

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE AGRONOMÍA**

**REGULACIÓN DE LA RIZOGÉNESIS ADVENTICIA EN CLONES
RECALCITRANTES DE *EUCALYPTUS DUNNII* A TRAVÉS DE LA
APLICACIÓN DE AUXINA EXÓGENA**

por

Leopoldo TORRES D'ERRICO

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

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2026**

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. (Dra.) Silvia Ross

Ing. Agr. (Dr.) Jaime González Tálce

Ing. Agr. (Mag.) Laura López

Fecha:

21 de setiembre de 2026

Estudiante:

Leopoldo Torres D'Errico

Tabla de contenido

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	3
LISTA DE FIGURAS.....	5
RESUMEN.....	6
ABSTRACT	7
1 INTRODUCCIÓN	8
1.1 HIPÓTESIS	9
1.2 OBJETIVO GENERAL	9
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	9
2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1 GÉNERO <i>Eucalyptus</i> Y SU IMPORTANCIA PRODUCTIVA.....	10
2.2 CARACTERÍSTICAS DE <i>Eucalyptus dunnii</i>	11
2.3 VIVERO FORESTAL	11
2.4 RAÍCES ADVENTICIAS.....	12
3 MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1 MATERIAL VEGETAL.....	18
3.2 TRATAMIENTOS CON AUXINA	19
3.3 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL	19
3.4 ESTRUCTURA RADICAL.....	21
3.5 EXPRESIÓN RELATIVA DEL GEN <i>TIR1</i>	22
3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	23
4 RESULTADOS.....	25
4.1 PORCENTAJE DE ENRAIZAMIENTO	25
4.2 ESTRUCTURA RADICAL.....	26
4.3 EXPRESIÓN RELATIVA DE <i>TRANSPORT INHIBITOR 1 (TIR1)</i> . 27	
5 DISCUSIÓN.....	29
5.1 LA APLICACIÓN EXÓGENA DE AUXINA MEJORA LA PROPORCIÓN DE ENRAIZAMIENTO DEPENDIENDO DEL CLON	29
5.2 LA APLICACIÓN EXÓGENA DE AUXINA INCIDE EN LOS PARÁMETROS DE LA ARQUITECTURA RADICAL.....	31
5.3 EXPRESIÓN RELATIVA DEL GEN <i>TIR1</i>	35
6 CONCLUSIONES	38
7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura N°	Página
Figura 1 Miniestaca de <i>Eucalyptus dunnii</i>	19
Figura 2 Rizotrón con sus unidades experimentales de Clon A y B.....	20
Figura 3 Diferenciación morfológica de callo y raíz.....	21
Figura 4 Secuencias de primers utilizados para la cuantificación de la expresión relativa de <i>ACT2</i> y <i>TIR1</i>	22
Figura 5 Porcentaje de enraizamiento de clones A y B según tratamiento hormonal.....	26
Figura 6 Arquitectura radicular.....	27
Figura 7 Expresión relativa de <i>TIR</i> a las 24 horas de cada clon con su tratamiento.....	28

RESUMEN

En la actualidad, *Eucalyptus dunnii* se ha convertido en una de las especies forestales más relevantes en Uruguay, gracias a su rápido crecimiento y su capacidad para adaptarse a temperaturas bajas. Sin embargo, tiene algunas limitantes, especialmente en lo que respecta a la propagación clonal, debido a su dificultad al enraizamiento adventicio. Este estudio se centró en evaluar cómo diferentes auxinas exógenas afectan el enraizamiento de miniestacas de *Eucalyptus dunnii*, así como algunos de los mecanismos biomoleculares que están involucrados en este proceso. Se trabajó con dos clones que presentan distintas capacidades de enraizamiento, se evaluaron cuatro tratamientos: control, ácido indol-3-butírico (AIB), ácido naftalenacético (ANA) y la mezcla de AIB+ANA. Se midió el porcentaje de enraizamiento y se analizaron variables relacionadas con la estructura de las raíces, como el número y la longitud de las mismas. Además, se estudió la expresión del gen *Transport Inhibitor Response 1* (TIR1) a través de RT-qPCR en el control y la mezcla. Los resultados indicaron que la respuesta a las auxinas exógenas variaba según el clon analizado. En el clon A, la combinación de AIB+ANA mostró los mejores resultados, incrementando tanto el porcentaje de raíces adventicias como el desarrollo del sistema radical. En el clon con B, no se encontraron diferencias significativas, aunque se notó una tendencia positiva con el tratamiento combinado. A nivel molecular, se observó una tendencia expresión inicial de TIR1 tras la aplicación hormonal. En resumen, los hallazgos subrayan la relevancia de las auxinas en la regulación del enraizamiento adventicio y sugieren que la combinación de AIB y ANA podría ser una alternativa prometedora para mejorar la propagación clonal de *Eucalyptus dunnii*.

Palabras clave: AIB, ANA, clon, expresión génica, propagación clonal

ABSTRACT

Currently, *Eucalyptus dunnii* has become one of the most relevant forest species in Uruguay due to its rapid growth and ability to adapt to low temperatures. However, it presents some limitations, particularly regarding clonal propagation, due to its difficulty in adventitious rooting. This study aimed to evaluate how different exogenous auxins affect the rooting of *Eucalyptus dunnii* mini-cuttings, as well as some of the molecular mechanisms involved in this process. Two clones with contrasting rooting capacities were used, and four treatments were evaluated: control, indole-3-butyric acid (IBA), naphthaleneacetic acid (NAA), and the IBA+NAA mixture. Rooting percentage was measured, and variables related to root structure, such as root number and length, were analyzed. Additionally, the expression of the Transport Inhibitor Response 1 (TIR1) gene was evaluated by RT-qPCR in the control and IBA+NAA treatments. The results indicated that the response to exogenous auxins varied depending on the clone analyzed. In the clone A, the IBA+NAA combination showed the best results, increasing both adventitious root formation and root system development. In the clone B, no significant differences were found, although a positive trend was observed with the combined treatment. At the molecular level, an initial expression trend of TIR1 was observed after hormonal application. In conclusion, these findings highlight the relevance of auxins in the regulation of adventitious rooting and suggest that the combination of IBA and NAA could be a promising alternative for improving clonal propagation of *Eucalyptus dunnii*.

Keywords: IBA, NAA, clone, gene expression, clonal propagation

1 INTRODUCCIÓN

Eucalyptus constituye el género forestal más plantado en Uruguay, destacándose por su rápida tasa de crecimiento, su elevada producción de biomasa y su adaptación a los sitios de prioridad forestal (Martín, 2024). Dentro de este género, *Eucalyptus dunnii* es actualmente la especie con mayor superficie efectiva plantada en el país (Martín, 2024). En la industria forestal, la propagación vegetativa mediante el uso de mini estacas comienza a superar en relevancia al uso de semilla (Boscana, 2023), lo que permite multiplicar materiales seleccionados y mantener características productivas deseables (Griffin, 2014). De esta forma se mejoran las ganancias genéticas en la selección, se garantiza un desarrollo uniforme, se preserva la identidad y la alta calidad de los genotipos plantados lo cual tiene una gran relevancia para estandarizar la producción (Grattapaglia & Kirst, 2008; Grattapaglia et al., 2012). Sin embargo, *E. dunnii* presenta dificultades en su propagación vegetativa ya que al ser recalcitrante (Park et al., 2016; Trueman et al., 2013) la formación de raíces adventicias se ve disminuida lo que constituye el principal cuello de botella en el proceso de propagación clonal, limitando la eficiencia en la producción de plantas.

El éxito de la propagación clonal depende del proceso de rizogénesis adventicia, el cual está ligado al metabolismo de carbono y de las auxinas (Druege, 2009). Las auxinas desempeñan un rol central en la regulación participando en la reprogramación celular necesaria para la formación de raíces adventicias (da Costa et al., 2013). La acción de las auxinas y sus interacciones pueden ser moduladas durante la etapa del estaquillado mediante su aplicación exógena, lo que en numerosas especies leñosas ha demostrado incrementar la formación de raíces adventicias y mejorar el porcentaje de enraizamiento (Brondani et al., 2010; Sansberro et al., 2001; Trueman et al., 2018). Si bien la respuesta al agregado de auxinas es beneficiosa, la magnitud del efecto depende de factores como la especie, el genotipo, el tipo de estaca, la concentración y la forma de auxina utilizada, por lo que resulta necesario evaluar cuál es el tratamiento más adecuado en cada caso.

Atendiendo la importancia del cultivo forestal y las limitantes en cuanto a su propagación, el presente trabajo tiene como objetivo estudiar los cambios en el enraizamiento que ocurren en dos clones comerciales de *Eucalyptus dunnii* frente al agregado exógeno de diferentes soluciones de auxina. Los ensayos se realizaron en cámara en condiciones controladas y se evaluó el porcentaje de enraizamiento en función

de diferentes soluciones de auxina. Una vez definido cuál era el tratamiento, se repitió el ensayo únicamente con la hormona seleccionada para evaluar los cambios en la arquitectura radical y en la sensibilidad de los tejidos a la auxina medido a través de la expresión relativa del gen *TIR1*. Los resultados de esta investigación podrían servir de base para generar recomendaciones más efectivas para la propagación de *E. dunnii*.

1.1 HIPÓTESIS

El agregado exógeno de auxinas (AIB, ANA y la MEZCLA) incrementa el porcentaje de enraizamiento adventicio en comparación con el tratamiento testigo.

El agregado exógeno de auxinas modifica el número de raíces y la arquitectura radicular.

El mayor porcentaje de enraizamiento observado en los tratamientos con auxinas exógenas se debe a cambios inducidos en la sensibilidad tras la aplicación.

1.2 OBJETIVO GENERAL

Evaluar los cambios en la capacidad de enraizamiento debidos a la aplicación exógena de diferentes formas de auxina en dos clones de *E. dunnii* que difieren en la capacidad de enraizamiento.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Evaluar el porcentaje de enraizamiento de miniestacas de *Eucalyptus dunnii* bajo los distintos tratamientos con auxinas exógenas (AIB, ANA y su combinación).

b) Determinar el efecto de la aplicación de auxinas exógenas sobre la estructura radicular de miniestacas de *Eucalyptus dunnii*, comparando tratamientos con y sin auxinas mediante la medición de variables morfológicas como número y longitud.

c) Analizar cambios en la expresión relativa del receptor de auxinas TIR1 ante el agregado exógeno.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 GÉNERO *Eucalyptus* Y SU IMPORTANCIA PRODUCTIVA

La superficie forestal a nivel mundial alcanza los 4.060 millones de hectáreas (ha), de las cuales aproximadamente 131 millones corresponden a bosques plantados, concentrándose el 99% de estos en América del Sur (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2020). En Uruguay, la superficie efectiva de bosques implantados es de 1.085.000 hectáreas, lo que representa el 56% del total si se consideran tanto los bosques plantados como los nativos (Martín, 2024). La mayor proporción de estas plantaciones se ubica en los departamentos de Paysandú, Río Negro, Rivera y Tacuarembó (Martín, 2024).

Dentro de las especies más utilizadas en el país se destacan *Eucalyptus dunnii* y *Eucalyptus grandis*, junto con sus híbridos y clones, los cuales cumplen un rol clave en la producción de pulpa de celulosa y en distintos usos estructurales de la madera (Martín, 2024).

El género *Eucalyptus* comprende plantas leñosas de hoja perenne pertenecientes a la familia Myrtaceae, mayoritariamente originarias del continente australiano (Brussa, 1994). Se distinguen por su rápido crecimiento, por sus productos de calidad y sobre todo por su capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales y edáficas lo que popularizó su uso a nivel mundial (Brussa, 1994).

Existen diferencias interespecíficas e intraespecíficas en la capacidad de formar raíces adventicias, lo que determina la facilidad de propagación clonal y su producción a escala comercial. En términos generales, se consideran de bajo enraizamiento aquellos clones que presentan porcentajes inferiores al 70% (Griffin, 2014). Especies como *Eucalyptus grandis* y *E. urophylla* son ampliamente reconocidas por su elevada capacidad de enraizamiento, mientras que *E. benthamii*, *E. globulus*, *E. nitens* y *E. dunnii* presentan un comportamiento más recalcitrante y requieren estrategias específicas para mejorar su propagación vegetativa (Brondani, Wit Ondas, et al., 2012; Trueman et al., 2018).

2.2 CARACTERÍSTICAS DE *Eucalyptus dunnii*

Eucalyptus dunnii es una especie originaria del centro-este de Australia, donde se desarrolla bajo condiciones de bajas temperaturas (entre 2 y 5 °C), con la ocurrencia de hasta 60 heladas anuales y precipitaciones estivales que oscilan entre 1000 y 1600 mm (Boland et al., 2006). Estas condiciones de origen le confieren una destacada tolerancia al frío, lo que la convierte en una especie apta para su cultivo en Uruguay. En este contexto, se posiciona como una de las especies de mayor productividad evaluadas en el país, presentando además una mayor resistencia a las heladas en comparación con *Eucalyptus grandis*. Por otro lado, su madera se caracteriza por un alto contenido de celulosa y bajos niveles de lignina, lo que la hace especialmente adecuada para la producción de pulpa de celulosa (Balmelli & Resquín, 2006).

El principal problema que enfrenta esta especie es su bajo porcentaje de enraizamiento, que oscila entre 2 y 22%. Esto pone de manifiesto su naturaleza recalcitrante y las dificultades que tiene para desarrollar raíces adventicias (RA) (Baker & Walker, 2006; Trueman et al., 2013). Esta limitación representa un desafío importante, ya que se traduce en un aumento considerable de los costos de producción y en mayores necesidades de infraestructura en los viveros forestales.

2.3 VIVERO FORESTAL

Un vivero es un área de terreno relativamente pequeña donde se producen plantas a partir de semillas, estacas o esquejes, las cuales se mantienen y cuidan hasta alcanzar un desarrollo adecuado para su plantación en el sitio definitivo (González Pino & Chifflet de Garat, 1980).

En la actualidad una de las técnicas más utilizadas en viveros forestales consiste en la generación de plantas madre que se manejan en condiciones intensivas de poda y ambiente controlado para favorecer la producción de brotes, que posteriormente se cortan para formar mini estacas que se disponen a enraizar en ambientes de alta humedad relativa (de Assis et al., 2004). De esta manera el material se mantiene juvenil y se mejora la capacidad de enraizamiento (de Assis et al., 2004).

2.4 RAÍCES ADVENTICIAS

2.4.1 Rizogénesis adventicia

Las raíces adventicias (RA) son raíces post embrionarias que se forman a partir de tallos, hojas u otros tejidos que no son raíz (Li et al., 2009). Las mismas se generan en condiciones normales, pero también ante una condición de estrés lo que les ha permitido a las plantas adaptarse a diversos escenarios como inundaciones, falta de nutrientes o daños mecánicos por corte (Steffens & Rasmussen, 2016). Durante la formación de las raíces adventicias ocurren una serie de cambios complejos en los que se pueden identificar tres etapas reguladas por factores tanto internos como externos (De Almeida et al., 2017). Las etapas se definen como inducción, iniciación y expresión o elongación (da Costa et al., 2013; de Klerk et al., 1999). La fase de inducción se distingue por una reprogramación celular que no muestra divisiones celulares visibles. A partir del corte se genera un desbalance en las especies reactivas del oxígeno, junto con un aumento en los niveles de auxinas en las células cercanas a la herida próximas a los tejidos de conducción. Al mismo tiempo, las hormonas antagonistas de las auxinas como las citoquininas y las strigolactonas disminuyen. También se eleva el contenido de otros compuestos como polifenoles, óxido nítrico y sulfuro de hidrógeno. Las auxinas producidas en el ápice se acumulan en la base del esqueje vía transporte polar, un proceso que se ve favorecido por los polifenoles que ayudan a limitar su degradación. En conjunto, las auxinas, el óxido nítrico y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) contribuyen al aumento de carbohidratos en la base de la estaca, que sirven como fuente de energía para el proceso (Steffens & Rasmussen, 2016). Finalmente, la acumulación de auxinas determina qué células y tejidos recuperan la capacidad para iniciar la formación de raíces adventicias y definir el nuevo meristema de raíz (da Costa et al., 2013; Steffens & Rasmussen, 2016).

En la fase de iniciación, las células poco diferenciadas que se encuentran cerca de los tejidos vasculares comienzan a dividirse. Durante este tiempo, la producción de auxinas y su transporte disminuyen mientras que su degradación oxidativa aumenta, lo que lleva a una reducción en su concentración local (da Costa et al., 2013). Una vez que se forma el nuevo meristema radicular, este inicia su crecimiento (da Costa et al., 2013; Nión et al., 2026).

Finalmente, en la fase de elongación, se establece la conexión vascular entre los tejidos de la estaca y el meristema en desarrollo. El primordio radicular sigue creciendo hasta que emerge como una nueva raíz (da Costa et al., 2013). En esta etapa, el etileno juega un papel crucial como regulador del desarrollo y de la senescencia celular, promoviendo la separación de las células que rodean al primordio radical, como consecuencia del remodelado e hidrólisis de sus paredes celulares, lo que facilita la emergencia de la raíz (da Costa et al., 2013).

2.4.2 Rol de las auxinas

Las auxinas son unas de las principales hormonas reguladoras del crecimiento y desarrollo vegetal, participando en procesos como la división celular, la elongación, la diferenciación de tejidos y la formación de raíces adventicias (Taiz et al., 2015). A nivel celular, induce respuestas rápidas que incluyen la polarización de la membrana plasmática, la activación de las H⁺-ATPasas, la acidificación del apoplasto, el ablandamiento de la pared celular y la regulación de la expresión génica (Scherer, 2011). Este ambiente ácido favorece la actividad de proteínas expansinas que debilitan las uniones entre los componentes de la pared celular sin degradarla, permitiendo que la presión de turgencia expanda las células (Sampedro & Cosgrove, 2005). Como consecuencia, la auxina favorece la progresión de los procesos de diferenciación requeridos para la organogénesis y el establecimiento de nuevos meristemas radicales (Steffens & Rasmussen, 2016).

La formación de raíces adventicias (RA) está profundamente influenciada por las auxinas y los carbohidratos, ya que ambos juegan un papel clave en la señalización, la regulación génica y el suministro de energía que se necesita para desarrollar nuevas raíces (Druege, 2009; Rolland et al., 2006). La auxina es la fitohormona más crucial en la formación y regulación del crecimiento de las raíces adventicias. Se relaciona con varios componentes, como azúcares, minerales, enzimas y otros metabolitos, que actúan como mediadores en los procesos de señalización y transducción de señales necesarios para la formación de RA (Li et al., 2009). En particular tienen un rol promotor en la rizogénesis, especialmente durante la fase de inducción ya que estimulan las células en la base del esqueje que participan en la formación del meristema de raíz (Garrido et al., 2002). Sin embargo, luego de reprogramado el meristema su concentración elevada puede inhibir el crecimiento de los primordios radicales (da Costa et al., 2013; de Klerk et al., 1999). Dada

su importancia, algunos trabajos estudiaron el contenido endógeno de AIA en relación a la capacidad de enraizamiento y se observó que materiales más fáciles de propagar presentan mayor contenido endógeno de AIA. Negishi et al. (2011) notaron que las líneas de *E. globulus* que enraízan fácilmente tienen niveles de AIA que duplican el de los más recalcitrantes, mientras que De Almeida et al. (2015) evidenciaron que *E. grandis*, menos recalcitrante que *E. globulus*, presenta un contenido endógeno de AIA mayor, lo que está relacionado con mejoras en el enraizamiento.

Si bien la concentración de una hormona en un tejido depende de su biosíntesis, degradación y formación de conjugados, el transporte polar de auxinas desde los tejidos en activa división como el ápice hacia la base tiene un rol central (Druege et al., 2004). El transporte polar de auxina consiste en el movimiento direccional de la hormona a través del parénquima vascular, mediado por transportadores de eflujo de la familia PIN, cuya localización polar en la membrana plasmática determina la dirección del transporte (Taiz et al., 2015). Diversos trabajos muestran que durante las primeras horas tras el corte de la estaca se incrementa la abundancia relativa de transcritos de diferentes genes *PIN*, favoreciendo la acumulación local de auxina en la base de la misma. Este gradiente hormonal constituye una señal clave para la reprogramación celular y el establecimiento de un nuevo meristemo radical (De Almeida et al., 2015; Nión et al., 2026; Ruedell et al., 2013).

La regulación cruzada entre las auxinas y otras hormonas o moléculas de señalización tiene un impacto directo e indirecto en la formación de raíces adventicias. La interacción con otras fitohormonas, como las citoquininas, giberelinas, ácido abscísico, etileno, strigolactonas, brasinoesteroides y jasmonatos, así como con moléculas señalizadoras como el ácido salicílico y el óxido nítrico, puede influir tanto en la formación de raíces adventicias como en la regulación de la biosíntesis, el transporte y la señalización de las auxinas (Pacurar et al., 2014).

2.4.3 Percepción de las auxinas

La acción hormonal, no solo depende del balance local, sino también de la sensibilidad de los tejidos blanco. Se reconocen dos tipos principales de receptores de auxina denominados *ABPI* y las proteínas *TIR1/AFB* (F-box de señalización de auxina). Los miembros de la familia *TIR1/AFB* son proteínas que forman complejos nucleares,

que son responsables de dirigir la degradación de las proteínas Aux/IAA (Gray et al., 2001). Las proteínas Aux/IAA bloquean los factores de transcripción *ARFs* (*Auxin responsive Factors*), lo que reprime la expresión de genes sensibles a la auxina. Cuando la auxina se une a *TIR1/AFB*, la afinidad de estos complejos por las proteínas Aux/IAA aumenta considerablemente. Esto las marca y provoca la ubiquitinación de Aux/IAA y su posterior degradación por el proteasoma 26S, lo que libera la actividad transcripcional de los *ARFs* y permite la expresión de genes regulados por auxina (Chapman & Estelle, 2009; Dos Santos Maraschin et al., 2009; Tan et al., 2007). La familia TIR1/AFB está formada por seis miembros en *Arabidopsis* (*TIR1* y AFB1–5), todos ellos capaces de unirse de manera específica a la auxina y de interactuar con las proteínas Aux/IAA cuando esta hormona está presente (Mockaitis & Estelle, 2008) sin embargo, *TIR1* y *AFB2* son los que tienen mayor afinidad por las proteínas Aux/IAA.

En el caso de la proteína ABP1, su unión a la hormona es muy específica y depende del pH. Durante mucho tiempo no se entendió bien su función en la señalización, ya que los mutantes nulos resultan letales en el estado embrionario lo que dificulta su estudio (Tromas et al., 2010). Sin embargo, mutantes nulos de *TIR1/AFB* demostraron que la percepción nuclear de la auxina y la degradación de las proteínas Aux/IAA no son suficientes para explicar todas las respuestas celulares que dependen de la auxina (Dharmasiri et al., 2005). Es por eso que se sugiere que ABP1, que se encuentra en la membrana plasmática, actúa como un receptor extracelular que está asociado a respuestas rápidas de auxina en la membrana y el citosol (Shi & Yang, 2011). Estas respuestas incluyen cambios rápidos en la polarización de la membrana, la entrada de K⁺, un aumento del Ca²⁺ en el citosol y la activación de diversas vías de señalización celular (Tromas et al., 2010). Teniendo en cuenta ambos tipos de receptores, Scherer (2011) propuso que ABP1 parece estar más relacionado con respuestas rápidas y con la regulación del transporte de auxina mientras que TIR1/AFB se encargaría principalmente de respuestas transcripcionales más lentas, que están asociadas a procesos de desarrollo a largo plazo.

2.4.4 Aplicación exógena de auxinas

El efecto positivo de las auxinas exógenas en el enraizamiento adventicio se debe a su habilidad para complementar los niveles endógenos de AIA (Pop et al., 2011). Esto provoca una reprogramación tanto fisiológica como molecular en la base de la estaca.

Este proceso incluye la activación de la vía de señalización que involucra los receptores TIR1/AFB y los factores de respuesta a auxina (*ARFs*), la creación de picos locales de auxina a través del transporte polar, así como cambios en el metabolismo y la redistribución de carbohidratos. Todos estos procesos, en conjunto, favorecen la iniciación y el desarrollo de las raíces adventicias (Chapman & Estelle, 2009; De Almeida et al., 2017; Druege, 2009).

Muchos estudios han explorado la aplicación externa de esta hormona como una forma de potenciar la capacidad de enraizamiento, especialmente en especies o genotipos recalcitrantes (Copes & Mandel, 2000; Ross et al., 2021; Yusnita et al., 2018). Las auxinas son moléculas con una estructura molecular sencilla, que se caracterizan por tener un anillo aromático conectado a un grupo carboxilo. Esta disposición estructural es reconocida por los receptores de auxina, lo que inicia una serie de respuestas fisiológicas y moleculares que son clave para el crecimiento y desarrollo de las plantas (Taiz et al., 2015). La simplicidad de su estructura ha facilitado la creación de varios análogos sintéticos con actividad auxínica, como el ácido indol-3-butírico (AIB), el ácido naftalenacético (ANA), el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y el picloram. En este sentido, muchas investigaciones se han enfocado en determinar cuál es el tipo de auxina y la concentración más adecuada para maximizar la respuesta de enraizamiento (Brondani et al., 2010; Copes & Mandel, 2000; Fogaça & Fett-Neto, 2005; Yusnita et al., 2018).

Numerosos resultados obtenidos indican que la aplicación externa de auxinas, aumenta el porcentaje de enraizamiento y mejora la calidad del sistema radical al modificar variables como el número de raíces por estaca (de Klerk et al., 1999; Fogaça & Fett-Neto, 2005; Yusnita et al., 2018). Sin embargo, la magnitud de esta respuesta varía según la especie, el genotipo y el tipo de auxina utilizado. Por ejemplo, Yusnita et al. (2018) observaron que el ANA favoreció una mayor formación de raíces en comparación con el AIB en *Syzygium malaccense*, mientras que Ross et al. (2021) reportaron que el AIB aumentó significativamente el porcentaje de enraizamiento en *Acca sellowiana*, aunque no afectó el número de raíces. Cheng et al. (1992) concluyen que la combinación de AIB y ANA generó un sistema radicular de mejor calidad que la aplicación individual de cada auxina en *Eucalyptus sideroxylon*. Estos hallazgos subrayan que optimizar el tipo de auxina y su concentración es fundamental para maximizar tanto el porcentaje de enraizamiento como la calidad de la arquitectura radicular. En el mismo sentido Yusnita et al. (2018) estudiaron los efectos individuales y conjuntos de AIB y de ANA en manzana

y concluyeron que el mejor desempeño en términos de porcentaje de enraizamiento, tiempo a enraizamiento y arquitectura radicular se logran colocando 1000 ppm de AIB + 1000 ppm de ANA.

Si bien los trabajos citados mencionan el efecto sinérgico y beneficioso de la mezcla de AIB y ANA, los mecanismos bioquímico-fisiológicos no han sido descritos. Se sabe que el AIB se metaboliza a AIA para tener acción biológica, mientras que el ANA tiene acción auxínica directa sin ser precursor de AIA (Kepinski, 2007). Por otro lado, Liu et al. (1996) evidenciaron que estacas de soja tratadas con ANA disminuyen significativamente la actividad AIA oxidasa, lo que protege el AIA. Sin embargo, los mecanismos específicos que explican cómo interactúan estas auxinas aún no están del todo claros.

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL.

En el vivero del centro de investigaciones forestales de UPM ubicado en San Fco.no.38 y Cno.autobalsa 415, 60000 Nuevo Paysandú, Departamento de Paysandú, se seleccionaron plantas madre coetáneas de aproximadamente un año de dos clones de *Eucalyptus dunnii* que difieren en su capacidad de enraizamiento. Los mismos se denominaron Clon A con 50% de enraizamiento y Clon B con 30%. Las plantas se dispusieron en macetas de 2 litros, utilizando como sustrato corteza de pino compostada con Microcote®. El riego se realizó diariamente a demanda con solución fertilizante compuesta por microelementos con quelato de hierro, MKP, nitrato de calcio, sulfato de magnesio, sulfato de amonio y cloruro de potasio. La conductividad eléctrica de la solución se ajustó a un rango de 1,8–2 dS m⁻¹, medida mediante un conductímetro marca Oakton, modelo EcoTestr EC1.

Las plantas se mantuvieron bajo condiciones controladas de cámara, con una humedad relativa entre 50–70%, una temperatura constante de 26 °C (tanto de día como de noche) y un fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Se utilizaron luminarias Nanolux LED RG Fixture 320W®, que proporcionaron un flujo lumínico de 360 μmol de fotones m⁻² s⁻¹ comprendido entre 400 y 800 nm. La densidad de plantas fue de 22 individuos por cámara (11 por cada clon). Una vez cosechados los brotes, se confeccionaron miniestacas de aproximadamente 12–15 cm de longitud, conservando entre dos y tres nudos y el ápice intacto. Posteriormente, se redujo la superficie foliar para disminuir la pérdida de agua por transpiración: en las hojas basales se eliminó la mayor parte del limbo, en las hojas de la parte media se redujo ligeramente más de la mitad de su superficie y, en las hojas apicales aún en desarrollo, la reducción se realizó en función de su tamaño, manteniéndolas completas o recortándolas parcialmente cuando fue necesario (Figura 1). Se dispusieron en cámaras con cama caliente de 22,2 ± 0,5 °C, humedad relativa de 92,7 ± 5,7% y temperatura ambiente de 21,3 ± 1,6 °C. El fotoperíodo fue de 12 h de luz y 12 h de oscuridad, utilizando luminarias Nanolux® atenuadas a 240 μmol de fotones m⁻² s⁻¹.

Figura 1*Miniestaca de Eucalyptus dunnii*

Nota. La imagen corresponde a una miniestaca representativa utilizada en los ensayos de enraizamiento.

3.2 TRATAMIENTOS CON AUXINA

Una vez cosechadas las plantas madre se formaron mini estacas a las que les aplicaron distintas soluciones de auxina. Los tratamientos evaluados fueron: un testigo con agua (H₂O), AIB a 2000 ppm, ANA a la misma concentración, y una mezcla de ambas auxinas en proporción 50:50 con una concentración final de 2000 ppm (1000 ppm de cada auxina). La concentración de auxina utilizada se definió en base al trabajo de Brondani, Wendling, et al., (2012) que trabajó con el híbrido *E. dunnii* x *E. benthami* al que le aplicó 2000 ppm de AIB. Con ese valor de referencia se calculó la concentración molar y se hicieron las soluciones de las demás formas de auxina. La aplicación se hizo mediante inmersión de la base de las miniestacas durante 10 segundos en soluciones hidroalcohólicas (50/50), buscando una absorción rápida y homogénea.

3.3 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL

Se realizaron dos experimentos consecutivos. El primer ensayo consistió en la evaluación de todos los tratamientos hormonales (AIB, ANA y AIB + ANA) con el fin de identificar el tratamiento que mejorara la capacidad de enraizamiento de las estacas. A partir de los resultados obtenidos, se seleccionó la mezcla de AIB + ANA (1000 ppm de cada auxina; 2000 ppm en total) para el segundo experimento. Este consistió en la comparación entre un tratamiento control (H₂O) y la mezcla de auxinas, con 26 estacas por unidad experimental, tres repeticiones por tratamiento y clon. En este ensayo se

realizaron las determinaciones morfológicas de la raíz y la cuantificación de la expresión relativa del gen *TIR1*.

Para el primer ensayo se utilizaron 12 rizotrones, cada uno con dos unidades experimentales constituidas por 10 estacas de los clones A y B, respectivamente. En cada rizotrón ambos clones fueron sometidos al mismo tratamiento (Figura 2). Se evaluaron cuatro tratamientos, con tres repeticiones biológicas por tratamiento, bajo un diseño completamente al azar.

Figura 2

Rizotrón con sus unidades experimentales de Clon A y B



Nota. Fotografía de un rizotrón utilizado en el primer ensayo. Cada rizotrón estuvo conformado por dos unidades experimentales independientes de 10 estacas, correspondientes a los clones A y B. Ambas unidades experimentales recibieron el mismo tratamiento.

Transcurrido el período de enraizamiento (1 mes), se determinó el porcentaje de enraizamiento (ENR%). Para ello, se contabilizó el número total de estacas vivas y muertas, considerando como muertas aquellas con ápice y/o tallo necrosado. Sobre las estacas vivas se evaluó la presencia de raíces. Aquellas que no presentaban raíces visibles a simple vista fueron observadas bajo lupa óptica Nikon (SMZ745) para determinar la presencia de raíces, callo o ausencia de ambos. La diferenciación entre callo y raíz se basó en criterios morfológicos y de color: el callo presentó una coloración crema amarillenta y una organización celular amorfa, mientras que la raíz mostró una estructura más

uniforme y color blanquecino (Figura 3) (Ikeuchi et al., 2013). El porcentaje de enraizamiento se calculó como la proporción de estacas con raíces respecto al total de estacas dispuestas a enraizar.

Figura 3

Diferenciación morfológica de callo y raíz



Nota. A la izquierda se muestra una estaca que desarrolló únicamente tejido cicatricial (callo) en la base, sin formación de raíces adventicias. A la derecha se presenta una estaca que desarrolló raíces adventicias durante el período experimental.

En el segundo ensayo se trabajó únicamente con el tratamiento seleccionado (2000 ppm AIB+ANA). Las miniestacas se colocaron en tubetes plásticos rectangulares de $7 \times 7 \times 15$ cm (dispuestos en una matriz de 8×13), utilizando el mismo sustrato que en las plantas madre. En total se armaron 12 unidades experimentales de 26 estacas cada una que comprenden tres repeticiones de las combinaciones de clon (Clon A y Clon B) por tratamiento (Agua y AIB + ANA).

3.4 ESTRUCTURA RADICAL

Para la evaluación de la estructura radicular, las estacas fueron extraídas al finalizar el período de enraizamiento y cuidadosamente lavadas para remover el sustrato adherido a las raíces. Posteriormente, se registró el número de raíces adventicias emitidas por cada estaca y se determinó la longitud de las raíces mediante medición manual utilizando una regla milimetrada.

Las variables analizadas incluyeron número total de raíces por estaca y longitud de la raíz más larga, comparándose las estacas control con aquellas tratadas con la combinación exógena de ANA + AIB.

3.5 EXPRESIÓN RELATIVA DEL GEN *TIR1*

El ARN total fue extraído de los 20 mm basales de las estacas muestreadas a las 0 y 24 h después de la aplicación de los tratamientos, utilizando el kit RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemania) y tratado con DNasa I libre de RNasas (Thermo Scientific™, Waltham, MA, EE. UU.). La calidad del ARN fue verificada mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, y la concentración se midió utilizando un espectrofotómetro NanoDrop Lite (Thermo Scientific).

La síntesis de ADNc de primera cadena se realizó utilizando 500 ng de ARN total con el kit RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific™) y primers oligo(dT). El ADNc resultante fue diluido 1:50 en agua libre de nucleasas antes de su uso.

Las reacciones de PCR se realizaron en un sistema QuantStudio™ Real-Time PCR System de 96 pozos y 0,1 mL (Applied Biosystems™, Waltham, MA, EE. UU.), utilizando el kit Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) (Thermo Scientific™) en un volumen final de 10 µL. Cada muestra fue analizada con tres réplicas biológicas y tres técnicas.

Los primers para el gen objetivo y el normalizador *Actina* (*ACT*) fueron sintetizados por Macrogen (Seúl, Corea del Sur) basándose en las secuencias publicadas por Nión et al. (2026) (Figura 4).

Figura 4

Secuencias de primers utilizados para la cuantificación de la expresión relativa de ACT2 y TIR1

<i>ACT2</i>	GCACCGCCAGAGAGGAAATA	CGACTTTGTTGGATTAGAAAGCAC
<i>TIR1</i>	GTGCCACTATGGTGTCGTGA	AGCTCAGCCAAGTGCAAT

Los niveles relativos de expresión génica se determinaron para cada clon por separado utilizando el método comparativo de Ct ($\Delta\Delta C_t$) (Livak & Schmittgen 2001;

Ni3n et al., 2026). Los resultados se presentan como log2 de la expresi3n relativa al momento cero en la condici3n control.

3.6 AN3LISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron analizados utilizando el software RStudio (Version 2026.01.0+392). Para cada variable de respuesta, se ajustaron modelos lineales generalizados (GLM), eligiendo la distribuci3n que mejor se ajustara a los datos (gaussiana, Poisson o binomial negativa, seg3n fuera necesario).

El modelo consider3 como fuentes de variaci3n el efecto del clon, el efecto del tratamiento hormonal y la interacci3n entre ambos factores.

El modelo lineal incorpora como fuentes de variaci3n el efecto del clon del tratamiento y su respectiva interacci3n.

$$y_{ij} = \mu + G_i + T_j + (G \times T)_{ij} + e_{ij}$$

G_i : efecto del i -3simo genotipo (clon a y b)

T_j : efecto del j -3simo tratamiento hormonal (control y mezcla)

$(G \times T)$ interacci3n entre el i 3simo genotipo y el j 3simo tratamiento

Cuando el ANOVA indic3 efectos significativos se realizaron contrastes ortogonales para comparar las medias (paquete de R)

Para el an3lisis del porcentaje de enraizamiento se realiz3 la transformaci3n arcsin los datos y se verific3 el cumplimiento de los supuestos de normalidad de los residuos y homogeneidad de las varianzas mediante las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. El an3lisis de varianza se realiz3 utilizando un modelo lineal que incorpor3 como factores el clon, el tratamiento hormonal y la interacci3n entre ambos. Cuando el ANOVA indic3 diferencias significativas ($p < 0,05$), las medias se compararon mediante contrastes ortogonales.

Para el an3lisis de la expresi3n relativa se utilizaron 3 r3plicas t3cnicas y tres r3plicas biol3gicas. Los resultados se expresaron como log2 de la expresi3n relativa. Se defini3 un modelo lineal para cada clon que incluy3 el efecto del tiempo de cosecha y el

tratamiento (agua o mezcla). Se verificó normalidad de los residuos y homogeneidad de las varianzas mediante Shapiro-Wilk y Levene.

4 RESULTADOS

4.1 PORCENTAJE DE ENRAIZAMIENTO

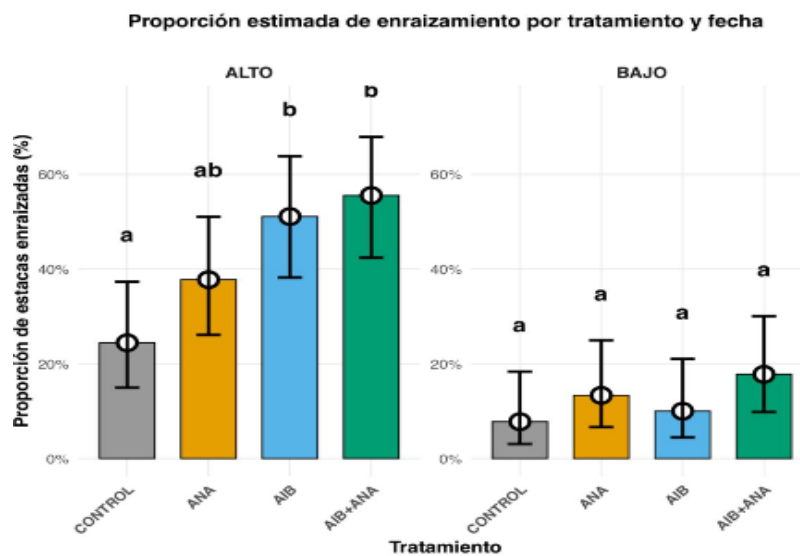
El análisis de varianza mostró diferencias significativas para los efectos principales de clon y tratamiento por separado, ambos con p-valores $< 0,001$. El análisis de comparación de medias mediante contrastes ortogonales indicó que el Clon A, a diferencia del Clon B, presentó medias diferentes según la solución de auxina aplicada (Figura 5).

En el Clon A, el tratamiento control presentó el menor porcentaje de enraizamiento ($23 \pm 4,61\%$), diferenciándose de los tratamientos con auxinas. La aplicación de ANA incrementó el porcentaje de enraizamiento hasta $37 \pm 5,2\%$, mientras que AIB y la combinación AIB+ANA alcanzaron los valores más altos ($52 \pm 5,4\%$ y $56 \pm 5,2\%$, respectivamente), sin diferencias significativas entre ambos tratamientos.

En el Clon B no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos. El tratamiento control presentó un porcentaje de enraizamiento de $7 \pm 2,6\%$, mientras que AIB y ANA alcanzaron $9,3 \pm 3\%$ y $13 \pm 3,5\%$, respectivamente. Aunque las medias de enraizamiento fueron bajas en todos los tratamientos (7–18%), se observó una tendencia a un mayor porcentaje de enraizamiento con la combinación AIB+ANA, que alcanzó $18 \pm 4\%$.

Figura 5

Porcentaje de enraizamiento de clones A y B según tratamiento hormonal



Nota. Se presenta el porcentaje de enraizamiento de los clones A (Alto) y B (Bajo) sometidos a los tratamientos Control (H₂O), ANA, AIB y la combinación AIB+ANA. Las barras representan la media y las barras de error indican el desvío estándar. Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada clon, según contrastes ortogonales ($p < 0,05$).

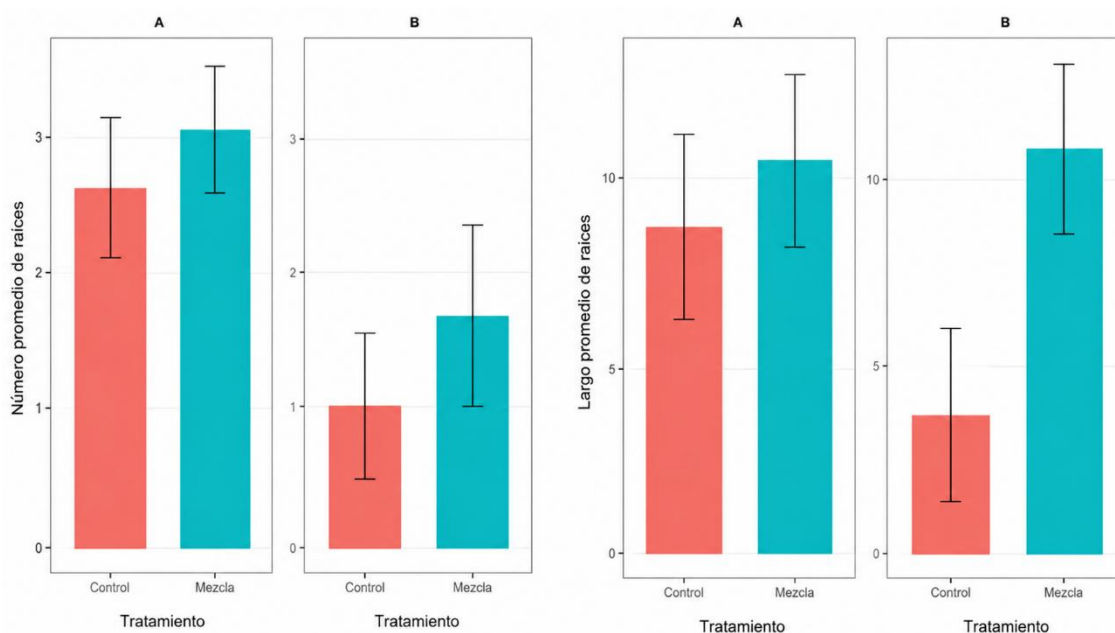
4.2 ESTRUCTURA RADICAL

No se detectaron efectos significativos en ninguna de las fuentes de variación para ninguna de las variables definidas para caracterizar la arquitectura radicular de los plantines generados. Sin embargo, tanto en el clon A como en el clon B, se notó una tendencia a un mayor desarrollo del sistema radicular en las estacas tratadas con la mezcla de auxinas en comparación con el tratamiento control. Esta tendencia se reflejó tanto en el aumento de la longitud promedio de las raíces como en el número promedio de raíces formadas. En el clon A, el número promedio de raíces aumentó de $2,67 \pm 0,50$ en el tratamiento control a $3,11 \pm 0,50$ con la mezcla de auxinas, mientras que la longitud promedio de las raíces pasó de $8,49 \pm 2,12$ cm a $10,24 \pm 2,12$ cm. De forma similar, en el clon B el número promedio de raíces se incrementó de $1,00 \pm 0,50$ a $1,81 \pm 0,50$, y la longitud promedio de las raíces aumentó de $4,36 \pm 2,12$ cm a $10,55 \pm 2,12$ cm en los tratamientos control y mezcla, respectivamente. Aunque el clon A presentó los valores

absolutos más altos para longitud y número de raíces, el clon B mostró una respuesta relativa mayor a la aplicación hormonal (Figura 6).

Figura 6

Arquitectura radicular



Nota. Número promedio de raíces por estaca (cuadro izquierdo) y longitud promedio de raíces (cuadro derecho) en los clones de A y B para los tratamientos Control (H₂O) y AIB+ANA. Las barras de color salmón corresponden al tratamiento Control, mientras que las barras de color turquesa corresponden al tratamiento AIB+ANA. Las barras representan la media y las barras de error indican el desvío estándar. No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos según el análisis de varianza ($p > 0,05$).

4.3 EXPRESIÓN RELATIVA DE *TRANSPORT INHIBITOR 1 (TIR1)*

La expresión relativa del gen *TIR1* se analizó a través de RT-qPCR, utilizando *ACTINA (ACT)* para normalizar los datos. Los resultados se presentaron como log₂ de la expresión relativa en comparación con la condición calibradora que se fijó en el momento cero sin aplicación de hormona de cada clon.

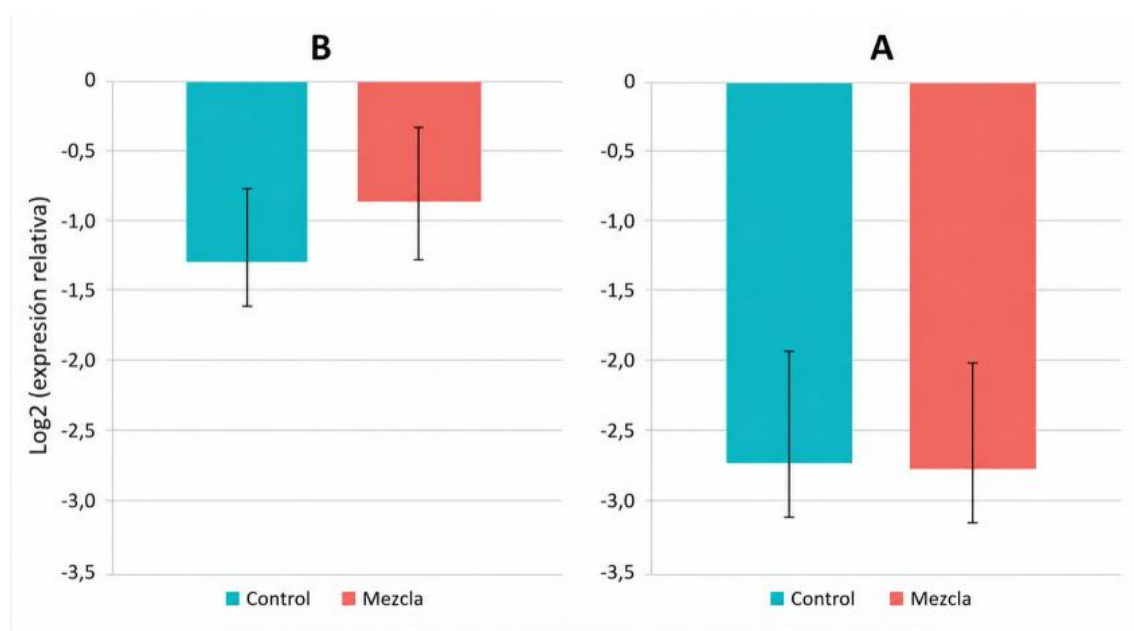
El análisis de varianza para el clon A identifica efectos significativos para la fuente de variación tiempo (P-Valor = 0,0255) lo que indica cambios en la expresión

relativa del gen *TIR1* que en este caso disminuyó. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas debidas a los tratamientos a las 24 horas.

Por otro lado, en el clon B no se identificaron diferencias significativas para ninguna de las fuentes de variación ($p > 0,05$), lo que indica que la expresión relativa del gen *TIR1* se mantuvo estable tanto entre los tiempos evaluados como entre los tratamientos. Sin embargo, se observó una tendencia a que la aplicación de la mezcla de auxinas atenuara la disminución de la expresión del gen respecto al tratamiento control a las 24 h. En este tiempo, el tratamiento control presentó una expresión relativa de $-1,37 \pm 0,46$, mientras que el tratamiento con la mezcla registró un valor de $-0,86 \pm 0,46$, lo que sugiere una menor reducción de la expresión del gen *TIR1* en respuesta a la aplicación hormonal. En términos relativos, la mezcla presentó una expresión 0,51 unidades $\log_2$ superior a la del tratamiento control (Figura 7).

Figura 7

Expresión relativa de TIR a las 24 horas de cada clon con su tratamiento



Nota. Expresión relativa del gen *TIR1*, determinada mediante RT-qPCR y normalizada utilizando ACTINA como gen de referencia (housekeeping). Los resultados se expresan como $\log_2$ de la expresión relativa respecto de la condición calibradora correspondiente al tiempo 0 h. Se presentan los clones A y B evaluados a las 0 y 24 horas para los tratamientos Control (H_2O) y AIB+ANA. Las barras representan la media y las barras de error indican el desvío estándar. No se detectaron diferencias significativas entre tratamientos.

5 DISCUSIÓN

Con el fin de identificar el efecto de las auxinas exógenas en materiales recalcitrantes, se evaluó la respuesta de dos clones de *Eucalyptus dunnii* frente al agregado exógeno de tres formulaciones de auxinas. Una vez identificado que el agregado exógeno mejora significativamente la capacidad de enraizamiento, se estudió la arquitectura radicular y la sensibilidad de los tejidos a la auxina para estudiar algunos mecanismos involucrados.

5.1 LA APLICACIÓN EXÓGENA DE AUXINA MEJORA LA PROPORCIÓN DE ENRAIZAMIENTO DEPENDIENDO DEL CLON

Los resultados indican que, tras la aplicación exógena de auxinas, los niveles de enraizamiento mejoran. Sin embargo, la respuesta benéfica fue más notoria en el Clon A que en el Clon B (Figura 5). Esto coincide con la función ampliamente reconocida de las auxinas como inductores del proceso rizogénico, debido a su participación en la adquisición de competencia celular, división celular y formación de primordios radicales (da Costa et al., 2013; de Klerk et al., 1999). Durante la fase inicial de la rizogénesis, la presencia de auxinas resulta fundamental para activar los procesos de reprogramación celular necesarios para la formación de un nuevo meristemo radical (Pacurar et al., 2014; Steffens & Rasmussen, 2016).

El efecto favorable del AIB observado en el clon Alto coincide con numerosos estudios que destacan a esta auxina como uno de los principales promotores del enraizamiento en especies leñosas (Fogaça & Fett- Neto, 2005; Ross et al., 2021; Yusnita et al., 2018). El ácido indol butírico, al ser absorbido en la base de la estaca es conjugado y translocado por transportadores *LAX3* hacia las hojas donde es metabolizado a indol-3-acético que posteriormente vía transporte polar es nuevamente translocado a la base de la estaca (Ayala et al., 2022). Debido a su estabilidad dentro de los tejidos vegetales (Fogaça & Fett-Neto, 2015), el AIB podría actuar como una fuente sostenida de auxina durante las etapas iniciales de formación de raíces adventicias. Por otra parte, el ANA también mostró una respuesta positiva en comparación con el control, aunque inferior a la observada para AIB y AIB+ANA. Esta respuesta podría estar relacionada con la capacidad del ANA de mantener una señal auxínica (Kepinski, 2007) y modificar el metabolismo del AIA. Un estudio realizado en hipocótilos de soja demostro que la

aplicación de ANA puede favorecer la acumulación de AIA mediante la reducción de la actividad de enzimas oxidativas responsables de su degradación, promoviendo así la formación de raíces adventicias (Liu et al., 1996).

La respuesta superior observada en el tratamiento combinado AIB+ANA podría explicarse por una acción complementaria entre ambas auxinas. Mientras que el AIB puede contribuir mediante una liberación gradual de auxina fisiológicamente activa, el ANA podría favorecer la persistencia de la señal hormonal y modificar la disponibilidad de AIA dentro de los tejidos (Liu et al., 1996). En este sentido, Yusnita et al. (2018) observaron que la aplicación conjunta de AIB y ANA incrementó significativamente el porcentaje de enraizamiento respecto al control y mejoró la calidad del sistema radical generado. Estos autores reportaron aumentos desde aproximadamente 25 % de enraizamiento en ausencia de auxinas hasta valores entre 79 y 100 % en tratamientos hormonales, evidenciando la importancia de la aplicación exógena de auxinas durante la propagación vegetativa.

Sin embargo, la respuesta observada en el Clon B fue diferente, ya que no se detectaron diferencias estadísticas entre tratamientos y todos los valores permanecieron bajos (8–18 %). La baja respuesta de este clon puede deberse no solo a una baja disponibilidad de auxina exógena sino también a una limitación asociada a características propias del genotipo. En especies del género *Eucalyptus*, las diferencias en capacidad rizogénica entre clones han sido asociadas con variaciones en la sensibilidad hormonal, transporte de auxinas, metabolismo de reguladores de crecimiento y capacidad de activar los procesos celulares necesarios para la formación de raíces adventicias (Corrêa et al., 2005; De Almeida et al., 2015). Teniendo en cuenta los resultados, los antecedentes mencionados y la muy baja capacidad de enraizamiento del Clon B, se podría plantear como una primera aproximación que la dosis total de auxina de 2000 ppm suministrada no fue la suficiente para este genotipo. Hoque (2017), Copes y Mandel (2000) y Yusnita et al. (2018) buscan mejorar la capacidad de enraizamiento en especies leñosas con dosis diferentes a las 2000 ppm. En este caso, se podría plantear realizar experimentos con dosis incrementales del tratamiento mezcla para identificar una concentración óptima. A pesar de ello, como se menciona anteriormente, no se deben descartar deficiencias en cualquier otro aspecto del metabolismo y percepción de las auxinas.

Aunque en el clon B no se observaron diferencias significativas, el tratamiento AIB+ANA mostró una tendencia hacia mayores valores de enraizamiento. Esta respuesta podría indicar que la combinación hormonal posee cierto potencial para estimular la rizogénesis en genotipos de menor capacidad. En este sentido, pequeñas mejoras porcentuales pueden resultar relevantes desde un punto de vista productivo, ya que en sistemas de propagación clonal a gran escala incrementos aparentemente moderados en el porcentaje de estacas enraizadas pueden traducirse en un mayor número final de plantas disponibles para continuar el proceso productivo.

Resultados similares respecto a la dependencia genotípica de la respuesta hormonal fueron observados en *Eucalyptus saligna* y *Eucalyptus globulus*, donde la aplicación de AIB favoreció el enraizamiento y el desarrollo radical, aunque la magnitud de la respuesta dependió del material vegetal evaluado (Corrêa et al., 2005). Asimismo, Fogaça y Fett-Neto (2005) demostraron que la eficiencia relativa de diferentes auxinas puede variar entre especies y genotipos, evidenciando que la respuesta rizogénica resulta de la interacción entre la hormona aplicada y la capacidad intrínseca del tejido para responder a ella.

En conjunto, los resultados obtenidos indican que la aplicación de auxinas mejora el enraizamiento en los clones con mayor capacidad rizogénica, mientras que en los genotipos más recalcitrantes el efecto podría mejorarse con una aplicación de mayor concentración. Debido a que la combinación AIB+ANA presentó el mejor comportamiento general, alcanzando los mayores valores de enraizamiento en el clon de A y mostrando una tendencia favorable en el clon de B, este tratamiento fue seleccionado para los análisis posteriores del estudio.

5.2 LA APLICACIÓN EXÓGENA DE AUXINA INCIDE EN LOS PARÁMETROS DE LA ARQUITECTURA RADICAL

Uno de los objetivos de este trabajo se centró en evaluar cómo la aplicación externa de auxinas afecta la arquitectura radicular de miniestacas de *Eucalyptus dunnii*, pertenecientes a dos clones que muestran diferencias en su capacidad de enraizamiento. Es importante tener en cuenta que el éxito en la propagación vegetativa no solo depende de la habilidad para formar raíces adventicias, sino también de la calidad del sistema radicular que se genera. Por eso, se analizaron variables relacionadas con el desarrollo

estructural de las raíces, como el número promedio de raíces formadas y la longitud promedio de las mismas. Estas características son clave para la exploración del sustrato, la absorción de agua y nutrientes, y el establecimiento de las plantas en sus primeras etapas de crecimiento (Hartmann et al., 2011).

Los resultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos evaluados en relación con las variables de la arquitectura radicular. Sin embargo, se notó una tendencia clara hacia un mejor desarrollo del sistema radicular en las estacas que recibieron la combinación de AIB + ANA en comparación con el tratamiento control, tanto en el clon A como en el B. Esta respuesta se evidenció a través de aumentos en la longitud promedio de las raíces y en el número promedio de raíces formadas, lo que sugiere que la aplicación conjunta de auxinas podría potenciar el desarrollo estructural del sistema radicular una vez que comienza la formación de raíces adventicias.

La falta de diferencias significativas entre los tratamientos hace que no podamos confirmar la hipótesis propuesta de un efecto positivo de la combinación de auxinas en la arquitectura de las raíces. Aun así, la tendencia que hemos observado está de acuerdo con lo que muchos estudios han encontrado, donde las auxinas son vistas como reguladores clave en la formación y desarrollo de raíces adventicias (Corrêa et al., 2005; de Klerk et al., 1999). La rizogénesis adventicia implica varias etapas sucesivas, que van desde la desdiferenciación celular y la adquisición de competencia rizogénica, hasta la formación de meristemoides radicales y, finalmente, la elongación y emergencia de los primordios radicales (de Klerk et al., 1999). Por lo tanto, cualquier cambio en alguna de estas etapas podría reflejarse más adelante en las características estructurales del sistema radical.

Varios estudios han demostrado que la aplicación externa de auxinas puede aumentar tanto la capacidad de formación de raíces como las características morfológicas del sistema radical resultante (Brondani, Wendling, et al., 2012; Copes & Mandel, 2000). En este contexto, Yusnita et al. (2018) informaron que el uso de AIB, ANA y su combinación incrementó de manera significativa el porcentaje de enraizamiento en comparación con el control, pasando de cifras cercanas al 25 % y alrededor de una raíz por estaca sin auxinas, a un rango de entre 79 y 100 % de enraizamiento y entre 3,2 raíces por estaca en los tratamientos hormonales y un largo de 25,5 cm. Además, estos autores notaron que la combinación de AIB + ANA no solo aumentó el porcentaje de

enraizamiento, sino que también acortó el tiempo necesario para la formación de raíces y generó sistemas radicales de mejor calidad.

Aunque estos resultados muestran una respuesta más pronunciada que la que se observó en nuestro estudio, las diferencias podrían estar relacionadas con las características específicas de cada especie, genotipo o las condiciones experimentales. En el caso de *Eucalyptus dunnii*, que es conocido por tener dificultades en la propagación vegetativa, la respuesta a las auxinas podría verse limitada por factores internos que afectan la capacidad de enraizamiento del material vegetal. Además, la evaluación de la arquitectura de las raíces se llevó a cabo en una etapa relativamente temprana del desarrollo, lo que significa que las diferencias provocadas por los tratamientos hormonales podrían no haberse manifestado completamente al momento de la cosecha.

La falta de significancia estadística también podría deberse a la alta variabilidad biológica que caracteriza el proceso de enraizamiento adventicio y al tamaño de la muestra utilizada. La formación de raíces adventicias es un proceso complejo, donde pequeñas variaciones en el estado fisiológico de las estacas pueden resultar en respuestas muy diferentes entre los individuos. Asimismo, realizar una evaluación durante un período más prolongado podría permitir una mejor diferenciación entre los tratamientos, gracias a una mayor elongación, ramificación y organización espacial de las raíces generadas.

Desde una perspectiva fisiológica, la respuesta que se ha visto en el tratamiento combinado de AIB + ANA podría deberse a una acción complementaria entre ambas auxinas. El AIB es muy usado en la propagación vegetativa, gracias a su estabilidad en los tejidos vegetales y su capacidad para transformarse gradualmente en ácido indol-3-acético (AIA). Esto lo convierte en una fuente constante de auxina fisiológicamente activa durante el proceso de formación de raíces (Epstein & Lavee, 1984; Hartmann et al., 2011). Esta propiedad permite mantener una señal hormonal durante un tiempo prolongado, lo que favorece tanto la iniciación como el desarrollo posterior de las raíces adventicias.

En el caso de las especies del género *Eucalyptus*, Corrêa et al. (2005) notaron que la aplicación de AIB aumentó el número de raíces por estaca y promovió una mayor longitud de las raíces en comparación con tratamientos sin auxinas en *Eucalyptus saligna* y *Eucalyptus globulus*. Estos investigadores sugirieron que esta respuesta podría estar

vinculada a una reducción en el tiempo necesario para iniciar la rizogénesis, lo que permite un período más largo para la elongación de las raíces. Este comportamiento es coherente con la tendencia observada en el presente estudio, donde las estacas tratadas con auxinas mostraron valores más altos en longitud y número de raíces, aunque sin alcanzar diferencias estadísticas significativas.

Sin embargo, la respuesta a las diferentes auxinas no siempre es la misma. Fogaça y Fett-Neto (2005) encontraron en *Eucalyptus saligna* que los mayores porcentajes de enraizamiento se lograron con AIB y AIA, mientras que los tratamientos con ANA mostraron una respuesta intermedia. Estas variaciones podrían estar relacionadas con diferencias en la absorción, el transporte, el metabolismo hormonal o la sensibilidad de los tejidos a las señales auxínicas, así como con la interacción de las auxinas con otras hormonas que juegan un papel en el desarrollo de las plantas (Ross & O'Neill, 2001).

Por otro lado, el ANA podría ayudar en el proceso de formación de raíces a través de mecanismos que complementan al AIB. Una investigación en hipocótilos de soja ha demostrado que la aplicación de ANA estimula la formación de raíces adventicias al aumentar los niveles endógenos de AIA, lo que se asocia con una disminución en la actividad de las enzimas oxidativas que causan su degradación (Liu et al., 1996). Además, estos investigadores sugirieron que el ANA podría disminuir la actividad de las peroxidasas y la lignificación de los tejidos, lo que favorece la formación y el crecimiento de raíces adventicias (Liu et al., 1996).

La colaboración entre el AIB y el ANA podría resultar en una disponibilidad de auxinas más equilibrada a lo largo de las distintas etapas del proceso de formación de raíces. Mientras que el AIB funcionaría como una fuente gradual de AIA en los tejidos, el ANA podría ayudar a mantener una señal auxínica más prolongada y a modificar el metabolismo de las auxinas que ya están presentes (Hartmann et al., 2011; Liu et al., 1996). Esta sinergia podría explicar por qué, aunque no se encontraron diferencias significativas en este estudio, la combinación de AIB y ANA mostró una tendencia positiva en la arquitectura de las raíces. Resultados similares fueron reportados por Yusnita et al. (2018) en estacas de *Syzygium malaccense*, donde la aplicación conjunta de AIB y ANA resultó en raíces más largas, ramificadas y fibrosas en comparación con los tratamientos individuales. Estos hallazgos sugieren que la combinación de auxinas no solo puede mejorar la formación inicial de raíces, sino también la calidad estructural del

sistema radicular, lo cual es crucial para el rendimiento futuro de las plantas. Por último, las diferencias observadas entre los clones indican que la respuesta hormonal varía según el genotipo. Aunque el clon A mostró los valores más altos en número y longitud de raíces, lo que sugiere una mayor capacidad intrínseca para desarrollar un sistema radicular más robusto, el clon B demostró una respuesta más notable ante la aplicación hormonal. Esto podría reflejar una respuesta diferencial del clon con menor capacidad de formación de raíces frente a la aplicación exógena de auxina, posiblemente relacionada con diferencias en la percepción, transporte o metabolismo de las auxinas.

5.3 EXPRESIÓN RELATIVA DEL GEN *TIR1*

La expresión relativa del gen *TIR1* fue evaluada como una aproximación al comportamiento de la percepción auxínica durante las primeras etapas de la formación de raíces adventicias. *TIR1* codifica una proteína F-box perteneciente a la familia de receptores *TIR1/AFB*, cuya función consiste en participar en la percepción de auxinas y activar la señalización dependiente de la degradación de proteínas AUX/IAA, permitiendo posteriormente la regulación de genes asociados a la respuesta auxínica (Dharmasiri et al., 2005).

En el presente estudio, el análisis de expresión relativa de *TIR1* no mostró diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos hormonales para ninguno de los clones evaluados. Sin embargo, a las 24 horas posteriores al corte se observó una tendencia hacia una mayor expresión de *TIR1* en las estacas tratadas con la combinación AIB + ANA respecto al tratamiento control. Aunque esta respuesta no alcanzó significancia estadística, podría indicar una posible activación diferencial de la percepción auxínica en respuesta a la aplicación exógena de hormonas, particularmente frente a la combinación de auxinas utilizada.

Luego del corte de las estacas, las células atraviesan un proceso de reprogramación transcripcional necesario para establecer las condiciones requeridas para la formación de un nuevo meristemo radical (Druege et al., 2004; Steffens & Rasmussen, 2016). Durante esta etapa inicial, la acumulación de ácido indol-3-acético (AIA) en la zona de enraizamiento resulta fundamental para desencadenar procesos de desdiferenciación celular, división celular y adquisición de competencia rizogénica. Esta

acumulación depende en gran medida del transporte polar de auxinas hacia la zona de formación radical (da Costa et al., 2013; De Almeida et al., 2017).

La tendencia observada hacia una mayor expresión de *TIRI* en los tratamientos con auxinas podría estar relacionada con una mayor activación de la maquinaria de percepción hormonal durante la fase temprana de inducción radical. En este sentido, la aplicación exógena de AIB y ANA podría favorecer una mayor disponibilidad de señal auxínica, promoviendo una respuesta transcripcional asociada con la percepción y transducción de la hormona. Sin embargo, la ausencia de diferencias significativas sugiere que la regulación de la respuesta auxínica no depende exclusivamente de la expresión de *TIRI*, sino que involucra múltiples niveles de control, incluyendo transporte, metabolismo hormonal y actividad de otros componentes de señalización como *AUX/IAA* y *ARF*.

La falta de diferencias significativas en *TIRI* entre tratamientos podría explicarse porque la respuesta a la aplicación hormonal ocurre mediante una regulación integrada de varios componentes de la vía auxínica. En este sentido, modificaciones en genes asociados al transporte polar de auxinas, como *PIN1*, o en aquellos relacionados con el metabolismo y degradación del AIA, como *DAO*, podrían generar cambios en la disponibilidad efectiva de la hormona sin necesariamente producir grandes variaciones en la expresión del receptor (De Almeida et al., 2017; Nión et al., 2026; Schilisting et al., 2025).

Por lo tanto, la tendencia hacia una mayor expresión de *TIRI* en los tratamientos con AIB + ANA, junto con la respuesta favorable observada en variables relacionadas con el enraizamiento y arquitectura radicular, sugiere que la combinación de auxinas podría favorecer una mayor activación temprana de la señalización auxínica. No obstante, debido a la ausencia de diferencias estadísticas, estos resultados deben interpretarse como una tendencia que requiere ser complementada con el análisis de otros genes involucrados en la respuesta auxínica para comprender de manera integral los mecanismos moleculares asociados a la rizogénesis en *Eucalyptus dunnii*.

Entre las limitaciones del presente estudio se encuentran el número de repeticiones biológicas utilizado, la evaluación de una única concentración hormonal y un único momento de muestreo para el análisis de expresión génica. Estudios futuros que

incorporen diferentes concentraciones de auxinas, un mayor número de repeticiones y una evaluación temporal más amplia permitirán comprender con mayor profundidad los mecanismos involucrados en la regulación de la rizogénesis adventicia en *Eucalyptus dunnii*.

6 CONCLUSIONES

La aplicación exógena de auxinas (AIB, ANA y su combinación) incrementó el porcentaje de enraizamiento de las miniestacas de *Eucalyptus dunnii* respecto al tratamiento testigo.

La respuesta a la aplicación de auxinas depende del clon evaluado, evidenciando diferencias entre genotipos en la capacidad de enraizamiento.

La aplicación de auxinas no produjo diferencias significativas en el número y la longitud de raíces; sin embargo, se observó una tendencia a mejorar la arquitectura radicular.

La expresión relativa del receptor de auxinas *TIR1* no presentó diferencias significativas entre tratamientos, aunque la tendencia observada sugiere posibles cambios en la sensibilidad a las auxinas.

Se cumplieron los objetivos planteados, aportando información sobre la respuesta morfológica y molecular de *Eucalyptus dunnii* frente a la aplicación exógena de auxinas.

7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ayala, P. G., Acevedo, R. M., Luna, C. V., Rivarola, M., Acuña, C., Marcucci Poltri, S., González, A. M., & Sansberro, P. A. (2022). Transcriptome dynamics of rooting zone and leaves during *in vitro* adventitious root formation in *Eucalyptus nitens*. *Plants*, 11(23), Artículo e3301. <https://doi.org/10.3390/plants11233301>
- 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., & Resquín, 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* (pp. 305-312). INIA.
- 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
- Brondani, G. E., Grossi, F., Wendling, I., Dutra, L. F., & Araujo, M. A. de. (2010). Aplicação de IBA para o enraizamento de miniestacas de *Eucalyptus benthamii* Maiden & Cabbage × *Eucalyptus dunnii* Maiden. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 32(4), 667-674. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i4.4879>
- Brondani, G. E., Wendling, I., Brondani, A. E., Araujo, M. A., Silva, A. L. L. da, & Gonçalves, A. N. (2012). Dynamics of adventitious rooting in mini-cuttings of *Eucalyptus benthamii* × *Eucalyptus dunnii*. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 34(2), 169-178. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v34i2.13059>

- Brondani, G. E., Wit Ondas, H. W., Baccarin, F. J. B., Gonçalves, A. N., & Almeida, M. (2012). Micropropagation of *Eucalyptus benthamii* to form a clonal micro-garden. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 48(5), 478-487.
<https://doi.org/10.1007/s11627-012-9449-9>
- Brussa, A. (1994). *Eucalyptus: Especies de cultivo más frecuentes en Uruguay y regiones de clima templado*. Hemisferio Sur.
- Chapman, E. J., & Estelle, M. (2009). Mechanism of auxin-regulated gene expression in plants. *Annual Review of Genetics*, 43, 265-285.
<https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134148>
- Cheng, B. X., Peterson, C. M., & Mitchell, R. J. (1992). The role of sucrose, auxin and explant source on in vitro rooting of seedling explants of *Eucalyptus sideroxylon*. *Plant Science*, 87(2), 207-214. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(92\)90152-C](https://doi.org/10.1016/0168-9452(92)90152-C)
- Copes, D. L., & Mandel, N. L. (2000). Effects of IBA and NAA treatments on rooting Douglas-fir stem cuttings. *New Forests*, 20(3), 249-257.
<https://doi.org/10.1023/A:1006752717350>
- 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., 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., Costa, C. T., Schwambach, J., Ruedell, C. M., Corrêa, 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 Almeida, M. R., Bastiani, D., Gaeta, M. L., Araújo Mariath, J. E., Costa, F., Retallick, J., Nolan, L., Tai, H. H., Strömvik, M. V., & Fett-Neto, A. G. (2015). Comparative transcriptional analysis provides new insights into the molecular basis of adventitious rooting recalcitrance in Eucalyptus. *Plant Science*, 239, 155-165. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.07.022>
- 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.
- de Klerk, G. J., van der Krieken, W. M., & de Jong, J. (1999). The formation of adventitious roots: New concepts, new possibilities. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 35, 189-199. <https://doi.org/10.1007/s11627-999-0076-z>
- Dharmasiri, N., Dharmasiri, S., & Estelle, M. (2005). The F-box protein TIR1 is an auxin receptor. *Nature*, 435, 441-445. <https://doi.org/10.1038/nature03543>
- Dos Santos Maraschin, F., Memelink, J., & Offringa, R. (2009). Auxin-induced, SCF^{TIR1}-mediated poly-ubiquitination marks AUX/IAA proteins for degradation. *The Plant Journal*, 59(1), 100-109. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03854.x>
- Druege, U. (2009). Involvement of carbohydrates in survival and adventitious root formation of cuttings within the scope of global horticulture. En K. Niemi & C. Scagel (Eds.), *Adventitious root formation of forest trees and horticultural plants: From genes to applications* (pp. 187-201). Research Signpost.
- Druege, U., Zerche, S., & Kadner, R. (2004). Nitrogen- and storage-affected carbohydrate partitioning in high-light-adapted *Pelargonium* cuttings in relation to survival and adventitious root formation under low light. *Annals of Botany*, 94(6), 831-842. <https://doi.org/10.1093/aob/mch210>

- Epstein, E., & Lavee, S. (1984). Conversion of indole-3-butyric acid to indole-3-acetic acid by cuttings of grapevine (*Vitis vinifera*) and olive (*Olea europaea*). *Plant and Cell Physiology*, 25(5), 697-703.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076762>
- Fogaça, C. M., & Fett-Neto, A. G. (2005). Role of auxin and its modulators in the adventitious rooting of Eucalyptus species differing in recalcitrance. *Plant Growth Regulation*, 45, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10725-004-6547-7>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2020). *Global forest resources assessment 2020: Key findings*. <https://doi.org/10.4060/ca8753en>
- Garrido, G., Guerrero, J. R., Cano, E. A., Acosta, M., & Sánchez-Bravo, J. (2002). Origin and basipetal transport of the IAA responsible for rooting of carnation cuttings. *Physiologia Plantarum*, 114(2), 303-312.
<https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1140217.x>
- González Pino, A., & Chifflet de Garat, S. (1980). *Indicaciones para la instalación de viveros forestales*. MGAP.
- 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>
- Gray, W. M., Kepinski, S., Rouse, D., Leyser, O., & Estelle, M. (2001). Auxin regulates SCF^{TIR1}-dependent degradation of AUX/IAA proteins. *Nature*, 414, 271-276.
<https://doi.org/10.1038/35104500>
- Griffin, A. R. (2014). Clones or improved seedlings of *Eucalyptus*? Not a simple choice. *International Forestry Review*, 16(2), 216-224.
<https://doi.org/10.1505/146554814811724793>

- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., Jr., & Geneve, R. L. (2011). *Hartmann and Kester's plant propagation: Principles and practices* (8th ed.). Prentice Hall.
- Hoque, M. E. (2017). Effect of indole butyric acid on raising plants from stem cuttings of tea (*Camellia sinensis* L.) in the nursery. *The Agriculturists*, 14(2), 124-129. <https://doi.org/10.3329/agric.v14i2.31356>
- 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>
- Kepinski, S. (2007). The anatomy of auxin perception. *BioEssays*, 29(10), 953-956. <https://doi.org/10.1002/bies.20657>
- Li, S. W., Xue, L., Xu, S., Feng, H., & An, L. (2009). Mediators, genes and signaling in adventitious rooting. *The Botanical Review*, 75(2), 230-247. <https://doi.org/10.1007/s12229-009-9029-9>
- Liu, Z. H., Hsiao, I. C., & Pan, Y. W. (1996). Effect of naphthaleneacetic acid on endogenous indole-3-acetic acid, peroxidase and auxin oxidase in hypocotyl cuttings of soybean during root formation. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 37(4), 247-253.
- Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. *Methods*, 25(4), 402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
- Martín, D. (2024). Producción vegetal: Forestación. En Dirección de Estadísticas Agropecuarias (Ed.), *Anuario estadístico agropecuario 2024* (pp. 157-167). MGAP. <https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/diea/anuario2024>
- Mockaitis, K., & Estelle, M. (2008). Auxin receptors and plant development: A new signaling paradigm. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 24, 55-80. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123214>

- Negishi, N., Oishi, M., & Kawaoka, A. (2011). Chemical screening for promotion of adventitious root formation in *Eucalyptus globulus*. *BMC Proceedings*, 5(Suppl. 7), Artículo P139. <https://doi.org/10.1186/1753-6561-5-S7-P139>
- Ni3n, M., Ross, S., Gonz3lez-T3lice, J., Torres, L., Bottarro, S., Sotelo-Silveira, M., P3riz-Pezzutto, S., Antonelo, F. A., & Fett-Neto, A. G. (2026). Rooting ability of *Eucalyptus dunnii* Maiden mini-cuttings is conditioned by stock plant nighttime temperature. *Plants*, 15(2), Art3culo e335. <https://doi.org/10.3390/plants15020335>
- Pacurar, D. I., 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*. NIFoS.
- Pop, T. I., Pamfil, D., & Bellini, C. (2011). Auxin control in the formation of adventitious roots. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(1), 307-316. <https://doi.org/10.15835/nbha3916101>
- Rolland, F., Baena-Gonz3lez, E., & Sheen, J. (2006). Sugar sensing and signaling in plants: Conserved and novel mechanisms. *Annual Review of Plant Biology*, 57, 675-709. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105441>
- Ross, J., & O'Neill, D. (2001). New interactions between classical plant hormones. *Trends in Plant Science*, 6(1), 2-4. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01795-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01795-7)
- Ross, S., Speroni, G., Souza-P3rez, M., 3vila, N., Pietro, F., Gonz3lez, A. M., & Speranza, P. (2021). Stem-cutting anatomy and biochemical responses associated with competence for adventitious root differentiation in *Acca sellowiana* (Myrtaceae). *Trees*, 35(4), 1221-1232. <https://doi.org/10.1007/s00468-021-02110-1>
- Ruedell, C. M., 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>

- Sampedro, J., & Cosgrove, D. J. (2005). The expansin superfamily. *Genome Biology*, 6(12), Artículo e242. <https://doi.org/10.1186/gb-2005-6-12-242>
- Sansberro, P. A., Rey, H. Y., Mroginski, L. A., & Krivenki, M. A. (2001). Plant regeneration from *Ilex* spp. (Aquifoliaceae) in vitro. *Biocell*, 25(2), 139-146.
- Scherer, G. F. E. (2011). Auxin-Binding-Protein1, the second auxin receptor: What is the significance of a two-receptor concept in plant signal transduction? *Journal of Experimental Botany*, 62(10), 3339-3357. <https://doi.org/10.1093/jxb/err033>
- Schilisting, T., Sá, A. C. S., da Silva Filho, D. P., da Silva, V. M., Navroski, M. C., de Oliveira Pereira, M., Nascimento, B., Moraes, C., de Andrade, R. S., Estopa, R. A., & Miranda, L. (2025). Developmental and physiological effects of the light source and cultivation environment on mini cuttings of *Eucalyptus dunnii* Maiden. *Forests*, 16(6), Artículo e901. <https://doi.org/10.3390/f16060901>
- Shi, J. H., & Yang, Z.-B. (2011). Is ABP1 an auxin receptor yet? *Molecular Plant*, 4(4), 635-640. <https://doi.org/10.1093/mp/ssr050>
- Steffens, B., & Rasmussen, A. (2016). The physiology of adventitious roots. *Plant Physiology*, 170(2), 603-617. <https://doi.org/10.1104/pp.15.01360>
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2015). *Plant physiology and development* (6th ed.). Sinauer Associates.
- Tan, X., Calderon-Villalobos, L. I. A., Sharon, M., Zheng, C., Robinson, C. V., Estelle, M., & Zheng, N. (2007). Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase. *Nature*, 446, 640-645. <https://doi.org/10.1038/nature05731>
- Tromas, A., Paponov, I., & Perrot-Rechenmann, C. (2010). Auxin binding protein 1: Functional and evolutionary aspects. *Trends in Plant Science*, 15(8), 436-446. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.05.001>
- Trueman, S. J., Hung, C. D., & Wendling, I. (2018). Tissue culture of *Corymbia* and *Eucalyptus*. *Forests*, 9(2), Artículo e84. <https://doi.org/10.3390/f9020084>

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>

Yusnita, Jamaludin, Agustiansyah, & Hapsoro, D. (2018). A combination of IBA and NAA resulted in better rooting and shoot sprouting than single auxin on Malay apple [*Syzygium malaccense* (L.) Merr. & Perry] stem cuttings. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*, 40(1), 80-90.

<https://doi.org/10.17503/agrivita.v40i0.1210>