

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA

**EFECTO DE LA LUZ ROJA LEJANA EN EL ENRAIZAMIENTO DE
ESTACAS PROVENIENTES DE PLANTAS MADRE DE DOS CLONES DE**
Eucalyptus dunnii

por

Franco Martín CONDE MORALES
Ruben Matías SILVEIRA MOREIRA

**Trabajo final de grado
presentado como uno de los
requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo**

MONTEVIDEO
URUGUAY
2025

Este Trabajo Final de Grado se distribuye bajo licencia

“Creative Commons **Reconocimiento – No Comercial – Sin Obra Derivada**”.



PÁGINA DE APROBACIÓN

Trabajo final de grado aprobado por:

Director/a:

Ing. Agr. (Mag.) Matías Níón

Tribunal:

Ing. Agr. (Mag.) Silvia Ross

Ing. Agr. (PhD.) Jaime González Tálce

Ing. Agr. (Mag.) Franco Schinato

Fecha:

3 de setiembre de 2025

Estudiante:

Franco Martín Conde Morales

Ruben Matías Silveira Moreira

AGRADECIMIENTOS

A nuestros familiares y amigos, pilares fundamentales en este camino. Su esfuerzo, apoyo y dedicación fueron fundamentales a lo largo de la carrera, principalmente en la parte final de este trabajo.

Un agradecimiento especial a nuestro tutor Matías Nión, por su compromiso, colaboración activa, paciencia y por estar siempre dispuesto a ayudarnos en el desarrollo del presente ensayo.

A Silvia Ross, por su rol como Cotutora y su valiosa contribución a este trabajo.

Nuestro agradecimiento se extiende a la empresa UPM por brindar el material vegetal, de igual manera manifestamos nuestra gratitud a los docentes y colaboradores del Departamento Forestal por brindarnos los instrumentos para llevar a cabo este trabajo.

A la Facultad de Agronomía y a cada una de las personas que la integran, cuyo compromiso, labor y dedicación hacen posible el funcionamiento de la institución y el desarrollo académico de sus estudiantes.

A todos los mencionados, les dedicamos este trabajo como muestra de nuestro más profundo agradecimiento.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
LISTA DE FIGURAS	7
RESUMEN	8
ABSTRACT	9
1 INTRODUCCIÓN	10
1.1 HIPÓTESIS.....	11
1.2 OBJETIVO GENERAL.....	11
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	11
2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 GÉNERO <i>Eucalyptus</i> Y SU IMPORTANCIA PRODUCTIVA	12
2.2 CARACTERÍSTICAS DE <i>Eucalyptus dunnii</i>	12
2.3 VIVERO FORESTAL	13
2.4 RAICES ADVENTICIAS	13
2.4.1 Rizogénesis adventicia.....	13
2.4.2 Relación de las auxinas y los carbohidratos con las RA.....	15
2.5 MODULACIÓN AMBIENTAL DE LA RIZOGÉNESIS ADVENTICIA... 16	
2.5.1 Regulación génica con relación al RL.....	19
3 MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1 MATERIAL VEGETAL.....	22
3.2 DEFINICION DE TRATAMIENTOS	23
3.3 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	23
3.4 CUANTIFICACIÓN DE METABOLITOS	25
3.4.1 Carbohidratos solubles.....	25
3.4.2 Almidón	25
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	26
4 RESULTADOS.....	28
4.1 NÚMERO DE BROTES.....	28
4.2 PORCENTAJE DE ENRAIZAMIENTO	29
4.3 PRODUCTIVIDAD GENERAL	30
4.4 PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA	31

4.5	CARBOHIDRATOS SOLUBLES	32
4.6	CONTENIDO DE ALMIDÓN	32
5	DISCUSIÓN	34
5.1	NÚMERO DE BROTES.....	34
5.2	PORCENTAJE DE ENRAIZAMIENTO	35
5.3	PRODUCTIVIDAD GENERAL	37
5.4	SUPERVIVENCIA DE LAS ESTACAS	38
5.5	AZÚCARES SOLUBLES Y ALMIDÓN.....	39
6	CONCLUSIONES	41
7	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
8	ANEXOS	48

LISTA DE FIGURAS

Figura N°	Página
Figura 1 Curva de distribución de la luminaria Full spectrum (espectro completo) según fabricante (400 y 800 nm)	22
Figura 2 Curva de distribución espectral RL según fabricante	23
Figura 3 Distribución de plantas y aleatorización del tratamiento en cámara control con luminaria full spectrum.....	27
Figura 4 Distribución de plantas y aleatorización del tratamiento en cámara control con luminaria roja lejana	27
Figura 5 Número de brotes promedio $\pm$ desvío estándar.....	28
Figura 6 Porcentaje (%) de enraizamiento de estacas $\pm$ desvío estándar	29
Figura 7 Productividad general entre clon y tratamiento (Número de brotes enraizados)	30
Figura 8 Porcentaje de supervivencia entre tratamientos lumínicos FS y RL.....	31
Figura 9 Concentración de carbohidratos solubles (mg g^{-1} PS) $\pm$ desvío estándar, estacas de clon A y B.....	32
Figura 10 Concentración de almidón (mg g^{-1} PS) $\pm$ desvío estándar, estacas de clon A y B	33

RESUMEN

Actualmente en el país son destinadas 1.085.000 hectáreas al uso forestal, y más de la cuarta parte corresponden a la especie *Eucalyptus dunnii*. A pesar de sus buenas características madereras, su rápido crecimiento y su resistencia a las heladas, es recalcitrante al enraizamiento, lo que limita su multiplicación clonal. Este trabajo se propuso analizar cómo la suplementación con luz roja lejana (RL) en plantas madre de *E. dunnii* influye en el enraizamiento de estacas y en la producción de brotes. La rizogénesis adventicia es regulada principalmente por los niveles de auxinas y carbohidratos, que pueden ser modulados por el ambiente de crecimiento de las plantas madre. Estudios recientes han demostrado que la luz en el rango de 700-800 nm, puede favorecer el enraizamiento adventicio. De esta manera se evaluaron cinco variables: número de brotes producidos por planta madre, porcentaje de enraizamiento, productividad general, supervivencia de las estacas y concentración de carbohidratos solubles y almidón en la base de estas. Para ello se cultivaron plantas madre de dos clones *Eucalyptus dunnii* (Clon A y Clon B) de 1,5 años en cámaras de ambiente controlado, de las cuales se extrajeron miniestacas luego de un mes de tratamiento con RL. Los resultados mostraron que la suplementación con RL afecta la productividad general al modificar los niveles de brotación y el porcentaje de enraizamiento. En el Clon B, el porcentaje subió de 26 a 40 %, representando un aumento del 52 %, además, se observó un incremento del 62 % en el número de brotes en dicho clon. Por otro lado, el Clon A no modificó su brotación entre tratamientos y disminuyó en un 55% el porcentaje de enraizamiento. Esto sugiere que el éxito del tratamiento depende específicamente del material genético utilizado. En cuanto a la supervivencia, se vio que en las estacas provenientes de RL era mayor, lo que indica que un mayor tiempo de enraizamiento podría modificar el resultado. El contenido de carbohidratos en la base de la estaca al momento del corte no tuvo relación con la productividad, por lo que dicha variable en estas condiciones no es buen predictor de enraizamiento. Los resultados obtenidos brindan información útil acerca del manejo de la calidad lumínica como herramienta para mejorar el desempeño en especies recalcitrantes en sistemas de propagación vegetativa.

Palabras clave: *Eucalyptus dunnii*, luz roja lejana, recalcitrancia, enraizamiento adventicio

ABSTRACT

Currently, 1,085,000 hectares in the country are allocated to forestry use, with more than a quarter dedicated to the species *Eucalyptus dunnii*. Despite its good wood properties, rapid growth, and frost resistance, it is recalcitrant to rooting, which limits its clonal propagation. This study aimed to analyze how far-red light (FRL) supplementation in mother plants of *E. dunnii* influences the rooting of cuttings and shoot production. Adventitious rhizogenesis is primarily regulated by auxin and carbohydrate levels, which can be modulated by the mother plants growing environment. Recent studies have shown that light in the 700-800 nm range can promote adventitious rooting. Five variables were evaluated: the number of shoots produced per mother plant, rooting percentage, overall productivity, cutting survival and soluble carbohydrate and starch content at the base of the cuttings. For this purpose, 1.5-years-old mother plants of two *Eucalyptus dunnii* clones (Clone A and B) were grown in controlled-environment chambers, from which mini-cuttings were taken after one month of RL treatment. The results showed that RL supplementation affects overall productivity by modifying shoot production and rooting percentage. In clone B, the rooting percentage increased from 26% to 40%, representing a 52% increase, along with a 62% rise in shoot number. In contrast, Clone A showed no change in shoot production between treatments and experienced a 55% decrease in rooting percentage. This suggests that the treatment's success depends specifically on the genetic material used. Regarding survival, cuttings from RL treated plants had higher survival rates, indicating that a longer rooting period could influence the outcome. The carbohydrate content at the base of the cuttings at the time of cutting was not related to productivity, meaning this variable is not a reliable predictor of rooting under these conditions. The findings provide useful insights into managing light quality as a tool to improve performance in recalcitrant species within vegetative propagation systems.

Keywords: *Eucalyptus dunnii*, far-red light, recalcitrance, adventitious rooting

1 INTRODUCCIÓN

Eucalyptus es el género forestal más plantado en el país, por su tasa de crecimiento, producción de biomasa y buena adaptabilidad a sitios de prioridad forestal. *Eucalyptus dunnii* es actualmente la especie con mayor estimación de superficie efectiva plantada en Uruguay. La principal forma de propagación en la industria forestal es a través de clones derivados de miniestacas (Boscana, 2023; Martín, 2024). De esta forma se aprovecha las ganancias genéticas de la población originaria de los clones, mejorando la uniformidad del desarrollo, preservando la identidad y la alta calidad de los genotipos plantados (Grattapaglia et al., 2012; Grattapaglia & Kirst, 2008). Sin embargo, muchas de las especies del género *Eucalyptus* utilizadas para plantaciones son generalmente recalcitrantes, como es el caso de *E. dunnii*, siendo la formación de raíces adventicias el principal obstáculo para la clonación (Park et al., 2016; Trueman et al., 2013).

El éxito de la propagación clonal depende del proceso de rizogénesis adventicia, el cual está determinado por varios factores entre los que se remarcen los niveles de auxinas y carbohidratos. La acción de estos metabolitos y sus interacciones pueden ser moduladas modificando las condiciones ambientales de la planta madre durante la etapa de propagación, pudiendo mejorar la capacidad de las estacas para la generación de raíces (Li et al., 2009; Pacurar et al., 2014; Steffens & Rasmussen, 2016).

Estudios en eucaliptos recalcitrantes al enraizamiento como *Eucalyptus globulus* realizados por Ruedell et al. (2015) y De Almeida et al. (2017) dejan en evidencia los beneficios para el enraizamiento al utilizar RL. Por otro lado, en una revisión sobre la calidad de la luz y el enraizamiento adventicio, Christiaens et al. (2016) también destacan que utilizar RL complementando a la luz de espectro completo, estimula el enraizamiento adventicio en especies ornamentales in vivo. De esta manera, modificando el ambiente lumínico de la planta madre se puede aumentar los niveles de enraizamiento de especies y clones.

La propagación clonal de especies forestales como *Eucalyptus dunnii* es fundamental para la producción de plantaciones forestales, pero está limitada por los bajos índices de enraizamiento. Particularmente, se investigará el efecto de la exposición de las plantas madre de dos clones de *E. dunnii* de enraizamiento contrastante a la luz roja lejana. La hipótesis expresa que esta exposición modula la concentración endógena de auxinas y

carbohidratos, que son clave en la iniciación y desarrollo radicular. Los resultados de este estudio podrían contribuir a generar recomendaciones de propagación más eficientes para *E. dunnii*.

1.1 HIPÓTESIS

La calidad lumínica, específicamente el enriquecimiento con luz roja lejana en plantas madre de dos clones de *E. dunnii* de enraizamiento contrastante, genera cambios metabólicos que repercuten en el potencial de enraizamiento de sus brotes.

La exposición a luz roja lejana (RL) aumenta el nivel de carbohidratos en la base de las estacas, lo que promueve el desarrollo de RA.

Suplementar las plantas madre con luz roja lejana (RL) genera respuestas morfogénicas dentro de los clones que son beneficiosas para el enraizamiento de miniestacas.

1.2 OBJETIVO GENERAL

Estudiar el efecto de la exposición de plantas madre de dos clones de *E. dunnii* a luz roja lejana, en el enraizamiento de miniestacas y el contenido inicial de carbohidratos

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Cuantificar el número de brotes obtenidos para cada combinación de clon por condición lumínica.
- b) Evaluar el porcentaje de enraizamiento y la supervivencia de estacas para cada clon en cada una de las condiciones lumínicas.
- c) Evaluar cómo varía el contenido de carbohidratos, en relación con el ambiente lumínico de crecimiento y su impacto en la supervivencia y el porcentaje de enraizamiento

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 GÉNERO *Eucalyptus* Y SU IMPORTANCIA PRODUCTIVA

La superficie forestal mundial es de 4.060 millones de hectáreas (ha), de los cuales 131 millones de hectáreas son bosques plantados, concentrándose el 99% en América del Sur (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020). Según la Dirección General Forestal (2024), la superficie efectiva de bosque plantado en Uruguay alcanza las 1.161.851 hectáreas, lo que representa el 58% considerando el bosque plantado y el nativo. La mayor concentración de área plantada se encuentra en los departamentos de Paysandú, Río Negro, Rivera y Tacuarembó (Martín, 2024). Entre las especies más cultivadas se encuentran *Eucalyptus dunnii* y el *Eucalyptus grandis*, incluyendo híbridos y clones, que son fundamentales para la producción de pulpa y aplicaciones estructurales de la madera (Martín, 2024).

Los *Eucalyptus* integran un género de plantas leñosas de follaje persistente, pertenecientes a la familia Myrtaceae. La mayoría de sus especies son originarias de Australia. Se caracterizan por su rápido crecimiento; presentan hojas perennes, lanceoladas y aromáticas. Sus flores recubiertas por opérculos están formadas por numerosos estambres que les dan un aspecto esponjoso; sus frutos son cápsulas loculicidas leñosas. Además, poseen un tronco recto con corteza lisa y descascarada o rugosa, dependiendo de la especie (Brussa, 1994; Leicach et al., 2012).

Su capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales y edáficas les ha proporcionado una amplia zona de distribución; así algunas especies se encuentran en diferentes latitudes, mientras que otras se encuentran en áreas más restringidas (Brussa, 1994). Esta aptitud, sumado a su rápida tasa de crecimiento los hace ideales para reforestación y plantaciones comerciales (Brooker & Kleinig, 2006). La resistencia y versatilidad de su madera le aumenta su valor, lo que le permite ser utilizada en la elaboración de una amplia variedad de productos (Coppen, 2002).

2.2 CARACTERÍSTICAS DE *Eucalyptus dunnii*

Eucalyptus dunnii es originario del centro este de Australia, en donde está expuesto a temperaturas bajas entre 2-5 °C (media del mes más frío), con hasta 60 heladas en el año y precipitaciones anuales de 1000 a 1600 mm, con una tendencia a mayor

concentración en verano (Boland et al., 2006). Su origen les confiere la tolerancia necesaria frente a las heladas, lo que lo vuelve adecuado para ser cultivado en nuestro país (*Informe público*, 2023). Es una de las especies más productivas evaluadas en el país, con una mayor resistencia al frío que *E. grandis*. Su madera, caracterizada por altos niveles de celulosa y bajo contenido de lignina, es una alternativa ideal para la fabricación de pulpa de celulosa (Balmelli & Resquin, 2006).

Uno de los principales problemas de esta especie es las dificultades para la producción clonal. Su bajo nivel de enraizamiento (entre 2-22%) indica que puede ser clasificada como recalcitrante para desarrollar raíces adventicias (RA) (Baker & Walker, 2006; Trueman et al., 2013). Esto representa un problema dado que implica un aumento considerable de los costos de producción e infraestructura para la producción de plantines mediante propagación por estacas o miniestacas, a lo que se le suma las dificultades para la producción de semillas.

2.3 VIVERO FORESTAL

Un vivero consiste en una superficie reducida de terreno, en la que se producen plantines a partir de semillas, estacas, esquejes, y se cuidan hasta que se alcance el desarrollo conveniente para ser plantados en un lugar definitivo (González Pino & Chifflet de Garat, 1980). Actualmente, uno de los métodos más empleados en los viveros forestales es la propagación mediante miniestacas de plantas madre (De Assis et al., 2004). Esta forma de propagación clonal es muy útil para replicar genéticamente árboles con características de interés, como resistencia a plagas o que presenten rápido crecimiento (Ayala et al., 2020). Estas plantas se colocan en canteros con arena en condiciones ambientales controladas. Luego se forman miniestacas con los brotes cosechados y se exponen a un ambiente de alta humedad para favorecer la emisión de raíces (De Assis et al., 2004), para posteriormente pasar por un proceso de crecimiento y rustificación que permita su plantación a campo.

2.4 RAICES ADVENTICIAS

2.4.1 Rizogénesis adventicia

Las raíces adventicias (RA) son raíces postembrionarias que derivan de tallos, hojas o tejidos no policíclicos (Li et al., 2009). Dentro de las formas de propagación

vegetativa, la formación de raíces adventicias es de gran importancia. La generación de RA permitió a las plantas adaptarse a cambios ambientales como inundaciones, deficiencia de nutrientes y daños mecánicos (Steffens & Rasmussen, 2016). Este proceso metabólico complejo presenta diferentes etapas influenciadas por múltiples factores internos, así como externos (De Almeida et al., 2017). Son varias las pruebas que respaldan que el desarrollo de raíces adventicias se da en fases fisiológicas sucesivas, cada una con necesidades específicas que operan de manera conjunta. Las etapas más reconocidas de este proceso son la inducción, la iniciación y la expresión o elongación (Da Costa et al., 2013).

La fase de inducción implica una reprogramación celular sin la ocurrencia de divisiones celulares visibles. En el momento del corte ocurre un desbalance en las especies reactivas del oxígeno y un aumento de los niveles de auxinas en las células cercanas, al mismo tiempo que las hormonas antagonistas citoquininas y estrigolactonas disminuyen en concentración (Da Costa et al., 2013). Otros compuestos que también se ven incrementados son los polifenoles, el óxido nítrico y sulfuro de hidrógeno entre otros. Posteriormente, las auxinas producidas en el ápice se acumulan en la base del esqueje (influidas por polifenoles que evitan su degradación) para promover la iniciación radicular. En conjunto auxinas, óxido nítrico y peróxido de hidrógeno (H_2O_2) aumentan los carbohidratos que también son un motor de este proceso. Finalmente, mediante la acción de las auxinas se determinan los tejidos y las células parenquimáticas que recuperarán la competencia celular (Steffens & Rasmussen, 2016).

En la etapa de iniciación, comienzan las divisiones celulares en células poco diferenciadas próximas a los tejidos de conducción. Durante esta fase, la biosíntesis de auxinas y su transporte hacia el sitio específico disminuyen progresivamente, mientras que los compuestos responsables de su degradación se activan y aumentan su actividad, reduciendo gradualmente la concentración de la hormona. Una vez que el meristema se ha formado, inicia su crecimiento (Da Costa et al., 2013).

En el proceso de elongación, se forma una conexión vascular entre los tejidos vasculares de la estaca y el meristema en crecimiento. El primordio se desarrollará hasta la formación y emergencia de la raíz. El etileno, actúa como hormona del desarrollo y regulador de la senescencia celular al inducir la muerte de las células que rodean el meristema, lo que permite la salida del nuevo primordio radicular (Da Costa et al., 2013).

2.4.2 Relación de las auxinas y los carbohidratos con las RA

La fitohormona que tiene una mayor influencia en la formación y regulación del crecimiento de las RA es la auxina. Esta interactúa con componentes como azúcares, minerales, enzimas y metabolitos, los cuales funcionan como mediadores en la señalización y transducción de señales para la formación de las RA (Li et al., 2009).

La regulación cruzada que existe entre las auxinas con otras hormonas y moléculas de señalización afecta directa o indirectamente la formación de raíces adventicias. La interacción de diversas fitohormonas (como citoquininas, giberelinas, ácido abscísico, etileno, estrigolactonas, brasinoesteroides, jasmonatos) y moléculas de señalización (como el ácido salicílico y el óxido nítrico) influyen directamente en la formación de RA e indirectamente regulando la biosíntesis, el transporte y la señalización de las auxinas (Pacurar et al., 2014). Las auxinas regulan prácticamente la totalidad de los aspectos del desarrollo de la planta, ya que a diferentes niveles ejerce una acción decisiva en procesos celulares básicos hasta fenómenos macroscópicos que en definitiva determinan una mayor densidad de RA (Sauer et al., 2013).

La relación de los carbohidratos con las rizogénesis adventicia se puede evidenciar en un trabajo realizado por Ruedell et al. (2013) en especies de *E. globulus*, donde se evaluó el efecto del enriquecimiento con radiación blanca (control), azul, roja y roja lejana, sobre esquejes y planta madre. Se observaron mayores contenidos de almidón en la base de las micro estacas, lo que se relacionó con una mejor competencia de enraizamiento luego de la exposición de las plantas madre a luz roja lejana.

Los carbohidratos son importantes para la construcción metabólica y energética de las raíces adventicias. Para que el proceso de formación de RA sea exitoso, los carbohidratos deben proporcionar fuentes de esqueleto de carbono y energía, además de actuar como moléculas de señalización que interactúan con fitohormonas para promover varios procesos de crecimiento y desarrollo en las plantas (Corrêa et al., 2005).

El rol de los carbohidratos en el enraizamiento adventicio puede ser de forma directa por su vía de señalización o indirecta activando la biosíntesis o el transporte de fitohormonas. En un estudio realizado por Takahashi et al. (2003) en *Arabidopsis* se demostró la influencia de la glucosa, sacarosa y fructosa en la estimación de la inducción

de raíces adventicias, comprobando la importancia del nivel de carbohidratos en las estacas.

2.5 MODULACIÓN AMBIENTAL DE LA RIZOGÉNESIS ADVENTICIA

Como se mencionó anteriormente, la rizogénesis adventicia depende tanto de factores endógenos (niveles fitohormonales y de carbohidratos) como de factores ambientales (tales como la luz, los nutrientes y la temperatura). El ambiente y su influencia en el estado fisiológico de la planta madre, juega un rol fundamental en la capacidad de enraizamiento de la estaca (Menegolla et al., 2024). Sin embargo, los eventos moleculares precisos involucrados en este proceso son aún poco conocidos (Pacurar et al., 2014).

La radiación actúa como la señal reguladora principal en el desarrollo de las plantas, esta es captada por las mismas y reaccionan de varias maneras, siendo una de ellas el desarrollo de RA (Møller et al., 2002). Dentro del espectro lumínico, según el estudio realizado por Ruedell et al. (2015), el rojo lejano es el que tiene mayor influencia en el enraizamiento. Se evidenció que la exposición de las plantas madre a RL, no solamente mejoran la competencia para el enraizamiento de esquejes (sin la adición de auxinas exógenas), sino que además aumenta la proporción de carbohidratos en la base de estos. Dando como resultado un incremento en el porcentaje de raíces adventicias formadas. En este trabajo determinaron que el aumento del espectro rojo lejano (730 nm) en plantas madre de *Eucalyptus globulus* cultivadas in vitro tuvo influencia significativa en la capacidad de enraizamiento, principalmente debido a la interacción de este espectro de luz con el metabolismo de auxinas y carbohidratos.

Las señales ambientales generan efectos fisiológicos en la planta madre, y esto a su vez repercute en un aumento en el porcentaje de enraizamiento de la estaca. La luz tiene especial influencia en la distribución y disponibilidad de carbohidratos y auxinas, la temperatura genera un aumento en el metabolismo de la misma hormona, el agua promueve la actividad metabólica general; y los macro y micronutrientes influyen directamente en los componentes celulares, el metabolismo energético y la ramificación de las raíces (De Almeida et al., 2017). Manteniendo adecuadas las condiciones de la planta madre, se aumenta la capacidad de la estaca para generar raíces en ese nuevo estado de estrés al que está expuesta.

Vilasboa et al. (2022) evaluaron los efectos de la modulación ambiental en tres clones de *Eucalyptus* bajo temperaturas promedio de 24°C en el mes de verano. Los materiales presentaban distintas capacidades de enraizamiento y se sometieron a tres tratamientos que consistieron en la utilización de cobertura de mini-túneles con mallas de sombra y enriquecimiento de luz roja lejana generada con filtros plásticos para lograr relaciones R:RL menores a 0,1. Algunos de sus resultados indicaron que el enraizamiento varía según la estación del año, obteniéndose máximos rendimientos en primavera con las plantas madres tratadas en mini-túneles, mientras que el uso de luz roja lejana no presentó los efectos esperados, en comparación con los otros tratamientos. Además, los autores no encontraron diferencias en la brotación al comparar dos clones de *E. dunnii* entre el tratamiento control y el enriquecido con RL. Otro experimento realizado por Konzen et al. (2021), evaluó el número de brotes por metro cuadrado en tres clones de especies distintas (Clones A y B: *E. benthamii* y Clon C: *E. dunnii*), observando un mayor promedio de brotación en tratamientos con suplementación en RL en comparación con aquellos con luz R. Esto comprueba que la suplementación de clones de *E. dunnii* y *E. benthamii* con baja relación R/RL, incrementó consistentemente la productividad en miniestacas.

La luz juega un papel fundamental no solo en la redistribución de auxinas, sino que también en la mejora de la eficiencia fotosintética, optimizando la captura de luz y la partición de los fotoasimilados, teniendo estos un rol clave para un adecuado desarrollo radicular. Este fenómeno está explicado por la activación concentrada de genes relacionados con la biosíntesis y transporte de auxinas y con el metabolismo de los carbohidratos, lo que optimiza la translocación de estos hacia las zonas basales de los esquejes (Sauer et al., 2013). También, se observó un incremento en la expresión de genes relacionados con la síntesis de almidón y hexosas, que proporcionan la energía que se necesita para el crecimiento de las raíces adventicias (Ruedell et al., 2013). Estos autores además observaron que el RL generó porcentajes mayores de enraizamiento cuando se trataron clones recalcitrantes de *E. globulus* en comparación con especies más fáciles de enraizar como *E. grandis*, en las cuales no se observaron efectos significativos. Esto podría estar indicando que la mayor eficiencia con RL se obtiene en genotipos recalcitrantes y en los que no lo son, sus efectos podrían no ser diferenciables. Estos resultados de alguna manera sugieren que el rojo lejano puede ser verdaderamente útil en la clonación de genotipos recalcitrantes al enraizamiento.

En otro trabajo se concluyó que el uso de luz en la longitud de onda del rojo lejano en plantas madre permite una mejor acumulación de carbohidratos en la base de los esquejes, lo que combinado con la activación de los mecanismos moleculares asociados al transporte de auxinas facilita la rizogénesis adventicia. Este proceso está vinculado con el balance entre el metabolismo de auxinas y carbohidratos, y la interacción entre estos elementos es fundamental para superar las barreras de los problemas en especies recalcitrantes, como por ejemplo el *E. globulus* (Ruedell et al., 2015).

Van Dalfsen y Slingerland (2012) en una investigación para comprender el mejor efecto de la luz en el enraizamiento de varios cultivos, se enfocaron en específico en la fase de iniciación del enraizamiento, utilizando estacas de cuatro especies ornamentales in vivo. En el trabajo se observó que los tratamientos con la aplicación combinada de luz full spectrum (FS) y luz roja lejana (RL) mejoraron la velocidad de enraizamiento en *Platycladus*, aumentando también el porcentaje de éxito en un 10%. En *Rhododendro* ocurrió algo similar, reduciendo a la mitad el tiempo de enraizamiento y observándose un rápido desarrollo de los brotes axilares. En *Leucotoe* también mejoró considerablemente la aparición de raíces en los tratamientos con luz azul y suplementación con RL, y además se logró un enraizamiento más uniforme en el tratamiento con FS+RL.

En otro trabajo en el que se utilizaron diodos que emiten cuatro tipos de luz (azul en el espectro de 450 nm, FS en el rango de 640 nm y 660 nm, rojo lejano en la banda espectral de 735 nm) en plantas de crisantemo in vitro, se demostró la influencia del RL en el enraizamiento. En este experimento se observó el impacto del aumento de la densidad de flujo de fotones del componente RL en el crecimiento de las plantas, observándose un aumento en el número de raíces y en la tasa de enraizamiento con aumentos de la fracción RL (Kurilčik et al., 2008).

En otras palabras, la utilización del rojo lejano surge como una interesante herramienta con potencial para mejorar el enraizamiento adventicio, principalmente en especies recalcitrantes, donde se pueden ajustar de manera más efectiva los procesos fisiológicos que promueven el desarrollo de estas raíces. La calidad de la luz al influir en rutas clave del metabolismo hormonal y energético, optimizan las condiciones para la propagación clonal, pudiéndose de esta manera alcanzar buenos resultados en especies de interés comercial como los eucaliptos (De Almeida et al., 2017).

2.5.1 Regulación génica con relación al RL

El enriquecimiento con luz roja lejana ha demostrado mejorar considerablemente la formación de raíces adventicias (RA). En algunos estudios específicos, como el mencionado anteriormente de Ruedell et al. (2013), se ha observado que el tratamiento con esta luz en microesquejes de plantas madre de *Eucalyptus globulus* (siendo esta una especie recalcitrante) produce aumentos en el porcentaje de enraizamiento, constituyendo una de las razones posibles el incremento de azúcares en la zona radicular basal, a través de la expresión de diversos genes.

El tratamiento con luz roja lejana en microesquejes de plantas madre de *Eucalyptus* en ciertos casos aumenta el enraizamiento debido a la mayor acumulación de auxinas y carbohidratos (almidón). Este efecto podría estar relacionado con la activación de programas de expresión genética que coordinan procesos metabólicos, incrementando la síntesis y el transporte de estos compuestos esenciales en las diferentes etapas de formación de raíces adventicias (De Almeida et al., 2017).

El trabajo de Ruedell et al. (2015) refleja la influencia específica del RL, donde el aumento de luz roja lejana en plantas madre in vitro lograba incrementar la expresión de numerosos genes del metabolismo de auxinas y carbohidratos. Asimismo, un aumento en el contenido de carbohidratos en la herida de los esquejes se asocia con mejoras en el enraizamiento. Se observó un aumento en los perfiles de expresión relativa a los genes de biosíntesis de auxinas (*YUC3*) en plantas madre y en estacas (segundo día en la fase de inducción); y genes con relación a su transporte (*PIN1*, *PIN2*) durante la fase de inducción, lo que podría incrementar el contenido de auxinas favorecer el enraizamiento. En los microesquejes provenientes del tratamiento con luz roja lejana se observó una mayor expresión de ambos transportadores en el segundo día de inducción de raíces, traduciéndose como un posible incremento de auxina en la base del tallo. Esto demuestra como la luz RL podría modular la capacidad de enraizamiento, resultado de un mejor transporte de esta hormona biosintetizada hacia la base del tallo.

En otro experimento, la exposición a luz RL aumentó significativamente los niveles de transcripción del gen *AGO1* a los dos días de inducción de las raíces. Este cumple un rol importante en la integración entre la señalización de auxinas e influye en

los procesos de desarrollo de raíces; además, regula genes que están involucrados en la respuesta de auxinas (Gutiérrez et al., 2008).

En cuanto a los genes que tienen relación con el metabolismo de los carbohidratos durante el enraizamiento adventicio, Ruedell et al. (2015) utilizaron uno de los genes de mayor homología en relación con el gen *SUS1* en *Arabidopsis*, en microesquejes que fueron enriquecidos con luz roja lejana. Se observó una expresión notoria de dicho gen en los días 5 y 10 de la fase formación, este tratamiento con RL en plantas madre produjo como resultado un incremento de la transcripción de este gen (*SUS1*) comparándolo con el tratamiento de luz R.

La glucosa y sus compuestos intermedios fosforilados pueden ser capturados por el amiloplasto para contribuir a la producción de almidón. En este proceso, una de las enzimas clave es la almidón sintasa (SS3) (Kotting et al., 2010), necesaria para la síntesis de almidón en *Arabidopsis*. En los ensayos realizados, las plantas madre expuestas a luz roja lejana (RL) mostraron una mayor expresión de SS3 en comparación con aquellas bajo luz de espectro completo, lo que se tradujo en una mayor acumulación de almidón. Por otra parte, al evaluar un gen transportador de sacarosa homólogo a *SUC5* de *Arabidopsis*, se observó que los microesquejes de plantas madre bajo RL presentaron un pico máximo de expresión en el día uno de formación, significativamente superior al registrado en microesquejes derivados de plantas expuestas a luz roja (R).

Otro transcrito que mostró un aumento significativo en las plantas madre expuestas a luz RL es el *SS3*. Estas enzimas se encargan de la biosíntesis de almidón (Kotting et al., 2010). Estas enzimas se incrementaron con el tratamiento de luz RL, lo que resultó en mayores contenidos de almidón en las porciones basales de los microesquejes.

El experimento muestra un incremento en los transportadores de sacarosa, específicamente un mayor contenido de transcritos de *SUC5*, en fase de formación. Se observó también una inducción de *SUS1* en fase temprana de formación de raíces. Esto indica que la descarga de sacarosa en la nueva raíz sumidero probablemente está ocurriendo a través de la actividad de *SUC5*, mientras que *SUS1* actúa sobre ella, descomponiéndola para que los productos resultantes puedan ser utilizados en el metabolismo energético y en la formación de almidón.

Son varios los trabajos que confirman la influencia del RL en el enraizamiento. Hoad y Leakey (1996) evidenciaron una serie de interacciones entre el ambiente y la planta madre. En un experimento donde se tomaron estacas de dos hojas y dos nudos de plantas madre de *E. grandis*, estas fueron cultivadas manipulando las calidades de luz, observándose una modificación significativa de la fisiomorfología de las estacas, aumentando su porcentaje de enraizamiento cuando se expusieron a bajas relaciones R/RL. También se observó una disminución significativa de las estacas muertas cuando se expusieron a bajas relaciones R/RL. El mayor contenido total de carbohidratos solubles en agua por esqueje explica parte del éxito del enraizamiento, existiendo un cambio en la partición de carbohidratos en la base de las estacas.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

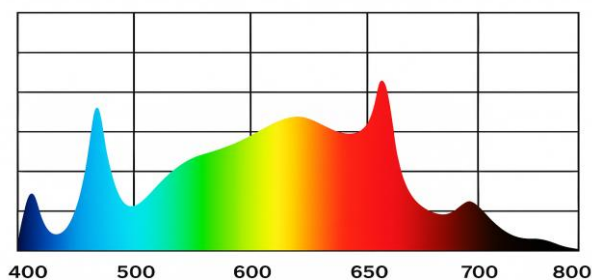
3.1 MATERIAL VEGETAL

Se eligieron plantas madre de 1 año y medio de edad de dos clones de *Eucalyptus dunnii* que se diferencian en el porcentaje de enraizamiento. El clon A (comercial) con un enraizamiento del 50% (menos recalcitrante) y el clon B (no comercial) con 30% de enraizamiento (más recalcitrante), suministrados por el vivero I + D Forestal Oriental de la empresa UPM. El ensayo se instaló el lunes 5 de febrero de 2024, en las cámaras de crecimiento ubicadas en el laboratorio del Departamento Forestal de la Facultad de Agronomía. Se utilizaron macetas de envase de 2 litros, con sustrato de corteza de pino compostada con Microcote® y se regaron diariamente con 100 ml de una solución de fertilizante (compuesta por microelementos + quelato de hierro, MKP, nitrato de calcio, sulfato de magnesio + sulfato de amonio + cloruro de potasio), se ajustó una conductividad de $1,8 \text{ mS cm}^{-1}$ utilizando un conductivímetro marca Oakton, modelo EcoTestr EC1. Para minimizar las pérdidas de agua por evaporación, a cada maceta se le colocó en la superficie una lámina de vinilo.

Las plantas crecieron con una humedad relativa entre 50-65%, temperatura de 26°C (noche y día), fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, y dos luminarias Full spectrum (espectro completo) Nanolux LED RG Fixture 320W ® con un flujo de $360 \mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Las luminarias cuentan con un espectro lumínico entre los 400 y los 800 nm con la distribución espectral como muestra la Figura 1. La densidad fue de 36 plantas por cámara (18 individuos de cada clon), con una disposición de 15 cm x 15 cm entre plantas.

Figura 1

Curva de distribución de la luminaria Full spectrum (espectro completo) según fabricante (400 y 800 nm)

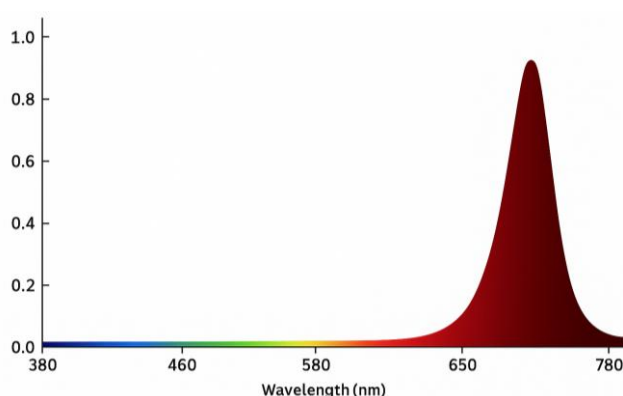


3.2 DEFINICION DE TRATAMIENTOS

Se dispusieron dos condiciones lumínicas. En una cámara se crecieron las plantas con la luminaria mencionada, mientras que la otra fue suplementada con luminarias de rojo lejano (RL) dispuestas a 20 cm de la copa de las plantas madre. Éstas consisten en dos barras LED de la marca FGI® que emiten $75\mu\text{mol}$ de fotones en 730 nm y presentan la distribución espectral según la Figura 2.

Figura 2

Curva de distribución espectral RL según fabricante



Nota. Luminaria RL (730 nm).

El ambiente lumínico de ambas cámaras fue caracterizado mediante la medición espectral, utilizando el espectrorradiómetro LT950 Spectroradiometer SPECTRILIGHT). Se tomaron medidas por encima de cada planta madre y se calcularon la media y la desviación estándar para la relación R/RL. En la cámara con luminaria R se obtuvo una media de 2,24 y para la cámara con luminaria RL se obtuvo un promedio de 1,41.

3.3 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Las plantas crecieron por un período de 1 mes bajo el tratamiento lumínico para promover la brotación. Luego se podaron y se registró el número de brotes extraídos por planta madre (NB) (véase Anexos H, I, J y K). Posteriormente se procedió a formar las miniestacas apicales con un largo de 7 a 12 cm (2 a 3 nudos) y un espesor de 2mm. A las estacas que presentaban 3 nudos se les redujo la superficie foliar para disminuir la transpiración: el par de hojas cercano a la base de la estaca se redujo en un 70%, el intermedio en un 50% y el apical se mantuvo intacto. En cambio, en las que presentaban

2 nudos, se redujo el par de hojas cercano a la base un 50% y el apical se mantuvo intacto. Las estacas se mantuvieron en conservadoras que fueron rociadas con agua destilada para evitar la deshidratación del material y fueron pinchadas en un plazo no mayor a 1 horas.

Una vez formadas, se dispusieron a enraizar por un mes con temperatura de día de $25,9 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$, noche $25,4 \pm 1,1^{\circ}\text{C}$, manejada por cama caliente de $22,2 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, humedad relativa de $92,7 \pm 5,7\%$, temperatura ambiente $21,3 \pm 1,6^{\circ}\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Las luminarias Nanolux® fueron atenuadas a 240 $\mu\text{moles de fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Se utilizaron 6 bandejas de polipropileno que contenían 104 tubetes de plástico rectangulares de 7 cm x 7 cm x 15 cm (distribución de 8x13 tubetes), los cuales se completaron con la misma turba utilizada para las plantas madre. Una vez rellenas las 6 bandejas, se les aplicó un riego continuo de 6 minutos con agua destilada, hasta humedecer todo el perfil del tubete. La humedad del sustrato fue controlada en forma diaria hasta completar el mes. Se humedeció únicamente cuando se registró que el sustrato se encontraba seco en la superficie. En total se realizaron 3 repeticiones biológicas (parcelas) por cada combinación de genotipo por condición lumínica. Cada unidad experimental se compuso por un pool de 54 estacas a partir de las que se colectaron muestras de la porción basal. Los grupos se distribuyeron completamente al azar dentro de cada cámara y en las dos cámaras de crecimiento.

Para la cuantificación de metabolitos, se tomaron muestras de base de estaca (2 cm) al momento del corte, se pesaron y se conservaron en un recipiente con nitrógeno líquido para su almacenamiento posterior a -20°C hasta la cuantificación.

Transcurrido el mes, se calculó el porcentaje de enraizamiento (ENR%). Para ello, se contabilizó el total de estacas vivas y muertas; utilizando como criterio para las plantas muertas el ápice y/o tallo necrosado. Con el total de estacas vivas se contabilizaron las estacas con raíces (véase Anexos N-L). Las que no presentaban raíces diferenciables a simple vista, fueron colocadas en una lupa óptica Nikon (SMZ745) con el fin de contabilizar raíces, callos o ausencia. El criterio utilizado para diferenciar callo de raíz se basó en el color y la forma. El callo presentó un color crema amarillento y una distribución amorfa de sus células no especializadas (Ikeuchi et al., 2013) (véase Anexo M), mientras que la raíz presentó una forma uniforme de sus células especializadas y un color blanquecino. El porcentaje de enraizamiento (ENR%) se calculó como el cociente entre las estacas que presentaron raíces y la totalidad de estacas dispuestas a enraizar. Además

del porcentaje de enraizamiento, se calculó un indicador de “supervivencia” (%), que refleja el porcentaje de las estacas que sobrevivieron del total, hayan enraizado o no.

3.4 CUANTIFICACIÓN DE METABOLITOS

3.4.1 Carbohidratos solubles

La extracción de azúcares solubles se realizó según DuBois et al. (1956) y Aumond et al. (2017). Se homogeneizaron muestras congeladas de aproximadamente 15 a 30 mg de peso fresco (FW) en nitrógeno líquido, se extrajeron con 750 µl de etanol al 80% (v/v) y se incubaron en un baño de agua a 75° C durante 15 min. Los extractos se centrifugaron a $13.000 \times g$ durante 15 min y se recuperó el sobrenadante. Los sedimentos se reextrajeron con 750 µl de etanol al 80% (v/v). La cuantificación de azúcares solubles se realizó según McCready et al. (1950), con modificaciones menores. Se mezclaron 100 µl del extracto con 600 µl de solución de antrona recién preparado [1 g de antrona en 500 ml de ácido sulfúrico al 72% (v/v)]. La solución resultante se mezcló y se mantuvo en un baño de agua hirviendo durante 11 minutos. Después de enfriar, se determinó la absorbancia a 630 nm en un espectrofotómetro Jasco V-730 (Molecular Devices, Estados Unidos). La curva estándar se estableció con D-glucosa.

3.4.2 Almidón

Para cuantificar el contenido de almidón se utilizaron pellets obtenidos de la extracción de azúcares solubles (McCready et al., 1950). Los pellets se resuspendieron con 250 µl de agua destilada y 320 µl de ácido perclórico al 52% (v/v), se sometieron a sonicación en un baño de agua durante 15 min y se centrifugaron a $13.000 \times g$ durante 15 min. La extracción se realizó dos veces. La cuantificación del almidón fue como se describió anteriormente para los azúcares solubles. La curva estándar se estableció con D-glucosa en ácido perclórico al 36,5% (v/v).

En la cuantificación de carbohidratos solubles y almidón se midieron 3 réplicas biológicas y tres técnicas en cada extracto.

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se empleó un diseño completamente al azar (DCA) (véase Figura 3), con 2 tratamientos (Control con luminaria R, luminaria RL), 2 clones (Alto enraizamiento, bajo enraizamiento) y 3 repeticiones por cada nivel de factor.

Se ajustó un modelo lineal general con arreglos factoriales para el análisis de las variables, de forma tal que:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + CH_j + (CH \times G)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

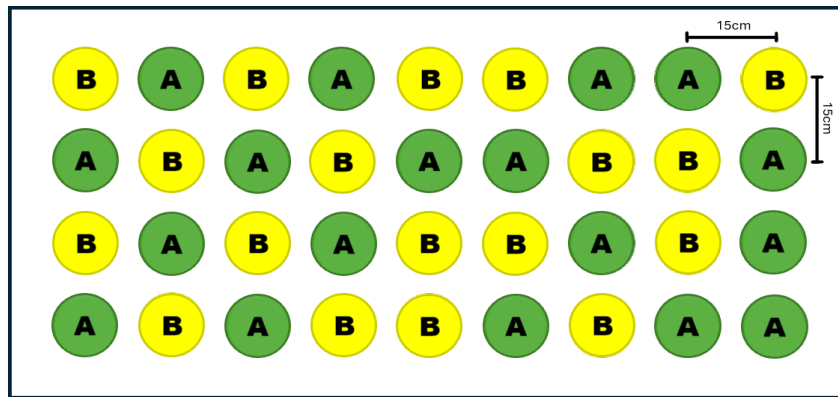
- Y_{ijk} variable de respuesta (número de brotes, porcentaje de enraizamiento, c solubles, almidón, supervivencia, productividad general)
- μ media general
- G_i es el efecto del i-ésimo genotipo (DA, DB)
- CH_j es el efecto del j-ésimo nivel de tratamiento (Control, RL)
- $(CH \times G)_{ij}$ es la interacción entre el i-ésimo nivel de G y el j-ésimo nivel de CH
- ε_{ijk} error experimental

Se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA), mediante el paquete R Stats package, para determinar la significancia de cada una de las fuentes de variación en las variables de respuesta. Cuando hubo efecto significativo en alguna de las fuentes de variación ($P \text{ Valor} < 0,05$) se realizó la prueba de Tukey para la comparación de medias.

Para la validación de los supuestos del ANOVA se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para confirmar la normalidad de los residuales del modelo, la prueba de Levene para corroborar la homogeneidad de varianzas y se hizo la visualización gráfica de la normalidad de los residuales a través de QQplot. Los ajustes estadísticos que se hicieron para lograr la normalidad de los datos de brotación y enraizamiento fueron $\text{raiz}+0.5$ y asin (arcoseno) respectivamente.

Figura 3

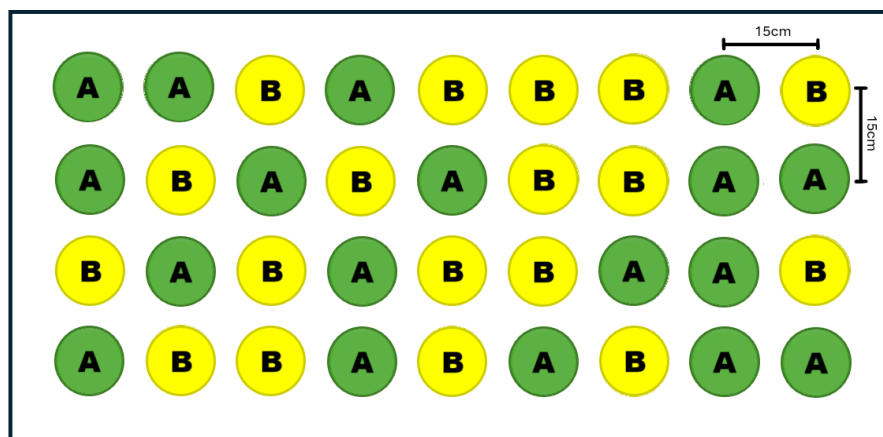
Distribución de plantas y aleatorización del tratamiento en cámara control con luminaria full spectrum



Nota. A y B: clones de *Eucalyptus dunnii*. A: clon comercial (menos recalcitrante). B: clon no comercial (más recalcitrante).

Figura 4

Distribución de plantas y aleatorización del tratamiento en cámara control con luminaria roja lejana



Nota. A y B: clones de *Eucalyptus dunnii*. A: clon comercial (menos recalcitrante). B: clon no comercial (más recalcitrante).

4 RESULTADOS

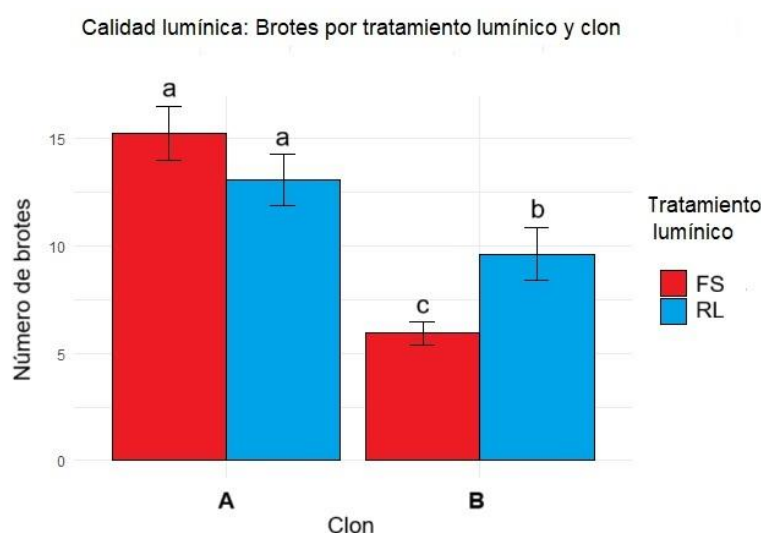
4.1 NÚMERO DE BROTES

Para la visualización del número de brotes promedio obtenidos por planta se ajustó un gráfico de barras en el programa RStudio, para ambos clones en ambos tratamientos (véase Figura 5), en el mismo se evidencian diferencias significativas respaldadas por la prueba de Tukey (véase Anexo C). Los clones fueron diferenciados como A (clon comercial, menos recalcitrante) y B (clon no comercial, más recalcitrante).

El análisis de varianza para el número de brotes indicó un efecto significativo del clon y de la interacción clon por tratamiento lumínico (p-valor de 0.02052), esto hace enfocar el análisis en la interacción (efecto de ambos tratamientos lumínicos en la variable de respuesta) por sobre los efectos individuales (su análisis podría llevar a una interpretación errónea). Para el clon A en la condición FS y suplementación con RL se obtuvieron 15 y 13 brotes respectivamente, por el contrario, se obtuvo un menor número de brotes para el clon de bajo, obteniéndose 6 y 10 brotes en la condición FS y suplementación con RL respectivamente (véase Anexo A).

Figura 5

Número de brotes promedio $\pm$ desvío estándar



Nota. Condición de luz full spectrum (FS) y luz roja lejana (RL). La barra roja representa el tratamiento lumínico “FS” y la azul el tratamiento lumínico “RL”. Se comparan los genotipos del clon A (menos recalcitrante) y B (más recalcitrante) en cada condición de

luz. Las barras de error indican el desvío estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Tukey con un p-valor $<0,05$.

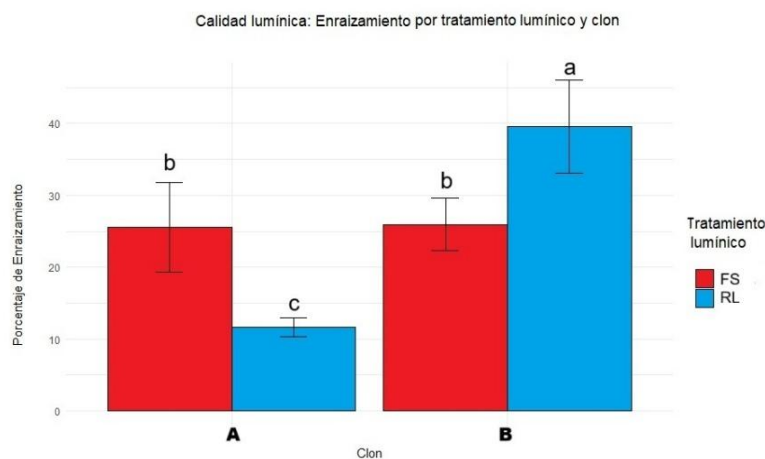
4.2 PORCENTAJE DE ENRAIZAMIENTO

El análisis de varianza mostró diferencias significativas para la interacción clon por tratamiento lumínico (p valor de 0,02406), por lo tanto, al igual que para el número de brotes, no se observan los efectos individuales sino su interacción (véase Anexo B).

Se puede observar que cuando las plantas madre crecieron en la cámara control con luminaria full spectrum, los clones enraízan de manera similar, con un porcentaje de enraizamiento de 26 % y 25,6% el clon B y A. En las plantas provenientes de la cámara suplementada con luz roja lejana, el clon A presentó un porcentaje de enraizamiento del 11,6%, mientras que el clon B mostró un desempeño claramente superior del orden del 39,6%.

Figura 6

Porcentaje (%) de enraizamiento de estacas $\pm$ desvío estándar



Nota. Condición de luz full spectrum (FS) y luz roja lejana (RL). La barra roja representa el tratamiento lumínico “FS” y la azul el tratamiento lumínico “RL”. Se contrastan los genotipos del clon A (menos recalcitrante) y B (más recalcitrante) en cada condición de luz. Las barras de error indican el desvío estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Tukey con un p-valor $<0,05$ (véase Anexo D).

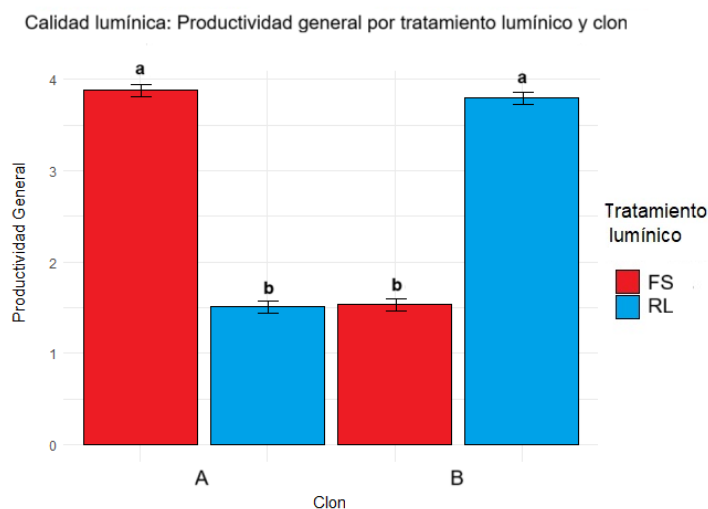
4.3 PRODUCTIVIDAD GENERAL

Para poder integrar de forma completa los resultados obtenidos, se calculó un índice al que se le denominó “productividad general”, en él se combinó el número promedio de brotes producidos por planta de cada clon, con el porcentaje de estacas enraizadas en cada tratamiento. Este indicador permite evaluar no sólo la capacidad de producir brotes, sino también la eficiencia con la que estos se convierten en estacas enraizadas viables, facilitando una comprensión más aplicada del rendimiento de cada tratamiento lumínico y clonal. Con el mismo se puede observar específicamente el número de estacas que realmente enraízan y cuál fue la respuesta del clon más recalcitrante a la suplementación con rojo lejano.

El clon de alto enraizamiento en la condición control con FS tuvo una productividad de 3,89 y en RL de 1,52. Por el contrario el clon recalcitrante al enraizamiento obtuvo 1,54 y 3,8 de productividad en FS y RL respectivamente.

Figura 7

Productividad general entre clon y tratamiento (Número de brotes enraizados)



Nota. Condición de luz full spectrum (FS) y luz roja lejana (RL). La barra roja representa el tratamiento “FS” y la azul el tratamiento lumínico “RL”. Se contrastan los genotipos del clon A (menos recalcitrante) y B (más recalcitrante) en cada condición de luz. Las barras de error indican el desvío estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Tukey con un p-valor <0,05.

4.4 PORCENTAJE DE SUPERVIVENCIA

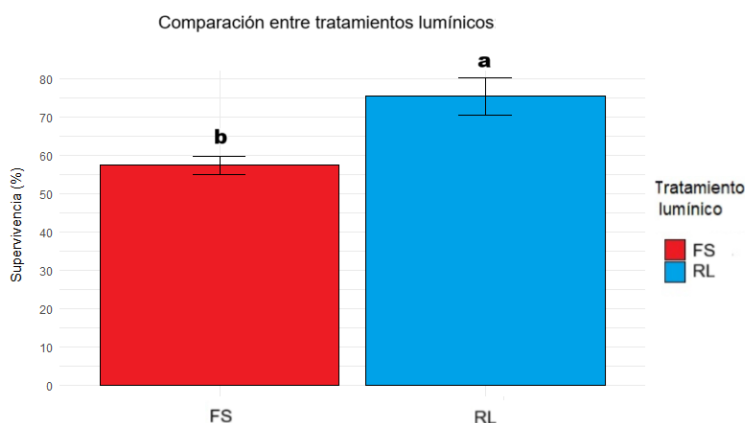
El análisis de varianza indicó que hubo un efecto significativo para el clon y para el tratamiento lumínico. Se realiza el análisis del gráfico observando los efectos individuales. Se ajustó un gráfico de barras para el tratamiento FS y RL los cuales dentro de cada barra están incluidos los resultados de ambos clones, se observa el tratamiento sin distinguir entre clones.

Considerando el efecto del tratamiento con luz FS en ambos tratamientos se obtuvo un valor de 57,4%, claramente inferior al porcentaje generado por el enriquecimiento con RL que alcanzó un 75,5%.

Al parecer, la modificación de la calidad lumínica para las estacas parece “exigirles” menos fisiológicamente en esta etapa, generando menor mortalidad (considerando que todavía no tienen raíces y se tienen que mantener con las reservas internas).

Figura 8

Porcentaje de supervivencia entre tratamientos lumínicos FS y RL



Nota. Condición de luz full spectrum (FS) y luz roja lejana (RL). La barra roja representa el tratamiento “FS” y la azul el tratamiento “RL”. Se contrastan los genotipos del clon A (menos recalcitrante) y B (más recalcitrante) en cada condición de luz. Las barras de error indican el desvío estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Tukey con un p-valor <0,05 (véase Anexo E).

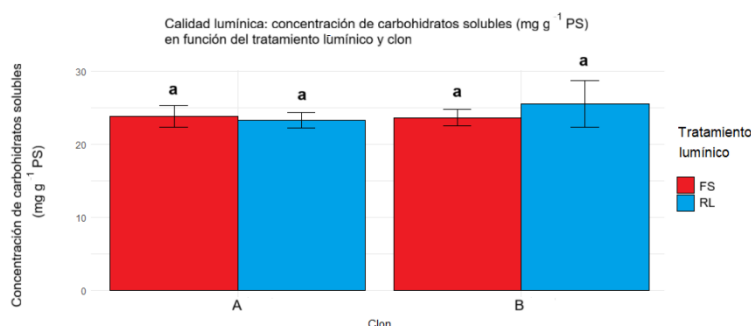
4.5 CARBOHIDRATOS SOLUBLES

El análisis de carbohidratos solubles (mg/g de peso seco) reflejó un contenido de 23,8 mg y 23,3 mg para el clon de alto enraizamiento en el tratamiento FS y RL respectivamente. Asimismo, para el clon de bajo enraizamiento se obtuvieron valores de 23,7 mg y 25,5 mg por g de peso seco en el tratamiento FS y RL correspondientemente.

No se pudo observar diferencias significativas entre los diferentes clones y los diferentes tratamientos en cuanto a mg de carbohidratos solubles encontrados. Esto se afirma mediante la prueba de Tukey (véase Anexo F), la comparación de medias marginales estimadas no tuvo diferencias significativas entre tratamientos y clones.

Figura 9

Concentración de carbohidratos solubles (mg g⁻¹ PS) ± desvío estándar, estacas de clon A y B



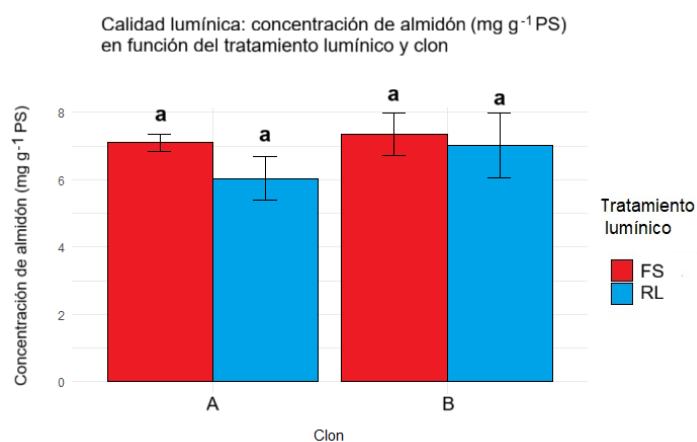
Nota. Condición de luz full spectrum (FS) y luz roja lejana (RL). Barra roja representa el tratamiento “FS” y la azul el tratamiento “RL”. Se contrastan los genotipos del clon A (menos recalcitrante) y B (más recalcitrante) en cada condición de luz. Las barras de error indican el desvío estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Tukey con un p-valor <0,05.

4.6 CONTENIDO DE ALMIDÓN

Al igual que con el gráfico de carbohidratos solubles, si bien los resultados fueron un tanto más variable, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos y clones. El contenido de almidón en miligramos por gramo de peso seco se mantuvo cercano a los 7 mg. Mediante la prueba de Tukey y comparando las medias marginales estimadas se observa esa paridad mencionada (véase Anexo G).

Figura 10

Concentración de almidón ($\text{mg g}^{-1} \text{PS}$) $\pm$ desvío estándar, estacas de clon A y B



Nota. Gráfico de barras para la concentración de almidón, medido al corte en la base de las estacas de *E. dunnii* (clon A y clon B) en condición de luz full spectrum (FS) y luz roja lejana (RL). La barra roja representa el tratamiento “FS” y la azul el tratamiento “RL”. Se contrastan los genotipos del clon A (menos recalcitrante) y B (más recalcitrante) en cada condición de luz. Las barras de error indican el desvío estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas según la prueba de Tukey con un p-valor $<0,05$.

5 DISCUSIÓN

El presente trabajo, evaluó el impacto en el enraizamiento de miniestacas de *E. dunnii* al exponer las plantas madre de dos clones de enraizamiento contrastante a condiciones control con luminaria full spectrum (FS) y suplementación con luminaria rojo lejano (RL). Además, se exploró la relación con el contenido de carbohidratos y almidón, con el fin de explicar los resultados encontrados tanto en porcentaje de enraizamiento como en porcentaje de supervivencia de las miniestacas.

5.1 NÚMERO DE BROTES

Los resultados obtenidos a través del análisis de datos respaldados por pruebas estadísticas revelan que el enriquecimiento con RL provocó una respuesta diferencial en la emisión de brotes entre los clones evaluados. Se observó un incremento significativo en la brotación del clon de bajo enraizamiento expuesto a luz RL respecto al control en R, mientras que el clon de menor recalcitrancia (Clon A) no mostró diferencias significativas entre los tratamientos. A partir de estos resultados se puede aceptar parcialmente la primera hipótesis que proponía que el enriquecimiento con RL en planta madre afecta el número de brotes, para este caso solamente el clon recalcitrante. Estas discrepancias en los resultados del experimento podrían radicar en una mayor sensibilidad del clon de bajo enraizamiento a la suplementación con RL, provocando un aumento del 63% en el número de brotes. En definitiva, la respuesta a la calidad lumínica según estos resultados depende del genotipo.

Los hallazgos obtenidos en este ensayo no se alinean con lo reportado por Vilasboa et al. (2022), quienes no encontraron diferencias en la brotación para las especies de *E. dunnii* en su trabajo. En cambio, los resultados de este ensayo sí evidencian un aumento significativo del RL, al menos en uno de los clones. Por otra parte, Konzen et al. (2021) observaron un mayor promedio de brotación en tratamientos con suplementación en RL en comparación con aquellos con luz FS. Estos antecedentes muestran que los efectos del RL sobre la brotación no son consistentes entre estudios ni entre genotipos, lo que sugiere que la respuesta a este tipo de luz está fuertemente influenciada por el material vegetal utilizado.

Una de las posibles explicaciones a lo que ocurrió con el número de brotes para el clon A podría relacionarse con la activación de genes *PIN* que provocaron cambios en

el transporte polar de las auxinas generada por el RL, posiblemente se creó un gradiente que mantiene alta la concentración de estas hormonas en la proximidad de las yemas axilares y esto inhibe la salida de yemas porque no se activan más brotes. En cambio, en el clon B (mas recalcitrante) el RL generó una activación del gen *YUC3* optimizó la relación auxinas/citoquininas favoreciendo la brotación y posiblemente el enraizamiento.

En el presente experimento en base a apreciaciones visuales, aunque no medidas, parece haber una clara elongación de los entrenudos en las plantas tratadas con luz RL, en coincidencia con los trabajos previamente mencionados, donde se reportó un mayor alargamiento de los brotes bajo esta condición lumínica. En este ensayo fue evidente a simple vista, destacándose especialmente en comparación con las plantas tratadas solo con luz full spectrum (véase Anexos O-P). Aunque no fue evaluado, la suplementación con RL posiblemente aceleró el proceso de elongación de entrenudos, permitiendo alcanzar más rápidamente el requisito de brotes adecuados para poder ser cosechados de la planta madre (largo de 7 a 12 cm, 2 a 3 nudos y espesor aproximado de 2mm). Este efecto en caso de respaldarse con resultados medidos y analizados estadísticamente indicarían que se podría acelerar la disponibilidad de material propagativo, lo que representa una ventaja productiva al posibilitar un mayor número de cosechas en un mismo periodo de tiempo.

5.2 PORCENTAJE DE ENRAIZAMIENTO

Los resultados obtenidos revelan un efecto positivo de la luz roja lejana (RL) en el porcentaje de enraizamiento en el Clon B. El mismo mostró una mejora significativa, en torno al 52% con la suplementación de luz roja lejana, mientras que el Clon A experimentó una reducción del 55% en el enraizamiento en el tratamiento suplementado con RL. Esto demuestra una especificidad del clon a las condiciones de crecimiento de la planta madre.

Existen diferencias en el presente ensayo con investigaciones previas realizadas por Vilasboa et al. (2022) quienes utilizaron la misma especie, pero en condiciones diferentes como se mencionó en el apartado anterior. En este caso, el porcentaje de enraizamiento, en el tratamiento enriquecido con RL para la estación de verano, los clones con baja capacidad de enraizamiento no produjeron mejoras sustanciales en comparación al control (*E. dunnii* 4104 y *E. dunnii* 6201 que se mantuvieron cercano al 25%), incluso

en estaciones como invierno u otoño se produjo una reducción significativa en el porcentaje enraizado, reforzando que el efecto del RL en la generación de raíces depende del material vegetal. Así mismo Konzen et al. (2021) tampoco encontraron diferencias significativas en el porcentaje de enraizamiento al comparar control y enriquecimiento con RL.

En contraste, el presente trabajo demuestra que la exposición a la luz roja lejana en el Clon B genera un incremento importante, pasando de 26 % en la cámara control a 39,6 % en la cámara enriquecida con luz RL, evidenciando un efecto positivo en la formación de raíces adventicias. Se produjo una mejora del 52,3 % en el enraizamiento respecto a lo observado en la cámara control.

Ruedell et al. (2013) encontraron para la especie de baja recalcitrancia (*E. globulus*), una mejora significativamente diferente a los demás tratamientos, logrando un 51 % de enraizamiento en esquejes extraídos de plantas madre que provinieron del enriquecimiento con radiación roja lejana y ausencia de sacarosa. Esta investigación demuestra la influencia positiva de la luz RL aplicada a plantas madre. Al igual que en este ensayo, para los autores, la adición de RL a plantas madre de los *Eucalyptus* generó un aumento del enraizamiento adventicio de las miniestacas en comparación a los valores obtenidos en el tratamiento con solo luz full spectrum.

Se pueden encontrar otras investigaciones que también evidencian la eficacia de la utilización del RL, como es el caso del trabajo realizado por Hoad y Leakey (1996) en el cual se utilizaron plantas madre de *Eucalyptus grandis*, expuestas a diferentes relaciones R/RL, se observó como resultado que a medida que disminuía la proporción de luz de espectro completo con relación a la luz RL (es decir, relaciones más bajas de R/RL), se beneficiaba el porcentaje de enraizamiento. Estos resultados evidencian los beneficios del uso de irradiancias bajas en el enraizamiento de miniestacas.

Diversos autores como Newton et al. (1996), Ruedell et al. (2013) y Wilson (1998) demuestran como la calidad de la luz puede ser modulada para mejorar el enraizamiento adventicio de especies recalcitrantes. Sin embargo, también existen estudios donde no se registran mejoras en el enraizamiento al utilizar radiación roja lejana (Baque et al., 2010; Corrêa et al., 2005; Konzen et al., 2021; Vilasboa et al., 2022). Considerando estos trabajos, es importante tener en cuenta que los resultados posiblemente se deban a

diferencias en las condiciones experimentales y utilización de diferentes especies. Además, debe recordarse que los efectos de la radiación sobre el enraizamiento varían significativamente entre especies (Antonopoulou et al., 2004; Moe & Andersen, 1988, como se cita en Ruedell et al., 2013) y entre genotipos dentro de la misma especie (Vilasboa et al., 2022).

Estas diferencias encontradas entre los experimentos anteriormente mencionados y el presente ensayo podrían deberse a las condiciones experimentales y/o las interacciones ocurridas entre los genotipos y los tratamientos. El estado fisiológico de las plantas madre es el resultado de complejas interacciones entre el genotipo y factores ambientales, y es de gran relevancia en el proceso de enraizamiento (Ruedell et al., 2013). Existen interacciones se incluyen la morfología y fisiología de la planta donante, y los esquejes, las cuales afectan la dominancia apical, la partición de recursos, la morfología de las estacas, la actividad fotosintética y el metabolismo de carbohidratos en función de la calidad de la luz (Hoad & Leakey, 1996).

En este contexto los efectos observados del RL en los clones estudiados podrían explicarse también por mecanismos fisiológicos y hormonales específicos. En el clon A, la posible acumulación de fenoles en la base de las estacas podía haber inhibido la formación de raíces adventicias. Por el contrario, en el clon B una mayor sensibilidad al RL posiblemente generó una acumulación de auxinas en la base de las estacas, en conjunto con una mejor disponibilidad de carbohidratos que hayan contribuido en la mejora del porcentaje de enraizamiento. De esta manera, queda en evidencia la importancia de considerar las interacciones específicas entre la longitud de onda de la luz y el genotipo de la planta, mostrando que la respuesta al RL puede variar considerablemente entre clones.

5.3 PRODUCTIVIDAD GENERAL

Si bien el enfoque principal del trabajo está en saber cómo el RL afecta el porcentaje de enraizamiento, observar este índice tiene relevancia para integrar las principales variables analizadas. Este reveló que no solo importa la cantidad de brotes que se producen por planta madre, sino que además refleja cuántos de ellos logran enraizar. Se puede observar la mejor combinación de los dos clones, relativizando los resultados en términos de la mejor performance que tuvo cada clon.

La productividad no se comportó según lo esperado por los autores Vilasboa et al. (2022), quienes obtuvieron productividades significativamente inferiores en generación de RL respecto al control para dos clones de *E. dunni*. En este ensayo los resultados muestran que la suplementación con rojo lejano provocó una disminución en la productividad general para el Clon A, mientras que el Clon B aumentó un 147% producto de un aumento en la brotación promedio y el porcentaje de enraizamiento con el tratamiento RL. Esto deja en claro como la calidad lumínica puede producir una mejora notable dependiendo del genotipo.

5.4 SUPERVIVENCIA DE LAS ESTACAS

Para poner en contexto los resultados obtenidos en el porcentaje de enraizamiento se consideró la supervivencia de las estacas sin distinguir entre clones de alto y bajo enraizamiento. Estas fueron agrupadas en dos categorías según el tratamiento recibido, las que fueron sometidas a luz FS y aquellas expuestas a la combinación de luz FS más luz roja lejana. Este indicador dejó en evidencia que, en promedio, la supervivencia fue mayor, del orden del 32% bajo el tratamiento con RL. Estos resultados discrepan de los obtenidos por Konzen et al. (2021), en donde la supervivencia bajo suplementación RL no fue diferente respecto al control (manteniéndose ambas en torno al 60%).

Este procedimiento plantea una interrogante relevante: ¿Qué ocurriría si se permitiera un mayor tiempo de enraizamiento a las estacas? Dado que la cosecha se realizó a los 30 días, es posible que, con un periodo más prolongado, las estacas que continuaban vivas (sin callos) pudieran haber desarrollado raíces adventicias, lo que hubiese mejorado el desempeño del Clon A quien presentó una alta proporción de estacas vivas sin enraizar. De esta manera, no puede descartarse que los resultados obtenidos para el clon comercial de alto enraizamiento en RL hubieran tendido a aproximarse a lo reportado en la bibliografía, aunque dicha respuesta probablemente dependa en gran medida del genotipo utilizado.

En este sentido resulta pertinente y útil el cálculo de la supervivencia por separado según el tratamiento, ya que aporta una perspectiva más amplia y representativa del comportamiento de las estacas bajo las diferentes condiciones experimentales.

5.5 AZÚCARES SOLUBLES Y ALMIDÓN

Los carbohidratos son la fuente de energía y esqueletos carbonados para generar un órgano nuevo (Corrêa et al., 2005). Para explicar los resultados encontrados en porcentaje de enraizamiento y supervivencia de las miniestacas, se realizó la cuantificación de azúcares solubles y almidón al momento del corte en la base de las estacas. A través de los resultados obtenidos, la hipótesis inicial que relaciona carbohidratos y porcentaje de enraizamiento fue refutada, ya que no se observaron diferencias significativas entre clones y entre tratamientos en la cuantificación de estos.

Estudios realizados por algunos autores sostienen que plantas madre tratadas con RL generan estacas que aumentan el porcentaje de enraizamiento adventicio explicado por la acumulación de carbohidratos en su base. Esta respuesta en función de la luz varía dentro de la misma estaca, la acumulación de azúcares solubles difiere en la base respecto a los brotes, generando una distribución que promueve el enraizamiento (Ruedell et al., 2013).

Contrariamente a lo esperado, en este trabajo el análisis del contenido de azúcares solubles y almidón no reveló diferencias significativas de partida entre los clones. Este resultado sugiere que la variación en el enraizamiento observada en este experimento no puede ser explicada únicamente por el contenido de carbohidratos solubles y almidón cuantificado en la base al corte. La discrepancia encontrada en relación con la bibliografía podría deberse no solamente a diferencias en las especies utilizadas, sino que además al momento y zona de cuantificación de los carbohidratos presentes. En *E. globulus* (Ruedell et al., 2015) se observó una incidencia positiva en la rizogénesis de las estacas con el agregado de glucosa y sacarosa durante la fase de inducción y formación de raíces respectivamente. Esto reafirma la idea de que posiblemente la cuantificación de carbohidratos podría haberse realizado en otro momento, como durante la inducción y no al corte.

Para entender cómo varían los niveles de carbohidratos debemos tener en cuenta las diferentes fases del enraizamiento (Steffens & Rasmussen, 2016). Las diferencias en el contenido de carbohidratos no se observan solamente en el momento del corte en la zona de la base, generalmente aumentan en la segunda etapa de iniciación. El objetivo de medirlos al corte fue observar si había diferencias de partida entre los clones o entre los

tratamientos, no pudiéndose determinar cómo se va a modificar la dinámica en las siguientes fases del enraizamiento, por lo que se propone como estrategia a futuro medir los carbohidratos no sólo al inicio sino que además unos días luego del corte en la etapa de iniciación de las raíces (experimento destructivo de las estacas), de esta manera se determinaría si la calidad lumínica afecta el nivel de carbohidratos en la fuente desde el día cero a los días posteriores.

Una posible explicación para los resultados observados radica en la activación de vías metabólicas relacionadas al transporte de los azúcares solubles dentro de la planta, por lo que se puede plantear la posibilidad de hacer la cuantificación en la base de las estacas y en las hojas apicales para obtener un perfil más completo de la distribución de los azúcares solubles en cada zona y poder comparar cómo es su transporte con el avance del desarrollo de las raíces.

6 CONCLUSIONES

La suplementación de las plantas madre con luz roja lejana (RL) generan un impacto en el enraizamiento, aunque no se puede generalizar, la respuesta está ligada a las características específicas del clon utilizado y a factores relacionados a las rutas metabólicas de las auxinas.

La suplementación con rojo lejano a plantas madre, aumentó el porcentaje de supervivencia de las estacas, esto explicado por algún mecanismo metabólico interno que favoreció la acumulación de reservas energéticas y la activación de señales hormonales asociadas al enraizamiento.

La productividad por planta se ve afectada en forma diferencial según los genotipos, presentando un aumento en el clon más recalcitrante debido a la mejora en brotación y porcentaje de enraizamiento.

La concentración de azúcares solubles y de almidón medidas al corte en la base de las estacas no explican las variaciones en porcentaje de enraizamiento debido a que no presentaron diferencias significativas entre tratamientos lumínicos.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., & Chatzissavvidis, C. (2004). The influence of radiation quality on in vitro rooting and nutrient concentrations of peach rootstock. *Biologia Plantarum*, 48(4), 549-553.
<https://doi.org/10.1023/B:BIOP.0000047151.26284.5f>
- Aumond, M. L., Jr., De Araujo, A. T., Jr., De Oliveira Junkes, C. F., De Almeida, M. R., Matsuura, H. N., De Costa, F., & Fett-Neto, A. G. (2017). Events associated with early age-related decline in adventitious rooting competence of *Eucalyptus globulus* Labill. *Frontiers in Plant Science*, 8, Artículo e1734.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01734>
- Ayala, P., Surenciski, M., Harrand, L., & Luna, C. (2020). Capacidad de enraizamiento de clones híbridos de *Eucalyptus* del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina. *Temas Agrarios*, 25(1), 66-76.
https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/262058/CONICET_Digital_Nro_a97e09ab-e0b7-4f87-aa62-c5680b23f5a7_B.pdf?sequence=2&isAllowed=y
- Baker, A., & Walker, S. (2006). Assessment of the relative amenability to vegetative propagation by leafy cuttings of 14 tropical and subtropical *Eucalyptus* and *Corymbia* species. En K. Suzuki, K. Ishii, K. Sakurai, & S. Sasaki (Eds.), *Plantation technology in tropical forest science* (pp. 79-87). Springer.
https://doi.org/10.1007/4-431-28054-5_7
- Balmelli, G., & Resquin, F. (2006). Productividad de diferentes especies de *Eucalyptus* sobre areniscas de Tacuarembó-Rivera. En M. Bemhaja & O. Pittaluga (Eds.), *30 años de investigación en suelos de areniscas* (Vol. 30, pp. 305-312). INIA.
<https://ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/3008/1/18429250309101451.pdf>
- Baque, M. A., Hahn, E. J., & Paek, K. Y. (2010). Induction mechanism roots from leaf explants of *Morinda citrifolia* as affected by auxin and light quality. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 46, 71-80.
- Boland, D. J., Brooker, M. I. H., Chippendale, G. M., Hall, N., Hyland, B. P. M., Johnston, R. D., Kleinig, D. A., McDonald, M. W., & Turner, J. D. (2006). *Forest Trees of Australia* (5th ed.). CSIRO.

- Boscana, M. (2023). *Vigésima segunda encuesta de viveros forestales: Año 2022*. MGAP. https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/2023-08/Informe_final.pdf
- Brooker, M. I. H., & Kleinig, D. A. (2006). *Field Guide to Eucalyptus: Vol. 1. South-Eastern Australia*. Bloomings Books.
- Brussa, A. (1994). *Eucalyptus: Especies de cultivo más frecuentes en Uruguay y regiones de clima templado*. Hemisferio Sur.
- Christiaens, A., Gobin, B., & Van Labeke, M. C. (2016). Light quality and adventitious rooting: A mini-review. *Acta Horticulturae*, (1134), 385-394. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1134.50>
- Coppen, J. J. W. (Ed.). (2002). *Eucalyptus: The genus Eucalyptus*. CRC Press.
- Corrêa, L. R., Paim, D. C., Schwambach, J., & Fett-Neto, A. G., (2005). Carbohydrates as regulatory factors on the rooting of *Eucalyptus saligna* Smith and *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant Growth Regulation*, 45, 63-73. <https://doi.org/10.1007/s10725-004-6125-z>
- Da Costa, C. T., De Almeida, M. R., Ruedell, C. M., Schwambach, J., Maraschin, F. S., & Fett-Neto, A. G. (2013). When stress and development go hand in hand: Main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. *Frontiers in Plant Science*, 4, Artículo e133. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00133>
- De Almeida, M. R., Aumond, M., Da Costa, C. T., Schwambach, J., Ruedell, C. M., Correa, L. R., & Fett-Neto, A. G. (2017). Environmental control of adventitious rooting in *Eucalyptus* and *Populus* cuttings. *Trees*, 31, 1377-1390. <https://doi.org/10.1007/s00468-017-1550-6>
- De Assis, T. F., Fett-Neto, A. G., & Alfenas, A. C. (2004). Current techniques and prospects for the clonal propagation of hardwoods with emphasis on *Eucalyptus*. En C. Walter & M. Carson, (Eds.), *Plantation forest biotechnology for the 21st century* (pp. 303-333). Research SignPost. <https://www.celso-foelkel.com.br/artigos/outros/Arquivo%2017.pdf>

- Dirección General Forestal. (2024). *Cartografía Nacional de Bosque Plantado 2024*. MGAP. https://descargas.mgap.gub.uy/Documentos%20compartidos/CARTOGRAFIA%202024/Cartograf%C3%ADa2024_ESP.pdf
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. <https://doi.org/10.1021/ac60111a017>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). *Global Forest: Resources Assessment 2020: Key findings*. <https://doi.org/10.4060/ca8753en>
- González Pino, A., & Chifflet de Garat, S. (1980). *Indicaciones para la instalación de viveros forestales*. MAP.
- Grattapaglia, D., & Kirst, M. (2008). *Eucalyptus* applied genomics: From gene sequences to breeding tools. *New Phytologist*, 179(4), 911-929. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2008.02503.x>
- Grattapaglia, D., Vaillancourt, R. E., Shepherd, M., Thumma, B. R., Foley, W., Külheim, C., Potts, B. M., & Myburg, A. A. (2012). Progress in Myrtaceae genetics and genomics: *Eucalyptus* as the pivotal genus. *Tree Genetics & Genomes*, 8, 463-508. <https://doi.org/10.1007/s11295-012-0491-x>
- Gutiérrez, R. A., Stokes, T. L., Thum, K., Xu, X., Obertello, M., Katari, M. S., Tanurdzic, M., Dean, A., Nero, D. C., McClung, C. R., & Coruzzi, G. M. (2008). Systems approach identifies an organic nitrogen-responsive gene network that is regulated by the master clock control gene *CCA1*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(12), 4939-4944. <https://doi.org/10.1073/pnas.0800211105>
- Hoad, S. P., & Leakey, R. R. B. (1996). Effects of pre-severance light quality on the vegetative propagation of *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden: Cutting morphology, gas exchange and carbohydrate status during rooting. *Trees*, 10, 317-324.
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant callus: Mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell*, 25(9), 3159-3173. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053>

- Informe público del plan de manejo forestal del grupo de certificación de Forestal Oriental*. (2023). UPM. <https://www.Upm.Uy/siteassets/documents/forestal/informe-publico-del-plan-de-manejo-forestal-del-grupo-de-certificacion--2023.pdf>
- Konzen, E. R., Saudade de Aguiar, N., Navroski, M. C., Mota, C. S., Miranda, L., Estopa, R. A., Tonett, E. L., & Pereira, M. O. (2021). Artificial light improves productivity of mini-cuttings in a clonal minigarden of *Eucalyptus benthamii* and *E. dunnii*. *Southern Forests: A Journal of Forest Science*, 83(4), 310-320. <https://doi.org/10.2989/20702620.2021.2000326>
- Kotting, O., Kossmann, J., Zeeman, S. C., & Lloyd, J. R. (2010). Regulation of starch metabolism: The age of enlightenment? *Current Opinion in Plant Biology*, 13(3), 321-329.
- Kurilčik, A., Miklušytė-Čanová, R., Dapkūnienė, S., Zilinskaitė, Kurilcik, A., Tamulaitis, G., Duchovskis, P., & Zukauskas, A. (2008). In vitro culture of *Chrysanthemum plantlets* using light-emitting diodes. *Central European Journal of Biology*, 3(2), 161-167. <https://doi.org/10.2478/S11535-008-0006-9>
- Leicach, S. R., Yaber Grass, M. A., Chludil, H. D., Garau, A. M., Guarnaschelli, A. B., & Fernández, P. C. (2012). Chemical defenses in *Eucalyptus* Species: A sustainable strategy based on antique knowledge to diminish agrochemical dependency. En A. A. Oteng-Amoako (Ed.), *New advances and contributions to forestry research* (pp. 225-256). InTech. <https://doi.org/10.5772/35063>
- Li, S.W., Xue, L., Xu, S., Feng, H., & An, L. (2009). Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. *The Botanical Review*, 75, 230-247. <https://doi.org/10.1007/s12229-009-9029-9>
- Martín, D. (2024). Producción vegetal: Forestación. En *Anuario Estadístico Agropecuario DIEA 2024* (pp. 157-167). MGAP.
- McCready, R. M., Guggolz, J., Silveira, V., & Owens, H. S. (1950). Determination of starch and amylose in vegetables. *Analytical Chemistry*, 22(9), 1156-1158. <https://doi.org/10.1021/ac60045a016>

- Menegolla, F., Hansel, F. A., Degenhardt, J., & Lazzarotto, M. (2024). Mini-cutting condition on the identification of rooting-biomarkers in easy- and a hard-to-root *Ilex paraguariensis* clones. *Planta*, 261, Artículo e24. <https://doi.org/10.1007/s00425-024-04604-x>
- Møller, S. G., Ingles, P. J., & Whitelam, G. C. (2002). The cell biology of phytochrome signalling. *New Phytologist*, 154(3), 553-590. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2002.00419.x>
- Newton, A. C., Dick, J. M., McBeath, C., & Leakey, R. R. B. (1996). The influence of R:FR ratio on the growth, photosynthesis and rooting ability of *Terminalia spinosa* Engl. and *Triplochiton scleroxylon* K. Schum. *Annals of Applied Biology*, 128(3), 541-556. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1996.tb07113.x>
- Pacurar, D. L., Perrone, I., & Bellini, C. (2014). Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. *Physiologia Plantarum*, 151(1) 83-96. <https://doi.org/10.1111/ppl.12171>
- Park, Y. S., Bonga, J. M., & Moon, H. K. (Eds.). (2016). *Vegetative propagation of forest trees*. National Institute of Forest Science.
- Ruedell, C. M., De Almeida, M. R., & Fett-Neto, A. G. (2015). Concerted transcription of auxin and carbohydrate homeostasis-related genes underlies improved adventitious rooting of microcuttings derived from far-red treated *Eucalyptus globulus* Labill mother plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 97, 11-19.
- Ruedell, C. M., De Almeida, M. R., Schwambach, J., Posenato, C. F., & Fett-Neto, A. G. (2013). Pre and post-severance effects of light quality on carbohydrate dynamics and microcutting adventitious rooting of two *Eucalyptus* species of contrasting recalcitrance. *Plant Growth Regulation*, 69, 235-245. <https://doi.org/10.1007/s10725-012-9766-3>
- Sauer, M., Robert, S., & Kleine-Vehn, J. (2013). Auxin: Simply complicated. *Journal of Experimental Botany*, 64(9), 2565-2577. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert139>
- Steffens, B., & Rasmussen, A. (2016). The physiology of adventitious roots. *Plant physiology*, 170(2), 603-617. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01360>

- Takahashi, F., Sato-Nara, K., Kobayashi, K., Suzuki, M., Suzuki, H. (2003). Sugar induced adventitious root in *Arabidopsis* seedlings. *Journal of Plant Research*, 116, 83-91. <https://doi.org/10.1007/s10265-002-0074-2>
- Trueman, S. J., McMahon, T. V., & Bristow, M. (2013). Production of cuttings in response to stock plant temperature in the subtropical eucalypts, *Corymbia citriodora* and *Eucalyptus dunnii*. *New Forests*, 44, 265-279. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9315-y>
- Van Dalfsen, P., & Slingerland, L. (2012). *Stekken onder LED-verlichting 2: Stekken van boomkwekerijgewassen onder LED in een mmerlagensysteem zonder daglicht; proeven 2011-2012*. Wageningen University & Research Centre. <https://edepot.wur.nl/282361>
- Vilasboa, J., Da Costa, C. T., & Fett-Neto, A. G. (2022). Environmental modulation of mini-clonal gardens for cutting production and propagation of hard and easy to root *Eucalyptus* spp. *Plants*, 11(23), Artículo e3281. <https://doi.org/10.3390/plants11233281>
- Wilson, P. J. (1998). Environmental preferences of *Eucalyptus globulus* stem cuttings in one nursery. *New Zealand Journal of Forestry Science*, 28(3), 304-315. https://www.scionresearch.com/_data/assets/pdf_file/0008/59480/NZJFS2831998-WILSON304-315.pdf

8 ANEXOS**Anexo A***ANOVA para número de brotes*

	GL	SC	MC	f valor	p valor (>f)
Clon	1	12.7636	12.7636	26.4241	3.89e-6 ***
Tratamiento	1	0.1964	0.1964	0.4066	0.5264
Interacción	1	2.7519	2.7519	5.6973	0.0205 *
Residuales	54	26.0836	0.4830		

Nota. GL: Grados de libertad, SC: Suma de cuadrados, MC: Media de cuadrados. Códigos de significancia: 0**** 0.001**** 0.01** 0.05". " 0.1"" 1.

Anexo B*ANOVA para porcentaje de enraizamiento*

	GL	SC	MC	f valor	p valor (>f)
Clon	1	658.650	658.650	8.0846	0.02170*
Tratamiento	1	0.100	0.100	0.0012	0.97355
Interacción	1	627.960	627.960	2.6882	0.02406*
Residuales	8	6.518	81.470		

Nota. GL: Grados de libertad, SC: Suma de cuadrados, MC: Media de cuadrados. Códigos de significancia: 0**** 0.001*** 0.01** 0.05*. " 0.1" 1.

Anexo C*Prueba de Tukey para número de brotes*

Clon: (A)					
Tratamiento	ES	GL	LI	LS	MME
FS	1.25	54	12.70	17.73	15.21 a
RL	1.14	54	10.78	15.34	13.06 a
Clon: (B)					
Tratamiento	ES	GL	LI	LS	MME
FS	1.35	54	3.20	8.63	5.92 b
RL	1.21	54	7.17	12.03	9.60 a

Nota. ES: Error estándar, GL: Grados de libertad, LI: Límite inferior intervalo de confianza, LS: Límite superior intervalo de confianza, MME: Media marginal estimada. Letras distintas indican diferencias significativas entre filas para cada tratamiento con un p valor $< 0,05$.

Anexo D*Prueba de Tukey para porcentaje de enraizamiento*

Clon: (A)					
Tratamiento	ES	GL	LI	LS	MME
FS	4.900	8	14.265	29.064	25.600 a
RL	4.900	8	0.335	28.586	11.600 a
Clon: (B)					
Tratamiento	ES	GL	LI	LS	MME
FS	4.900	8	14.665	37.200	26.000 b
RL	4.900	8	28.302	50.009	39.600 a

Nota. ES: Error estándar, GL: Grados de libertad, LI: Límite inferior intervalo de confianza, LS: Límite superior intervalo de confianza, MME: Media marginal estimada. Letras distintas indican diferencias significativas entre filas para cada tratamiento con un p valor $< 0,05$.

Anexo E*ANOVA para porcentaje de supervivencia*

	GL	SC	MC	f valor	p valor (>f)
Clon	1	411.13	411.13	9.2582	0.015997*
Tratamiento	1	976.44	976.44	21.9883	0.001563**
Interacción	1	119.38	119.38	2.6882	0.139724
Residuales	8	355.26	44.41		

Nota. GL: Grados de libertad, SC: Suma de cuadrados, MC: Media de cuadrados. Códigos de significancia: 0**** 0.001**** 0.01*** 0.05** 0.1* 1.

Anexo F*Prueba de Tukey para la concentración de carbohidratos solubles*

Clon: (A)					
Tratamiento	ES	GL	LI	LS	MME
FS	1.922	8	18.521	29.064	23.792 a
RL	1.922	8	18.044	28.586	23.315 a
Clon: (B)					
Tratamiento	ES	GL	LI	LS	MME
FS	1.922	8	18.388	28.930	23.659 a
RL	1.922	8	20.270	30.812	25.541 a

Nota. ES: Error estándar, GL: Grados de libertad, LI: Límite inferior intervalo de confianza, LS: Límite superior intervalo de confianza, MME: Media marginal estimada. Letras iguales no indican diferencias significativas entre filas para cada tratamiento con un p valor < 0,05.

Anexo G*Prueba de Tukey para la concentración de almidón***Clon: (A)**

Tratamiento	ES	GL	LI	LS	MME
FS	0.6684	8	5.2631	29.064	7.0967 a
RL	0.6684	8	4.2031	28.586	6.0367 a

Clon: (B)

Tratamiento	ES	GL	LI	LS	MME
FS	0.6684	8	5.5231	9.1903	7.3567 a
RL	0.6684	8	5.1931	8.8003	7.0267 a

Nota. ES: Error estándar, GL: Grados de libertad, LI: Límite inferior intervalo de confianza, LS: Límite superior intervalo de confianza, MME: Media marginal estimada. Letras iguales no indican diferencias significativas entre filas para cada tratamiento con un p valor < 0,05.

Anexo H

Número de brotes extraídos del clon A en tratamiento suplementado con RL

Nº PL	CL	TR	Nº BR
98	A	RL	2
77	A	RL	6
60	A	RL	8
67	A	RL	8
120	A	RL	8
81	A	RL	9
125	A	RL	9
50	A	RL	10
128	A	RL	10
30	A	RL	13
84	A	RL	14
2	A	RL	15
117	A	RL	15
41	A	RL	16
42	A	RL	17
10	A	RL	20
73	A	RL	21
105	A	RL	23

Nota. Nº PL: número de planta, CL: clon, TR: tratamiento, Nº BR: número de brotes.

Anexo I

Número de brotes extraídos por planta en el clon B en tratamiento suplementado con RL

Nº PL	CL	TR	Nº BR
123	B	RL	1
15	B	RL	2
130	B	RL	3
61	B	RL	4
68	B	RL	5
62	B	RL	8
87	B	RL	8
97	B	RL	8
S/N (33)	B	RL	8
6	B	RL	9
29	B	RL	12
119	B	RL	12
118	B	RL	15
126	B	RL	15
115	B	RL	17
9	B	RL	18
22	B	RL	28

Nota. Nº PL: número de planta, CL: clon, TR: tratamiento, Nº BR: número de brotes.

Anexo J

Brotes obtenidos del clon A expuesto al tratamiento control con FS

Nº PL	Clon	Tratamiento	Nº de brotes
78	A	FS	2
106	A	FS	7
59	A	FS	8
100	A	FS	11
58	A	FS	12
1	A	FS	12
57	A	FS	14
46	A	FS	14
104	A	FS	16
103	A	FS	16
37	A	FS	16
47	A	FS	19
28	A	FS	21
25	A	FS	23
43	A	FS	24
48	A	FS	28
11	A	FS	38

Nota. Nº PL: número de planta, CL: clon, TR: tratamiento, Nº BR: número de brotes.

Anexo K

Número de brotes obtenidos del clon B expuesto al tratamiento control con FS

N° PL	CL	TR	N° BR
101	B	FS	0
32	B	FS	0
70	B	FS	1
66	B	FS	4
65	B	FS	4
111	B	FS	5
99	B	FS	6
39	B	FS	6
31	B	FS	6
7	B	FS	6
85	B	FS	7
36	B	FS	8
107	B	FS	9
19	B	FS	9
131	B	FS	17
74	B	FS	17
27	B	FS	25
26	B	FS	25

Nota. N° PL: número de planta, CL: clon, TR: tratamiento, N° BR: número de brotes.

Anexo L

Número de estacas vivas y muertas, enraizadas o con presencia de callo, en cada clon y cada tratamiento lumínico

TR	CL	RE	VI	MU	RA	CA
FS	A	1	22	16	11	0
FS	A	2	21	16	5	2
FS	A	3	25	13	13	2
FS	B	1	26	17	8	3
FS	B	2	22	18	12	5
FS	B	3	20	21	12	0
RL	A	1	33	10	4	1
RL	A	2	38	5	6	2
RL	A	3	38	5	5	4
RL	B	1	26	19	16	2
RL	B	2	33	11	23	5
RL	B	3	28	14	13	11

Nota. TR: tratamiento, CL: clon, RE: repetición, VI: vivas, MU: muertas, RA: raíz, CA: callo.

Anexo M

Fotografía de callo en estaca de E. dunnii



Nota. Fotografía tomada en laboratorio Forestal con lente óptico.

Anexo N

Raíz en estaca de E. dunnii



Nota. Fotografía tomada en laboratorio al momento del levantamiento de estacas de *E. dunnii* con suplementación RL.

Anexo O

Plantas madre de E. dunnii expuestas a RL



Nota: Fotografía de entrenudos de plantas madre de *E. dunnii* en la cámara suplementada con RL, en la parte superior se observa la luminaria led RL.

Anexo P*Plantas madre de E. dunnii*

Nota. Fotografía de plantas madre previo al momento del corte de estacas, en la derecha A y B expuestas a luz FS, a la izquierda A y B expuestas a luz RL.