investigado bajo condiciones aeróbicas (O₂) y anaeróbicas (N₂) mediante un

aparato especialmente diseñado. La tasa de elongación máxima se obtuvo con una solución buffer con citrato-fosfato de pH 3.4 o una solución sin buffer de pH 3.2.

La estimulación por el ácido de la tasa de elongación se produjo en la zona de máxima elongación en la raíz, la región de 3 mm que está situada 1 mm por detrás del ápice. La respuesta al ácido puede reiniciarse rápidamente y en varias ocasiones alternando un pH 4.0 y un pH 7.0 del medio. Un pH bajo puede aumentar la tasa de elongación bajo condiciones de anaerobiosis (N_2), pero la respuesta es sólo aproximadamente el 50% del aumento observado bajo condiciones aeróbicas (O_2). El reinicio de la respuesta al ácido no se produce cuando las soluciones son tratadas con N_2 (anaerobiosis). Los datos encontrados por Edwards y Scott (1974), sugieren que la respuesta de segmentos de raíz a los iones H^+ es similar a lo reportado en la literatura para tejidos de tallo. Sin embargo, la magnitud de la respuesta de la raíz es mucho mayor que el de tejidos de tallo. También, existe evidencia de que algunos aspectos del modo de acción de los iones H^+ en la expansión de la pared celular en el tejido radical pueden ser distintas que en el tejido del tallo. Los segmentos de la raíz del maíz, aunque carecen de una cutícula, no responden a un pH bajo de la manera en que fue registrado para el tejido del tallo pelado sin la cutícula y la epidermis.

Estudios cinéticos de la respuesta temprana de la elongación de tejidos vegetales a altas concentraciones de iones Hidrógeno (llamados "crecimiento rápido"), han llevado a la teoría concerniente al modo en que las auxinas inducen la expansión de la pared celular. Esta teoría sostiene que la auxina induce la secreción de iones de H dentro de la pared celular, altera la estructura de la pared, ya sea por el rompimiento de los vínculos ácido-lábiles en la pared o mediante la estimulación de la hidrólisis de enzimas de los polisacáridos de la pared celular (Edwards y Scott, 1974).

Mudge y Swanson (1978), trataron estacas de *Phaseolus aerus* Roxb., con soluciones de Etephon, ácido indolbutírico y la combinación de ambos, ya sea amortiguadas o no amortiguadas. El tratamiento con Etephon resultó en un incremento de los niveles de etileno en los tejidos con el incremento del pH de la solución, pero no hubo efectos en el enraizamiento. El tratamiento con IBA no tuvo efecto en los niveles de etileno de los tejidos, pero promovió fuertemente el enraizamiento. Las combinaciones de Etephon e IBA no tuvieron efectos en el enraizamiento por encima de los obtenidos con IBA solamente.

Se ha reportado que el Etephon promueve (Krishnamoorthy, 1972; Zimmerman, 1930), inhibe (Maronek, et al., 1985), o no tiene efecto en el enraizamiento de estacas de varias especies. Se ha demostrado que la liberación de etileno a partir de Etephon, es dependiente del pH. Cuando el Etephon no promueve el enraizamiento, existe la posibilidad de que la solución de Etephon tenga un pH bajo, más que la falta de respuesta al etileno. Varios autores reportan que la generación de etileno a partir de Etephon ocurre

principalmente de manera intracelular, lo cual puede ocurrir más rápidamente a pH alto de la célula (pH 5-6), que al pH de la solución de tratamiento (pH 2-3).

La absorción de IAA por segmentos de raíces de *Zea mays* L. involucra procesos saturables y no saturables. (Martin y Pilet, 1987). El pH óptimo para el proceso saturable se encontró que fue 5.0.

Harbage y Stimart (1996), investigaron la participación del pH y el IBA en la iniciación de raíces adventicias con microesquejes de *Malus domestica* Borkh. El pH del medio de iniciación de raíces (RIM) no amortiguado se incrementó de 5.6 a 7 en el lapso de 2 días. Amortiguando el medio con ácido 2[N-morfolino]etansulfónico (MES) ajustado para pH's específicos con hidróxido de potasio, se previnieron cambios de pH y resultó en un conteo de raíces dos veces más alto a un pH 5.5 comparado con pH 7 o con medio no amortiguado. Conforme el pH bajó se requirieron concentraciones más bajas de IBA para incrementar el conteo de raíces. Mediciones colorimétricas de IBA en el RIM mostraron que mayores pérdidas de IBA y más altos conteos de raíces fueron asociados con niveles de pH más bajos en todos los cultivares. Esto sugiere que la pérdida de IBA del RIM depende del pH del medio, lo cual afecta el conteo de raíces. Las diferencias de conteo de raíces entre cultivares fáciles de enraizar con cultivares difíciles de enraizar no fueron consistentes con las cantidades de IBA perdidas del RIM (medio de iniciación de raíces).

La formación de raíces adventicias en micro esquejes de *Malus pumila* Mill. involucra una fase sensitiva a la auxina durante la iniciación de raíces, seguida por una fase no sensitiva durante el desarrollo de raíces (James, 1983).

El rol del pH en la formación de raíces adventicias no ha sido bien comprendido. El mejoramiento en la formación de raíces adventicias ha sido asociado con pH ácido (Lee et al., 1976; Williams et al., 1985), pH alcalino (Lee et al., 1976), y con un pH cercano al neutro (Mellor y Stace-Smith, 1969). Estas inconsistencias tal vez existan debido a que se ha fallado en distinguir entre las fases de iniciación de raíces y el desarrollo de raíces (Lovell y White, 1986). Ya que el movimiento de las auxinas dentro de células aisladas y de tejidos depende del pH (Rubery y Shelldrake, 1973), puede ser que durante la iniciación de raíces, el pH podría estar involucrado en la formación de raíces adventicias dependientes de las auxinas. La absorción por el mecanismo difusión está relacionada linealmente a la concentración del ácido no disociado, el cual es una función del pK del ácido y el pH del medio de crecimiento.

Una característica de acción del IAA es estimular la formación de raíces laterales. Este efecto del IAA ha sido estudiado, usando sistemas experimentales simples, empleando raíces ya sea extirpadas, cortadas o de plántulas intactas. Blakely, et al. (1986), usaron un sistema basado en raíces de plántulas de rábano (*Raphanus sativus* L. "Scarlet Globe"), y encontraron que la respuesta a auxinas exógenas pueden ser sustancialmente moduladas por factores químicos o físicos conocidos o supuestamente conocidos que influyen

en la absorción por difusión de IAA por las células de las plantas. Las observaciones reportaron que existe una barrera permeable entre el medio externo y los sitios con respuesta a las auxinas, involucrados en la formación de raíces laterales dentro de las raíces de plántulas de rábano.

Blakely, et al. (1986), cortaron segmentos de 2.5 cm de raíces de plántulas de rábano de 3 días de nacidas, fueron cultivados con y sin IAA. La frecuencia de primordios de raíces laterales, fue dependiente de la concentración de IAA y de las condiciones que afectan su absorción. Tratamientos con dimetil sulfóxido, o en un medio con un pH relativamente bajo, mejoraron notablemente la respuesta de las plántulas a IAA exógeno. Concluyendo que existe una barrera permeable entre el medio externo y los sitios de respuesta a la hormona dentro de las raíces de las plántulas de rábano.

Liu et al. (1993) encontraron que la formación de raíces adventicias por estacas de hipocotíleos de plántulas de girasol fue fuertemente afectada por el pH de las soluciones amortiguadas o no amortiguadas donde fueron bañadas sus porciones basales. Al exponer a pH bajo durante 5 horas después de la escisión de raíz original, se promovió la formación de raíces. El movimiento endógeno del IAA de los cotiledones y ápices de las raíces fue reducido usando ácido N-1-naftilftalámico (un inhibidor del transporte de IAA) y mediante la remoción de los cotiledones y del ápice de la raíz. Tanto el inhibidor como la remoción de órganos inhibieron la formación de raíces adventicias, pero condiciones ácidas podrían resolver esta inhibición. Las condiciones ácidas también incrementaron la absorción de IAA de las soluciones alrededor de las bases de los hipocotíleos, y el movimiento de este de los cotiledones a las bases de los hipocotíleos. De esta manera las condiciones ácidas podrían estimular el enraizamiento mediante el incremento de la tasa de transporte basipétalo de IAA a la zona de iniciación de raíces.

Holt, et al. (1998), trataron estacas semi leñosas terminales de *Rhododendron* L. con una solución de ácido Indolbutírico al 0.1% y ácido Naftalenacético al 0.5%, e insertados posteriormente en perlita para su enraizamiento bajo condiciones de subirrigación, sin rocíos por encima de las plantas, en soluciones de pH 4.5 o pH 7.5. Los diferentes cultivares enraizados a un pH de 4.5 tuvieron mejores porcentajes de enraizamiento y produjeron masas de raíces más grandes que cuando se enraizaron a un pH de 7.5. Un segundo estudio con estacas de madera suave y semi leñosas confirmaron estos resultados incluyendo un tratamiento adicional de subirrigación, en peat moss con un pH 4.1, el cual produjo casi idénticos resultados a los del tratamiento con pH 4.5.

La subirrigación es un novedoso sistema de propagación que permite enraizar muchas estacas de madera suave y madera semileñosa sin rocíos. Holt, et al. (1998), lograron entre el 85% y el 100% del enraizamiento en estacas de tallo de *Rhododendron* disminuyendo el pH de la solución de 7.5 a

4.5. Las características físicas y químicas del medio de enraizamiento, incluyendo el pH de la solución, pueden influenciar fuertemente la iniciación de las raíces. Investigaciones en cultivo de tejidos han demostrado que la iniciación de raíces en explantes delgados de capas de células de tabaco es mayor cuando el pH del medio de cultivo es entre 3.8 y 5.0 (Cousson, et al., 1989). Otro estudio de enraizamiento in vitro de diferentes especies leñosas de Australia, encontró que los explantes desarrollaron raíces con un pH del medio de enraizamiento de 4.0, pero no hubo enraizamiento cuando el pH fue 5.5 (Williams, et al., 1985).

Sin embargo Lee et al. (1976) encontraron que el enraizamiento de estacas de tallo de algunas especies como *Bouganvillea*, *Ceratonia siliqua*, *Chrysanthemum morifolium*, *Eunonymus japonica*, *Euphorbia pulcherrima*, *Hedera hélix*, *Trachelospermum jasminoides*, *Juglans hindsii*, *Pistacia chinensis* y *Salix laevigata*, fue promocionado fuertemente al sumergirlas en H₂SO₄ previo a la aplicación del ácido Indolbutírico. Y por otro lado, al tratar con NaOH estacas de azalea, *Bouganvillea* sp., *Liquidambar styraciflua*, *Osmanthus heterophyllus* y *Pinus radiata* con Na OH, resultó en un considerable incremento en el enraizamiento de estas.

Al mantener hipocotileos de propágulos maduros de *Rhizophora mucronata* Lamk., en un medio nutritivo en la obscuridad en salinidades de 0 a 45 g (NaCl)/litro y con un pH con un rango de 2 a 10, donde los nutrientes fueron repuestos cada 7 días, y el crecimiento de raíces fue analizado después de 60 días, Kathiresan et al (1996) encontraron que el enraizamiento ocurrió sobre todo el rango de salinidad aunque fue mayor a un rango de 15-35 g (NaCl)/litro, y un máximo enraizamiento a 30 g/litro. Sobre el rango de pH, el enraizamiento fue más alto a pH 6, y disminuyó más con el incremento de la acidez que con el incremento de la alcalinidad; la mortalidad ocurrió a pH 2.

Harbage et al., (1998) investigaron la influencia del pH del medio de enraizamiento en la formación de raíces en relación a la absorción y el metabolismo del IBA aplicado en micro esquejes de manzano, “Gala” y “Triple Red Delicious”. La formación de raíces y la absorción de IBA fue relacionada inversamente a al pH del medio de enraizamiento. El conteo máximo de raíces (10.3) y la máxima absorción de IBA se observó a un pH de 4.0. Independientemente del pH el conteo de raíces en general de “Gala”, fue más alto (13.5) que el de “Triple Red Delicious” (4). La absorción de IBA más alta para “Gala” a pH 4.0 (1.7% de absorción) y a pH 4 y 5 para “Triple Red Delicious” (0.75% de absorción). El metabolismo del IBA fue el mismo independientemente del pH del medio de enraizamiento o del cultivar examinado. Aparentemente el pH regula la formación de raíces afectando la absorción del IBA pero no el metabolismo.

Khosh-Khui y Tafazoli (1979), sumergieron estacas de madera dura de *Rosa damascena* Mill., en H₂SO₄ o NaOH previo a la aplicación de 0, 1000, 2000 o 3000 mg l de IBA o NAA. El pre tratamiento con ácido incrementó de manera

significativa el número de raíces, longitud de raíces y peso seco de las raíces por estaca, aunque no afectó el porcentaje de enraizamiento. El enraizamiento fue significativamente mejorado con el pre tratamiento con auxinas, y el NAA fue superior en el incremento de la longitud de raíces y el peso fresco de estas. La aplicación de 2000 mg l de auxina fue la concentración más adecuada para la promoción del enraizamiento.

Se han hecho hipótesis acerca de que las auxinas estimulan el crecimiento, en parte, mediante la inducción de las células vegetales a acidificar su espacio extracelular.

Ha sido confuso hasta 1992 cómo un pH ácido puede hacer más extensibles las paredes celulares, cuando se identificaron las proteínas que catalizan este proceso (más tarde llamadas "expansinas"³⁶). Las expansinas solo puede inducir que las paredes celulares se extiendan, pero en las células vivas ellas probablemente actúan en concierto con diferentes enzimas que cortan y reestructuran la pared.

Una propiedad notable de las paredes de células de crecimiento es su capacidad de extenderse a pH ácido. Esta habilidad se observa al cultivar segmentos de tallo en soluciones amortiguadoras "buffer", donde se elongaron más rápido conforme el pH se bajó de 5.5. Esta extensión dependiente del pH es conocida como crecimiento ácido y se ha encontrado en células de angiospermas, gimnospermas, helechos y musgos, y en algunas algas verdes.

La habilidad de extenderse de las paredes celulares es una propiedad compleja que es esencial para el crecimiento de las células de la planta y la morfogénesis. Las expansinas confieren propiedades únicas a las paredes de las células de crecimiento: la habilidad para contraerse y relajarse en una manera dependiente del pH (Cosgrove, 1998).

³⁶ **Expansinas** se refiere a una familia de proteínas no enzimáticas estrechamente relacionadas encontradas en la pared celular de las plantas, con importantes roles en el crecimiento celular de las mismas, soporte de fruto, abscisión, emergencia de pelos radicales de la raíz, invasión del tubo de polen, el estigma y el estilo, función meristemática y otros procesos de desarrollo donde la expansión de la pared celular ocurre. Las expansinas fueron originalmente descubiertos como mediadores del crecimiento ácido, el cual se refiere a la característica generalizada del crecimiento de las paredes celulares de las plantas para expandirse más rápido a un pH bajo (ácido) que a un pH neutro. Las expansinas están vinculadas a la acción de la auxina. También están vinculados al alargamiento de las células y a los cambios en la pared celular inducidos por otras hormonas como giberelinas, citoquininas, etileno y brasinoesteroides.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 UBICACIÓN DEL LUGAR

El experimento se llevó a cabo dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”, localizada en Buenavista , municipio de Saltillo, Coahuila, ubicada a 25° 25' latitud norte, 101° 01' longitud oeste y 1739 msnm.

El lugar dentro de la Universidad en el cual se llevó a cabo el experimento fue un sombreadero localizado en el bajío, junto al laboratorio de Horticultura, y los tratamientos se hicieron dentro del mismo laboratorio.

3.2 EXPERIMENTO 1: Efecto del pH del Acido Indol-3-Butírico en el Encallado de Varetas del Portainjerto de Manzano MM-111

3.2.1 MATERIAL UTILIZADO

-Material Vegetal (Estacas de patrones MM-111, de aproximadamente 30 cm de longitud, obtenidos de varetas previamente enraizadas por acodos de montículo)

- Potenciómetro calibrado a 2 puntos
- Agitador magnético
- Vasos de precipitados
- Pipetas
- Probetas
- Balanza analítica
- Tijeras de podar y navaja
- Bolsas de plástico, toallas sanitas para almacenar estacas en congelador
- Congelador
- Tinas para lavado de estacas
- Cinta para marcar las estacas
- Hilo para amarrar las estacas
- Aserrín como medio de encallado
- Tabique para hacer cama de encallado
- Plástico para mantener la humedad relativa alta en la cama de encallado
- Acido Indol-3-Butírico (IBA)
- Agua destilada
- Hidróxido de Sodio 1M (NaOH)
- Solución de etanol al 50%
- Acido clorhídrico (HCl)
- Acido cítrico (AC)
- Acido ascórbico (AA)
- Solución de hipoclorito de sodio ($Cl_2 = 3.5\%$)
- Jabón (detergente)
- Gusathión

3.2.2 METODOS UTILIZADOS

Las estacas se obtuvieron cortando tramos de 30 cm de longitud de varetas, ayudados por tijeras de poda, enraizadas por acodos de montículo de aproximadamente 1 m de longitud, obteniendo 3 a 4 estacas por vareta.

Una vez obtenidas las estacas se lavaron con agua y jabón, se enjuagaron y almacenaron en el congelador A 4°C durante aproximadamente una semana para mantenerlas en dormancia.

Una semana después se sacaron las estacas del congelador y se lavaron con solución de hipoclorito de sodio ($\text{Cl}_2 = 3.5\%$) al 10% y se enjuagaron perfectamente.

Se realizaron 4 heridas basales de aproximadamente 2.5 cm de largo, lesionando la corteza de las estacas, y antes de someterlas a sus respectivos tratamientos se efectuó un corte de 0.5 cm aproximadamente, arriba de la base, para que así el corte estuviera fresco.

3.2.3 TRATAMIENTOS

Las estacas se trataron con solución de IBA (101.7 mg/100 ml) (1000 ppm), la cual se preparó de la siguiente manera:

- a) En 5 ml de agua destilada disolvemos 101.7 mg de IBA
- b) Agregamos unas gotas de NaOH 1M para ayudar a disolver
- c) Aforamos a 100 ml con etanol al 50%

La solución de IBA, originalmente con pH-8, se trató con tres diferentes ácidos para ajustar la solución a pH-3, pH-4, pH-5, pH-6 y pH-7, los ácidos que utilizamos fueron:

- | | |
|---------------------|--|
| - Acido clorhídrico | 0.026 M |
| - Acido cítrico | 0.026 M (500 mg/100 ml H ₂ O) |
| - Acido ascórbico | 0.026 M (457.9 mg/100 ml H ₂ O) |

De tal forma los tratamientos y las repeticiones quedaron ordenados tal como se muestra en la Tabla 3.

Para cada tratamiento se hicieron tres repeticiones, y para cada repetición se utilizaron 10 varetas. En total se hicieron 5 tratamientos por cada ácido utilizado, es decir, se hicieron 15 tratamientos en total más un testigo cada uno con sus tres repeticiones (R1, R2, R3), y cada repetición con 10 estacas; es decir 30 estacas por tratamiento, 150 estacas por cada tipo de ácido utilizado (HCl, AC, AA), sumando 450 estacas por los tres tipos de ácido, mas 30 estacas para el testigo, sumando 480 estacas para todo el experimento.

TABLA 3: Tratamientos EXPERIMENTO 1: Efecto del pH del IBA en encallado de varetas del portainjerto de manzano MM-111. HCl= Ácido clorhídrico; AC= Ácido cítrico; AA= Ácido ascórbico.

pH	TRATAMIENTOS CON ACIDO CLORHÍDRICO	TRATAMIENTOS CON ACIDO CITRICO	TRATAMIENTOS CON ACIDO ASCORBICO
3	HCl ₁	AC ₁	AA ₁
4	HCl ₂	AC ₂	AA ₂
5	HCl ₃	AC ₃	AA ₃
6	HCl ₄	AC ₄	AA ₄
7	HCl ₅	AC ₅	AA ₅
8	Testigo pH sin ajustar		

Una vez ajustado el pH de la solución según su tratamiento correspondiente, cada grupo de estacas (cada repetición) se sumergió por la parte basal aproximadamente 6 cm durante 10 segundos (Figura 45).



FIGURA 45: Tratamiento de varetas con IBA

Las varetas se pusieron a encallar en la cama de aserrín, previamente preparada con ayuda de los tabiques, el día 6 de abril de 1988 a las 23:00 horas. (Figura 46).



FIGURA 46: Modelo de cama de encallado de estacas (Instituto Nacional de Ecología, SEMARNAT)

3.2.4 ENCALLADO

El encallado se realizó en una cama con un medio de aserrín como antes se mencionó, la cual se cubrió con una caseta de plástico para mantener una buena humedad en el ambiente que rodeaba la cama.

El diseño que se utilizó fue un Bloques Completamente al Azar (Tabla 4).

**TABLA 4: Acomodo de los tratamientos en bloques completamente al azar
EXPERIMENTO 1: Cada bloque corresponde a una distancia del piso de la cama diferente. BLOQUE I = 5 cm de profundidad; BLOQUE II = 20 cm de profundidad; BLOQUE III = 35 cm de profundidad (5 cm arriba del piso).**

BLOQUE I	AA ₃ AC ₁ AC ₅	AA ₅ AA ₄ AC ₃	AC ₄ AA ₂ HCl ₂	AC ₂ HCl ₃ TESTIGO	HCl ₁ AA ₁	HCl ₅ HCl ₄
BLOQUE II	HCl ₁ AA ₅ AC ₄	AC ₅ HCl ₃ HCl ₅	HCl ₂ AA ₁ AA ₄	AA ₃ AA ₂ AA ₁	AC ₃ TESTIGO	HCl ₄ AC ₂
BLOQUE III	HCl ₂ HCl ₄ AA ₁	AC ₅ AA ₄ AC ₃	AC ₁ AC ₄ AC ₂	HCl ₁ HCl ₅ AA ₅	HCl ₃ AA ₃	AA ₂ TESTIGO

Durante el periodo de encallado se realizaron 5 riegos en diferentes fechas para mantener la humedad en nuestra cama de encallado y dos aplicaciones preventivas de Gusathión con una dosis de 3.0 l/Ha para controlar la cochinilla del suelo (Tabla 5).

TABLA 5: Programa de riegos y aplicaciones en cama de encallado de estacas de manzano.

FECHA	ACTIVIDAD
7/04/1988	Riego inicial
13/04/1988	Riego de mantenimiento
19/04/1988	Riego de mantenimiento Gusathión
29/04/1988	Riego de mantenimiento
9/05/1988	Riego de mantenimiento Gusathión

3.2.5 EVALUACIONES

Las evaluaciones se llevaron a cabo el 22 de mayo de 1988, los parámetros a evaluar en todos los experimentos fueron:

- **TAMAÑO DE CALLO**
 - **% VARETAS ENCALLADAS**
 - **% VARETAS ENRAIZADAS**
 - **No. RAICES**
 - **LONGITUD DE RAICES**
-
- **TAMAÑO DE CALLO:** El tamaño de callo se midió con la ayuda de un calibrador y las medidas están dadas en centímetros.
 - **% VARETAS ENCALLADAS:** Se contaron el número de varetas encalladas por cada repetición la cual contaba con 10 varetas por repetición, obteniendo de esta manera el porcentaje.
 - **% VARETAS ENRAIZADAS:** De igual manera se contaron las varetas que presentaban raíces brotadas como tales, obteniendo el porcentaje por repetición.
 - **No. DE RAICES:** De cada vareta enraizada se contaron las raíces que cada una de estas varetas presentaban, obteniendo el promedio únicamente tomando en cuenta las varetas enraizadas.

- **LONGITUD DE RAICES:** Se midieron en centímetros las raíces de las estacas enraizadas y se promediaron las longitudes únicamente entre las varetas enraizadas.
- **% DE SOBREVIVENCIA:** Este parámetro se midió contando el número de varetas vivas por repetición, para obtener finalmente el porcentaje, al terminar el experimento. Este parámetro sólo se tomó en cuenta en el experimento 3 ya que se cree que la profundidad en la cama de encallado afecta el porcentaje de sobrevivencia.

3.3 EXPERIMENTO 2: Efecto de la Falta de Aireación en el Encallado de Varetas del Portainjertos de Manzano MM-106 Tratados con Ácido Indol Butírico y sin Acido Indol Butírico.

3.3.1 MATERIAL UTILIZADO

- Material Vegetal:
Estacas de patrones MM-106, de aproximadamente 30 cms. De longitud, obtenidos de varetas previamente enraizadas por acodos de montículo.
- Agitador magnético
- Vasos de precipitados
- Pipetas
- Probetas
- Balanza analítica
- Tijeras de podar y navaja
- Bolsas de plástico y toallas sanitas para almacenar las estacas en el congelador
- Congelador
- Bombas para oxigenar (Airear)
- Tinas para lavado de estacas
- Cinta para marcar las estacas
- Hilo para amarrar las estacas
- Aserrín como medio de encallado
- Tabique para hacer cama de encallado
- Plástico para mantener la humedad relativa alta en la cama de encallado
- Acido Indol-3-Butírico
- Agua destilada
- Hidróxido de Sodio 1M (NaOH)
- Solución de etanol al 50%
- Solución de hipoclorito de sodio ($Cl_2 = 3.5\%$)
- Jabón (detergente)
- Gusathión

3.3.2 METODOS UTILIZADOS

Se obtuvieron las estacas al igual que en el EXPERIMENTO 1, se lavaron con agua y jabón, se enjuagaron y se almacenaron en el congelador durante un día dentro de bolsas de plástico y papel húmedo.

Al día siguiente se lavaron con solución de hipoclorito de sodio al 10% para desinfectar, y se enjuagaron. Se repitió la operación de efectuar cuatro heridas basales de 2.5 cm aproximadamente y se volvieron a guardar en el congelador.

3.3.3 TRATAMIENTOS

Un día después las varetas se sometieron a los tratamientos, pero antes de eso se efectuaron cortes de más o menos 0.5 cm por arriba de la base para que el corte estuviera fresco al inicio de los tratamientos. Los tratamientos consistieron en sumergir la base de las estacas entre 5 y 7 cm en agua, dando 7 diferentes tratamientos de aireación del agua.

Al terminar los tratamientos, que duraron 32 horas se dividieron las varetas por mitad, y unas se trataron con IBA y otras no. El tratamiento se realizó con una solución de IBA (101.7 mg/100 ml), la cual se preparo al igual que para el primer experimento, sumergiendo las estacas en esta solución durante 10 segundos y a una altura de la base de 6 cm. La otra mitad de las estacas no se trató con IBA.

Los tratamientos y repeticiones se muestran en la Tabla 6. En total se realizaron 14 tratamientos más 2 testigos; cada tratamiento y testigo con 3 repeticiones cada uno (R1, R2, R3). Cada repetición constó de 10 estacas, es decir 30 estacas por tratamiento, lo que nos dio un total de 240 estacas para los tratamientos con Acido Indolbutírico y 240 estacas para los tratamientos en que no se dio tratamiento con Acido Indolbutírico. En ambos casos estamos incluyendo los testigos, que en esta ocasión fueron 2 testigos, uno con IBA y uno sin IBA; es decir en total utilizamos 480 estacas del patrón MM-106.

Los tratamientos se iniciaron el 3 de Abril de 1988 a las 9:45 a.m. y se terminaron 32 horas después, el 4 de Abril de 1988 a las 5:45 p.m. Al terminar los tratamientos de aireación, se trataron las estacas correspondientes a los tratamientos + IBA con el Acido Indolbutírico.

Una vez terminados los tratamientos con IBA, se pusieron a enraizar las estacas en la cama de aserrín antes mencionada en el EXPERIMENTO 1 el mismo 4 de Abril a las 6:45 p.m.

TABLA 6: Tratamientos EXPERIMENTO 2: Efecto de la falta de aireación en el encallado de varetas de portainjertos de manzano, tratados con ácido indol butírico y sin ácido indolbutírico

TRATAMIENTOS DE AIREACION	CON IBA	SIN IBA
0 Horas sin Aireación, 32 Horas con Aireación	+ IBA ₁	-IBA ₁
1 Hora sin Aireación, 31 Horas con Aireación	+ IBA ₂	-IBA ₂
2 Horas sin Aireación, 30 Horas con Aireación	+ IBA ₃	-IBA ₃
4 Horas sin Aireación, 28 Horas con Aireación	+ IBA ₄	-IBA ₄
8 Horas sin Aireación, 24 Horas con Aireación	+ IBA ₅	-IBA ₅
16 Horas sin Aireación, 16 Horas con Aireación	+ IBA ₆	-IBA ₆
32 Horas sin Aireación, 0 Horas con Aireación	+ IBA ₇	-IBA ₇
TESTIGO (Sin sumergir en el agua)	+ IBA ₈	-IBA ₈

3.3.4 ENCALLADO

El encallado se realizó en la misma cama de aserrín del EXPERIMENTO 1, la cual ya se ha explicado su instalación y funcionamiento (Figura 46).

Se utilizó el diseño de Bloques Completamente al Azar (Tabla 7).

TABLA 7: Acomodo de los tratamientos del EXPERIMENTO 2 (Efecto de la falta de aireación en el encallado de varetas de portainjertos de manzano tratados con IBA y sin IBA), en bloques completamente al azar, cada bloque corresponde a una distancia del piso de la cama diferente. BLOQUE I = 5 cm de profundidad; BLOQUE II = 20 cm de profundidad; BLOQUE III = 35 cm de profundidad (solo 5 cm por arriba del piso).

BLOQUE I	+IBA ₆ +IBA ₃	+IBA ₈ +IBA ₁	+IBA ₅ -IBA ₈ -IBA ₇	+IBA ₂ -IBA ₄ -IBA ₃	+IBA ₇ -IBA ₆ -IBA ₁	+IBA ₄ -IBA ₅ -IBA ₂
BLOQUE II	+IBA ₅ +IBA ₈	+IBA ₆ +IBA ₇	+IBA ₄ -IBA ₁ -IBA ₆	+IBA ₃ -IBA ₈ -IBA ₂	+IBA ₁ -IBA ₅ -IBA ₇	+IBA ₂ -IBA ₄ -IBA ₃
BLOQUE III	+IBA ₄ +IBA ₁	+IBA ₃ +IBA ₅	+IBA ₂ -IBA ₇ -IBA ₈	+IBA ₈ -IBA ₂ -IBA ₅	+IBA ₆ -IBA ₁ -IBA ₆	+IBA ₇ -IBA ₃ -IBA ₄

Los riegos y aplicaciones fueron los mismos que los que se llevaron a cabo en el EXPERIMENTO 1 (Tabla 5).

3.3.5 EVALUACIONES

Las evaluaciones se llevaron a cabo el 22 de mayo de 1988, los parámetros a evaluar fueron:

- **TAMAÑO DE CALLO**
- **% VARETAS ENCALLADAS**
- **% VARETAS ENRAIZADAS**
- **No. RAICES**
- **LONGITUD DE RAICES**

3.4 EXPERIMENTO 3: Influencia de la Profundidad en la Cama sobre el Encallado de Varetas de Portainjertos de Manzano.

3.4.1 MATERIALES Y METODOS UTILIZADOS

El material vegetal utilizado, así como material de laboratorio, soluciones, sustancias y utensilios, abarca todo lo usado tanto en el EXPERIMENTO 1 como en el EXPERIMENTO 2, ya que no se realizó un experimento por separado para realizar esta evaluación, sino que utilizamos los mismos datos ya obtenidos y los interpretamos en base a las profundidades en que se colocaron las estacas para encallar.

Por estas mismas razones debemos anotar que los métodos utilizados fueron los mismo llevados a cabo en los EXPERIMENTOS 1 y 2.

3.4.2 TRATAMIENTOS

Al igual que para el material utilizado no se puede decir que se realizó algún procedimiento en específico, sino que solo evaluamos las diferencias entre los experimentos realizados mediante la comparación de las profundidades de los bloques en que colocamos las estacas a encallar, de tal forma que los tratamientos y repeticiones se ubicaron tal como se muestra en la Tabla 8.

TABLA 8: Acomodo de los tratamientos del EXPERIMENTO 3: Influencia de la Profundidad en la Cama sobre el Encallado de Varetas de Portainjertos de Manzano. Cada bloque corresponde a una profundidad de encallado BLOQUE I = 5 cm de profundidad; BLOQUE II = 20 cm de profundidad; BLOQUE III = 35 cm de profundidad. Se evaluaron todos los tratamientos de los EXPERIMENTOS 1 y 2.

TRATAMIENTOS QUE SE EVALUARON					
Tratamientos (Profundidades)	AIREACION	AIREACIÓN	pH	pH	pH
BLOQUE I	CON IBA	SIN IBA	AJUSTADO	AJUSTADO	AJUSTADO
BLOQUE II			CON HCl	CON AC	CON AA
BLOQUE III					

3.4.3 ENCALLADO

El encallado se realizó tal y como ya lo mencionamos en la cama de aserrín antes mencionada para los EXPERIMENTOS anteriores, la cual dio motivo para la realización de estas evaluaciones. (Tabla 9).

TABLA 9: Bloques con respecto a la profundidad en la cama EXPERIMENTO 3: Influencia de la Profundidad en la Cama sobre el Encallado de Varetas de Portainjertos de Manzano.

BLOQUE	PROFUNDIDAD
I	5 cm
II	20 cm
III	35 cm

3.4.4 EVALUACIONES

Las evaluaciones se llevaron a cabo el 22 de mayo de 1988, de los siguientes parámetros a evaluar:

- **TAMAÑO DE CALLO**
- **% VARETAS ENCALLADAS**
- **% VARETAS ENRAIZADAS**
- **No. RAICES**
- **LONGITUD DE RAICES**
- **% SOBREVIVENCIA**

3.5 ANALISIS ESTADISTICO

3.5.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

El Diseño Experimental que se utilizó fue el de Bloques Completamente al Azar. Con Esquemas Factoriales en donde se tomaron en cuenta como factores de estudio el número de tratamientos y el número de repeticiones en cada uno de los experimentos.

Sus objetivos son maximizar las diferencias entre bloques y minimizar la variación dentro de los bloques. Cabe recordar que nuestros bloques son las profundidades dentro de la cama de encallado.

Este diseño tiene entre otras ventajas:

Elimina la fuente de variación del error, aumentando la precisión del ensayo.

Permite una gran flexibilidad en la relación tratamiento bloque, siempre y cuando se reserve un número igual (o un múltiplo) de tratamientos por unidad experimental. En nuestro caso los tratamientos y repeticiones fueron los mismos por cada parámetro que evaluamos.

La pérdida de información por bloque o tratamiento no dificulta el análisis estadístico.

Nuestros bloques los formamos fundamentándonos en la profundidad a la que se colocaron las varetas en la cama de encallado como criterio de agrupamiento (TABLA 9).

Una vez formados los bloques asignamos al azar los tratamientos de los Experimentos 1, 2 y 3 tal y como se muestra en las tablas correspondientes (TABLAS 4, 7 Y 8).

3.5.2 ANÁLISIS DE VARIANZA

Para analizar nuestros datos estadísticamente se utilizó el Análisis de Varianza (ANVA o ANOVA) (Analysis of Variance), para verificar si hay diferencias estadísticamente significativas entre las medias de nuestros tratamientos (Morales, 2012).

Con el Análisis de Varianza podemos comprobar si existen diferencias estadísticamente significativas entre más de dos grupos o tratamientos. Es el método apropiado cuando se tienen más de dos grupos en el mismo planteamiento.

Cabe recordar que una varianza grande indica que hay mucha variación entre los sujetos, que hay mayores diferencias individuales con respecto a la media.

Por otro lado, debemos tomar en cuenta de que solo si el valor de F en el ANVA es mayor al Valor crítico para F se entenderá que hay diferencias entre los tratamientos y la hipótesis que proponemos es una hipótesis alternativa.

Para aquellos Análisis de Varianza donde la hipótesis nula fue rechazada, a través de un resultado estadísticamente significativo, el cual indica que al menos uno de los grupos difiere de los otros, se usó el método de Fisher, Least Significant Difference (LSD), es decir, Diferencia Mínima Significativa (DMS), para encontrar cual o cuales de los grupos difieren de los otros.

IV. RESULTADOS

4.1 EXPERIMENTO 1: Efecto del pH del Ácido Indol-3-Butírico en el Encallado de Varetas del Portainjerto de Manzano MM-111

TABLA 10: Promedios de los parámetros evaluados EXPERIMENTO 1 (Efecto del pH del IBA en el Encallado de Varetas de Portainjertos de Manzano): HCl = Tratamientos con Ácido Clorhídrico; AC = Tratamientos con Ácido Cítrico; AA = Tratamientos con Ácido Ascórbico

PARAMETROS A EVALUAR					
TRATAMIENTO	TAMAÑO CALLO	% VARETAS ENCALLADAS	% VARETAS ENRAIZADAS	No. RAICES	LONGITUD DE RAICES
HCl-pH3	2.66	50	0	0	0
HCl-pH4	3.093	76.66	0	0	0
HCl-pH5	3.123	73.33	6.66	1	1.75
HCl-pH6	3.625	70	0	0	0
HCl-pH7	2.8	86.66	3.33	1	6
AC-pH3	3.196	83.33	0	0	0
AC-pH4	3.078	66.66	0	0	0
AC-pH5	3.327	80	0	0	0
AC-pH6	2.673	76.66	0	0	0
AC-pH7	3.408	93.33	3.33	2	1
AA-pH3	2.406	76.66	13.33	1.75	2.375
AA-pH4	2.69	83.33	6.66	1	1.25
AA-pH5	2.99	93.33	3.33	3.5	0.5
AA-pH6	2.587	83.33	16.66	3.33	1.408
AA-pH7	2.967	96.66	0	0	0
TESTIGO-pH8	2.389	60	0	0	0

4.1.1 TAMAÑO DE CALLO

Al graficar los promedios en el tamaño de callo obtenido con los diferentes tratamientos, encontramos que el pH 6 y el pH 7 son los mejores pH para favorecer el encallado, encontrando que al no ajustar el pH de la solución de IBA hubo menor tamaño de callo en las varetas encalladas (Figura 47).

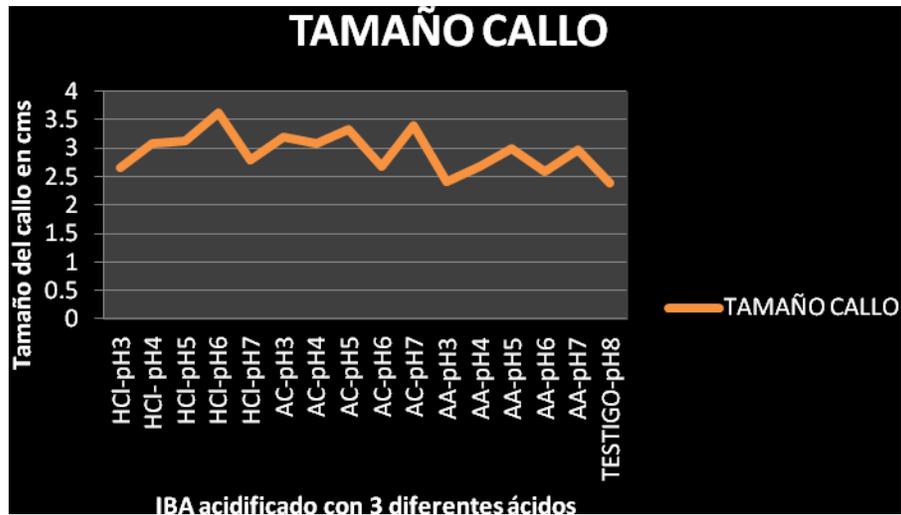


FIGURA 47: Tamaño de callo en los diferentes tratamientos con IBA acidificado.

Al realizar los Análisis de Varianza (Tablas A1, A2 y A3 del apéndice), la varianza entre los tratamientos es pequeña, por lo que no hay gran variación en los resultados dentro de cada tratamiento, sin embargo encontramos que la F encontrada es menos al Valor Crítico para F por lo que no hay una diferencia significativa entre tratamientos.

4.1.2 % VARETAS ENCALLADAS

Nuevamente el pH promedio al que se logró un mayor porcentaje de varetas encalladas fue pH 7, y nuevamente el TESTIGO mostró uno de los más bajos porcentajes de varetas encalladas (Figura 48).

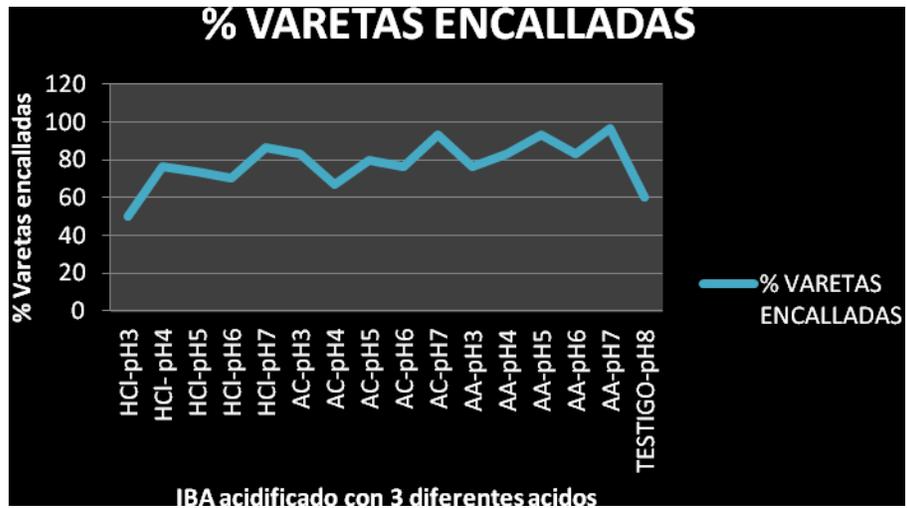


FIGURA 48: Porcentaje de varetas encalladas en los diferentes tratamientos con IBA acidificado.

En este parámetro se encontró que el Análisis de Varianza (Tablas A4, A5 y A6 del apéndice) muestra varianzas muy grandes dentro de cada tratamiento, lo cual indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos.

4.1.3 % VARETAS ENRAIZADAS

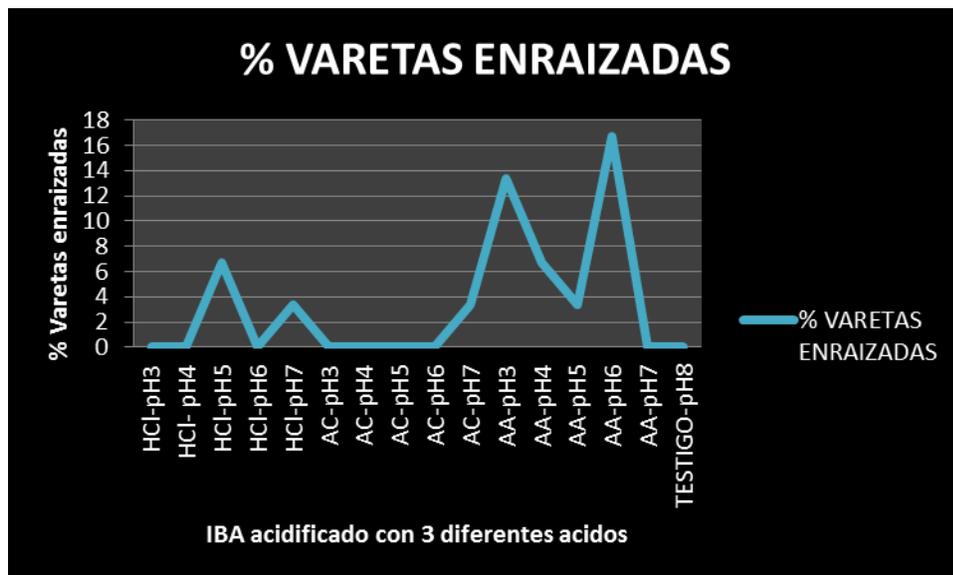


FIGURA 49: Porcentaje de varetas enraizadas en los diferentes tratamientos con IBA acidificado.

Como se puede observar en las tablas A7, A8 y A9 del apéndice, en el ANVA existen varianzas muy grandes dentro de los tratamientos, además de que la F calculada es menor al valor crítico de F, lo que nos muestra que no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos.

4.1.4 NUMERO DE RAÍCES

En la figura 50 se observa que el número de raíces fue mayor en los tratamientos con IBA acidificado, especialmente cuando se acidificó con Ácido Ascórbico.



FIGURA 50: Número de raíces en los diferentes tratamientos con IBA acidificado.

En las tablas A10, A11 y A12 del apéndice se observa que aunque la varianza es pequeña, el valor de la F calculada es menor al valor crítico de F por lo que no existen diferencias estadísticas en este parámetro.

4.1.5 LONGITUD DE RAÍCES

En la figura 51 se observa que la longitud de raíces fue mayor con IBA acidificado, aunque sobresale el dato del tratamiento con Ácido Clorhídrico a pH 7.

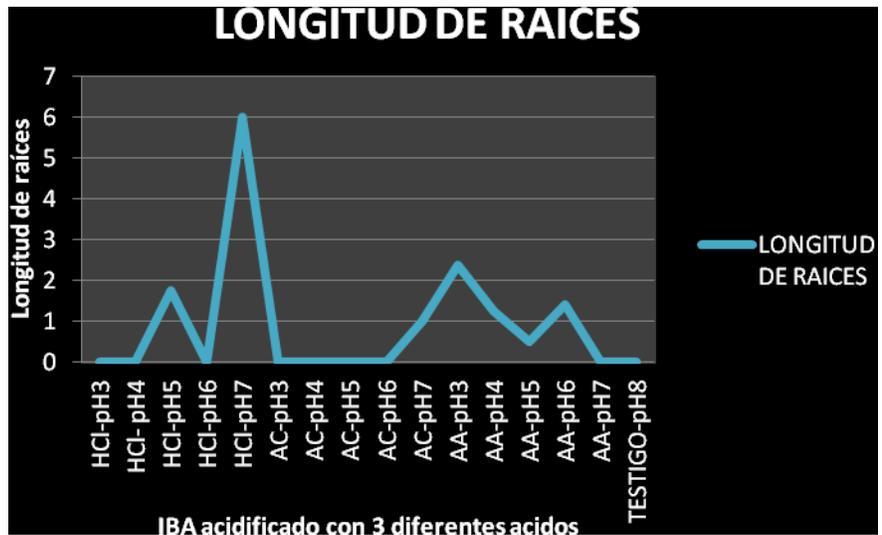


FIGURA 51: Longitud de raíces en los diferentes tratamientos con IBA acidificado.

En las tablas A13, A14 y A15 del apéndice se muestra que la varianza es pequeña en el ANVA para el número de raíces, sin embargo la F calculada sigue siendo menor al Valor Crítico de F, lo cual indica que no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos.

4.2 EXPERIMENTO 2: Efecto de la Falta de Aireación en el Encallado de Varetas del Portainjerto de Manzano MM-106 Tratados con Ácido Indol Butírico y sin Acido Indol Butírico.

Los resultados se muestran en la Tabla 11.

TABLA 11: Promedios de los parámetros evaluados EXPERIMENTO 2: (Efecto de la falta de Aireación en el Encallado de Varetas de Portainjertos de Manzano tratados con IBA y sin IBA): + IBA = Tratamientos con Acido Indolbutírico; -IBA = Tratamientos sin Acido Indolbutírico; El número corresponde al número de tratamiento, incluyendo al TESTIGO (número 8) (Ver tabla 6 página 105).

PARAMETROS A EVALUAR					
TRATAMIENTO	TAMAÑO CALLO	% VARETAS ENCALLADAS	% VARETAS ENRAIZADAS	NUMERO DE RAICES	LONGITUD DE RAICES
+ IBA ₁	2.187	76.66	6.66	1.5	.750
+ IBA ₂	3.300	100.00	20.00	2.11	3.741
+ IBA ₃	2.933	100.00	23.33	3.00	3.266
+ IBA ₄	2.733	80.00	6.66	3.00	3.266
+ IBA ₅	2.856	86.66	13.33	1.5	1.833
+ IBA ₆	2.203	76.66	6.66	1.5	3.750
+ IBA ₇	3.133	70.00	13.33	1.66	3.583
+ IBA ₈	1.715	26.66	3.33	1.00	1.000
-IBA ₁	1.733	63.33	3.33	2.00	4.000
-IBA ₂	2.066	93.33	6.66	2.00	2.000
-IBA ₃	1.660	70.00	0	0	0
-IBA ₄	1.616	60.00	0	0	0
-IBA ₅	2.116	86.66	0	0	0
-IBA ₆	2.466	83.33	3.33	1.00	4.00
-IBA ₇	2.133	80.00	3.33	1.00	0.500
-IBA ₈	1.763	63.33	0	0	0

4.2.1 TAMAÑO DE CALLO

Observando la figura 52 se encontró que los tratamientos de 1 hora sin aireación (+IBA₂, -IBA₂); y de 32 horas sin aireación (+IBA₇, -IBA₇), fueron los mejores en estimular el tamaño del callo. Sin embargo no podemos dejar del lado los tratamientos de 2 horas sin aireación (+IBA₃, -IBA₃).

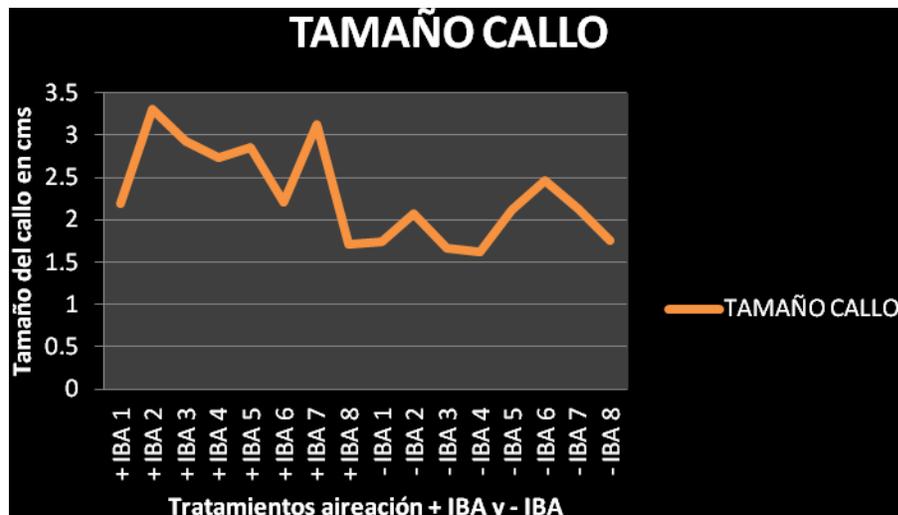


FIGURA 52: Tamaño del callo en diferentes tratamientos de aireación con IBA y sin IBA.

Al realizar el ANVA (Tablas A16, A17 y A18 del apéndice) los resultados nos indican que si hay diferencias significativas entre los tratamientos y que las variaciones dentro de los tratamientos no son grandes. Es decir la F calculada (2.1315264213) es mayor al Valor Crítico de F (1.991989505).

Al realizar la prueba LSD o de Diferencia Mínima Significativa con un nivel de significancia de 0.5 se encontró que al rechazar la hipótesis nula, las horas de aireación y más aún, la aplicación o no de IBA afectan el tamaño de callo de las varetas de portainjertos de manzano MM-106 (Tabla A19).

Los tratamientos con IBA difieren significativamente de los tratamientos sin IBA y los tratamientos TA+IBA₂, y TA+IBA₃ (1 y 2 horas sin aireación, 31 y 30 horas con aireación con IBA), así como TA+IBA₇ (32 horas sin aireación, 0 horas con aireación con IBA) son los mejores tratamientos, encontrando cierta similitud en las tendencias entre los tratamientos en que no se aplicó IBA posterior al tratamiento de aireación.

4.2.2 % VARETAS ENCALLADAS

Nuevamente los tratamientos IBA₂, IBA₃ e IBA₇ se muestran como los mejores tratamientos en el porcentaje de varetas encalladas, mostrando que los testigos fueron de los porcentajes más bajos (Figura 53).

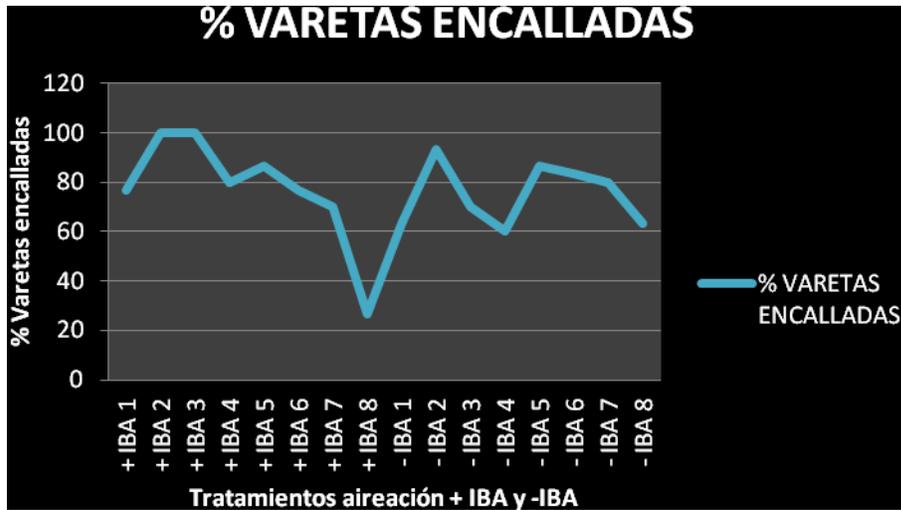


FIGURA 53: Porcentaje de varetas encalladas en diferentes tratamientos de aireación con IBA y sin IBA.

Las tablas A20, A21 y A22 del apéndice muestran que la F calculada es menor al Valor Crítico para F, además de que existe una varianza muy grande dentro de los tratamientos, por lo que no existieron diferencias estadísticas entre tratamientos.

4.2.3 % VARETAS ENRAIZADAS

Los tratamientos TA+IBA₂ y TA+IBA₃ muestran una marcada tendencia a dar los mejores resultados.

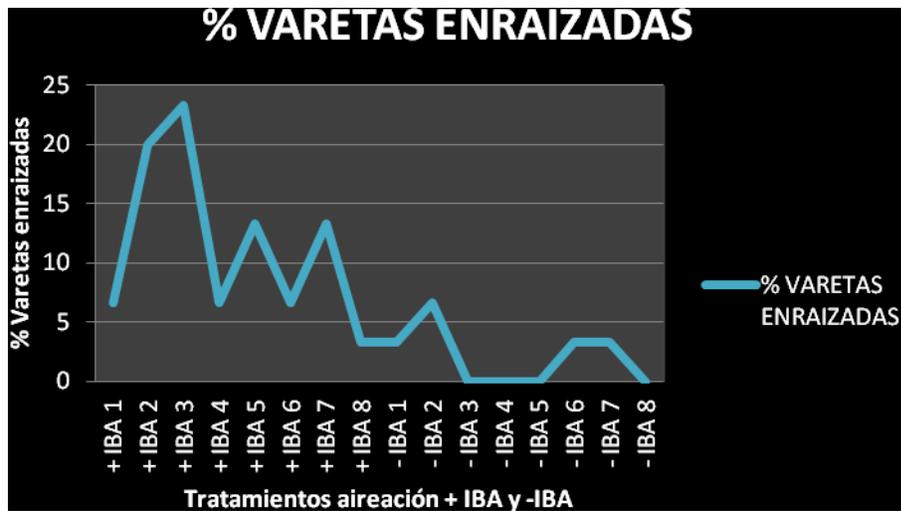


FIGURA 54: Porcentaje de Varetas Enraizadas en diferentes tratamientos de aireación con IBA y sin IBA

Sin embargo, estadísticamente no se encontraron diferencias, (Tablas A23, A24 y A25 del apéndice), ya que por un lado las varianzas dentro de los tratamientos son muy grandes, además de que por otro lado la F calculada fue menor al Valor Crítico de F.

4.2.4 NUMERO DE RAÍCES

Nuevamente los tratamientos +IBA2 y +IBA3 se muestran como los mejores tratamientos, tal y como se muestra en la Figura 55.

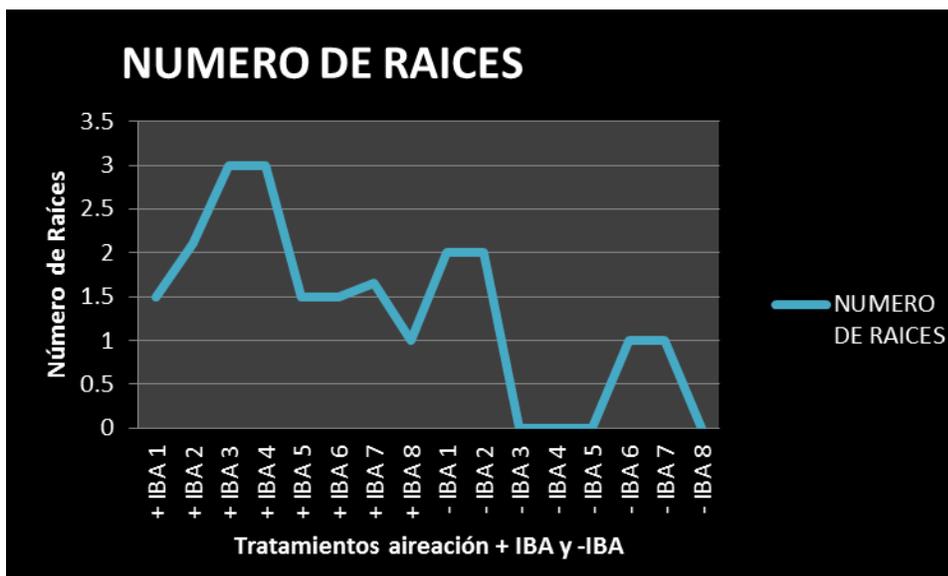


FIGURA 55: Número de raíces en diferentes tratamientos de aireación con IBA y sin IBA

Las tablas A26, A27 y A28 del apéndice muestran varianzas pequeñas dentro de los tratamientos, además de que nuestra F calculada (2.4960341) es mayor al Valor Crítico encontrado para F (1.991989505), lo cual nos indica que si existen diferencias estadísticas entre los tratamientos para este parámetro.

De acuerdo a la prueba LSD (Tabla A29 del apéndice), los mejores tratamientos son +IBA₂, +IBA₃ y +IBA₄. Se observó que se mantienen constantes como mejores tratamientos los tratamientos con 1 y 2 horas sin aireación respectivamente, y lógicamente se repiten las marcadas diferencias entre tratamientos con aplicación posterior de 1000 ppm de IBA durante 10 segundos, y sin la aplicación de esta hormona de enraizamiento posterior a los tratamientos de aireación

4.2.5 LONGITUD DE RAÍCES

En este parámetro existe mucha variación dentro de los resultados, por lo cual no hay algún tratamiento que se pueda decir marcadamente que es mejor en relación con este parámetro evaluado, aunque de alguna manera nuestros tratamientos +IBA₂ y +IBA₃ siguen apareciendo entre los mejores.

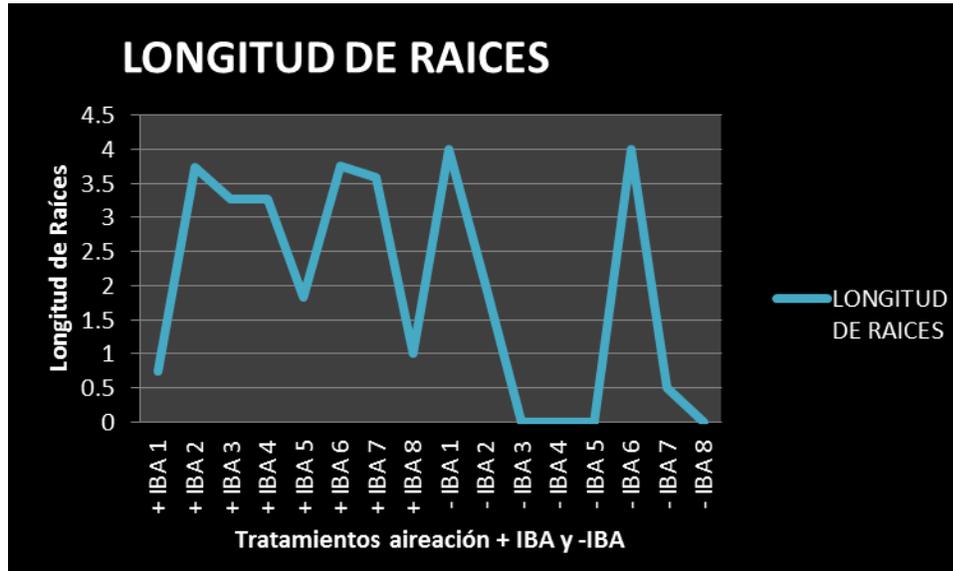


FIGURA 56: Longitud de Raíces en diferentes tratamientos de aireación con IBA y sin IBA

De acuerdo a las tablas A30, A31 y A32 del apéndice, aunque las varianzas dentro de los tratamientos son pequeñas, el valor de F calculado es menor al Valor Crítico para F por lo que no existen diferencias estadísticas entre los tratamientos.

4.3 EXPERIMENTO 3: Influencia de la Profundidad en la Cama sobre el Encallado de Portainjertos de Manzano.

En la tabla 12 se muestran los parámetros evaluados por bloque, con la finalidad de evaluar los parámetros ya antes mencionados en función de la profundidad en la que se encuentran las varetas en la cama de encallado.

TABLA 12: Parámetros evaluados EXPERIMENTO 3 (Influencia de la Profundidad en la Cama sobre el Encallado en Varetas de Portainjertos de Manzano): + IBA = Tratamientos con Acido Indolbutírico; -IBA = Tratamientos sin Acido Indolbutírico; HCl = Acido Clorhídrico; AC = Acido Cítrico; AA = Acido Ascórbico; I = Bloque I; II = Bloque II; III = Bloque III (Ver tablas 8 y 9, pág. 107).

PARAMETROS A EVALUAR						
TRATAMIENTO	TAMAÑO CALLO	% VARETAS ENCALLADAS	% VARETAS ENRAIZADAS	NUMERO DE RAICES	LONGITUD DE RAICES	% SOBREVIVENCIA
Oxig+IBA I	2.1525	85.00	8.75	1.8330	1.5666	32.50
Oxig+IBA II	2.8200	77.50	13.75	1.9720	2.7360	25.00
Oxig+IBA III	2.7113	68.75	12.50	2.5666	3.5300	10.00
Oxig-IBA I	2.0869	82.50	1.25	2.0000	4.0000	45.00
Oxig-IBA II	1.9588	77.50	3.00	1.5000	1.2500	31.25
Oxig-IBA III	1.7906	61.25	1.00	1.0000	4.0000	6.25
pHajustHCl I	3.1730	72.00	2.00	1.0000	6.0000	10.00
pHajustHCl II	3.3040	96.00	2.00	1.0000	0.5000	18.00
pHajustHCl III	2.7080	46.00	2.00	1.0000	1.0000	0.00
pHajustAC I	3.2100	88.00	0.00	0.0000	0.0000	10.00
pHajustAC II	2.9910	78.00	0.00	0.0000	0.0000	20.00
pHajustAC III	3.2090	74.00	2.00	2.0000	1.0000	10.00
pHajustAA I	2.8880	94.00	14.00	2.7050	1.8705	4.00
pHajustAA II	2.4820	90.00	2.00	3.5000	0.5000	2.00
pHajustAA III	2.8140	76.00	8.00	2.0000	1.3500	2.00
Testigo pH sin ajustar I	1.0000	50.00	0.00	0.0000	0.0000	0.00
Testigo pH sin ajustar II	3.0000	70.00	0.00	0.0000	0.0000	0.00
Testigo pH sin ajustar III	3.1660	60.00	0.00	0.0000	0.0000	0.00

Sin embargo, en la tabla 13 se presenta un promedio de todos los tratamientos por BLOQUE, es decir por profundidad, que son los diferentes tratamientos que vamos a evaluar en este experimento. Es decir las evaluaciones se hicieron por tratamientos por bloques y por promedios totales de bloque para cada parámetro.

TABLA 13: Promedios de los parámetros evaluados EXPERIMENTO 3 (Influencia de la Profundidad en la Cama sobre el Encallado de Varetas de Portainjertos de Manzano): Se promediaron los resultados por BLOQUE (Ver tabla 9). (BLOQUE I= 5 cm de profundidad; BLOQUE II= 20 cm de profundidad; BLOQUE III= 35 cm de profundidad).

PARAMETROS A EVALUAR						
BLOQUE	TAMAÑO CALLO	% VARETAS ENCALLADAS	% VARETAS ENRAIZADAS	NUMERO DE RAICES	LONGITUD DE RAICES	% SOBREVIVENCIA
I	2.9597	82.5	5	3.2050	4.8705	7.5
II	2.9303	86.875	1.25	2.2500	0.5000	12.5
III	2.9263	65	3.75	1.7500	1.6750	3.75

Los Análisis de Varianza se hicieron tomando en cuenta todos los tratamientos.

4.3.1 TAMAÑO DE CALLO

Las evaluaciones por promedios de todos los tratamientos se muestran en la figura 57, mientras que la gráfica que muestra la comparación por el promedio de los bloques se muestra en la figura 58.

Sin embargo se realizó el ANVA obteniendo los resultados que se muestran en las tablas A33, A34 y A35 del apéndice, encontrándose que no existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos.

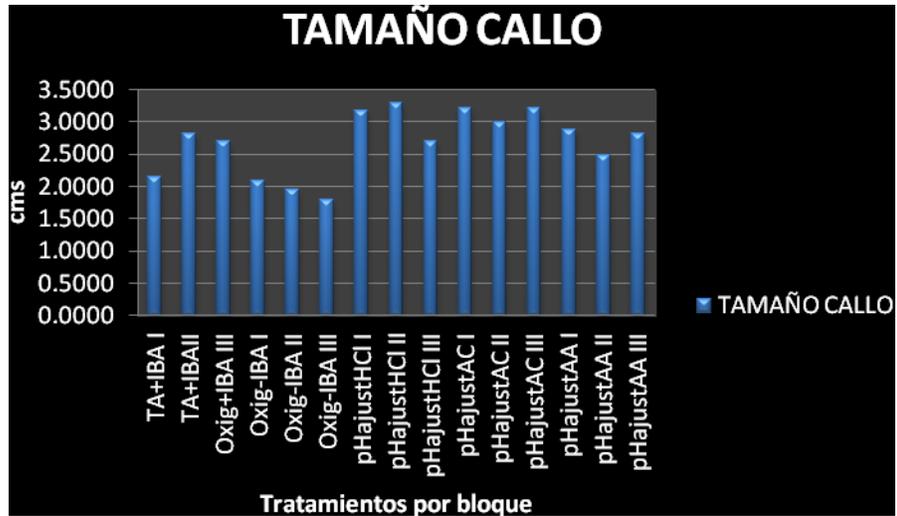


FIGURA 57: Comparación del tamaño del callo en diferentes tratamientos con respecto a los BLOQUES, (BLOQUE I= 5 cm de profundidad; BLOQUE II= 20 cm de profundidad; BLOQUE III= 35 cm de profundidad); (+ IBA = Tratamientos con Acido Indolbutírico; -IBA = Tratamientos sin Acido Indolbutírico; HCl = Acido Clorhídrico; AC = Acido Cítrico; AA = Ácido Ascórbico).

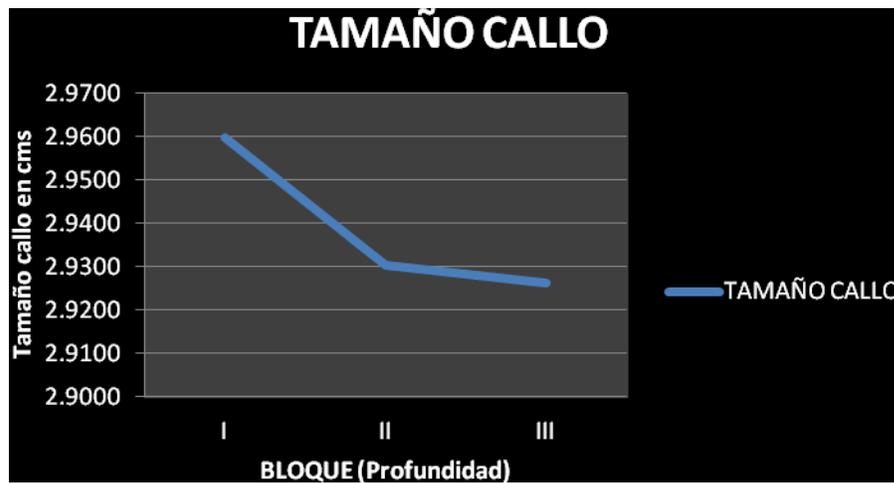


FIGURA 58: Comparación del tamaño del callo en diferentes tratamientos, promediando los resultados por BLOQUE. (BLOQUE I= 5 cm de profundidad; BLOQUE II= 20 cm de profundidad; BLOQUE III=35 cm de profundidad, apenas 5 cm por arriba del piso).

4.3.2 % VARETAS ENCALLADAS

Las figuras 59, 60 y 61 muestran la relación que existe entre el % de Varetas Encalladas, % de Varetas Enraizadas y % de Supervivencia, en relación a la profundidad en la cama de encallado.

En las tablas A36, A37 y A38 del apéndice, se presenta el Análisis de Varianza (ANVA) para el porcentaje de Varetas Encalladas.

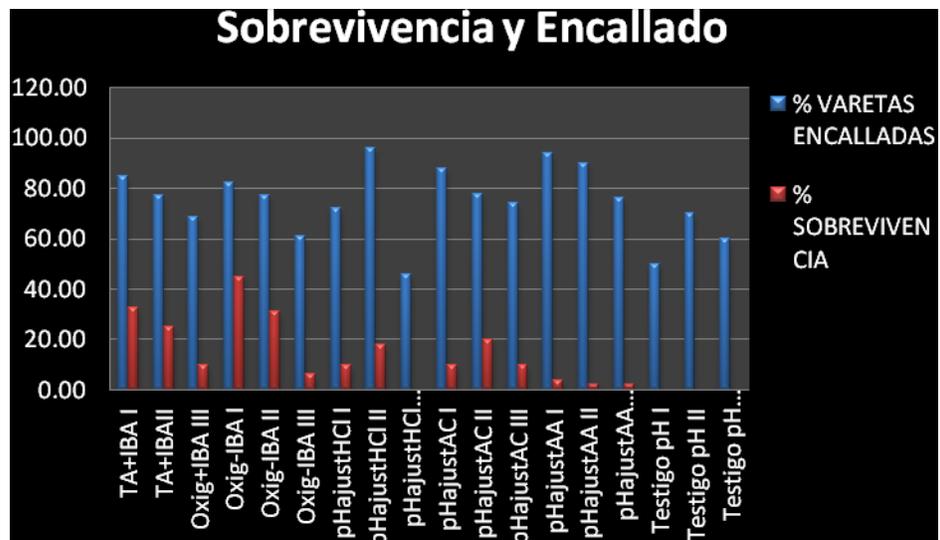


FIGURA 59: Comparación del porcentaje de encallado y el porcentaje de supervivencia en diferentes tratamientos con respecto a los BLOQUES, (BLOQUE I= 5 cm de profundidad; BLOQUE II= 20 cm de profundidad; BLOQUE III= 35 cm de profundidad).

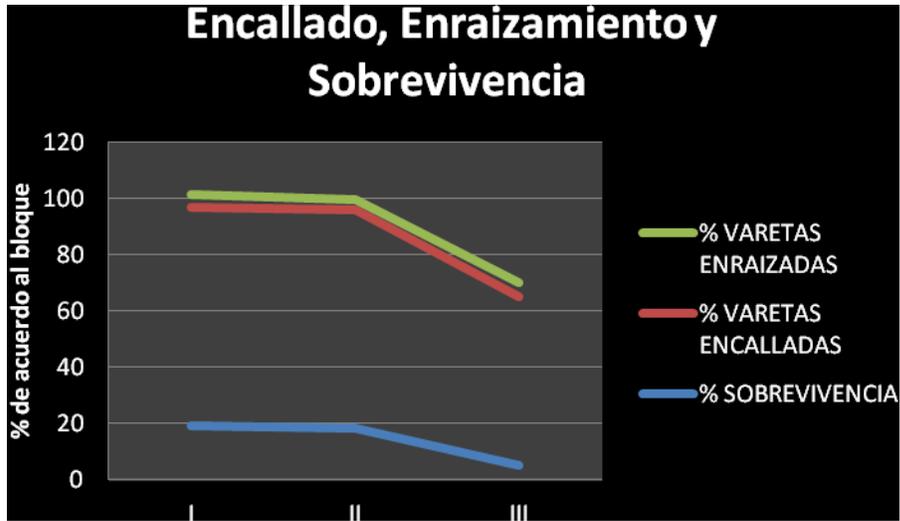


FIGURA 60: Comparación del porcentaje de encallado, el porcentaje de enraizamiento y el porcentaje de supervivencia en diferentes tratamientos promediando resultados por BLOQUES, (BLOQUE I= 5 cm de profundidad; BLOQUE II= 20 cm de profundidad; BLOQUE III= 35 cm de profundidad).

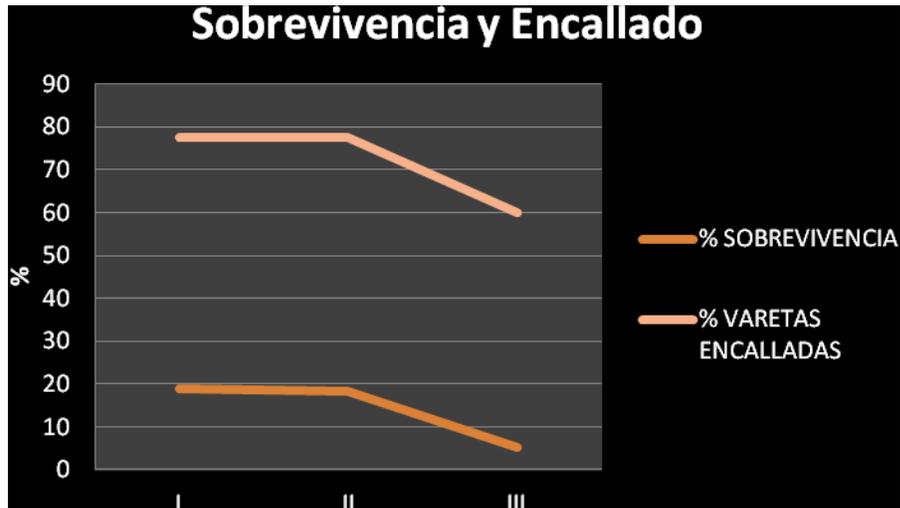


FIGURA 61: Comparación del porcentaje de encallado y el porcentaje de supervivencia en tratamientos por BLOQUES, (BLOQUE I= 5 cm de profundidad; BLOQUE II= 20 cm de profundidad; BLOQUE III= 35 cm de profundidad).

Al realizar el ANVA del porcentaje de varetas encalladas se encontró que aun cuando las varianzas dentro de los tratamientos son muy grandes (esto se da ya que se incluyeron todos los tratamientos de los 2 experimentos en cada uno de los bloques). La F calculada es mayor al Valor Crítico para F, lo cual indica que si existen diferencias estadísticas entre los tratamientos.

Aun sin realizar la prueba LSD los BLOQUES I y II son los mejores en el porcentaje de varetas encalladas. La prueba de Fisher o de Diferencia Mínima Significativa nos ayuda a comprobar lo anterior (Tabla A39 del apéndice).

4.3.3 % VARETAS ENRAIZADAS

Se muestra el ANVA del % de Varetas enraizadas en las tablas A40, A41 y A42 del apéndice.

El ANVA nos muestra que existe una varianza muy grande dentro de los tratamientos, por la diversidad de tratamientos como ya se ha comentado previamente (TABLA 54), y que no existen diferencias estadísticas entre tratamientos, debido a que nuestra F calculada es menor al Valor crítico para F.

4.3.4 NUMERO DE RAICES

Ver tablas A43, A44 y A45 del apéndice para el Análisis de Varianza de los resultados para el Número de Raíces.

Aun cuando las varianzas dentro de los tratamientos son pequeñas, nuestro valor calculado de F es menor que el Valor Crítico por lo tanto no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos.

4.3.5 LONGITUD DE RAICES

Las tablas A46, A47 y A48 del apéndice muestran los resultados del Análisis de Varianza para la Longitud de Raíces.

Al igual que para el parámetro de número de raíces por vareta enraizada, las varianzas dentro de los tratamientos son pequeñas, pero nuestro valor calculado de F es menor que el Valor Crítico por lo tanto no hay diferencia estadística entre tratamientos.

4.3.6 % SOBREVIVENCIA

En este experimento se evaluó el parámetro del porcentaje de sobrevivencia con respecto a la profundidad a la que se colocaron las varetas para realizar el encallado. Las figuras 59, 60 y 61 (pág. 122 y 123) mostradas previamente muestran que a mayor profundidad hay menor sobrevivencia.

Las tablas A49, A50 y A51 del apéndice muestran el Análisis de Varianza y prueba LSD para el parámetro del Porcentaje de Sobrevivencia.

El ANVA muestra que si hay diferencias significativas entre los bloques, ya que nuestra F calculada es mayor al Valor Crítico de F (Tabla A51 del apéndice). Las mejores profundidades donde se obtiene un mayor porcentaje de sobrevivencia son 5 y 20 cm dentro de la cama de encallado.

V. DISCUSION

Se discutirán de manera general varios aspectos que estuvieron presentes de manera común en los 3 experimentos.

Por ejemplo, no se tomó en cuenta el lugar de la vareta del cual se tomaron las estacas lo cual es un factor importante en la respuesta al enraizamiento, ya que la capacidad de enraizamiento depende del contenido fenólico, el cual varía de acuerdo al lugar donde se toman las estacas, Gutierrez (1995), encontró que una estaca de mayor edad produce menor enraizamiento, en teoría, ya que las estacas de la punta o las más cercanas a esta, podrían tener mayor capacidad de enraizamiento que las basales, factor que como se menciona no se tomó en cuenta al hacer los grupos de 10 varetas por repetición.

Por otro lado, cabe mencionar que en todos los tratamientos intervinieron las auxinas, ya sea de manera endógena o aplicadas exógenamente a través del IBA, el cual se ha demostrado ser más efectivo que el IAA de ocurrencia natural. Por esta razón, la aplicación de auxinas en nuestros tratamientos es muy importante ya que promueven el enraizamiento, teniendo su primer efecto en la pared celular, afectando sus propiedades mecánicas, aumentando el contenido de RNA y la tasa de crecimiento de la raíz. Debemos tomar en cuenta que la auxina puede inhibir la elongación de raíces si su concentración es muy alta (Thimann, 1936) y que a bajas concentraciones la estimula en algunas plantas (Burstrom, 1969).

En todos los tratamientos intervino como lo mencionamos anteriormente el lesionado, el cual también es un factor importante a tomar en cuenta por los efectos que este tiene en el enraizamiento, como estimulación de la división celular, acumulación de auxinas y carbohidratos en el área de lesión y

promoción en la síntesis de etileno, mayor absorción de agua y auxinas aplicadas, aunque se ha encontrado que el lesionado por sí solo no mejora el enraizamiento. Se ha encontrado que puede no haber diferencia entre estacas lesionadas o no lesionadas tratadas con IBA, sin embargo en estacas almacenadas si hubo mayor respuesta al IBA en estacas lesionadas, esto es importante ya que nuestras estacas tuvieron un almacenaje previo al inicio de los tratamientos durante aproximadamente una semana.

5.1 EXPERIMENTO 1: Efecto del pH del Ácido Indol-3-Butírico en el Encallado de Varetas del Portainjerto de Manzano MM-111

Estadísticamente no encontramos diferencia en ninguno de nuestros tratamientos, esto puede suceder debido a que como Albaum (1937) lo menciona, las células tienen sistemas amortiguadores que mantienen el pH celular constante a 5.2, por lo que el pH del medio podría no afectar el crecimiento de raíces. Se ha demostrado que el IAA con pH a valor fisiológico tiene una alta permeabilidad en membranas biológicas (Collander, 1959). Por estas razones Harbage y Stimart (1996), encontraron que manteniendo un pH amortiguado del medio de enraizamiento a 5.5 se obtuvo un conteo de raíces dos veces más alto que en medios no amortiguados donde el pH subió a 7. Esto es probable que esté relacionado con la cantidad de IBA necesario para provocar el enraizamiento, ya que con un pH más bajo la concentración de IBA requerida fue menor.

También nuestros resultados podrían explicarse en base a que diferentes autores han obtenido diferentes resultados, donde el incremento de raíces adventicias ha sido asociado con pH bajo (Lee et al., 1976; Williams, et al., 1985), pH alcalino (Lee et al., 1976), y con pH cercano al neutro (Mellor y Stace-Smith, 1969). Quizá estas diferencias entre resultados sea por que como se menciona no se distingue entre las fases de iniciación y desarrollo de raíces.

Cabe mencionar que formación de callo y formación de raíces adventicias debe tratarse por separado, ya que se puede formar callo con un pH alcalino pero este será calcificado, lo que provoca que las células se muestren compactas e isodiamétricas, y el callo formado sea fuerte y compacto, no permitiendo la emergencia de las raíces adventicias formadas por debajo de la superficie; mientras que la elongación de las raíces podría depender de la plasticidad de la pared celular, lo cual provoca un crecimiento estimulado por el ácido, ya que la célula vegetal crece más rápido y sus paredes son más flexibles a un pH ácido.

Sin embargo haciendo un análisis de los resultados obtenidos, se encontraron algunas tendencias que se relacionan con la literatura citada. Está demostrado que la toma y transporte de IAA por parte de la planta está en función del pH y la constante de acidez del medio de enraizamiento.

Observando los resultados tanto del porcentaje de varetas encalladas como del tamaño de callo en estas varetas, encontramos que de manera general los tratamientos con pH ajustado a 7 son los mejores tratamientos, lo cual coincide con autores como Bruckel (1969), donde obtuvo el mejor enraizamiento de *Thuja occidentalis*; y de Zucconi (1978), quien encontró un pH óptimo de 6.5 en el medio de enraizamiento. Kathiresan, et al (1996), también encontraron que el mejor enraizamiento se obtuvo a pH 6, disminuyendo más con la acidez que con la alcalinidad.

Sin embargo estos resultados difieren con los obtenidos por Harbage, et al (1998), quienes encontraron que la máxima absorción de IBA y el máximo conteo de raíces adventicias se observó a pH 4 y 5 en microesquejes de manzano, lo cual demuestra que aparentemente el pH regula la formación de raíces afectando la absorción de IBA pero no el metabolismo.

Por otro lado en lo que respecta a la formación de raíces, se encontró, también que los pH ligeramente ácidos y ácidos obtenidos con ácido ascórbico (tratamientos AA₁, AA₄, pH 3 y 6 respectivamente), mejoraron de alguna manera el porcentaje de varetas enraizadas, el número de raíces y la longitud de raíces. Esto coincide con investigaciones que demuestran que la penetración del IAA dentro de las células tiene lugar más rápidamente con valores de pH bajos.

Tal y como se menciona líneas arriba la formación y elongación de las raíces se debe tratar de manera diferente con la formación de callo, ya que son dos procesos diferentes, por ejemplo Evans (1976) encontró que con pH 4 existía mayor tasa de elongación de raíces, esto mismo coincide con Edwards y Scott (1974), que encontraron que auxinas aplicadas a pH 4 no inhibe la elongación de raíces a una concentración dada.

Edwards y Scott (1974) también encontraron que el pH 4 en una solución provoca la mayor elongación de raíces, pero además que este pH en condiciones aeróbicas provoca un efecto de mayor elongación, esto debido a que los iones H⁺ alteran la estructura de la pared celular y esta secreción de iones H⁺ es inducida también por la acción de la auxina.

Otro de los factores que están relacionados con la formación de raíces es la liberación de etileno, la cual es provocada por diversos factores como auxinas, lesionado y oxígeno, pero el pH también influye en este proceso donde a un pH celular entre 5 y 6 se provoca la generación de etileno, el cual interviene en el proceso de formación de raíces adventicias.

Queda claro que con pH ácido se favorece la formación de raíces adventicias, más específicamente el desarrollo y la elongación, coincidiendo con muchos autores (Blakely et al., 1986; Liu et al., 1993; Holt et al., 1998; Cousson et al., 1989; Williams et al., 1985; Lee et al., 1976; Khosh-Khui y

Tafazoli, 1979), aunque no significativamente de manera estadística, los resultados con los tratamientos de ácido ascórbico pH 3 que muestran mejoría en la elongación y formación de estas. Esto se da debido a que el pH ácido mejora la respuesta al IAA exógeno. A pH ácido mayor permeabilidad a través de la membrana, favorece el movimiento basipétalo del IAA a la zona de iniciación de raíces, expande la pared celular mediante proteínas catalizadoras llamadas expansinas, las cuales pueden dar la capacidad a la pared de las células de crecimiento de relajarse y contraerse, provocando una mayor elongación a pH 5.5.

5.2 EXPERIMENTO 2: Efecto de la Falta de Aireación en el Encallado de Varetas del Portainjerto de Manzano MM-106, tratados con Ácido Indol Butírico y sin Acido Indol Butírico.

En los parámetros de tamaño de callo y de número de raíces, si se encontraron diferencias significativas, sin embargo, podemos decir que en general se notan mejores resultados en los tratamientos en que se utilizó IBA que en los que no se utilizó. Con esto nos queda claro que el tratamiento con IBA exógeno favorece el enraizamiento en estacas de portainjertos de manzano, esto coincide con lo mencionado anteriormente de que, él IBA aplicado es más efectivo que el IAA de ocurrencia natural y que aun cuando existieron tratamientos enfocados a mejorar el movimiento, o la síntesis de auxinas y etileno dentro de las estacas los tratamientos con IBA fueron más efectivos que los tratamientos sin el ácido.

De manera general, aunque estadísticamente no significativos, los resultados para los parámetros de porcentaje de varetas encalladas, porcentaje de varetas enraizadas y longitud de raíces, muestran tendencias a que los mejores tratamientos son el tratamiento + IBA₂ y + IBA₃ (1 hora sin aireación seguidas por 31 horas con aireación y 2 horas sin aireación seguidas por 30 horas con aireación, respectivamente). Esto mismo sucede, pero sí sustentado de manera significativa en los parámetros de tamaño de callo y número de raíces. Aunque los tratamientos donde se dieron 32 horas sin aireación se encontraron efectos benéficos en el tamaño de callo, esto podría sustentarse debido a que la concentración de etileno obtenida bajo estas condiciones es la adecuada para promover la formación de callo.

La sumersión en agua es importante en la estimulación del encallado, ya que los testigos (sin sumergir en agua), presentan los valores más bajos en todos los parámetros.

Los resultados confirman lo mencionado en la discusión del experimento 1, de que de un callo grande y blando es más fácil que se desarrollen raíces adventicias, que de un callo compacto e isodiamétrico. Por lo tanto un callo de

mayor tamaño será más blando y desarrollará mayor cantidad de raíces adventicias.

Se podría decir que la sumersión en agua afecta varios factores que están relacionados entre ellos, como son el oxígeno, el etileno y las auxinas. La sumersión tiene un dramático efecto en la concentración de O₂ y etileno, debido a la lenta difusión de gases (Jackson, 1985).

Ahora bien, para explicar los resultados podemos mencionar los trabajos como el de Wada (1961), quien encontró que sumergir estacas en agua incrementa la concentración de etileno, lo cual estimula el enraizamiento. A mayor contenido de agua mayor formación de raíces adventicias, debido a que se incrementó el contenido de etileno. Pero, ¿A qué concentración el etileno produce la mayor cantidad de callo y de raíces adventicias? No es clara la medida de la participación del etileno en la formación de raíces adventicias, puede ser como promotor (Zimmerman y Hitchcock, 1933; Krishnamoorthy, 1972; Davidson, 1965), o puede ser que no tenga efecto (Krishnamoorthy, 1972; Mullins, 1972).

Al igual que el lesionado, la anaerobiosis produce etileno, el cual está relacionado junto con las auxinas en el enraizamiento (De Klerk et al, 1999).

El etileno podría intervenir en la producción, transporte, destrucción y sensibilidad a las auxinas (Michener, 1938).

Los resultados indican que un mínimo de horas sin aireación podrían producir la suficiente concentración de etileno dentro de las estacas para estimular la formación de raíces adventicias, a través de una mayor sensibilidad a la auxina exógena aplicada (IBA), mayor estimulación en la producción de auxina endógena por la estaca, mayor transporte basipétalo de las auxinas hacia la zona de formación de raíces. Kawase (1964), demostró que tratar con etileno exógeno estacas de *Salix*, por un período de 0 a 120 minutos incrementó la formación de raíces adventicias, obteniendo el mejor resultado con 30 minutos de tratamiento de aplicación de etileno.

El etileno endógeno acelera la formación de raíces adventicias y de espacios de aire corticales.

Sin embargo al dar aireación posteriormente por periodos largos también favorece el encallado y el enraizamiento.

Al dar un mayor número de horas sin aireación, puede ser que las concentraciones de etileno se aumenten dentro de las estacas a concentraciones que no favorecen de igual manera la formación de raíces adventicias. Se ha encontrado que el etileno externo causa el 50 % de la inhibición de la elongación radicular, concluyendo que las auxinas inhiben la elongación radicular cuando hay producción de etileno (Torrey, 1976). Esta

inhibición puede ser causada por el efecto del etileno en la inhibición del transporte de auxinas dentro de las plantas, el cual puede causar escasez o excedentes de auxinas.

La mayor causa de la inhibición del crecimiento es la disminución del proceso mitótico en los meristemos (raíces, tallos y yemas). Tanto las auxinas a través del etileno como el etileno mismo inhiben la mitosis en el ápice de la raíz hasta un 60%, pero una alta concentración de auxinas estimula la mitosis. Esta podría ser la causa por la que nuestro tratamiento de 32 horas sin aireación estuviera dentro de los mejores en tamaño de callo y % de varetas encalladas. Tanto auxinas como etileno bloquean la división previa a la profase.

Cabe mencionar que no solo la concentración de etileno aumenta dentro de las estacas, sino también el agua que no es aireada y que no tiene movimiento provoca que la concentración de etileno aumente, esto ocasionado por la falta de oxigenación y el entrapamiento que provoca el agua.

Como ya se mencionó tanto el etileno como las auxinas están relacionados, y se ha encontrado que pueden presentar respuestas análogas en raíces.

Las auxinas controlan la tasa de síntesis de etileno. El aumento en la evolución del etileno se da por las auxinas, tanto exógenas como endógenas, a un mayor nivel de auxinas interno, mayor producción de etileno, mientras que menores niveles de auxina, menor producción de este. Sin embargo debe quedar claro que así como la auxina controla la evolución de etileno, el etileno altera el metabolismo de la auxina.

Los resultados también están influenciados por el papel que el oxígeno juega en la formación de raíces, el cual está relacionado también con el etileno y por ende con las auxinas y el lesionado.

El oxígeno estimula el desarrollo de raíces adventicias en estacas, los requerimientos por especie son variables, se ha encontrado que las raíces se forman en un medio aireado, o cerca de donde el medio está más aireado. Se ha encontrado que las raíces no sobreviven en sumersión prolongada, sin embargo, cuando el agua es aireada, estas sobreviven. En este punto debemos recordar que el CO₂ es un inhibidor competitivo del etileno y que restablece de alguna manera los efectos inhibitorios de la auxina en la formación de raíces adventicias.

Se ha encontrado que aumentando el contenido de oxígeno en el medio de enraizamiento, la formación de raíces adventicias aumenta, al igual que la sobrevivencia en estacas de portainjertos de manzana (Howard, 1975). Por lo tanto esto coincide con que los mejores tratamientos son aquellos que tienen más horas de aireación. Estos resultados coinciden también con Milbocker y Stefani (1985), quienes encontraron que esquejes de nochebuena sumergidos

por 3 horas iniciaron raíces más pronto que los no sumergidos, o los que se sumergieron por periodos más largos, provocando de alguna manera efectos similares a nuestros tratamientos TA + IBA₂ y TA + IBA₃.

El oxígeno disuelto en el medio es esencial en la formación de raíces adventicias. En condiciones de anaerobiosis se inhibe el crecimiento como resultado de la privación de carbohidratos. Bajo condiciones de hipoxia se reduce la producción de ATP y se disminuye el metabolismo, ya que el oxígeno es esencial como aceptador de electrones en el ciclo de la fosforilación oxidativa que provee la mayor parte del ATP para el metabolismo celular.

La falta de O₂ disminuye el flujo de aminoácidos de proteínas en la punta de la raíz (Chang et al., 2000), promueve cambios en los niveles de RNA mensajero de los genes involucrados en la síntesis del etileno, provoca muerte programada de células y pérdida de la pared celular (Klok et al., 2002; Olson et al., 1995).

La falta de oxígeno y los altos niveles de etileno producen los mismos efectos. Producen aerénquima para facilitar el transporte de O₂ a tejidos anaeróbicos.

Por último, se ha encontrado que quizá la falta de oxígeno no altere la concentración de IAA endógeno, sin embargo promueve el transporte basipétalo de este, del tallo a la zona de formación de raíces para mantener la concentración de auxina estable.

De esta manera consideramos que un periodo corto de falta de aireación produce una concentración adecuada de etileno que favorece el encallado y la formación de raíces adventicias, pero que es necesaria la aireación posterior del medio de enraizamiento, agua en este caso para continuar con el proceso de formación de raíces adventicias, lo cual coincide con nuestros tratamientos TA + IBA₂ y TA + IBA₃.

5.3 EXPERIMENTO 3: Influencia de la Profundidad en la Cama sobre el Encallado de Varetas de Portainjertos de Manzano.

Las profundidades de 5 cm (BLOQUE I) y 20 cm (BLOQUE II), son las mejores para promover el encallado en estacas de portainjertos de manzano, ya que aunque en la mayoría de los parámetros evaluados no hubo diferencias estadísticamente significativas, si se nota una tendencia para poder señalar que estas profundidades son las más adecuadas para promover el encallado en estacas de portainjertos de manzano.

El porcentaje de varetas encalladas y el porcentaje de sobrevivencia fueron parámetros que si mostraron diferencias estadísticamente significativas,

mostrando que hay diferencias entre los BLOQUES I y II con respecto al BLOQUE III, pudiendo recomendar los dos primeros como las profundidades más adecuadas para el encallado.

Estos resultados se pueden relacionar con la falta de aireación en el medio de enraizamiento ya que en el bloque inferior la acumulación de agua de los riegos se fue acumulando y estancando, por razones de drenaje y gravedad, dejando los BLOQUES I y II con una mayor aireación, lo cual provoca una mayor y mejor formación de raíces adventicias. Mientras que en el BLOQUE III el exceso de agua provocó menor aireación, lo cual ocasiona una alta acumulación de etileno dentro y alrededor de las estacas, y una deficiencia de oxígeno, que como ya se ha mencionado provoca una disminución del enraizamiento y una menor sobrevivencia de las estacas.

Cabría mencionar que se deberá evaluar el encallado en camas de mayor profundidad, donde por debajo del último bloque (BLOQUE III) queden más de 5 cm de distancia al suelo, ya que con mayor distancia al suelo habrá mayor drenaje y probablemente mejores resultados en este bloque.

Se ha encontrado que aumentando el contenido de oxígeno en el medio de enraizamiento, la formación de raíces adventicias aumenta, al igual que la sobrevivencia en estacas de portainjertos de manzana (Howard, 1975). Con eso se puede considerar que a menor profundidad existe una mayor cantidad de aire y en consecuencia de oxígeno disponible para las estacas en la cama de encallado, obteniendo mejores resultados en el encallado y una mayor sobrevivencia en los bloques que ya se han mencionado.

VI. CONCLUSIONES

El encallado y la promoción de raíces adventicias son procesos anatómicos y fisiológicos que ocurren dentro de las estacas de plantas en general y que responden a una serie de factores que no solo actúan por sí mismos en dichos procesos, sino que interactúan entre sí favoreciendo o inhibiendo el encallado y la formación de raíces adventicias.

La aplicación de estimuladores del enraizamiento en este caso Acido Indol Butírico (101.7 mg/ 100ml) (1017 ppm), es necesaria para favorecer el encallado y la formación de raíces adventicias en estacas de portainjertos de manzano MM-106 y MM-111. Sin embargo, en base a la experiencia actual podríamos decir que dosis más altas podrían ser más efectivas, existen productos comerciales (RADIX 10000 por ejemplo) con una concentración de 10000 ppm de IBA, recomendado para especies de madera dura.

El lesionado posterior a un periodo de almacenaje favorece también el encallado ya que estimula la acumulación de auxinas y carbohidratos, así como

la absorción de auxinas endógenas y la concentración de Etileno en las áreas lesionadas.

El pH influye en la disponibilidad de las auxinas endógenas y exógenas dentro de las estacas, encontrando que un pH neutro a ligeramente ácido es el más adecuado para promover el enraizamiento, esto debido a que el pH celular está cercano a estos valores. Sin embargo, en nuestro experimento podría no ser tan marcada esta situación debido al efecto amortiguador que las células tienen, por lo que tal vez no se pudieron encontrar diferencias significativas en los parámetros evaluados entre los diferentes pH con los que trabajamos. Esto también debido a que como ya lo hemos mencionado existen diversos trabajos donde se evalúa el pH y los resultados difieren totalmente unos de otros, y también por la fase de promoción de encallado y de formación de raíces adventicias en que el pH del IBA es modificado.

El encallado y la formación de raíces adventicias son dos procesos diferentes, por lo que se puede promover el encallado con pH alcalino pero la diferenciación de raíces adventicias será mayor con un pH ácido donde el callo sea formado con paredes celulares más elásticas y flexibles que permiten la formación de raíces y su elongación (crecimiento ácido).

De manera general, el tamaño de callo y el porcentaje de varetas encalladas fueron mejorados a un pH 7 (tratamientos HCl₅, AA₅ y AC₅), la formación de raíces fue mayor a valores de pH de 3 y 6, obtenidos con Acido Ascórbico (tratamientos AA₁ y AA₄)

Al no obtener diferencias significativas en los resultados de los tratamientos con diferentes pH podríamos pensar que no solo se debe alterar el pH de la auxina exógena con que se tratan las estacas, sino se debe tratar de modificar el pH del medio de enraizamiento para que este afecte durante un periodo más largo el proceso de encallado y formación de raíces adventicias.

Respecto a los diferentes ácidos con que se acidificó el pH del IBA no se encontraron diferencias significativas entre estos, por lo que no podríamos recomendar un ácido en particular para realizar algún tratamiento de acidificación, aunque el ácido ascórbico mostro cierta tendencia a ser mejor en el encallado.

Inhibir la oxigenación por un periodo corto estimula el encallado de estacas de portainjertos de manzano MM-106, afectando tanto el tamaño de callo como el número de raíces adventicias. De igual manera aunque sin encontrar diferencias estadísticamente significativas, esta misma tendencia se muestra en parámetros como porcentaje de varetas encalladas, porcentaje de varetas enraizadas y longitud de raíces.

La aireación posterior favorece de igual manera el tamaño de callo y el número de raíces significativamente, y también los demás parámetros, aunque

no significativamente. Esto confirma que el encallado y enraizamiento se debe llevar a cabo en medios de enraizamiento con un porcentaje de contenido de aire adecuado.

La aplicación de una hormona de enraizamiento exógena (Acido Indol Butírico) favorece el encallado y la formación de raíces adventicias.

Sumergir las estacas en agua, independientemente de la duración del tratamiento con y sin aireación favorece el encallado, ya que los testigos sin sumergir fueron los que presentaron resultados más bajos en todos los parámetros.

Los mejores tratamientos fueron aquellos en que se utilizó IBA, se sumergieron las estacas, y se dio un periodo corto de falta de aireación y posteriormente se aireó el agua en que se sumergieron las estacas, +IBA₂ y +IBA₃ (Estacas tratadas con Acido Indol Butírico, sumergidos en agua y con 1 hora sin aireación seguidas por 31 horas con aireación y 2 horas sin aireación seguidas por 30 horas con aireación, respectivamente).

Una profundidad adecuada en la cama de encallado para poner a encallar estacas va de 5 a 20 cm, ya que mayores profundidades, cercanas al fondo de la cama, disminuyen marcadamente el porcentaje de sobrevivencia y el porcentaje de varetas encalladas.

Es recomendable realizar tratamientos con concentraciones mayores de IBA, manipular el pH tanto de la hormona aplicada como del medio de encallado y por último al realizar los trabajos de encallado hacerlo a profundidades entre 5 y 20 cm.

VII. LITERATURA CITADA

- ÅBERG, B. 1957 Auxin Relations in Roots. *A. Rev. Pl. Physiol.*, 8: 153.
- ABELES, F. B., RUBENSTEIN, B. 1964. Regulation of Ethylene Evolution and Leaf Abscission by Auxin. *Plant Physiol.* 39: 963-969.
- ABELES, F. B. 1972. Biosynthesis and Mechanism of Action of Ethylene. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 23: 259-92
- ABELES, F. B. 1973. Ethylene in Plant Biology. N. York Academic Press. 302 pp.
- AHKAMI, A. H.; LISCHEWSKI, S.; HAENSCH, K. T.; PORFIROVA, S.; HOFMANN, J.; ROLLETSCHECK, H.; MELZER, M.; FRANKEN, P.; HAUSE, B.; DRUEGE, U.; HAJIREZAEI, M. 2009. Molecular Physiology of Adventitious Root Formation in *Petunia hybrida* Cuttings: Involvement of Wound Response and Primary Metabolism. *New Phytologist.* 181: 613-625.
- ALBAUM, H. W.; KAISER, S.; NESTLER, H. A. 1937. The Relation of Hydrogen-ion Concentration to the Penetration of 3-Indole Acetic Acid into *Nitella* Cells. *Amer. J. Bot.* 24: 513-518.
- AL-SALEM, MOHAMED M.; KARAM, NABILA S. 2001. Auxin, Wounding, and Propagation Medium Affect Rooting Response of Stem Cuttings of *Arbustus andrachne*. *Hort Sci.* 36(5): 976-978.
- ANDREAE, W.A.; VENIS, M. A.; JURSIĆ, F.; DUMAS, T. 1968. Does Ethylene Mediate Root Growth Inhibition by Indole-3-Acetic? *Plant Physiol.* 43: 1375-1379.
- ASCASÍBAR E., J.; OTERO O., F. 2013. Guía Técnica para el Cultivo Manzano. *Nuevos Horizontes. Gobierno de España.* 12 pp.
- ASCHI-SMITI, S.; CHAIBI, W.; BROUQUISSE, R.; RICARD, B.; SAGLIO, P. 2003. Assessment of Enzyme Induction and Aerenchyma Formation as Mechanisms for Flooding Tolerance in *Trifolium subterraneum* Park. *Ann. Bot.* 91: 195-204.
- ASHIRU, G. A.; CARLSON, R. F. 1967. Some Endogenous Rooting Factors Associated with Rooting of East Malling II and Malling Mertin 106 Apple Clones. *Mich Ag Exp Station Jour. Article.* 4185: 106-113
- AUDUS, L. J.; GUNNING, B. E. S. 1958. Growth Substances in the Roots of *Pisum Sativum*. *Phys Plant.* 11: 685-697
- AUDUS, L. J.; LAHIRI, A. N. 1961. Effects of the Geotropic Stimulation on Growth-Substance Concentrations in *Vicia Faba* Root Tips. *J. Exp. Bot.* 12: 75-84.
- AUDUS, L. J. 1969. The Physiology of Plant Growth and Development. *Ed. M. B. Wilkins.* 205-42. London. McGraw-Hill.
- BALL, N. G. 1969. Plant Physiology: A Treatise. Analysis of Growth: Behavior of Plants and their Organs. *Ed. F. C. Steward,* 5A:119-228. New York: Academic.
- BASTOS. D. C.; SCARPARE FILHO, J. A.; LIBARDI, M. N.; PIO, R. 2009. Effect of Indolebutyric Acid, Etiolation and Basal Injury on

Propagation of Star Fruit by Hardwood Cuttings. *Cienc. Agrotec. (online)*. 33(1): 313-318.

BATTEN, D. J.; MULLINS, M. G. 1978. Ethylene and Adventitious Root Formation in Hypocotyl Segments of Etiolated Mung-bean *Vigna radiata L.* Seedlings. *Planta* 138: 193-197

BEAKBANE, A. B. 1969. Relationships between Structure and Adventitious Rooting. *Proc. Inter. Plant. Prop. Soc.* 19.

BERGMAN, H. F. 1920. The Relation of Aeration to the Growth and Activity of Roots and its Influence on the Ecesis of Plants in Swamps. *Ann. Bot.* 34: 13-33

BLAHOVA, M. 1969. Changes in the Endogenous Gibberellins and Auxins Preceding the Formation of Adventitious Roots on Isolated Epycotils of Pea Plants. *Flora* 160: 493-499.

BLAKELY, L. M.; BLAKELY, R. M. GALLOWAY, C. M. 1986. Effects of Dimethyl Sulfoxide and pH on Indoleacetic Acid-Induced Lateral Root Formation in the Radis Seedling Root. *Plant Physiol.* 80: 790-791.

BLOCH, R. 1943. Polarity in Plants. *Bot Rev* 9(5): 261-297.

BLOM, C. W. P. M.; VOESENEK, L. A. C. J. 1996. Flooding: The Survival Strategies of Plants. *Trends Ecol. Evol.* 11: 290-295.

BLYTHE, E. K.; SIBLEY, J. L.; TILT, K. M.; AND RUTER, J. M. 2007. Methods of Auxin Application in Cutting Propagation: A Review of 70 Years of Scientific Discovery and Commercial Practice. *J. Environ. Hort.* 25(3): 166-185.

BONNETT, H. T. Jr.; TORREY, J. G. 1965. Auxin Transport in *Convolvulus* Roots Cultured in Vitro. *Plant Physiol.* 40: 813-818.

BOSE, T. K.; BASU, S.; BASU, R. N. 1973. Changes in Rooting Factors during the Regeneration of Roots on Cuttings of Easy-and Difficult-to-Root Cultivars of *Bougainvillea* and *Hibiscus*. *Indian J Plant Physiol.* 16: 127-139

BOUILLENNE, R.; WENT, F. W. 1933. Recherches Experimentales sur la Neof ormation des Racines dans le Plantules et les Boutures des Plantes Superieures. *Ann. Gard. Bot. Buitenzorg.* 43: 25-202.

BRADFORD, K. J.; DILLEY, D. R. 1978. Effects of Root Anaerobiosis on Ethylene Production, Epinasty, and Growth of Tomato Plants. *Plant Physiol.* 61: 506-509.

BROWN, M. E.; JACKSON, R. M.; BURLINGHAM, S. K. 1968. Effects Produced on Tomato Plants. *Lycopersicon esculentum*, by Seed or Root Treatment with Gibberellic Acid and Indole-3-yl-acetic Acid. *J. Exp. Bot.* 19: 544-52

BRUCKEL, D. W.; JOHNSON, E. P. 1969. Effects of pH on Rootability of *Thuja occidentalis*. *The Plant Propagator* 15(4): 10-12

BURG, S. P. 1973. Ethylene in Plant Growth. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 591-597.

BURG, S. P.; BURG, E. A. 1968. Ethylene Formation in Pea Seedlings; Its Relation to the Inhibition of Bud Growth Caused by Indole-3-Acetic Acid. *Plant Physiol.* 43: 1069-1074.

- BURG, S. P.; BURG, E. A. 1966. The Interaction between Auxin and Ethylene and its Role in Plant Growth. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 55(2): 262–269.
- BURNETT, D.; AUDUS, L. J. 1964. The use of fluorimetry in the estimation of naturally-occurring indoles in plants. *Phytochemistry* 3: 395-415.
- BURNETT, D.; AUDUS, L. J.; ZINSMEISTER, H. D. 1965. Growth Substances in the Roots of *Vicia faba* L. *Phytochemistry*. 4: 891-904
- BURROWS, W. J.; CARR, D. J. 1969. Effects of Flooding the Root System of Sunflower Plants on the Cytokinin. *Phys Plantarum* 22(6): 1105-1112
- BURSTRÖM, H. G. 1969. Influence of the Tonic Effect of Gravitation and Auxin on Cell Elongation and Polarity in Roots. *Amer. J. Bot.* 56: 679-684.
- BURSTRÖM, H.G.; UHRSTRÖM, I; OLAUSSON, B. 1970. Growth, Turgor, Water Potential and Young's Modulus in Pea Internodes. *Physiol. Plant.* 23:1223-33
- BYERS, J. A.; BREWER, J. W.; DENA, D. W. 1976. Plant Growth Hormones in Pinyon Insect Galls. *Marcellia*. 39: 125-134
- CANE, A. R.; WILKINS, M. B. 1970. Auxin Transport in Roots. VI. Movement of IAA through Different Zones of *Zea* roots. *J. Exp. Bot.* 21: 212-218.
- CARR, D. J., REID, D. M., SKENE, K. G. M. 1964. The Supply of Gibberellins from the Root to the Shoot. *Planta (Berl.)* 69: 382–392.
- CELESTINO, C. 1985. Aspectos Fisiológicos del Enraizamiento: Su Control Hormonal. *En Propagación Vegetativa de Especies Leñosas de Interés Forestal. Curso Monográfico. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Monte. Madrid. Pp: 21-30.*
- CHADWICK, A. V.; BURG, S. P. 1967. An Explanation of the Inhibition of Root Growth caused by Indole-3-Acetic Acid. *Plant Physiol.* 42: 415-20
- CHADWICK, A. V.; BURG, S. P. 1970. Regulation of Root Growth by Auxin Ethylene Interaction. *Plant Physiol.* 45: 192-200.
- CHADWICK, L. C.; SWARTLEY, J. C. 1941. Further Studies on the Effects of Synthetic Growth Substances on Cuttings and Seeds. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 38: 690-694.
- CHAFFEY, N. 2013. Plant Cuttings. *Annals of Botany Company. Oxford University Press.*
- CHANG, W. W. P.; HUANG, L.; SHEN, M.; WEBSTER, C.; BURLINGAME, A. L.; ROBERTS, J. K. M. 2000. Patterns of Protein Synthesis and Tolerance to Anoxia in Roots Tips of Maize Seedlings Acclimated to a Low-oxygen Environment, and Identification of Proteins by Mass Spectrometry. *Plant Physiol.* 122: 295-317.
- CIAMPI, C.; GELLINI, R. 1958. Anatomical Study on the Relationship between Structure and Rooting Capacity in Olive Cuttings. *Nuovo Giorn. Bot. Ital.* 65: 417-24.
- CLARK, D. G.; GUBRIUM, E. K.; BARRETT, J. E.; NELL, T. A.; KLEE, H. J. 1999. Root Formation in Ethylene- insensitive Plants. *Plant Physiology.* 121: 53-60.

- CLELAND, R. 1975. Auxin Induced Hydrogen Ion Excretion: Correlation with Growth, and Control by External pH and Water Stress. *Planta*. 127: 233-242.
- COCKING, E. C. 1961. Properties of Isolated Plant Protoplasts. *Nature* 191, 780-782.
- COLLANDER, R. 1959. Cell Membranes: Their Resistance to Penetration and their Capacity for Transport. In: *Plant Physiology: A Treatise* (Ed. By F. C. Steward). Vol. II, pp. 3-102. Academic Press, New York.
- COOPER, W. C. 1938. Hormones and Root Formation. *Bot. Gaz.* 99(3): 599-614.
- CORMACK, R. G. H. 1965. The Effects of Calcium Ions and pH on the Development of Callus Tissue on Stem Cuttings of Balsam Poplar. *Can Jour. Bot.* 43: 75-83
- CORMACK, R. G. H.; LEMAY, P. L. 1966. A Further Study of Callus Tissue Development on Stem Cuttings of Balsam Poplar. *Can Jour. Bot.* 44: 47-50.
- COSGROVE, D. J. 1998. Cell Wall Loosening by Expansins. *Plant Physiol.* 118: 333-339.
- COUSSON, A.; TOUBART, P.; TRAN THAN VAN, K.; 1989. Control of Morphogenetic Pathways in Thin Cell Layers of Tobacco by pH. *Can. J. Bot.* 67: 650-654.
- CRANE, J. H.; DAVIES, F. S. 1989. Flooding Responses of *Vaccinium* Species. *Hort Science* 24(2): 203-210
- CRAWFORD, R. M. M. 1966. Alcohol Dehydrogenase Activity in Relations to Flooding Tolerance in Roots. *Bot. Dep. The University of St. Andrews*.
- CREELMAN, R. A.; MULLET, J. E. 1995. Jasmonic Acid Distribution and Action in Plants: Regulation during Development and Response to Biotic and Abiotic Stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92: 4114-4119.
- CROCKER, W.; KNIGHT, L. I.; ROSE, R. C. 1913. A Delicate Seedling Test. *Science* 37: 380-381.
- CROCKER, W.; ZIMMERMAN, P.W.; HITCHCOCK, A. E. 1935. Similarities in the Effects of Ethylene and the Plant Auxins. *Contrib. Boyce Thompson Inst.* 7: 231-248.
- CURTIS, O. F. 1918. Stimulation of Root Growth in Cuttings by Treatment with Chemical Compounds. *Cornell University Agricultural Experiment Station.* 14: 71-138.
- DAVIDSON, D.; MacLEOD, R. D. 1966. Changes in mitotic indices in roots of *V. faba*. I. Antagonistic effects of colchicine and IAA. *Chromosome* 18: 421-37
- DAVIDSON, D.; MacLEOD, R. D. 1968. Response of Meristems to Indoleacetic Acid and Colchicine differences between Primordia and Root Meristems. *Bot. Gaz.* 129: 166-171
- DAVIDSON, D.; MacLEOD, R. D.; TAYLOR, J. 1965. An IAA-induced Stimulation of Growth of Roots of *Vicia faba* previously treated with Colchicine. *New Phytol.* 64: 393-398.

DE KLERK G. J.; VAN DER KRIEKEN, W. DE JONG, J. C. 1999. The Formation of Adventitious Roots: New Concepts, New Possibilities. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant* 35: 189-199.

DREW, M. C. 1997. Oxygen Deficiency and Root Metabolism: Injury and Acclimation under Hypoxia and Anoxia. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 205-214.

DREW, M. C.; HE, C. J.; MORGAN, P. W. 2000. Programmed Cell Death and Aerenchyma Formation in Roots. *Trends Plant Sci.* 5: 123-127.

DREW, M. C.; JACKSON, M. B.; GLIFFARD, S. 1979. Ethylene-promoted Adventitious Rooting and Development of Cortical Air Spaces (Aerenchyma) in Roots May be Adaptative Responses to Flooding in *Zea Mays* L. *Planta* 147: 83-88.

EDWARDS, K. L.; SCOTT, T. K. 1974. Rapid Growth Responses of Corn Root Segments: Effect of pH on Elongation. *Planta* 119: 27-37.

EDWARDS, R. A.; THOMAS, M. B. 1979. Influence of Wounding and IBA Treatments on the Rooting of Cuttings of Several Woody Perennial Species. *Plant Propagator* 25(4): 9-12.

EVANS, M. L. 1974. Rapid Responses to Plant Hormones. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 25: 195-223.

EVANS, M. L. 1976. A New Sensitive Root Auxanometer. Preliminary Studies of the Interaction of Auxin and Acid pH in the Regulation of Intact Root Elongation. *Plant Physiol.* 58: 599-601.

FLORES, D.; BRENES, J.; GUZMAN, A. Propagación por Estacas y Estudio Preliminar del Establecimiento in Vitro de Granadilla (*Passiflora ligularis, juss*). *Tecnología en Marcha.* 18 (2): 86-90

FRASER, E. C.; LIEFFERS, V. J.; LANDHÄUSSEER, S. M. 2004. Wounding of Aspen Roots Promotes Suckering. *Can. Jour. Bot.* 82(3): 310-315.

GASPAR, T.; SMITH, D.; THORPE, T. 1977. Arguments Supplémentaires en Faveur d'une Variation Inverse du Niveau Auxinique Endogène au Cours des Deux Premieres Phases de la Rhizogenèse. *C R Acad Sci Paris Série D* 285: 327-330.

GAUTHERET, R. J. 1969. Investigations on the Root Formation in Tissues of *Helianthus tuberosus* Cultured *in vitro*. *Amer. Jour. Bot.* 56(7): 702-17.

GISLEROD, H. R. 1983. Physical Conditions of Propagation Media and their Influence on the Rooting Cuttings. III the Effect of Air Content and Temperature in Different Propagation Media on the Rooting of Cuttings. *Plant and Soil.* 75: 1-14.

GEIGENBERGER, P. 2003. Responses of Plant Metabolism to too Little Oxygen. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6: 247-256.

GRABLE, A. R. 1966. Soil Aeration and Plant Growth. *Adv. Agron.* 18: 870-884.

GREENWOOD, M. S.; HILLMAN, J. R.; SHAW, S.; WILKINS, M. B. 1973. Localization and identification of auxin in roots of *Zea mays*. *Planta (Berl.)*. 109, 369-374.

- GRICHKO, V. P.; GLICK, B. R. 2001. Ethylene and Flooding Stress in Plants. *Plant Physiol. Biochem.* 39: 1-9.
- GUTIERREZ C., B. 1995. Consideraciones sobre la Fisiología y el Estado de Madurez en el Enraizamiento de Estacas de Especies Forestales. *Ciencia e Investigación Forestal. Instituto Forestal. Chile.* 9 (2): 261-276.
- HAISSIG, B. E. 1972. Meristematic Activity during Adventitious Root Primordium Development. Influences of Endogenous Auxin and Applied Gibberellic Acid. *Plant Phys.* 49: 886-92.
- HARBAGE, J. F.; STIMART, D. P. 1996. Effect on pH and 1H-indole-3butyric acid (IBA) on Rooting of Apple Microcuttings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 12(6): 1049-1053.
- HARBAGE, J. F.; STIMART, D. P.; AUER, C. 1998. pH Affects 1H-indole-3butyric Acid Uptake but not Metabolism during the Initiation Phase of Adventitious Root Induction in Apple Microcuttings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 123(1): 6-10.
- HARBAGE, J. F.; STIMART, D. P.; EVERT, R. F. 1993. Anatomy of Adventitious Root Formation in Microcuttings of *Malus Domestica* Borkh. "Gala". *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 118: (5): 680-688.
- HARTMAN, H. T.; KESTER, D.E. 1995. Propagación de Plantas, Principios y Prácticas. Continental. 760 pp.
- HEJNOWICZ, Z. 1961. The Response of Different Parts of the Cell Elongation Zone in Root to External B-indolylacetic Acid. *Acta Soc. Bot. Pol.* 30: 25-42.
- HEJNOWICZ, Z.; ERICKSON, R. O. 1968. Growth Inhibition and Recovery in Roots Following Temporal Treatment with Auxin. *Physiol. Plant.* 21:302-313.
- HOLT, T. A.; MAYNARD, B. K.; JOHNSON, W. A. 1998. Low pH Enhances Rooting of Stem Cuttings of Rhododendron in Subirrigation. *J. Environ. Hort.* 16(1): 4-7.
- HORCHANI, F.; R'BIA O; ASCHI-SMITI. 2011. Oxygen Sensing and Plant Acclimation to Soil Flooding. *Int. Jour. of Agricultural Research.* 6: 227-237.
- HOWARD, B. H. 1975. Improved Rooting of Cuttings by Diffusion of Oxygen through the Rooting Medium. *Jour. Hort. Sci.* 50: 173-74.
- HOWARD, B. H.; HARRISON-MURRAY, R. S.; MACKENZIE, K. A. D. 1984. Rooting Responses to Wounding Winter Cuttings of M.26 Apple Rootstock. *J. Hort. Sci.* 59: 131-139.
- HUSEIN SAID; SHOUSHAN, A. A. 1945. Root-formation on Cuttings of Plants which normally do not Root. *Nature.* 155: 791.
- JACKSON, M. B.; CAMPBELL, D. J. 1976. Waterlogging and Petiole Epinasty in Tomato: the Role of Ethylene and Low Oxygen. *New Phytol.* 76: 21-29.
- JACKSON, M. B. 1985. Ethylene and Responses of Plants to Soil Waterlogging and Submergence. *Annu. Rev. Plant Phys.* 36: 145-174.
- JAMES, D. J. 1983. Adventitious Root Formation "in vitro" in Apple Rootstocks (*Mallus Primula*) II. Uptake and Distribution of Indol-3yl-acetic

- Acid during the Auxin-Sensitive Phase in M.9 and M.26. *Physiol. Plant.* 57: 154-158.
- JONES, R. L.; PHILIPS, I. D. J. 1966. Organs of Gibberellin Synthesis in Light-Grown Sunflower Plants. *Plant Physiol.* 41: 1381-86.
- KATHIRESAN, K.; MOORTY, P.; RAVIKUMAR, S. 1996. A note on the Influence of Salinity and pH on Rooting of *Rhizophora mucronata* Lamk. Seedlings. *Indian Forester.* Vol. 122 (8): 763-764.
- KAWASE, M. 1964. Centrifugation, Rhizocaline, and Rooting in *Salix Alba.* *Phys Plant.* 17: 855-65
- KAWASE, M. 1971. Causes of Centrifugal Root Promotion. *Phys Plant.* 25: 64-70.
- KAWASE, M. 1972. Effect of Flooding on Ethylene Concentration in Horticultural Plants. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 97: 584-588.
- KAWASE, M. 1976. Centrifugation and Rooting of Cuttings. *Rivista dell' Ortoflorofrutticoltura Italiana.* Vol. 2.
- KENDE, H. 1993. Ethylene Biosynthesis. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 283-307.
- KHALID MOUSA AL-ABSI. 2003. Rooting Response of "Nabali" and "Improved Nabali" Olive Cuttings to Indole Butyric Acid Concentration and Collection Season. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 6(24): 2040-243.
- KHOSH-KHUI. M.; TAFAZOLI, E. 1979. Effect of Acid or Base Pretreatment on Auxin Response of Damask Rose Cuttings. Department of Horticulture, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz Iran. *Scientia Horticulturae.* 10(4):395-399.
- KING, A. R.; ARNOLD, M. A.; WEISH, D. F.; WATSOSN, W. T. 2011. Substrates, Wounding, and Growth Regulator Concentrations Alter Adventitious Rooting of Baldcypress Cuttings. *Hort Science.* 46(10):1387-1393.
- KLOK, E. J.; WILSON, I. W.; CHAPMAN, S. C.; EWING, R. M.; et al. 2002. Expression profile Analysis of the Low-oxygen Respons in Arabidopsis Root Cultures. *Plant Cell.* 14: 2481-2494.
- KOMISSAROV, D. A. 1969. Biological Basis for the Propagation of Woody Plants by Cuttings. *Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem.*
- KONINGS, H.; JACKSON, M. B. 1979. A Relationship between Rates of Ethylene Production by Roots and the Promoting or Inhibiting Effects of Exogenous Ethylene and Water on Root Elongation. *Z. Pflanzenphysiol.* 92: 385-397.
- KOSLOWSKI, T. T. 1984. Flooding and Plant Growth. *Ac. Press.* 28/03/1984. 356 pp.
- KOYUNCU, F.; BALTA, F. 2004. Adventitious Root Formation in Leaf-Bud Cuttings of Tea (*Camellia Sinensis* L.). *Pak. J. Bot.* 36(4): 763-768.
- KRAUS, E. J.; N. A. BROWN; and K. C. HAMNER. 1936. Histological Reactions of Bean Plants to Indoleacetic Acid. *Bot. Gaz.* 98: 370-420.

- KRISHNAMOORTHY, H. N. 1970. Promotion of Rooting in Mung Bean Hypocotyl Cuttings with Ethrel, an Ethylene Releasing Compound. *Plant & Cell Phys.* 11 (6): 979-82
- KRISHNAMOORTHY, H. N. 1972. Effect of Ethrel, Auxins and Maleic Hydrazide on the Rooting of Mung Bean Hypocotyl Cuttings. *Z. Pflanzenphysiol.* 66: 373-276.
- KRISHNAMOORTHY, H. N. 1972. Effect of Ethrel on the Rooting of Mung Bean Hypocotyl Cuttings. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* 163: 505-508.
- LACOPPE, J.; GASPAR, T. 1968. Effect of CCC and Amo 1618 on Germination, Growth and on in Vitro and in Vivo IAA-oxidase, Peroxidase and Catalase of Lentil Roots. *Planta* 80: 27-33
- LAHIRI, A. N. 1966. Distribution of Endogenous Growth Regulators within the Geotropically Stimulated Root-Tips. 34(1): 21-26
- LAHIRI, A. N.; AUDUS, L. J. 1960. Growth Substances in the Roots of *Vicia Faba* L. *J. Exp. Bot.* 11:341-350.
- LEE, C. I.; PAUL, J. L.; HACKETT, W. P. 1976. Root Promotion on Stem Cuttings of Several Ornamental Plant Species by Acid or Base Pretreatment. *Proc. Int. Plant Prop. Soc.* 26: 95-99.
- LEMUS S., G. 1987. Propagación por Estaca Leñosa de Portainjertos Clonales de Ciruelo. *Agricultura Técnica (Chile)*. 47 (1): 75-77
- LIEBERMAN, M. 1979. Biosynthesis and action of ethylene. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* 30: 533-591.
- LIU, J. H.; MUKHERJEE, I.; REID, D. M. 1993. Stimulation of Adventitious Rooting in Sunflower (*Helianthus annuus*) by Low pH: Possible Role of Auxin. *Can. Jour. of Botany.* 71(12): 1645-1650.
- LIVINGSTON, B. E.; FREE, E. E. 1917. The Effect of Deficient Soil Oxygen on the Roots of Higher Plants. *Johns Hopkins Univ. Circ. Pp.* 182-185.
- LOACH, K. 1986. Rooting of Cuttings in Relation to the Propagation Medium. *Glasshouse Crops Research Institute Littlehampton, West. Sussex: 472-485*
- LOCKLEAR, J. A.; PREECE, J. E.; COORTS, G.D. 1983. Effects of Media pH and Acid/Base Treatments on the Rooting of *Gypsophila paniculata* Cuttings. *J. Environ. Hort.* 1(4): 83-86.
- LOVEL, H. L.; WHITE, J. 1986. Anatomical Changes during Adventitious Root Formation, p 111-140. In: M. B. Jackson (ed.) *New Root Formation in Plant Cuttings*. Martinus Nijhoff, Dordrecht, Netherlands.
- MACKENZIE, K. A. D.; HOWRAD, B. H.; HARRISON-MURRAY, R. S. 1986. The Anatomical Relationship between Cambial Regeneration and Root Initiation in Wounded Winter Cuttings of the Apple Rootstock M.26. *Annal. Bot.* 58: 649-661.
- MANOS, G. E. 1961. The effects of growth substances on attached and detached root tips of *Pisum sativum* L. *Physiol. Plant.* 14: 697-711.
- MARTIN, H. V.; PILET, P. E. 1987. Effect of pH on IAA Uptake by Maize Root Segments. *Plant Physiol.* 83: 262-264.

- MARONEK, D. M.; STUDEBAKER, D.; OBERLY, B. 1985. Improving Media Aeration Liner and Container Production. *Proceed. of the Int. Plant Prop. Society.* 35: 591-596
- MASON PHARR, D. MOTOMURA, Y. 1989. Anaerobiosis and Carbohydrate Status of the Embryonic Axis of Germinating Cucumber Seeds. *Hort. Sciences* 24(1): 120-122
- MATKIN, O. A. 1965. Physical Properties of Propagation Media. *The Plant Prop.* 11: 18
- MENDIPWEB. Auxins. Ethylene. *Plant-hormones.info.*
- MELLOR, F. C.; STACE-SMITH, R.; 1969. Development of Excised Potato Buds in Nutrient Culture. *Can. J. Bot.* 47: 1615-1621.
- MIASSOD, R.; PENON, P.; TEISSERE, M; RICARD, J.; CECCHINI, J. P. 1970. Contribution a l'etude d'acides ribo- nucleiques a marquage rapide de la racine de lentille. Isolement et Caractérisation, action, d'une hormone sur leur synthèse et sur cell de pèroxydases. *Biochim, Biophys. Acta* 224: 423-440.
- MICHENER, H. D. 1938. The Action of Ethylene on Plant Growth. *Amer. Jour. Of Botany.* 25: 711-720.
- MILBOCKER, D. C.; STEFANI, M. A. 1985. Fog Propagation. An Update. *Virginia Polytechnic Institute and State University Hampton Roads Agricultural Experiment Station, Virginia Beach, Virginia 2345. Proceed of the Int. Plants Prop. Society.* 35: 587-591.
- MOMMER, L.; PEDERSON, O.; VISSER, E. J. W. 2004. Acclimation of a Terrestrial Plant to Submergence Facilitates Gas Exchange under Water. *Plant Cell Environ.* 27: 1281-1287.
- MONDRAGON J. C.; FERNANDEZ M., M. R., PEREZ, G. S. 2001. Propagación de Plantas de Durazno, Chabacano y Manzano. *SAGARPA. INIFAP.*
- MORALES V., P. 2012. Introducción al Análisis de Varianza. *Universidad Pontificia Comillas. Facultad de Ciencias Humanas y Sociales.* 25 pp.
- MORGAN, P. W.; GAUSMAN, H. W. 1965. Effects of Ethylene on Auxin Transport. *Plant Physiol.* 41: 45-52.
- MUDGE, K. W. SWANSON, B. T. 1978. Effect of Etephon, Indole Butiric Acid, and Treatment Solution pH on Rooting and on Ethylene Levels within Mung Bean Cuttings. *Plant Physiol.* 61: 271-273.
- MULLINS, M. G. 1972. Auxin and Ethylene in Adventitious Root Formation in *Phaseolus Aureus (Roxb).* In *Plant Growth Substances 1970.* D. J. Carr Ed. Berlin Springer-Verlag
- MULLINS, M.G.; VINE, J. H. 1992. Endogenous Indole-3-acetic Acid and Abscisic Acid in Apple Microcuttings in Relation to Adventitious Root Formation. *Plant Growth Regulation* 11(1): 63-67
- NAALAMLE AMISSAH, J; PAOLILLO Jr. D. J., BASSUK, N. 2008. Adventitious Root Formation in Stem Cuttings of *Quercus bicolor* and *Quercus macrocarpa* and Its Relationship to Stem Anatomy. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 133(4):479-486.
- NAVEZ, A. E. 1933. Growth-Promoting Substance and Ellongation of Roots. *The Journal of General Physiology.* 733-739

- NOITON, D.; VINE, J. H.; MULLINS, M. G. 1992. Endogenous Indole-3-Acetic Acid and Abscisic Acid in Apple Microcuttings in Relation to Adventitious Root Formation. *Plant Growth Regulation* 11: 63-67.
- NORCINI, J. G.; HEUSER, C. W.; HAMILTON, R. H. 1985. Changes in Free and Conjugated Indole-3-Acetic Acid during Initiation and Early Development of Adventitious Roots in Mung Bean. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110: 528-533.
- OBER, E. S.; SHAR, R. E. 1996. A Microsensor for Direct Measurement of O₂ Partial Pressure within Plants Tissues. *J. Exp. Bot.* 47: 447-457.
- ODHNOFF, C. 1963. The Effect of Gibberellin and Phenylboric Acid on Xylem Differentiation and Epidermal Cell Elongation in Bean Roots. *Physiol. Plant.* 16: 474-83.
- OLSON, D. C.; OETIKER, J. H.; YANG, S. F. 1995. Analysis of LE-ACS3 a 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Synthase Gene Expressed during Flooding in the Roots of Tomato Plants. *J. Biol. Chem.* 270: 14056-14061.
- OKORO, O. O.; GRACE, J. 1976. The Physiology of Rooting Populus Cuttings. *Physiologia Plantarum.* 36 (2): 133-138.
- OVERBEEK, J. Van. Auxins. *Bot. Rev.* 1959.
- PARDOS, J. A. 1985 Fisiología de la Producción de Raíces. *En: Propagación Vegetativa de Especies Leñosas de Interés Forestal. Curso Monográfico. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Monte. Madrid. pp: 13-20.*
- PARDOS, J. A. 2004. Respuestas de las Plantas al Anegamiento del Suelo. *Invest. Agrar: Sist. Recur. For. Fuera de Serie.* 101-107.
- PEREZ F., J. F.; MELIAN C., M. N.; RODRIGUEZ P., J. A. 2001. An Anatomical Study of Adventitious Root Development in Wounded Cuttings of *Leucadendron discolor* and *Leucadendron* "Safari Sunset" (Proteaceae). *Acta Hort.* 545: V Int. Protea Research Symp.
- PHARR, D. M.; MOTOMURA, Y. 1989. Anaerobiosis and Carbohydrate Status of the Embryonic Axis of Germinating Cucumber Seeds. *Hort Science.* 24(1): 120-122.
- PHILLIPS, D. J. 1964. Root-shoot Hormone Relations I. The Importance of an Aerated Root System in the Regulation of Growth Hormone Levels in the Shoot of *Helianthus annuus*. *Ann. Bot.* 28(1): 17-35
- PHILIPS, I. D. J.; JONES, R. L. 1964. Gibberellin-like Activity in Bleeding Sap of Root Systems of *Helianthus annuus* Detected by a New Dwarf Pea Epicotyl Assay and other Methods. *Planta* 63, 269-78.
- PILET, P. E.; BRAUN, R. 1967. The Interrelation of RNA, Auxin and Auxin-oxidases in Lentil Roots. *Physiol. Plant.* 20: 870-878
- PILET, P. E.; CHALVIGNAC, M. A. 1970. Effect on an enzyme system extracted from soil on growth and auxin catabolism of *Lens culinaris* Roots. *Ann. Inst. Pasteur* 118: 349-355
- PURER, O.; MAYAK, S. 1988. Pelargonium Cuttings- Effects of Growth Regulators. *Acta Hort.* 261: 347-354.

- RAUSER, W. E.; HORTON, R. F. 1975. Rapid Effects of Indoleacetic Acid and Ethylene on the Growth of Intact Pea Roots. *Plant Phys.* 55 (3): 443-447.
- RAVEN, J. A. 1975. Transport of Indoleacetic Acid in Plant Cells in Relation to pH and Electrical Potential Gradients, and its Significance for Polar IAA Transport. *New Phytol.* 74: 163-172.
- RAY, P. M. 1969. Communication in Development. *Ed. A. Lang.* 172-205. *Develop. Biol. Suppl.* 3. *New York Academic.*
- RAYLE, D. L. 1973. Auxin-Induced Hydrogen Ion secretion in Avena Coleoptiles and its Implications. *Planta.* 114: 63-73.
- REID, D. M. CROZIER, A. 1969. The Effects of Flooding on the Export of Gibberellins from the Root to the Shoot. *Planta (Berl.)* 89: 376-379.
- RICARD, B.; ASCHI-SMITTI, S.; GHARBI, I.; BROUQUISSE, R. 2006. Cellular and Molecular Mechanisms of Plant Tolerance to Waterlogging. In *Plant-Environment Interactions.* Huang, B. (Ed.). *Taylor and Francis, New York, London.* pp: 177-208.
- RICHEY, M. L. 1985. Importance of Proper Aeration in Softwood Cuttings Propagation Media. *The International Plants Propagator Society. Washington. U. S. A.* 600-603
- ROBBINS, J. A.; REID, M. S.; PAUL, J. L.; ROST, T. L. 1985. The Effect of Ethylene on Adventitious Root Formation in Mung Bean (*Vigna radiate*) Cuttings. *J. Plant Growth Regul* 4:147:157
- RODERICK BOWEN, M.; WILKINS, M. B.; CANE, A. R.; McCORQUODALE, I. 1972. Auxin Transport in Roots. *Planta (Berl.)* 105: 273-292.
- RODRIGUEZ P., J. A.; VERA B., M. C.; DE LEON H., A. M.; ARMAS A., P. C. 2001. Influence of Cutting Position, Wounding, and IBA on the Rooting of *Leucospermum cordifolium* "California Sunshine" Cuttings. *Acta Hort.* 545: V *Int. Protea Research Symp.*
- RODRIGUEZ P., J. A.; VERA B., M. C.; DE LEON H., A. M.; RODRIGUES-HERNANDEZ, I. 2011. Short Communication. Use of Proleptic Shoots in the Cutting Propagation of Protea "Susara". *Spanish Journal of Agricultural Research.* 9 (2).
- RUBERY, P. H.; SHELDRAKE, A. R. 1973. Effect of pH on Surface Charge on Cell Uptake of Auxin. *Nat. New Biol.* 244: 285-288.
- RUDOLPH, N.; ESSER, H. G.; CARMINATI, A.; MORADI, A. B.; HILGER, A.; KARDJILOV, N.; NAGL, S.; OSWALD, S. E. 2011. Dynamic Oxygen Mapping in the Root Zone by Fluorescence Dye Imaging Combined with Neutron Radiography. *J Soils Sediments.*
- SACHS, T. 1968. *Ann. Bot.* 32: 391-399
- SARMIENTO, F. O. 2001. Diccionario de Ecología: Paisajes, Conservación y Desarrollo Sustentable para Latinoamérica. *Ed. Abya-Yala. Quito. CLACS, UGA, CEPEIGE, AMLC.*
- SCALABRELLI, G.; COUVILLION, G. A. 1986. Ethylene Release from Peach Hardwood Cuttings after Treatment for Increasing Rooting. *Acta Hort.* 179: 863-867.

- SCHILMILLER, A. L.; HOWE, G. A. 2005. Systemic Signaling in the Wound Response. *Current Opinion in Plant Biology* 8: 369-377.
- SCOTT, T. K. 1972 Auxins and Roots. *Ann. Rev. Plant. Phys.* 23: 235-58
- SEREK, M.; SISLER, E.C.; REID, M. S. 1994. Novel Gaseous Ethylene Binding Inhibitor Prevents Ethylene Effects in Potting Flowering Plants. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 119: 1230-1233.
- SEREK, M.; SISLER, E.C.; REID, M. S. 1995. Effects of 1-MCP on the Vase Life and Ethylene Response of Cut Flowers. *Plant Growth Regulat.* 19: 93-97.
- SEREK, M.; PRABUCKI, A.; SISLER, E. C.; ANDERSEN, A. S. 1998. Inhibitors of Ethylene Action Effect Final Quality and Rooting of Cuttings before and after Storage. *Hort. Sci.* 33 (1): 153-155.
- SISLER, E. C.; SEREK, M.; DUPILLE, E. 1996. Comparison of Cyclopropene, 1-methylcyclopropene, y 3,3 dimethylcyclopropene as ethylene antagonist in plants. *Plant Growth Regulat.* 18: 169-174.
- SHELDRAKE, A. R. 1971. The Occurrence and the Significance of Auxin in the Substrata of Bryophytes. *New Phytol.* 70 (3): 519-26
- SHELDRAKE, A. R.; NORTHCOTE, D. 1968. The Production of Auxin by Autolysing Tissues. *Planta.* 80: 227-36
- SIMON, S. 1908. Experimentelle Untersuchungen über die Entstehung von Gefäßverbindungen. *Ber. Deut. Bot. Ges.* 26: 364-396
- SKENE, K. G. M. 1967. Gibberellin-like Substances in Root Exudate of *Vitis vinifera*. *Planta* 74, 250-262
- SKOOG, F.; ARMSTRONG, D. J. 1970. Cytokinins. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 21: 359-84.
- SMITH, K. A.; RUSSELL, R. S. 1969. Occurrence of Ethylene, and its Significance, in Aerobic Soil. *Nature.* 222: 769-771.
- SMITH, M. W.; BOURNE, R. D. 1989. Seasonal Effects of Flooding on Greenhouse-grown Seedling Pecan Trees. *Hort. Sci.* 24(1): 83-89.
- SMITH, C. W.; JACOBS, W. P. 1969. The Movement of IAA-C¹⁴ in the Hypocotyl of *Phaseolus vulgaris*. *Amer. J. Bot.* 56(5):492-497.
- SMULDERS, MARINUS J. M.; HORTON, R. F. 1991. Ethylene Promotes Elongation Growth and Auxin Promotes Radial Growth in *Ranunculus sceleratus* Petioles. *Plant Physiol.* 96: 806-811.
- SOFFER, H.; BURGER, D. W. 1988. Effects of Dissolved Oxygen Concentrations in Aero-hydroponics on the Formation and Growth of Adventitious Roots. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 113(2): 218-221.
- STREET, H. E. 1966. The physiology of root growth. *Ann. Rev. Plant. Phys.* 17: 315-44
- STOUTMEYER V. T.; O'ROORKE, F. L. 1945. Rooting of Cuttings from Plants Sprayed with Growth Regulating Substances. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 46: 407-11
- STRYDOM, D. K., HARTMAN, H. T. 1960. Effect of IBA on Respiration and Nitrogen Metabolism in Marianna 2624 Plum Softwood Stem Cuttings. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 76: 124-33.

- STUART, N. W.; MARTH, P. C. 1938. Composition and Rooting of American Holly Cuttings as Affected by Treatment with Indolebutyric Acid. *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.* 35: 839-844.
- TEKLEHAIMANOT, Z.; TOMLINSON, H.; LEMMA, T; REEVES, K. 1996. Vegetative Propagation of *Parkia biglobosa* (Jacq.) Benth., an Undomesticated Fruit Tree from West Africa. *J. Hort. Sci.* 71: 205-215.
- THIMANN, K. V. 1934. Studies on the Growth Hormones of Plants. VI. The Distribution of the Growth Substances in Plants Tissue. *J. Gen. Physiol.* 18: 23-34.
- THIMANN, K. V. 1935. On the Plant Growth Hormone Produced by *Rhizopus suinus*. *Jour. Bio. Chem.* 109: 279-91.
- THIMANN, K. V. 1936. Auxins and the Growth of Roots. *Am. J. Bot.* 23: 561-599.
- THIMANN, K. V.; BEHNKE-ROGERS, J. 1950. The use of Auxins in the Rooting of Woody Cuttings. *Harvard Forest, M. N. Cabot Foundation Petersham, Mass.*
- THIMANN, K. V. KOEPFLI, J. B. 1935. Identity of the Growth-Promoting and Root-Forming Substances of Plants. *Nature.* 135(3403):101-102.
- TICKNOR, R. L.; BOBULA, P. F. 1960. A Comparison of Wounding Methods on the Rooting of Three Rhododendron Varieties. *Jour. Amer. Rhododendron Soc.* 14 (2): 6pp.
- TINGA, J. H. 1952. The Effect of Five Levels of Oxygen on the Rooting of Carnation Cuttings in Tap Water Culture. *M. S. Thesis. Cornell Univ. Ithaca, N. Y.*
- TOGNONI, F.; HALEVY, A. H.; WITTEWER, S. H. 1967. Growth of Bean and Tomato Plants as Affected by Root Absorbed Growth Substances and Atmospheric Carbon Dioxide. *Planta.* 72: 43-52
- TORREY, J. G. 1976. Root Hormones and Plant Growth. *Ann. Rev. Plant. Phys.* 27: 435-59
- TORREY, J. G.; LOOMIS, R. S. 1967. *Am. Jour. Bot.* 47: 713-16
- TORREY, J. G.; LOOMIS, R. S. 1967. Auxin-Cytokinin Control of Secondary Vascular Tissue Formation in Isolated Roots of *Raphanus L.* *Am. J. Bot.* 54: 1098-1106
- TORREY, J. G.; LOOMIS, R. S. 1967. *Phytomorphology* 17: 401-409.
- VAN DONGEN, J. T.; SCHURR, U.; PFISTER, M.; GEIGENBERGER, P. 2003. Phloem Metabolism and Function have to Cope with Low Internal Oxygen. *Plant Physiol.* 131: in press.
- VISSER, E. J. W.; BLOM, C. W. P. M.; VOESENEK, L. A. C. J. 1996. Flooding-induced Adventitious Rooting in *Rumex*: Morphology and Development in an Ecological Perspective. *Acta Bot. Neerl.* 45: 17-28.
- VOESENEK, L. A. C. J.; BLOM, C. W. P. M. 1999. Stimulated Shoot Elongation: A Mechanism of Semi-Aquatic Plants to Avoid Submergence Stress. In: Plant Responses to Environmental Stresses: From Phytohormones to Genome Reorganization. *Lerner, H. R. (Eds.). Marcel Dekker, New York. pp 431-448.*
- VOESENEK, LAURENTIUS A. C.; BANGA, M.; THEIR, R. H.; MUDDE, C. M.; HARREN, F. J. M.; BARENDSE, G. W. M.; BLOM, C. W. P. M.

1993. Submergence-Induced Ethylene Synthesis, Entrapment, and Growth in Two Plant Species with Contrasting Flooding Resistances. *Plant Physiol.* 103: 783-791.
- WADA, S. 1961 Growth Patterns of Rice Coleoptiles Grown on Water and under Water. *Sci. Rep. Tohoku Univ. Ser. 4. 27: 199-207*
- WEIGEL, U.; HORN, W.; HOCK, B. 1984. Endogenous Auxin Levels in Terminal Stem Cuttings of *Chrysanthemum morifolium* During Adventitious Rooting. *Physiol. Plant* 61: 422-429.
- WELLS, J. S. 1955. Plant Propagation Practices. *Macmillan, New York.*
- WELLS, J. S. 1962. Wounding Cuttings as a Commercial Practice. *Proc. Plant. Prop. Soc.* 12: 47-55
- WENT, F. W. 1934. A Test Method of Rhizocaline, the Root Forming Substance. *Proc. Kon. Ned. A Kad. Wet.* 37: 445-55
- WENT, F. W.; THIMANN, K. V. 1937. Phytohormones. *New York: Macmillan.*
- WILLIAMS, R. R.; TAJI, A. M.; BOLTON, J. A. 1985. Specificity and Interaction among Auxins, Light, and pH in Rooting of Australian Woody Species in vitro. *HortScience.* 20: 1052-1053.
- WILSON, P. J. 1994. Contributions of the Stem to Rooting in *Eucalyptus grandis* Hill ex Maid Stem Cuttings. *Jour. of Hort. Sci.* 69 (6): 1009-1017.
- WILSON, P. J.; VAN STADEN, J. 1990. Rhizocaline, Rooting Co-factors, and the Concept of Promoters and Inhibitors of Adventitious Rooting – A Review. *Ann. Bot.* 66(4): 479-490
- WOODRUFFE, P.; ANTHONY, A.; STREET, H. E. 1970. *New Phytol.* 69: 51-63
- WOODSTOCK. L. W.; SKOOG, F. 1960. *Am. Jour. Bot.* 47: 713-16.
- YAMAUCHI, T.; WATANABE, K.; FUKAZAWA, A.; MORI, H.; ABE, F.; KAWAGUCHI, K.; OYANAGI, A.; NAKAZONO, M. 2013. Ethylene and Reactive Oxygen Species are involved in Root Aerenchyma formation and Adaptation of Wheat Seedlings to Oxygen-Deficient Conditions. *Journal of Experimental Botany.* 13 pp.
- YEOMANS, L. M.; AUDUS, L. J. 1964. Auxin Transport in Roots: *Vicia faba*. *Nature.* 204: 4958, 559
- ZHANG, J.; VAN TOAI, T.; HUYNH, L.; PREISZNER, J. 2000. Development of Flooding-Tolerant Arabidopsis Thaliana by Auto Regulated Cytokinin Production. *Molecular Breeding.* 6(2): 135-144.
- ZIMMERMAN, P. W. 1930. Oxygen Requirements for Root Growth of Cuttings in Water. *Amer. Jour. Bot.* 17: 842-61
- ZIMMERMAN, P. W.; HITCHCOCK, A. E. 1933. Initiation and Stimulation of Adventitious Roots Caused by Unsaturated Hydrocarbon Gases. *Contrib. Boyce. Thomp. Inst.* 5: 351-69
- ZIMMERMAN, P. W.; WILCOXON, F. 1935. Several Chemical Growth Substances which Cause Initiation of Roots and other Responses in Plants. *Contrib. Boyc. THomp. Innst.* 7: 209-29
- ZIV MEIRA, D., KOLLER; HALEVY, A. H. 1976. Ethylene and the Geotropic Response of Lateral Branches in Peanuts. *Arachys hypogaea L. Plant and Cell Physiol.* 17: 333-339

ZOBEL, R. W. 1974. *Can. J. Bot.* 52: 735-41
ZOBEL, R. W.; DEL TREDICI, P; TORREY, J. G. 1976. Method for Growing Plants Aeroponically. *Plant Physiology* 57: 344-346
ZUCCONI, F.; PERA, A. 1978. The Influence of Nutrients and pH Effects on Rooting as shown by Mung Bean Cuttings. *Acta Hort.* 79: 57-62

VIII. APENDICE

TABLA A1: Promedio del tamaño del callo en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 1)

TAMAÑO DE CALLO (cm)																
REPETICIONES	TRATAMIENTOS															TESTIGO
	HCI1	HCI2	HCI3	HCI4	HCI5	AC1	AC2	AC3	AC4	AC5	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	
R1	3	3.22	3	3.88	2.77	3.25	3.11	3.5	2.3	3.9	3.11	3.5	2.33	3.5	2	1
R2	4	2.66	3.66	4	2.2	3.2	3.13	2.6	2.3	3.7	2.11	2	3.2	2	3.1	3
R3	1	3.4	2.71	3	3.43	3.14	3	3.88	3.4	2.625	2	2.57	3.44	2.3	3.8	3.166

TABLA A2: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 1 (Tamaño de callo)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
HCI1	3	8	2.666666667	2.333333333
HCI2	3	9.28	3.093333333	0.148933333
HCI3	3	9.37	3.123333333	0.237033333
HCI4	3	10.875	3.625	0.296875
HCI5	3	8.4	2.8	0.3789
AC1	3	9.59	3.196666667	0.003033333
AC2	3	9.235	3.078333333	0.004658333
AC3	3	9.98	3.326666667	0.432133333
AC4	3	8.02	2.673333333	0.396433333
AC5	3	10.225	3.408333333	0.470208333
AA1	3	7.22	2.406666667	0.374033333
AA2	3	8.07	2.69	0.5733
AA3	3	8.97	2.99	0.3411
AA4	3	7.76	2.586666667	0.642533333
AA5	3	8.9	2.966666667	0.823333333
TESTIGO	3	7.166	2.388666667	1.45318533

TABLA A3: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 1 (Tamaño de Callo)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	5.773724479	15	0.384914965	0.69128081	0.77382576	1.991989505
Dentro de los grupos	17.818054	32	0.556814188			
Total	23.59177848	47				

TABLA A4: Promedio del porcentaje de varetas encalladas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 1)

% DE VARETAS ENCALLADAS																
	TRATAMIENTOS															
REPETICIONES	HCI1	HCI2	HCI3	HCI4	HCI5	AC1	AC2	AC3	AC4	AC5	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	TESTIGO
R1	40	90	60	80	90	80	90	100	70	100	90	100	90	100	90	50
R2	100	90	90	100	100	100	80	50	60	100	90	80	100	80	100	70
R3	10	50	70	30	70	70	30	90	100	80	50	70	90	70	100	60

TABLA A5: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 1 (%Varetas Encalladas)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
HCI1	3	150	50	2100
HCI2	3	230	76.66666667	533.3333333
HCI3	3	220	73.33333333	233.3333333
HCI4	3	210	70	1300
HCI5	3	260	86.66666667	233.3333333
AC1	3	250	83.33333333	233.3333333
AC2	3	200	66.66666667	1033.333333
AC3	3	240	80	700
AC4	3	230	76.66666667	433.3333333
AC5	3	280	93.33333333	133.3333333
AA1	3	230	76.66666667	533.3333333
AA2	3	250	83.33333333	233.3333333
AA3	3	280	93.33333333	33.33333333
AA4	3	250	83.33333333	233.3333333
AA5	3	290	96.66666667	33.33333333
TESTIGO	3	180	60	100

TABLA A6: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 1 (% de Varetas Encalladas)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	6931.25	15	462.0833333	0.9127572	0.5592677	1.991989505
Dentro de los grupos	16200	32	506.25			
Total	23131.25	47				

TABLA A7: Promedio del porcentaje de varetas enraizadas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 1)

% VARETAS ENRAIZADAS																
	TRATAMIENTOS															
REPETICIONES	HCI1	HCI2	HCI3	HCI4	HCI5	AC1	AC2	AC3	AC4	AC5	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	TESTIGO
R1	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	40	0	0	30	0	0
R2	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0
R3	0	0	10	0	0	0	0	0	0	10	0	20	0	20	0	0

TABLA A8: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 1 (% Varetas Enraizadas)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
HCI1	3	0	0	0
HCI2	3	0	0	0
HCI3	3	20	6.666666667	33.33333333
HCI4	3	0	0	0
HCI5	3	10	3.333333333	33.33333333
AC1	3	0	0	0
AC2	3	0	0	0
AC3	3	0	0	0
AC4	3	0	0	0
AC5	3	10	3.333333333	33.33333333
AA1	3	40	13.33333333	533.3333333
AA2	3	20	6.666666667	133.3333333
AA3	3	10	3.333333333	33.33333333
AA4	3	50	16.66666667	233.3333333
AA5	3	0	0	0
TESTIGO	3	0	0	0

TABLA A9: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 1 (% Varetas enraizadas)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1200	15	80	1.23870968	0.295354016	1.991989505
Dentro de los grupos	2066.666667	32	64.58333333			
Total	3266.666667	47				

TABLA A10: Promedio del número de raíces en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 1)

NUMERO DE RAICES																
	TRATAMIENTOS															
REPETICIONES	HCI1	HCI2	HCI3	HCI4	HCI5	AC1	AC2	AC3	AC4	AC5	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	TESTIGO
R1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1.75	0	0	3.66	0	0
R2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.5	0	0	0
R3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	3	0	0

TABLA A11: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 1 (Número de Raíces)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
HCI1	3	0	0	0
HCI2	3	0	0	0
HCI3	3	2	0.666666667	0.333333333
HCI4	3	0	0	0
HCI5	3	1	0.333333333	0.333333333
AC1	3	0	0	0
AC2	3	0	0	0
AC3	3	0	0	0
AC4	3	0	0	0
AC5	3	2	0.666666667	1.333333333
AA1	3	1.75	0.583333333	1.020833333
AA2	3	1	0.333333333	0.333333333
AA3	3	3.5	1.166666667	4.083333333
AA4	3	6.66	2.22	3.8052
AA5	3	0	0	0
TESTIGO	3	0	0	0

TABLA A12: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 1 (Número de raíces)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	16.54003125	15	1.10266875	1.56925827	0.13908527	1.991989505
Dentro de los grupos	22.4854	32	0.70266875			
Total	39.02543125	47				

TABLA A13: Longitud promedio de raíces en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 1)

LONGITUD DE RAICES (cm)																
	TRATAMIENTOS															
REPETICIONES	HCI1	HCI2	HCI3	HCI4	HCI5	AC1	AC2	AC3	AC4	AC5	AA1	AA2	AA3	AA4	AA5	TESTIGO
R1	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	2.375	0	0	1.366	0	0
R2	0	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0	0	0
R3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	1.25	0	1.45	0	0

TABLA A14: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 1 (Longitud de Raíces)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
HCI1	3	0	0	0
HCI2	3	0	0	0
HCI3	3	3.5	1.166666667	2.583333333
HCI4	3	0	0	0
HCI5	3	6	2	12
AC1	3	0	0	0
AC2	3	0	0	0
AC3	3	0	0	0
AC4	3	0	0	0
AC5	3	1	0.333333333	0.333333333
AA1	3	2.375	0.791666667	1.88020833
AA2	3	1.25	0.416666667	0.520833333
AA3	3	0.5	0.166666667	0.083333333
AA4	3	2.816	0.938666667	0.662585333
AA5	3	0	0	0
TESTIGO	3	0	0	0

TABLA A15: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 1 (Longitud de raíces)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	15.20706698	15	1.013804465	0.8979853	0.57343178	1.991989505
Dentro de los grupos	36.127254	32	1.128976688			
Total	51.33432098	47				

TABLA A16: Promedio del tamaño de callo en varetas encalladas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 2)

REPETICIONES	TAMAÑO DE CALLO (cm)															
	TRATAMIENTOS															
	TA+IBA1	TA+IBA2	TA+IBA3	TA+IBA4	TA+IBA5	TA+IBA6	TA+IBA7	Testigo+IBA8	TA-IBA1	TA-IBA2	TA-IBA3	TA-IBA4	TA-IBA5	TA-IBA6	TA-IBA7	Testigo-IBA8
R1	1.3	2.9	2.2	2.7	3.11	2.11	2.9	0	1.8	2	2.3	1.4	1.875	3	2.44	1.88
R2	3.6	3.3	3.3	4	1.857	2	3.5	1	2	2.4	1.5	1.2	2.6	2.6	1.71	1.66
R3	1.66	3.7	3.3	1.5	3.6	2.5	3	2.43	1.4	1.8	1.2	2.25	1.875	1.8	2.25	1.75

TABLA A17: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 2 (Tamaño de Callo)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
TA+IBA1	3	6.56	2.18666667	1.53053333
TA+IBA2	3	9.9	3.3	0.16
TA+IBA3	3	8.8	2.93333333	0.40333333
TA+IBA4	3	8.2	2.73333333	1.56333333
TA+IBA5	3	8.567	2.85566667	0.80802633
TA+IBA6	3	6.61	2.20333333	0.06903333
TA+IBA7	3	9.4	3.13333333	0.10333333
Testigo+IBA8	3	3.43	1.14333333	1.49163333
TA-IBA1	3	5.2	1.73333333	0.09333333
TA-IBA2	3	6.2	2.06666667	0.09333333
TA-IBA3	3	5	1.66666667	0.32333333
TA-IBA4	3	4.85	1.61666667	0.31083333
TA-IBA5	3	6.35	2.11666667	0.17520833
TA-IBA6	3	7.4	2.46666667	0.37333333
TA-IBA7	3	6.4	2.13333333	0.14343333
Testigo-IBA8	3	5.29	1.76333333	0.01223333

TABLA A18: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 2 (Tamaño de Callo)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	16.6140495	15	1.1076033	2.31526421	0.02268476	1.99198951
Dentro de los grupos	15.308536	32	0.47839175			
Total	31.9225855	47				

TABLA A19: Prueba LSD Tamaño de callo en varetas encalladas EXPERIMENTO 2

PRUEBA LSD	
Grados de libertad dentro de los grupos	32
Valor crítico t .05(32)	2.037
Promedio de los cuadrados dentro de los grupos	0.47839175
LSD	1.150369186

TABLA A20: Promedio del porcentaje de varetas encalladas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 2)

	% VARETAS ENCALLADAS															
	TRATAMIENTOS															
	TA+IBA1	TA+IBA2	TA+IBA3	TA+IBA4	TA+IBA5	TA+IBA6	TA+IBA7	Testigo+IBA8	TA-IBA1	TA-IBA2	TA-IBA3	TA-IBA4	TA-IBA5	TA-IBA6	TA-IBA7	Testigo-IBA8
REPETICIONES																
R1	100	100	100	100	90	90	100	0	50	50	100	100	80	100	90	90
R2	100	100	100	100	70	60	80	10	90	100	60	40	100	100	70	60
R3	30	100	100	40	100	80	30	70	50	100	50	40	80	50	80	40

TABLA A21: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 2 (% de Varetas Encalladas)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
TA+IBA1	3	230	76.6666667	1633.33333
TA+IBA2	3	300	100	0
TA+IBA3	3	300	100	0
TA+IBA4	3	240	80	1200
TA+IBA5	3	260	86.6666667	233.333333
TA+IBA6	3	230	76.6666667	233.333333
TA+IBA7	3	210	70	1300
Testigo+IBA8	3	80	26.6666667	1433.33333
TA-IBA1	3	190	63.3333333	533.333333
TA-IBA2	3	250	83.3333333	833.333333
TA-IBA3	3	210	70	700
TA-IBA4	3	180	60	1200
TA-IBA5	3	260	86.6666667	133.333333
TA-IBA6	3	250	83.3333333	833.333333
TA-IBA7	3	240	80	100
Testigo-IBA8	3	190	63.3333333	633.333333

TABLA A22: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 2 (% de Varetas encalladas)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	13791.66667	15	919.4444444	1.33737374	0.23770235	1.991989505
Dentro de los grupos	22000	32	687.5			
Total	35791.66667	47				

TABLA A23: Promedio del porcentaje de varetas enraizadas en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 2)

REPETICIONES	% VARETAS ENRAIZADAS															
	TRATAMIENTOS															
	TA+IBA1	TA+IBA2	TA+IBA3	TA+IBA4	TA+IBA5	TA+IBA6	TA+IBA7	Testigo+IBA8	TA-IBA1	TA-IBA2	TA-IBA3	TA-IBA4	TA-IBA5	TA-IBA6	TA-IBA7	Testigo-IBA8
R1	20	20	30	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
R2	0	10	30	20	10	0	30	10	0	20	0	0	0	0	10	0
R3	0	30	10	0	30	20	10	0	0	0	0	0	0	10	0	0

TABLA A24: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 2 (% Varetas Enraizadas)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
TA+IBA1	3	20	6.66666667	133.333333
TA+IBA2	3	60	20	100
TA+IBA3	3	70	23.3333333	133.333333
TA+IBA4	3	20	6.66666667	133.333333
TA+IBA5	3	40	13.3333333	233.333333
TA+IBA6	3	20	6.66666667	133.333333
TA+IBA7	3	40	13.3333333	233.333333
Testigo+IBA8	3	10	3.33333333	33.3333333
TA-IBA1	3	10	3.33333333	33.3333333
TA-IBA2	3	20	6.66666667	133.333333
TA-IBA3	3	0	0	0
TA-IBA4	3	0	0	0
TA-IBA5	3	0	0	0
TA-IBA6	3	10	3.33333333	33.3333333
TA-IBA7	3	10	3.33333333	33.3333333
Testigo-IBA8	3	0	0	0

TABLA A25: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 2 (% de Varetas enraizadas)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	2297.91667	15	153.194444	1.79349593	0.08115548	1.99198951
Dentro de los grupos	2733.33333	32	85.4166667			
Total	5031.25	47				

TABLA A26: Promedio del número de raíces por vareta enraizada en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 2)

REPETICIONES	NUMERO DE RAICES															
	TRATAMIENTOS															
	TA+IBA1	TA+IBA2	TA+IBA3	TA+IBA4	TA+IBA5	TA+IBA6	TA+IBA7	Testigo+IBA8	TA-IBA1	TA-IBA2	TA-IBA3	TA-IBA4	TA-IBA5	TA-IBA6	TA-IBA7	Testigo-IBA8
R1	1.5	2	2	1.5	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
R2	0	1	3	4.5	1	0	1.33	1	0	2	0	0	0	0	1	0
R3	0	3.3	4	0	2	1.5	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0

TABLA A27: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 2 (Número de Raíces)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
TA+IBA1	3	1.5	0.5	0.75
TA+IBA2	3	6.3	2.1	1.33
TA+IBA3	3	9	3	1
TA+IBA4	3	6	2	5.25
TA+IBA5	3	3	1	1
TA+IBA6	3	1.5	0.5	0.75
TA+IBA7	3	3.33	1.11	1.0363
Testigo+IBA8	3	1	0.33333333	0.33333333
TA-IBA1	3	2	0.66666667	1.33333333
TA-IBA2	3	2	0.66666667	1.33333333
TA-IBA3	3	0	0	0
TA-IBA4	3	0	0	0
TA-IBA5	3	0	0	0
TA-IBA6	3	1	0.33333333	0.33333333
TA-IBA7	3	1	0.33333333	0.33333333
Testigo-IBA8	3	0	0	0

TABLA A28: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 2 (Número de Raíces)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	34.5926146	15	2.30617431	2.4960341	0.0146344	1.99198951
Dentro de los grupos	29.5659333	32	0.92393542			
Total	64.1585479	47				

TABLA A29: Prueba LSD Número de raíces en varetas enraizadas EXPERIMENTO 2

PRUEBA LSD	
Grados de libertad dentro de los grupos	32
Valor crítico t .05(32)	2.037
Promedio de los cuadrados dentro de los grupos	0.923935417
LSD	1.598697173

TABLA A30: Promedio de la longitud de raíces en cada una de las 3 repeticiones de los diferentes tratamientos para realizar ANVA (EXPERIMENTO 2)

REPETICIONES	LONGITUD DE RAICES (cm)															
	TRATAMIENTOS															
	TA+IBA1	TA+IBA2	TA+IBA3	TA+IBA4	TA+IBA5	TA+IBA6	TA+IBA7	Testigo+IBA8	TA-IBA1	TA-IBA2	TA-IBA3	TA-IBA4	TA-IBA5	TA-IBA6	TA-IBA7	Testigo-IBA8
R1	0.75	1.55	2.5	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
R2	0	1.5	5	5.25	0.5	0	3.166	1	0	2	0	0	0	0	0.5	0
R3	0	4.433	2.3	0	3.166	3.75	4	0	0	0	0	0	0	4	0	0

TABLA A31: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 2 (Longitud de Raíces)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
TA+IBA1	3	0.75	0.25	0.1875
TA+IBA2	3	7.483	2.494333333	2.81944633
TA+IBA3	3	9.8	3.26666667	2.26333333
TA+IBA4	3	5.25	1.75	9.1875
TA+IBA5	3	3.666	1.222	2.896852
TA+IBA6	3	3.75	1.25	4.6875
TA+IBA7	3	7.166	2.38866667	4.45318533
Testigo+IBA8	3	1	0.333333333	0.33333333
TA-IBA1	3	4	1.333333333	5.33333333
TA-IBA2	3	2	0.66666667	1.33333333
TA-IBA3	3	0	0	0
TA-IBA4	3	0	0	0
TA-IBA5	3	0	0	0
TA-IBA6	3	4	1.333333333	5.33333333
TA-IBA7	3	0.5	0.16666667	0.08333333
Testigo-IBA8	3	0	0	0

TABLA A32: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 2 (Longitud de Raíces)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	47.9858165	15	3.19905443	1.31540122	0.24965231	1.99198951
Dentro de los grupos	77.8239673	32	2.43199898			
Total	125.809784	47				

TABLA A33: Promedio del tamaño de callo en varetas encalladas en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA EXPERIMENTO 3

TAMAÑO DE CALLO			
TRATAMIENTOS			
REPETICIONES	BLOQUE I (5 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE II (20 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE III (35 cm PROFUNDIDAD)
TA+IBA1	1.3	3.6	1.66
TA+IBA2	2.9	3.3	3.7
TA+IBA3	2.2	3.3	3.3
TA+IBA4	2.7	4	1.5
TA+IBA5	3.11	1.857	3.6
TA+IBA6	2.11	2	2.5
TA+IBA7	2.9	3.5	3
Testigo+IBA	0	1	2.43
TA-IBA1	1.8	2	1.4
TA-IBA2	2	2.4	1.8
TA-IBA3	2.3	1.5	1.2
TA-IBA4	1.4	1.2	2.25
TA-IBA5	1.875	2.6	1.875
TA-IBA6	3	2.6	1.8
TA-IBA7	2.44	1.71	2.25
Testigo-IBA	1.88	1.66	1.75
HCI1	3	4	1
HCI2	3.22	2.66	3.4
HCI3	3	3.66	2.71
HCI4	3.875	4	3
HCI5	2.77	2.2	3.43
AC1	3.25	3.2	3.14
AC2	3.11	3.125	3
AC3	3.5	2.6	3.88
AC4	2.29	2.33	3.4
AC5	3.9	3.7	2.625
AA1	3.11	2.11	2
AA2	3.5	2	2.57
AA3	2.33	3.2	3.44
AA4	3.5	2	2.26
AA5	2	3.1	3.8
Testigo	1	3	3.166

TABLA A34: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (Tamaño de Callo)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
BLOQUE I (5 cm)	32	81.27	2.5396875	0.75658216
BLOQUE II (20 cm)	32	85.112	2.65975	0.71643006
BLOQUE III (35 cm)	32	82.836	2.588625	0.6740505

TABLA A35: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 (Tamaño de Callo)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.233265583	2	0.116632792	0.16296607	0.84986211	3.094337433
Dentro de los grupos	66.55894438	93	0.715687574			
Total	66.79220996	95				

TABLA A36: Promedio del % de Varetas Encalladas en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA EXPERIMENTO 3

% VARETAS ENCALLADAS			
TRATAMIENTOS			
REPETICIONES	BLOQUE I (5 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE II (20 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE III (35 cm PROFUNDIDAD)
TA+IBA1	100	100	30
TA+IBA2	100	100	100
TA+IBA3	100	100	100
TA+IBA4	100	100	40
TA+IBA5	90	70	100
TA+IBA6	90	60	80
TA+IBA7	100	80	30
Testigo+IBA	0	10	70
TA-IBA1	50	90	50
TA-IBA2	50	100	100
TA-IBA3	100	60	50
TA-IBA4	100	40	40
TA-IBA5	80	100	80
TA-IBA6	100	100	50
TA-IBA7	90	70	80
Testigo-IBA	90	60	40
HCI1	40	100	10
HCI2	90	90	50
HCI3	60	90	70
HCI4	80	100	30
HCI5	90	100	70
AC1	80	100	70
AC2	90	80	30
AC3	100	50	90
AC4	70	60	100
AC5	100	100	80
AA1	90	90	50
AA2	100	80	70
AA3	90	100	90
AA4	100	80	70
AA5	90	100	100
Testigo	50	70	60

TABLA A37: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (% Varetas Encalladas)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
BLOQUE I (5 cm)	32	2660	83.125	538.306452
BLOQUE II (20 cm)	32	2630	82.1875	488.608871
BLOQUE III (35 cm)	32	2080	65	664.516129

TABLA A38: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 % (Varetas Encalladas)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	6664.58333	2	3332.29167	5.91030455	0.0038343	3.09433743
Dentro de los grupos	52434.375	93	563.810484			
Total	59098.9583	95				

TABLA A39: Prueba LSD % Varetas Encalladas EXPERIMENTO 3

PRUEBA LSD	
Grados de libertad dentro de los grupos	93
Valor crítico t .05(32)	1.988
Promedio de los cuadrados dentro de los grupos	563.810484
LSD	11.80111282

TABLA A40: Promedio del % de Varetas Enraizadas en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA EXPERIMENTO 3

% VARETAS ENRAIZADAS			
TRATAMIENTOS			
REPETICIONES	BLOQUE I (5 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE II (20 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE III (35 cm PROFUNDIDAD)
TA+IBA1	20	0	0
TA+IBA2	20	10	30
TA+IBA3	30	30	10
TA+IBA4	0	20	0
TA+IBA5	0	10	30
TA+IBA6	0	0	20
TA+IBA7	0	30	10
Testigo+IBA	0	10	0
TA-IBA1	10	0	0
TA-IBA2	0	20	0
TA-IBA3	0	0	0
TA-IBA4	0	0	0
TA-IBA5	0	0	0
TA-IBA6	0	0	10
TA-IBA7	0	10	0
Testigo-IBA	0	0	0
HCI1	0	0	0
HCI2	0	0	0
HCI3	0	10	10
HCI4	0	0	0
HCI5	10	0	0
AC1	0	0	0
AC2	0	0	0
AC3	0	0	0
AC4	0	0	0
AC5	0	0	0
AA1	40	0	0
AA2	0	0	0
AA3	0	10	10
AA4	30	0	0
AA5	0	0	0
Testigo	0	0	0

TABLA A41: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (%Varetas Enraizadas)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
BLOQUE I (5 cm)	32	160	5	116.129032
BLOQUE II (20 cm)	32	160	5	77.4193548
BLOQUE III (35 cm)	32	130	4.0625	70.0604839

TABLA A42: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 % (Varetas Enraizadas)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	18.75	2	9.375	0.10669216	0.89891217	3.09433743
Dentro de los grupos	8171.875	93	87.8696237			
Total	8190.625	95				

TABLA A43: Promedio del Número de Raíces en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA EXPERIMENTO 3

NUMERO DE RAICES			
TRATAMIENTOS			
REPETICIONES	BLOQUE I (5 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE II (20 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE III (35 cm PROFUNDIDAD)
TA+IBA1	1.5	0	0
TA+IBA2	2	1	3.33
TA+IBA3	2	3	4
TA+IBA4	0	4.5	0
TA+IBA5	0	1	2
TA+IBA6	0	0	1.5
TA+IBA7	0	1.33	2
Testigo+IBA	0	1	0
TA-IBA1	2	0	0
TA-IBA2	0	2	0
TA-IBA3	0	0	0
TA-IBA4	0	0	0
TA-IBA5	0	0	0
TA-IBA6	0	0	1
TA-IBA7	0	1	0
Testigo-IBA	0	0	0
HCI1	0	0	0
HCI2	0	0	0
HCI3	0	1	1
HCI4	0	0	0
HCI5	1	0	0
AC1	0	0	0
AC2	0	0	0
AC3	0	0	0
AC4	0	0	0
AC5	0	0	2
AA1	1.75	0	0
AA2	0	0	1
AA3	0	3.5	0
AA4	3.66	0	3
AA5	0	0	0
Testigo	0	0	0

TABLA A44: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (Número de Raíces)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
BLOQUE I (5 cm)	32	13.91	0.4346875	0.82779345
BLOQUE II (20 cm)	32	19.33	0.6040625	1.30943135
BLOQUE III (35 cm)	32	20.83	0.6509375	1.28322167

TABLA A45: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 (Número de Raíces)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.82825833	2	0.41412917	0.36322378	0.69641293	3.09433743
Dentro de los grupos	106.033841	93	1.14014882			
Total	106.862099	95				

TABLA A46: Promedio de la Longitud de Raíces en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA. EXPERIMENTO 3

LONGITUD RAICES (cm)			
TRATAMIENTOS			
REPETICIONES	BLOQUE I (5 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE II (20 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE III (35 cm PROFUNDIDAD)
TA+IBA1	0.75	0	0
TA+IBA2	1.55	1.5	4.433
TA+IBA3	2.5	5	2.3
TA+IBA4	0	5.25	0
TA+IBA5	0	0.5	3.166
TA+IBA6	0	0	3.75
TA+IBA7	0	3.166	4
Testigo+IBA	0	1	0
TA-IBA1	4	0	0
TA-IBA2	0	2	0
TA-IBA3	0	0	0
TA-IBA4	0	0	0
TA-IBA5	0	0	0
TA-IBA6	0	0	4
TA-IBA7	0	0.5	0
Testigo-IBA	0	0	0
HCI1	0	0	0
HCI2	0	0	0
HCI3	0	0.5	3
HCI4	0	0	0
HCI5	6	0	0
AC1	0	0	0
AC2	0	0	0
AC3	0	0	0
AC4	0	0	0
AC5	0	0	1
AA1	2.375	0	0
AA2	0	0	1.25
AA3	0	0.5	0
AA4	1.366	0	1.45
AA5	0	0	0
Testigo	0	0	0

TABLA A47: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (Longitud de Raíces)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
BLOQUE I (5 cm)	32	18.541	0.57940625	1.87028418
BLOQUE II (20 cm)	32	19.916	0.622375	1.88518824
BLOQUE III (35 cm)	32	28.349	0.88590625	2.24445125

TABLA A48: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 (Longitud de Raíces)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	1.76253102	2	0.88126551	0.44063836	0.64496212	3.09433743
Dentro de los grupos	185.997634	93	1.99997456			
Total	187.760165	95				

TABLA A49: Promedio del Porcentaje de Supervivencia en cada una de los tratamientos dentro de cada BLOQUE para realizar ANVA. EXPERIMENTO 3

% DE SOBREVIVENCIA			
TRATAMIENTOS			
REPETICIONES	BLOQUE I (5 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE II (20 cm PROFUNDIDAD)	BLOQUE III (35 cm PROFUNDIDAD)
TA+IBA1	20	0	20
TA+IBA2	100	90	40
TA+IBA3	50	40	0
TA+IBA4	10	10	0
TA+IBA5	10	0	0
TA+IBA6	60	0	20
TA+IBA7	10	40	0
Testigo+IBA	0	20	0
TA-IBA1	30	30	0
TA-IBA2	50	20	10
TA-IBA3	80	30	20
TA-IBA4	30	30	0
TA-IBA5	30	20	0
TA-IBA6	80	60	0
TA-IBA7	10	30	0
Testigo-IBA	50	30	20
HCI1	10	0	0
HCI2	20	20	0
HCI3	0	0	0
HCI4	10	70	0
HCI5	10	0	0
AC1	0	20	0
AC2	0	30	40
AC3	50	0	0
AC4	0	0	0
AC5	0	50	10
AA1	0	0	0
AA2	10	0	0
AA3	10	10	0
AA4	0	0	0
AA5	0	0	10
Testigo	0	0	0

TABLA A50: Resumen de promedios y varianzas dentro de los tratamientos EXPERIMENTO 3 (% d e Supervivencia)

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
BLOQUE I (5 cm)	32	740	23.125	764.112903
BLOQUE II (20 cm)	32	650	20.3125	538.608871
BLOQUE III (35 cm)	32	190	5.9375	128.125

TABLA A51: Análisis de Varianza EXPERIMENTO 3 (% de Supervivencia)

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	5439.58333	2	2719.79167	5.70247992	0.00461237	3.09433743
Dentro de los grupos	44356.25	93	476.948925			
Total	49795.8333	95				

TABLA A52: Prueba LSD % Supervivencia EXPERIMENTO 3

PRUEBA LSD	
Grados de libertad dentro de los grupos	93
Valor crítico t .05(32)	1.988
Promedio de los cuadrados dentro de los grupos	476.948925
LSD	10.8540627