

Nota técnica

EFFECTO DEL ÁCIDO INDOLBUTÍRICO (AIB), PYRACLOSTROBIN (F-500) Y UN INOCULANTE BIOLÓGICO SOBRE EL ENRAIZAMIENTO Y CRECIMIENTO INICIAL DE ESTAQUILLAS DE TRES HÍBRIDOS F₁ DE CAFÉ (*Coffea arabica*)

Carolina Sosa-Mora^{1/}*, Francisco Mesén-Sequeira^{**}, Luis Diego Jiménez-Alvarado^{***}

Palabras clave: *Coffea arabica*; híbridos F₁; estaquillas; enraizamiento; AIB; Pyraclostrobin (F 500); inoculante biológico.

Keywords: *Coffea arabica*; F₁ hybrids; cuttings; rooting; IBA; Pyraclostrobin (F 500); biological inoculant.

Recibido: 22/05/18

Aceptado: 05/11/18

RESUMEN

En el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE se utiliza la técnica de enraizamiento de estaquillas para la multiplicación de híbridos de café en corto tiempo y a bajo costo. En la búsqueda continua por mejorar el proceso, en este trabajo se evaluó el efecto de distintas combinaciones de AIB, un inoculante biológico y Pyraclostrobin (F 500), más un tratamiento convencional de nutrientes y estimuladores sobre el enraizamiento de estaquillas de 3 híbridos F₁ de café (L2A30, L4A5, L12A28) y su posterior desarrollo en vivero. La fase de enraizamiento se prolongó por 11 semanas, y al final de este periodo, no hubo diferencias significativas en porcentaje de enraizamiento entre tratamientos ni entre híbridos, con porcentajes superiores al 80% en todos los casos. Tampoco hubo diferencias significativas entre

ABSTRACT

Effect of indolbutyric acid (AIB), pyraclostrobin (F 500) and inoculante biológico on the rooting and initial growth of mini-cuttings of coffee (*Coffea arabica*) F₁ hybrids. At CATIE, the technique of rooting mini-cuttings is being used for the multiplication of coffee hybrids in a short time and at a low cost. In the continuous search to improve the process, in this work we evaluated the effect of different combinations of AIB, a biological inoculant and Pyraclostrobin (F 500), plus a conventional treatment of nutrients and stimulators, on the rooting of cuttings of three F₁ coffee hybrids (L2A30, L4A5, L12A28) and its subsequent development in nursery. The rooting phase lasted for 11 weeks, and at the end of this period, there were no significant differences in the percentage of rooting between treatments or

1 Autor para correspondencia. Correo electrónico: fmesen@catie.ac.cr

* Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.
 0000-0003-2354-5428.

** Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.
 0000-0002-8731-1172.

*** Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.
 0000-0002-7553-3931.

tratamientos para las variables de número, longitud de raíces ni pesos de parte aérea y raíces. Los híbridos L2A30 y L12A28 fueron significativamente superiores al L4A5, en cuanto a número y longitud de raíces, peso fresco y seco de raíces y parte aérea. Las estaquillas fueron trasplantadas luego a bolsas con suelo para la fase de vivero, para un periodo de crecimiento de 3 meses. Al final de esta fase, el tratamiento convencional y las combinaciones AIB + inoculante biológico y AIB + Pyraclostrobin (F 500) fueron superiores significativamente en cuanto a altura de planta y número de hojas. Los híbridos L4A5 y L2A30 fueron superiores significativamente al L12A28 en cuanto a altura total y número de hojas, mientras que el L2A30 y el L12A28, mostraron mayor diámetro basal que el L4A5. Se logró la multiplicación de los híbridos seleccionados a escala masiva y a bajo costo.

between hybrids, with percentages higher than 80% in all cases. There were no significant differences between treatments for the variables of number, length of roots or weights of aerial part and roots. The L2A30 and L12A28 hybrids were significantly superior to L4A5 in terms of number and length of roots, fresh and dry weight of roots and aerial part. The cuttings were then transplanted into bags with soil for the nursery phase, for a growth period of 3 months. At the end of this phase, the conventional treatment and the combinations AIB + biological inoculant and AIB + Pyraclostrobin (F 500) were significantly superior in terms of plant height and number of leaves. The L4A5 and L2A30 hybrids were significantly higher than L12A28 in terms of total height and number of leaves, while L2A30 and L12A28 showed a greater basal diameter than L4A5. The multiplication of selected hybrids was achieved on a massive scale and at low cost.

INTRODUCCIÓN

Entre 1992 y 2006, el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE) y el Centro de Cooperación Internacional en Investigación Agronómica para el Desarrollo (CIRAD), en cooperación con el Programa Cooperativo Regional para el Desarrollo Tecnológico y Modernización de la Caficultura (PROMECAFE), desarrollaron 98 híbridos F_1 de café, al cruzar variedades tradicionales de América Central (Caturras, Catuaí, Sarchimores) con accesiones silvestres de Etiopía y Sudán, con lo que se aprovechó la vasta colección de café del CATIE. El propósito del trabajo era producir híbridos que mostraran una combinación de las características sobresalientes de las variedades tradicionales, tales como su productividad y arquitectura, con las cualidades organolépticas y tolerancia a enfermedades de las accesiones silvestres. Luego

de más de 15 años de evaluaciones en América Central, fueron seleccionados y liberados 6 híbridos con base en su productividad, -20-58% más que las variedades tradicionales-, calidad de taza, y tolerancia a ciertas enfermedades y plagas, entre otros atributos (Bertrand *et al.* 2011, FONTAGRO 2005, Georget *et al.* 2017, Quijano 2007), 3 de los cuales fueron utilizados en el presente trabajo.

Dada su condición altamente heterocigota, los híbridos F_1 sólo deben ser propagados vegetativamente. La técnica tradicional utilizada para su propagación ha sido la embriogénesis somática (Etienne-Barry *et al.* 1999), pero sus altos costos de producción (hasta US\$3 por planta) han sido un obstáculo para lograr una mayor diseminación de los híbridos al sector cafetalero. Por esta razón, en el 2014 el CATIE inició un programa de multiplicación mediante estaquillas enraizadas, al combinar el uso de “plantas madre” producidas

en laboratorio, con la técnica de enraizamiento de estaquillas a partir de estas. Las plantas madre producidas *in vitro* son establecidas en jardines clonales hidropónicos para la producción continua de rebrotes, que son cosechados periódicamente y puestos a enraizar. De esta manera, cada planta madre puede producir 24-30 nuevas plantas cada año, a lo largo de 3 a 4 años (Mesén y Jiménez 2016), lo cual logra una reducción considerable en costos y tiempos de producción con respecto a la técnica de embriogénesis somática. En promedio, las estaquillas tardan 40 días en enraizar y su costo es de alrededor de un 10% del de una planta producida en el laboratorio. El proceso de reproducción de plantas por estaquillas ha sido relativamente exitoso, pero aún existe margen de mejora, enfocado a optimizar los porcentajes de prendimiento y reducir los tiempos de producción tanto en la fase de enraizamiento como en la fase de vivero.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del ácido indolbutírico (AIB), un inoculante biológico y Pyraclostrobin (F-500), tanto solos como combinados, más un tratamiento convencional de enraizadores y estimuladores (usado en la actualidad por el programa de propagación del CATIE), sobre la capacidad de enraizamiento de estaquillas y crecimiento inicial en vivero de 3 híbridos F₁ de café. El inoculante biológico estaba compuesto por hongos como *Trichoderma viride*, *T. koningii*, *T. harzianum* y *T. polysporum*, además, de bacterias como *Bacillus subtilis*, *B. laterosporus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. pumilus* y *Paenibacillus polymyxa*, que se promociona como estimulante de la germinación de semillas por aumentar el volumen y desarrollo del sistema radicular, y promover la absorción eficaz de nutrientes (CustomBio 1992). El Pyraclostrobin (F-500) ha mostrado tener un efecto en el metabolismo de las plantas, lo que resulta en una mayor producción de biomasa (Kanungo y Joshi 2014). Se ha reportado su efecto como promotor de la tasa fotosintética en hojas tratadas (Köehle *et al.* 1997, Grossman *et al.* 1999, Häuser-Hahn *et al.* 2004, Oerke y Dehne 2004) y con efectos positivos sobre la productividad en trigo, maíz

(Nelson y Meinhardt 2011), soya (Henry *et al.* 2011, Hill *et al.* 2013) y otros cultivos (Kanungo y Joshi 2014).

Los híbridos incluidos en el estudio fueron el L4A5, el L2A30 y el L12A28, conocidos comercialmente como Esperanza, H2 y Milenio, respectivamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en las instalaciones del Banco de Semillas Forestales del CATIE, ubicado en el cantón de Turrialba, provincia de Cartago, Costa Rica, del mayo a diciembre del 2016. El sitio se ubica dentro de la zona de vida del bosque pre-montano muy húmedo (Bolaños *et al.* 2005), a una altitud de 646 msnm, con una temperatura media anual de 21°C y una precipitación media anual de 2593 mm (CATIE 2016).

Híbridos incluidos

Para el estudio se utilizaron 3 híbridos seleccionados por el Programa de Café del CATIE: el L4A5 (“Esperanza”), el L2A30 (H2) y el L12A28 (“Milenio”). El híbrido L4A5 se originó del cruce entre Sarchimor T5296 y Etiópe 25. Es un híbrido muy vigoroso, recomendado para altitudes de 800-1500 msnm. El híbrido L2A30 es el resultado del cruce de Caturra 9 x Etiópe 15, de muy alta producción a altitudes superiores a los 1200 msnm. El híbrido L12A28 es el resultado del cruce de Sarchimor T5296 x un Rume Sudan. Ha dado muy buenos resultados de adaptación y productividad a altitudes de 800-1500 msnm, con calidad de taza similar o mejor que Caturra y Catuaí cuando se plantan en condiciones agroecológicas similares, además, de una productividad excepcional (Mesén y Jiménez 2016).

Fase de enraizamiento

Las plantas madre fueron producidas por embriogénesis somática en el Laboratorio de Biotecnología del CATIE (Etienne-Barry *et al.*

1999) y se establecieron en camas hidropónicas con medio sólido. Las camas tenían una profundidad de 18 cm, un ancho de 1,2-1,5 m y longitud variable, ubicadas a 80 cm del suelo, dentro de invernaderos plásticos cerrados. Como sustrato de las camas se utilizó una mezcla de grava (0,5 -1 cm diámetro) y fibra de coco en proporción 70:30, respectivamente. A lo largo de las camas se colocaron mangueras de goteo con una separación de 10 cm entre sí y las plantas madre se establecieron a una densidad de 10 x 10 cm. La fertilización de los jardines clonales se realizó tanto mediante el sistema de riego por goteo, a través aplicaciones foliares y al sustrato, según el esquema descrito por Mesén y Jiménez (2016). A partir de las plantas madre se hicieron las

cosechas de rebrotes para la preparación de las estaquillas, una vez que formaron 3 nudos (una altura de aproximadamente 6-8 cm). Los rebrotes se cortaron con tijeras podadoras y se trasladaron de inmediato al área de propagación sumergidos en recipientes con agua a 25°C.

Una vez en el área de propagación, se prepararon las estaquillas de 5-7 cm de longitud, se cortaron justo arriba del tercer nudo y podaron las 4 hojas de cada estaquilla para dejar 2,5-3 cm² de cada hoja. Las estaquillas preparadas se iban depositando en otro recipiente con agua y, de ahí, se tomaron para hacer la aplicación de los diferentes tratamientos con auxinas y los productos a evaluar. Se evaluaron 9 tratamientos, detallados en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados durante la fase de enraizamiento de los híbridos, con su dosis y modo de aplicación.

Tratamiento	Producto	Dosis	Modo de aplicación
T1	AIB	0,30% p.p. ⁻¹	Una vez, base de la estaca
T2	Pyraclostrobin (F 500)	2,0 ml.l ⁻¹	Foliar, cada 15 días
T3	Inoculante biológico	1 pastilla.gal ⁻¹	Una vez, al sustrato
T4	AIB	0,30% p.p. ⁻¹	Una vez, base de la estaca
	Pyraclostrobin (F 500)	2,0 ml.l ⁻¹	Foliar, cada 15 días
T5	AIB	0,30% p.p. ⁻¹	Una vez, base de la estaca
	Inoculante biológico	1 pastilla.gal ⁻¹	Una vez, al sustrato
T6	Pyraclostrobin (F 500)	2,0 ml.l ⁻¹	Foliar, cada 15 días
	Inoculante biológico	1 pastilla.gal ⁻¹	Una vez, al sustrato
T7	AIB	0,30% p.p. ⁻¹	Una vez, base de la estaca
	Pyraclostrobin (F 500)	2,0 ml.l ⁻¹	Foliar, cada 15 días
	Inoculante biológico	1 pastilla.gal ⁻¹	Una vez, al sustrato
T8	Sin aplicaciones	NA	NA
Testigo absoluto			
T9	AIB	0,30 % p.p. ⁻¹	Polvo, base de la estaca
Convencional	Carboxin 37,5% + Thiram 37,5%	5 ml.l ⁻¹	Una vez, al sustrato
CATIE	Fungicida metil tiofanato 50%	1 ml.l ⁻¹	Foliar, al cuarto día
	Truphos	4 ml.l ⁻¹	Foliar, al cuarto día
	Ca 17%, N 10%, Mg 4%, B 0,1%	2,7 ml.l ⁻¹	Foliar, al 11avo día
	F500 (pyraclostrobin) 12,8% + Boscalid 25,2%	1 g.l ⁻¹	Foliar, al 11avo día
	Zn 11,6% p.p. ⁻¹ , complejo con aminoácidos, ácidos carboxílicos y carbohidratos	3 ml.l ⁻¹	Foliar, al 11avo día
	P 6% + aminoácidos 39,2%	1,5 ml.l ⁻¹	Foliar, cada 8 días
	Sustancias húmicas (0,7%), P (8%), N (4%), auxinas (0,3%)	5 ml.l ⁻¹	Foliar, cada 8 días

Como sustrato de enraizamiento se utilizaron pellets “Jiffy” de 2 cm de diámetro por 4,5 cm de altura, colocados en bandejas de 200 celdas. Luego de las aplicaciones respectivas, las estaquillas se insertaron una profundidad de aproximadamente 1,5 cm en los pellets.

Para el enraizamiento, las bandejas con las estaquillas fueron colocadas en cámaras cerradas a manera de mini túneles, que consistían de un marco metálico de 3 m de largo, 1 m de ancho y 60 cm de altura, con malla metálica en la base y con patas para dar una altura de 80 cm desde el suelo. Las cámaras fueron forradas en su totalidad con plástico, incluyendo la base, e internamente se colocaron 3 aspersores para irrigación en el techo de la cámara. Las paredes laterales colgaban a manera de cortina para permitir el acceso al material o realizar las aplicaciones y evaluaciones. El riego dentro de las cámaras se realizó de manera automatizada, con aspersiones de 36 segundos cada 2 horas, entre las 7 am y las 3 pm. Además, se proporcionó sombra al área de enraizamiento con sarán del 50%. La temperatura y humedad relativa dentro de las cámaras se mantuvo entre 21-27°C y 85-90%, respectivamente, a lo largo de toda la fase de enraizamiento.

Al final del enraizamiento se les dio un periodo de aclimatación a las estaquillas, que consistió en elevar las cortinas de los túneles de manera permanente para bajar la humedad relativa, durante 5 días, antes de su trasplante a bolsas para la fase de vivero.

Fase de vivero

Para la fase de crecimiento en vivero, las estaquillas ya aclimatadas, fueron trasplantadas a bolsas plásticas de almácigo de 9x20 cm, llenas con una mezcla de sustrato de 80% suelo negro de bosque, más 20% de granza de arroz, y se mantuvieron durante 3 meses en invernaderos con techo transparente, con riegos una vez al día. A cada bolsa se aplicó el paquete básico de fertilización para almácigo, recomendado por el ICAFE (2011), que consistió en aplicar mensualmente junto al borde de la bolsa 2 gramos de

fertilizante (NPK) de la fórmula 10-30-10. No se realizaron fertilizaciones foliares ni se aplicó ningún tipo de químico adicional. Durante los meses que duró la fase de vivero, la humedad relativa se mantuvo entre 85 y 90%, la temperatura entre 18,6 y 30,4°C y la luminosidad entre 13,5 y 16,2 MJ m⁻², según datos de la Estación Meteorológica del CATIE (CATIE 2016).

Diseño experimental, variables y análisis estadístico

Para la fase de enraizamiento se utilizó un diseño irrestricto al azar con arreglo de tratamientos en parcelas divididas, donde las parcelas grandes fueron los tratamientos a evaluar y la parcela pequeña los 3 híbridos, con 4 repeticiones y unidades experimentales de 15 estaquillas.

Las variables evaluadas durante la fase de enraizamiento fueron:

- a) porcentaje de sobrevivencia.
- b) porcentaje de plantas que enraizaron semanalmente, se tomó como planta enraizada aquella que mostrara una o más raíces emergiendo a través del Jiffy.
- c) tiempo requerido por las estaquillas para la emisión de raíces.
- d) número y longitud mayor de raíces por estaquilla.
- e) pesos frescos y secos de raíces y parte aérea.

Para la evaluación de las variables ‘d’ y ‘e’ se utilizó una única muestra destructiva de 4 plantas por combinación de tratamiento x híbrido al final de la fase de enraizamiento. Para la obtención del peso seco, las muestras fueron secadas en estufa a 65°C por 24 horas.

Para la fase de vivero se utilizó un diseño similar al anterior, con 4 repeticiones y unidades experimentales de 8 estaquillas, se considera la reducción por los análisis destructivos y mortalidad durante la fase previa.

Las variables evaluadas durante esta fase fueron: a) altura de las plantas, b) diámetro al cuello de raíz, c) número de hojas totales, y d) peso

seco de la parte aérea y raíces, basado en una muestra destructiva de 4 plantas por combinación tratamiento x híbrido. En este caso, se realizó una sola evaluación luego de 3 meses de crecimiento en vivero.

Los datos se analizaron mediante Análisis de Varianza, y en caso de encontrarse diferencias, se procedió a realizar pruebas de LSD (5%) para la comparación de medias de tratamientos. Para datos de porcentaje se utilizó la transformación $\arcsen \sqrt{\%}$. Para los datos que no cumplieron los supuestos básicos y brindaron datos no paramétricos, se procedió a realizar la prueba no paramétrica Kruskal Wallis ($\sigma=0,05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La aparición de raíces a través de los pellets, se inició en la semana 6, y al término de 11 semanas, todas las estaquillas vivas habían emitido raíces, con lo cual se dio por finalizada la fase de enraizamiento. No hubo diferencias entre tratamientos ni entre híbridos para porcentaje de enraizamiento, con valores superiores a 71% en todos los casos y un promedio global de 86,36% (Cuadro 2). Los altos valores obtenidos demuestran que, con cuidados y técnicas adecuadas, los híbridos pueden ser fácilmente propagados mediante la técnica de enraizamiento de estaquillas.

Cuadro 2. Porcentajes de enraizamiento de estaquillas de café a las 11 semanas.

Tratamiento	Híbrido			Promedio tratamientos
	L4A5	L2A30	L12A28	
T1 AIB	71,67	86,67	90,00	82,78
T2 Pyraclostrobin (F 500)	83,33	75,00	95,00	84,44
T3 Inoculante biológico	76,67	86,67	91,67	85,00
T4 AIB + Pyraclostrobin (F 500)	88,33	88,33	96,67	91,11
T5 AIB + inoculante biológico	78,33	76,67	85,00	80,00
T6 Pyraclostrobin (F 500) + inoculante biológico	85,00	86,67	86,67	86,11
T7 AIB + Pyraclostrobin (F 500) + inoculante biológico	88,33	88,33	95,00	90,56
T8 Testigo absoluto	83,33	90,00	91,67	88,33
T9 Convencional	81,67	93,33	91,67	88,89
Promedio híbridos	81,85	85,47	91,48	86,36

Un tema central en el enraizamiento de estaquillas con hoja es que, al carecer de raíces durante los primeros días o incluso semanas, fácilmente pueden desarrollar déficits hídricos, lo que les causa marchitez e incluso la muerte (Grange y Loach, 1983a,b; Leakey 1985; Loach 1988). Por lo tanto, la importancia de mantener la turgencia de la estaquilla, hasta que regenere el nuevo sistema radicular, no puede ser subestimada. Una de las

formas de reducir la transpiración en la estaquilla es la poda foliar, práctica que fue realizada en el presente estudio. Una poda excesiva reduce la producción de auxinas, asimilados y otros cofactores foliares importantes para la generación y desarrollo de raíces (Hartmann y Kester 1983, Leakey y Coutts 1989, Mesén 1993, Newton *et al.* 1992). Por lo tanto, con la poda foliar se buscó lograr un balance óptimo entre los efectos

benéficos de la fotosíntesis y otros co-factores foliares y los efectos negativos de la pérdida de agua por transpiración. En este caso, se confirmó que el área foliar, que se dejó en cada estaquilla (2,5-3 cm²) fue adecuada, la cual se definió con base en una serie de estudios anteriores (Mesén y Jiménez 2016).

Por su parte, el ambiente durante la fase de enraizamiento juega un papel fundamental en el éxito del proceso. Los sistemas de propagación deben cumplir 3 requisitos básicos (Loach 1988): mantener una atmósfera con baja demanda evaporativa, a fin de minimizar la transpiración de las estaquillas; mantener una temperatura adecuada, que estimule el metabolismo en la base de las estaquillas; y mantener una iluminación, que permita la fotosíntesis, pero sin causar aumentos excesivos de temperatura. En este sentido, favoreció el uso de las cámaras cerradas con una alta humedad relativa (85-90% a lo largo de todo el periodo), el uso de sombra de sarán del 50%, que permitió el ingreso de luz sin calentamiento excesivo (temperaturas de 21-27°C) y la irrigación periódica dentro de las cámaras, la cual tiene un doble efecto: por un lado, reduce la temperatura foliar y, además, al mantener una lámina de agua sobre las hojas la mayor parte del tiempo ayuda a reducir la cantidad de agua perdida por transpiración. No es de extrañar, entonces, que los sistemas cerrados con irrigación, como los usados en este trabajo, se hayan utilizado extensivamente desde los años 1930 para enraizamiento de un gran número de especies (Loach 1988) y siguen siendo de los sistemas más utilizados en la actualidad.

Los productos evaluados en este estudio, si bien de distinta naturaleza, fueron seleccionados por sus conocidos o promocionados efectos de importancia fundamental en el proceso de enraizamiento, y por el interés de evaluarlos, tanto solos como en distintas combinaciones, sobre lo cual no existía literatura en el caso de enraizamiento de estaquillas de híbridos café. Asimismo, era importante evaluar si diferencias en la fase de enraizamiento tendrían efectos posteriores en el desempeño temprano de las plantas en vivero.

Es interesante que no se encontraran diferencias entre tratamientos en la fase de enraizamiento de las estaquillas e, incluso, las estaquillas sin ningún tratamiento mostraron un alto porcentaje promedio de enraizamiento (88%, Cuadro 2). Si bien en este estudio no se midió la tasa fotosintética directamente, la irradiación en el área de propagación, al parecer, fue la óptima para mantener la turgencia en las estaquillas y a la vez permitir una tasa fotosintética adecuada, al estimular así su enraizamiento. Por estudios con otras especies se sabe que, incluso bajas tasas fotosintéticas, pueden influir significativamente en el éxito del enraizamiento en estaquillas y que los mayores valores de fotosíntesis se obtienen a irradiaciones relativamente bajas, en el orden de 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Mesén *et al.* 1997, Mesén *et al.* 2001), es decir, que el aparato fotosintético en estaquillas se satura a irradiaciones mucho menores que en una planta normal de la misma especie. Esto representa una gran ventaja en este tipo de propagación, ya que es posible, entonces, reducir considerablemente la irradiación, como se realizó en el presente estudio, lo cual logra reducir la transpiración en las estaquillas y, aun así, permitir una tasa fotosintética importante para estimular la producción y crecimiento de nuevas raíces.

Aunado a esto, es posible que las estaquillas de los híbridos contengan cantidades internas de auxina y otros co-factores suficientes para estimular el enraizamiento, sin necesidad de aplicaciones externas. Este mismo comportamiento ha sido observado en otras especies, por ejemplo *Vochysia guatemalensis*, que poseen suficiente auxina endógena, tanto así que cualquier aplicación adicional de auxina resulta nociva para el enraizamiento de las estaquillas (Mesén y Trejos 1997).

Con respecto a los híbridos, se encontraron diferencias significativas para todas las variables evaluadas en el muestreo destructivo (Cuadro 3), generalmente debidas a la superioridad de los híbridos L2A30 y L12A28. Estos híbridos fueron los más precoces para enraizar, muy posiblemente, debido a sus características genéticas, lo cual se vio reflejado posteriormente en mayores valores en estas variables de crecimiento.

Cuadro 3. Promedios por híbrido para las variables evaluadas durante la fase de enraizamiento. Promedios con letra distinta son estadísticamente diferentes según la prueba LSD ($p \leq 0,05$).

Variable	Híbrido		
	L4A5	L2A30	L12A28
Número raíces	3,17 c	4,98 b	6,11 a
Longitud raíces (cm)	4,78 c	5,40 b	6,17 a
Peso fresco parte aérea (g)	0,67 b	0,77 a	0,71 b
Peso fresco raíces (g)	0,13 b	0,19 a	0,17 b
Peso seco parte aérea (g)	0,15 b	0,17 a	0,15 b
Peso seco raíces (g)	0,02 b	0,03 a	0,03 a

Si bien durante la fase de enraizamiento no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, sí se notó su efecto posteriormente

en el desarrollo de las plantas a nivel de vivero. Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para las variables altura de plantas (Cuadro 4), número de hojas (Cuadro 5) y peso fresco de la parte aérea (Cuadro 6). En general destacó el desempeño superior del tratamiento convencional de uso actual por parte del programa de propagación del CATIE. Esto confirma que las investigaciones que se han llevado a cabo desde el inicio del programa han sido efectivas en seleccionar los productos óptimos para garantizar el enraizamiento efectivo de las estaquillas, que se tradujo luego en un buen desempeño en vivero (Mesén y Jiménez 2016). Este tratamiento incluye tanto AIB, como otros productos promotores del enraizamiento, además, de un complemento nutricional (Cuadro 1), todo lo cual contribuyó al buen desarrollo de las plantas en vivero.

Cuadro 4. Promedios de altura de plantas a 3 meses del trasplante. Promedios con letra distinta son estadísticamente diferentes según la prueba LSD ($p \leq 0,05$).

Tratamiento	Altura promedio de plantas (cm)
T9 Convencional	12,39 a
T5 AIB + Inoculante biológico	11,90 a
T4 AIB + Pyraclostrobin (F 500)	11,77 a
T8 Testigo absoluto	11,66 ab
T1 AIB	11,47 ab
T3 Inoculante biológico	11,22 ab
T2 Pyraclostrobin (F 500)	10,38 bc
T7 AIB + Pyraclostrobin (F 500) + Inoculante biológico	9,81 c
T6 Pyraclostrobin (F 500) + Inoculante biológico	9,54 c

Cuadro 5. Promedios de número de hojas en plantas a 3 meses del trasplante. Promedios con letra distinta son estadísticamente diferentes según la prueba LSD ($p \leq 0,05$).

Tratamiento	Número promedio de hojas
T9 Convencional	7,22 a
T5 AIB + Inoculante biológico	7,01 ab
T4 AIB + Pyraclostrobin (F 500)	6,88 abc
T3 Inoculante biológico	6,73 abcd
T1 AIB	6,62 bcde
T8 Testigo absoluto	6,58 bcde
T2 Pyraclostrobin (F 500)	6,45 cde
T6 Pyraclostrobin (F 500) + Inoculante biológico	6,27 de
T7 AIB + Pyraclostrobin (F 500) + Inoculante biológico	6,18 e

Cuadro 6. Promedios de peso fresco de la parte aérea de plantas a 3 meses del trasplante. Promedios con letra distinta son estadísticamente diferentes según la prueba LSD ($p \leq 0,05$).

Tratamiento	Peso fresco parte aérea (g)
T9 Convencional	11,67 a
T8 Testigo absoluto	11,24 ab
T4 AIB + Pyraclostrobin (F 500)	11,11 ab
T5 AIB + Inoculante biológico	11,08 ab
T3 Inoculante biológico	10,50 abc
T1 AIB	10,08 abc
T2 Pyraclostrobin (F 500)	9,21 bc
T6 Pyraclostrobin (F 500) + Inoculante biológico	8,42 c
T7 AIB + Pyraclostrobin (F 500) + Inoculante biológico	8,37 c

El AIB, por lo general, aumenta el número y calidad de los sistemas radiculares en estaquillas de muchas especies (Hartmann y Kester 1983, Leakey *et al.* 1990, Leakey 2014, Mesén *et al.* 1997, Ruiz-Solsol y Mesén 2010). Los efectos del AIB en el proceso de enraizamiento son múltiples y complejos: además, de estimular la división celular, al promover la síntesis de ADN, incrementa el transporte de carbohidratos y otros cofactores foliares hacia las regiones tratadas, lo

cual promueve la iniciación y desarrollo de raíces (Gaspar y Hofinger 1988, Leakey 2014).

Se notó también el efecto positivo sobre el crecimiento de las plantas en los tratamientos que incluyeron Pyraclostrobin (F 500) o el inoculante biológico junto al AIB, pero no así cuando los 2 primeros productos se aplicaron de manera conjunta. Esto sugiere la importancia de utilizar en la fase de enraizamiento productos con efectos complementarios, auxínicos (AIB) junto a

estimulantes de raíz (inoculante biológico) o de la fotosíntesis (Pyraclostrobin (F 500), lo cual logra así un mejor desempeño que cuando se aplicó cada producto por separado. El hecho de que hubo un menor desarrollo de las plantas cuando se aplicaron los 3 productos juntos, o bien cuando se aplicó únicamente Pyraclostrobin (F 500) junto al inoculante biológico, sugiere, quizás, un efecto de toxicidad por exceso de aplicaciones y/o alguna sinergia negativa. Sin embargo, se requieren estudios más detallados para confirmar o descartar este efecto y sus posibles causas, lo cual no estuvo dentro de los alcances de este trabajo.

También hubo diferencias significativas entre los híbridos en la fase de vivero, para las

variables altura de planta, diámetro al cuello de raíz y número de hojas (Cuadro 7). Sin embargo, las diferencias en términos prácticos fueron muy pequeñas; por ejemplo, la diferencia de altura de la planta entre el mejor híbrido (L2A30) y el peor (L12A28) fue de solo 1 cm; algo similar ocurrió para las otras variables evaluadas, con una diferencia de 0,11 mm en diámetro al cuello de la raíz y de 0,56 en número de hojas. Incluso el híbrido L4A5, que mostró valores relativamente inferiores para casi todas las variables en la fase de enraizamiento, mostró una recuperación notable en vivero, tanto que fue estadísticamente igual al L2A30 en cuanto a altura de la planta y número de hojas.

Cuadro 7. Promedio por híbrido para las distintas variables evaluadas a nivel de vivero. Promedios con letra distinta son estadísticamente diferentes según la prueba LSD ($p \leq 0,05$).

Variable	Híbrido		
	L4A5	L2A30	L12A28
Altura de la planta (cm)	11,45 a	11,47 a	10,47 b
Diámetro cuello de raíz (mm)	2,24 b	2,35 a	2,30 ab
Número de hojas	6,81 a	6,86 a	6,30 b

Como se detalló anteriormente, estos híbridos fueron seleccionados a partir de 98 híbridos iniciales, luego de una extensa investigación de más de 15 años. Su origen a partir de cruces de materiales tan genéticamente diversos, -Caturras o Sarchimores americanos con accesiones silvestres de Etiopía y Sudán-, vino a aumentar considerablemente la base genética tan estrecha de los cafés cultivados en América Central, en algunos casos derivados de una sola planta original (Anthony *et al.* 2002). Su vigor y excelente crecimiento son similares y han sido comprobados en numerosos ensayos y plantaciones a los largo de América Central (Bertrand *et al.* 2011, Georget *et al.* 2017, PROMECAFE 2011, Quijano 2007), lo cual parece manifestarse de igual manera desde la fase temprana de crecimiento en vivero.

Hasta ahora, la técnica que se ha utilizado tradicionalmente para la propagación de los híbridos, la embriogénesis somática, se ha visto limitada por varios cuellos de botella: una tasa muy baja de conversión de embrión a planta, pérdidas excesivas durante los procesos de aclimatación, lo cual incide en altos costos de producción (Etienne *et al.* 2013) y un largo tiempo, hasta 2 años, desde el inicio del cultivo hasta la generación de las nuevas plantas clonadas (Mesén y Jiménez 2016).

El presente trabajo demuestra que la técnica de enraizamiento de estaquillas es perfectamente factible, con altos porcentajes de enraizamiento y excelente desempeño de las plantas producidas. De esta manera, resulta un eficiente complemento a la embriogénesis

somática, en los esfuerzos por producir los híbridos de manera simple, a menor costo y en mucho menor tiempo, y facilitar su distribución al sector cafetalero regional, que es necesitado de materiales de alta producción y calidad.

AGRADECIMIENTOS

Las personas autoras expresan su agradecimiento al personal del Banco de Semillas Forestales del CATIE por su apoyo en las diversas etapas de esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Anthony, F; Combes, MC; Astorga, C; Bertrand, B; Graziosi, G; Lashermes, P. 2002. The origin of cultivated *Coffea arabica* L. varieties revealed by AFLP and SSR markers. *Theor. Appl. Genet.* 104:894-900.
- Bertrand, B; Alpizar, E; Lara L; SantaCreo, R; Hidalgo, M; Quijano, JM; Montagnon, C; Georget, F; Etienne, H. 2011. Performance of *Coffea arabica* F1 hybrids in agroforestry and full-sun cropping systems in comparison with American pure line cultivars. *Euphytica* 181:147-158.
- Bolaños, R; Watson, V; Tosi., J. 2005. Mapa ecológico de Costa Rica (Zonas de Vida), según el sistema de clasificación de zonas de vida del mundo de L.R. Holdridge, Escala 1:750 000. San José, Costa Rica, Centro Científico Tropical.
- CATIE (Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza). 2016. Datos meteorológicos (en línea). Turrialba, Costa Rica. Consultado nov. 2017. Disponible en <https://www.catie.ac.cr/productos-y-servicios/estacion-meteorologica/estacion-meteorologica-catie.html>
- CustomBio. 1992. Inoculante biológico Soil Probiotic (en línea). Florida, USA. Consultado 20 oct. 2017. Disponible en http://www.biotamax.com/Tech_Info.html
- Etienne-Barry, D; Bertrand, B; Vásquez, N; Etienne, H. 1999. Direct sowing of *Coffea arabica* somatic embryos mass produced in a bioreactor and regeneration of plants. *Plant Cell Rep.* 19:111-117.
- Etienne, H; Bertrand, B; Georget, F; Lartaud, M; Montes, F; Dechamp, E; Verdeil, JL; Barry-Etienne, D. 2013. Development of coffee somatic and zygotic embryos to plants differs in the morphological, histochemical and hydration aspects. *Tree Physiology* 33(6):640-653.
- FONTAGRO (Programa Cooperativo Regional para el Desarrollo Tecnológico y Modernización de la Caficultura) - PROMECAFE. 2005. Mejoramiento genético del café en América Central: Selección de clones de híbridos F₁ de *Coffea arabica*. Informe final ATN-SF-7382-RG IICA-BID. 88 p.
- Gaspar, T; Hofinger, M. 1988. Auxin metabolism during adventitious rooting. In Davis, TD; Haissig, BE; Sankhla; N (eds.). *Adventitious Root Formation in Cuttings*. B.E. Portland, Oregon, Dioscorides Press. p. 117-131.
- Georget, F; Courtel P; Malo García, E; Hidalgo, M; Alpizar, E; Breitler, JC; Bertrand, B; Etienne, H. 2017. Somatic embryogenesis-derived coffee plantlets can be efficiently propagated by horticultural rooted mini-cuttings: A boost for somatic embryogenesis. *Scientia Horticulturae* 216:177-185.
- Grange, RI; Loach, K. 1983a. Environmental factors affecting water loss from leafy cuttings in different propagation systems. *Journal of Horticultural Science* 58(1):1-7.
- Grange, RI; Loach, K. 1983b. The water economy of unrooted cuttings. *Journal of Horticultural Science* 58(1):9-17.
- Grossmann, K; Kwaitkowski, J; Retzlaff, G. 1999. Regulation of phytohormone levels, leaf senescence and transpiration by the strobilurin Kresoxin-methyl in wheat (*Triticum aestivum*). *Journal of Plant Physiology* 154:805-808.
- Hartmann, HT; Kester, DE. 1983. *Plant propagation – principles and practices*. 2nd. Ed. Englewood Cliffs, Prentice Hall, N. J. USA. 702 p.
- Häuser-Hahn, I; Baur, P; Schmitt, W. 2004. Fluoxastrobin (HEC 5725) – biochemistry and chemodynamic behaviour of a new leaf systemic strobilurin fungicide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 57:437-450.
- Henry, RS; Johnson, WG; Wise, KA. 2011. The impact of a fungicide and an insecticide on soybean growth, yield, and profitability. *Crop Protection* 30:1629-1634.
- Hill, CB; Bowen, CR; Hartman, GL. 2013. Effect of fungicide application and cultivar on soybean green stem disorder. *Plant Disease* 97:1212-1220.
- ICAFE (Instituto del Café de Costa Rica). 2011. *Guía técnica para el cultivo del café*. 1 ed. ICAFE-CICAFE, Heredia, Costa Rica. 72 p.
- Kanungo, M; Joshi, J. 2014. Impact of Pyraclostrobin (F-500) on crop plants. *Plant Science Today* 1(3):174-178.
- Köehle, H; Grossmann, K; Retzlaff, G; Akers, A; Limburgerhof, G. 1997. Physiological effects of the new fungicide Juwel on yield in cereals. *Gesunde Pflanzen* 4:267-271.
- Leakey, RRB. 1985. The capacity for vegetative propagation in trees. In Cannel, MGR; Jackson J (eds.). *Attributes of Trees as Crop Plants*. Institute of Terrestrial Ecology, Monks Wood. Huntington, England. p. 110-113.

- Leakey, RRB. 2014. Plant cloning: Macropropagation. Encyclopedia of Agriculture and Food Systems. Elsevier 4:349-359.
- Leakey, RRB; Coutts, MP. 1989. The dynamics of rooting in *Triplochiton scleroxylon* K. Schum. Cuttings: their relation to leaf area, node position, dry weight accumulation, leaf water potential and carbohydrate composition. *Tree Physiology* 5:135-146.
- Leakey, RRB; Mesén, F; Tchoundjeu, Z; Longman, KA; Dick, JMcP; Newton, AC; Matin, A; Grace, J; Munro, RC; Muthoka, PN. 1990. Low-Technology Techniques for the Vegetative Propagation of Tropical Trees. *Commonwealth Forestry Review* 69:247-257.
- Loach, K. 1988. Controlling environmental conditions to improve adventitious rooting. In Davis TD; Haissig BE; Sankhla N. (eds.). *Adventitious Root Formation in Cuttings*. B.E. Portland, Oregon, USA, Dioscorides Press. p. 248-273.
- Mesén, F. 1993. Vegetative Propagation of Central American Hardwoods. Ph.D. Thesis, University of Edinburgh, Institute of Terrestrial Ecology. Edinburgh, Scotland. 231 p. (unpublished).
- Mesén, F; Jiménez, LD. 2016. Producción de clones de café por miniestacas. Turrialba, Costa Rica, CATIE. Serie Técnica, Manual Técnico N°. 130. 28 p.
- Mesén, F; Newton, AC; Leakey, RRB. 1997. Vegetative propagation of *Cordia alliodora* (Ruiz & Pavon) Oken: the effect of IBA concentration, propagation medium and cutting origin. *Forest Ecology and Management* 92:45-54.
- Mesén, F; Newton, AC; Leakey, RRB. 2001. The influence of stockplant environment on morphology, physiology and rooting of leafy stem cuttings of *Albizia guachapele*. *New Forest* 22:213-227.
- Mesén, F; Trejos, E. 1997. Propagación vegetativa de San Juan (*Vochysia guatemalensis* Donn. Smith) mediante enraizamiento de estacas juveniles. *Revista Forestal Centroamericana* 21:19-24.
- Nelson, KA; Meinhardt, CG. 2011. Foliar boron and Pyraclostrobin effects on corn yield. *Agronomy Journal* 103:1352-1358.
- Newton, AC; Muthoka, P; Dick, JMcP. 1992. The influence of leaf area on the rooting physiology of leafy stem cuttings of *Terminalia spinosa*. *Engl. Trees* (6):210-215.
- Oerke, EC; Dehne, HW. 2004. Safeguarding production - pests, losses and crop protection in major crops. *Crop Protection* 23:275-285.
- PROMECAFE (Programa Cooperativo Regional para el Desarrollo Tecnológico y Modernización de la Caficultura). 2011. Mejoramiento genético del café en América Central, selección de clones de Híbridos F₁ de *Coffea arabica* y desarrollo tecnológico (en línea). Guatemala. Consultado 01 oct. 2017. Disponible en <http://www.promecafe.org>
- Quijano, JM. 2007. Validación de nuevos híbridos F₁ de *Coffea arabica* introducidos de PROMECAFE/CATIE a PROCAFE. Informe PROCAFE, El Salvador. 5 p.
- Ruiz-Solsol, H; Mesén, F. 2010. Efecto del ácido indolbutírico y tipo de estacilla en el enraizamiento de sachu inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Agronomía Costarricense* 34(2):259-267.



