

**DESARROLLO DE TECNICAS DE MACROPROPAGACIÓN PARA:
ARAUCARIA ANGUSTIFOLIA (Bertol.), *MYROCARPUS FRONDOSUS*, Y
BALFAROUDENDRON REDELIANUM (Engl)**

**DEVELOPMENT MACROPROPAGATION TECHNIQUES FOR: *ARAUCARIA
ANGUSTIFOLIA* (Bertol.), *MYROCARPUS FRONDOSUS*, Y *BALFAROUDENDRON
REDELIANUM* (Engl).**

**Fernando Niella¹
Patricia Rocha¹**

¹Ing. Ftal – M.Sc. Investigador Laboratorio de Propagación Vegetativa - Facultad de Ciencias Forestales - Universidad Nacional de Misiones - Bertoni 124. 3382 Eldorado, Misiones - Argentina. Email: FNIELLA@arnet.com.ar

SUMMARY

Effectiveness of rooting inductive treatments in *Araucaria*, *Inciense* and *Guatambú* was investigated. The best rooting frequency was achieved when cuttings were treated with water or ethanol solution without IBA. The rooting frequency obtained on cuttings without IBA induction treatments was $40\pm 10.32\%$ for *Guatambú*, $70\pm 10.50\%$ for *Araucaria* and $80\pm 10.02\%$ in *Inciense*. Presents results showed: 1) high rooting capacity of *Araucaria*, *Inciense* and *Guatambu*; 2) that rooting induction can be achieved without auxins, and 3) that rooted cutting technology has a good potential for *Selva Paranaense* woody native species (Misiones province, northeast Argentina).

Keywords: macropropagation, rooting, *Araucaria sp*, *Myrocarpus sp*. *Balfaroudendron sp*

RESUMEN

Los resultados del presente trabajo evidencian que los tratamientos inductivos estudiados, afectan en forma significativa la capacidad de enraizamiento en estacas de *Araucaria*, *Guatambú* e *Inciense*. De todos los tratamientos inductivos ensayados, las estacas tratadas con solución de agua o etanol, sin AIB, presentaron porcentajes de enraizamiento significativamente mayores al de las estacas tratadas con AIB. La frecuencia de enraizamiento promedio, en estacas tratadas con agua (0 AIB-Agua), fue de un $70\pm 10.50\%$ en *Araucaria*, de un $40\pm 10.32\%$ en *Guatambú* y de un $80\pm 10.02\%$ en *Inciense*. Los resultados del presente estudio demuestran: 1) el potencial de la capacidad de enraizamiento de las especies estudiadas; 2) descarta la necesidad de utilizar auxinas, 3) que la tecnología de macropropagación desarrollada para *Pinus sp*. puede, ser extrapolada a especies leñosas nativas a la *Selva Paranaense*, de la Provincia de Misiones; y 4) permite avanzar en el desarrollo de un programa de propagación vegetativa operacional para estas especies.

Palabras claves: macropropagación, enraizamiento, *Araucaria sp*, *Myrocarpus sp*. *Balfaroudendron sp*

INTRODUCCION

El desarrollo de técnicas de propagación vegetativa en especies leñosas, como la macropropagación, ha tomado un fuerte impulso en los últimos 5 años en las especies exóticas foresto-industriales de rápido crecimiento como en el genero *Pinus sp.* en el noreste del país (Corrientes y Misiones). Específicamente en el caso de *Pinus taeda* (una especie normalmente clasificada como difícil de enraizar y genotipo dependiente), se ha demostrado localmente que con un adecuado método de manejo de planta madre y condiciones ambientales específicas de enraizamiento, es posible lograr tasas de multiplicación promedio de 30 brotes/planta y porcentajes de enraizamiento de un 80 a 100 %, que permiten emplear las técnicas de macropropagación a escala operacional (Rocha y Niella, 2001 y 2002). Sin embargo, para la mayoría de las especies leñosas nativas a la Selva paranaense en la Provincia de Misiones, la experiencia y el conocimiento acerca de la respuesta a la aplicación de técnicas de propagación vegetativa como la macropropagación, es aun muy escasa. En el caso de especies exóticas foresto-industriales como el *Pinus taeda*, el desarrollo de técnicas de propagación, viene dado fundamentalmente, por la necesidad de aumentar la disponibilidad de material selecto provenientes de los programas genéticos existentes en la región. Para el caso de las especies nativas a la selva Paranaense, existen razones distintas aunque igualmente urgentes. Entre estas razones, se encuentran factores que son inherentes a la especie leñosas subtropicales, como es el corto periodo en el cual la semilla permanece viable. Esto dificulta enormemente su almacenamiento aun en plazos relativamente cortos.

En especies con distribución natural muy limitada como es el caso de la *Araucaria angustifolia* la situación es aun más critica (en solo 120 días la viabilidad de su semilla se reduce un 60 %) (Romalho Carvalho, 1994; Tarnowsky, 1996; Pereyra Fowler, et al. 1998). Mas aun, teniendo en cuenta que se trata de una especie emblemática para la región (monumento natural provincial, ley provincial 2380). La continua extracción de los mejores ejemplares para la industria (calificado esto como excelente vigor, rectitud de fuste, crecimiento, volumen, etc.) en su área natural, han producido un deterioro gradual en la calidad del bosque remanente, donde solo los ejemplares de calidad genética inferior son los que producen descendencia. Este proceso de *erosión genética*, bien conocido y documentado en buena parte del mundo, es particularmente intenso en los bosques tropicales y subtropicales (como la selva paranaense en Misiones). En este sentido, el desarrollo de técnicas de multiplicación como la macropropagación, permitirá aumentar la disponibilidad de plantines de germoplasma local (en riesgo de extinción), como una forma de complementar las estrategias de conservación que ya se hallan en marcha en la región, como son las áreas protegidas y selección de arboles semilleros . Eventualmente también, satisfacer la demanda actual y potencial para plantaciones industriales.

Extrapolando en buena medida la experiencia desarrollada para el genero *Pinus sp.*, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la capacidad de enraizamiento de estacas de *Araucaria angustifolia* (*Araucaria*), *Myrocarpus frondosus*(*Incienso*), y *Balfaroudendron redelianum* (*Guatambú*), inducidas con diferentes concentraciones de Ácido Indol Butírico (AIB). Este estudio es parte de un proyecto más amplio tendiente al desarrollo de métodos operacionales de propagación vegetativa como estrategia de masificación y conservación ex situ de germoplasma local de las especies nativas a la Selva Paranaense en la Provincia de Misiones.

MATERIALES Y METODOS

Material vegetal

Araucaria

Las estacas se obtuvieron del ápice de plantas (de semillas de origen local) de 12 meses de edad, criadas en *tubetes en invernáculo (media sombra 50%)*. Las estacas seleccionadas presentaron una longitud de 7-10 cm y un diámetro no menor a 3 mm. Las estacas fueron acondicionadas mediante un corte fresco de las bases (horizontal) a un tamaño final de 8 cm y tratamiento de las bases con fungicida. Las estacas así acondicionadas fueron asignadas a los diferentes tratamientos inductivos.

Incienso

Las estacas se obtuvieron del ápice de plantas (de semillas de origen local) de 16 meses de edad, criadas en *maceta bajo media sombra del 50%*. Las estacas seleccionadas presentaron una longitud de 8 cm y un par de hojas en el ápice. Las estacas fueron acondicionadas mediante un corte fresco de las bases (horizontal) a un tamaño final de 7 cm y tratamiento de las bases con fungicida. Las estacas así acondicionadas fueron asignadas a los diferentes tratamientos inductivos.

Guatambú

Las estacas se obtuvieron del ápice de plantas (de semillas de origen local) de 12 meses de edad, criadas en *maceta bajo media sombra del 50%*. Las estacas seleccionadas presentaron una longitud de 8 cm y un par de hojas en el ápice. Las estacas fueron acondicionadas mediante un corte fresco de las bases (horizontal) a un tamaño final de 7 cm y tratamiento de las bases con fungicida. Las estacas así acondicionadas fueron asignadas a los diferentes tratamientos inductivos.

Tratamientos y diseño experimental

Las estacas acondicionadas, fueron distribuidas aleatoriamente en grupos de 20 estacas por tratamientos inductivos para cada especie. Los tratamientos inductivos consistieron en la inmersión, por 15 segundos, de la base de la estaca en una solución de Ácido Indol Butírico (AIB), disuelto en etanol al 70%. Las concentraciones de AIB fueron las siguientes: 1 mg/l; 10 mg/l; 100 mg/l; 1000 mg/l; 1000 mg/l, 5000 mg/l. Los tratamientos control: 0 mg/l AIB (0 AIB-Etanol) y 0 mg/l AIB (0 AIB-Agua). Los tratamientos fueron asignados en un diseño completamente aleatorizado, con 20 repeticiones por tratamientos.

Condiciones de enraizamiento

Luego de la aplicación de los correspondientes tratamientos inductivo y control, las estacas fueron insertadas en bandejas Hiko de 90 cm³, conteniendo como sustrato corteza de pino compostada y perlita en una relación 3:1. Las bandejas se mantuvieron en invernáculo en condiciones semi-controladas de humedad y temperatura.

Colecta de datos y análisis estadístico

Las variables consideradas para evaluar el efecto de los tratamientos fueron: porcentaje de enraizamiento (%ENRAIZ.), largo máximo de raíces expresada en cm (LMAX), y número de raíces laterales primarias (LP). La evaluación se efectuó a los 90 días de iniciado el ensayo. Los promedios, errores estándar y análisis de la varianza se desarrollaron usando el Sistema de Análisis Estadístico (SAS), usando el módulo GLM (General Lineal Model).

RESULTADOS

Araucaria

El análisis de los resultados (Tabla 1) indica diferencias significativas en el porcentaje de enraizamiento (%ENRAIZ), longitud máxima (LMAX) y número de raíces laterales primaria (LP) para los diferentes tratamientos inductivos utilizados para el enraizamiento de *Araucaria* (p-value: 0.0001; $\alpha=0.05$). Las estacas tratadas con agua (0 AIB-Agua) o etanol diluido (0 AIB-Etanol) presentaron los valores más altos de porcentaje de enraizamiento, longitud máxima de raíz y el número de raíces laterales primarias (Tabla 1). Mientras que las estacas tratadas con 1, 10 y 100 mg/l de AIB no mostraron respuesta al tratamiento inductivo. En las estacas tratadas con concentraciones altas de AIB 1000 y 5000 mg/l se observó respuesta al enraizamiento, no obstante, con valores más bajos que los tratamientos sin AIB (Tabla 1).

El test de comparaciones múltiples (Fisher's LSD) identifica las diferencias significativas entre los tratamientos inductivos para la variable porcentaje de enraizamiento, longitud máxima de raíces y raíces laterales primarias. La frecuencia de enraizamiento vario de un $70\pm 10.50\%$ cuando las estacas fueron tratadas con agua (0 AIB-AGUA), a un 0 % en los *tratamiento con AIB* 1, 10 y 100 mg/l. Mientras que las estacas tratadas con concentraciones altas de AIB 1000 y 5000 mg/l la frecuencia de enraizamiento fue de un $30\pm 10.51\%$ (Tabla 1). Las variables longitud máxima (LMAX) y raíces laterales primarias (LP) fueron afectadas por los tratamientos inductivos, observándose un promedio de LMAX que fue de 2.12 ± 0.283 cm, cuando las estacas fueron tratadas con agua (0 AIB-AGUA), a un mínimo de 0.27 ± 0.10 cm cuando fueron inducidas con *AIB 5000 mg/l*. El número de raíces laterales primarias varió de un promedio de 1.32 ± 0.22 raíces en estacas inducidas con agua (0 AIB-AGUA), a un promedio mínimo de 0.35 ± 0.13 raíces en el tratamiento AIB 1000 mg/l (Tabla 1)

Tabla 1. Efecto de los tratamientos de inducción y manejo en estacas de *Araucaria*, promedios \pm error estándar y numero de observaciones (N) para las variables Porcentaje de enraizamiento (%Enraiz), longitud máxima (LMAX), y raíces laterales primarias (LP).

AIB mg/l	N	%ENRAIZ.	LMAX	ROOTS
0 AIB-Etanol	20	61 ± 10.81 a	1.85 ± 0.359 a	1.15 ± 0.208 a
0 AIB-Agua	20	70 ± 10.50 a	2.12 ± 0.283a	1.32 ± 0.220 a
1	20	0 c	0 b	0 c
10	20	0 c	0 b	0 c
100	20	0 c	0 b	0 c
1000	20	30 ± 10.51 b	0.30 ± 0.137 b	0.35 ± 0.131 b
5000	20	30 ± 10.51 b	0.27 ± 0.105 b	0.40 ± 0.152 b

Fisher LSD, tratamientos con la misma letra no son significativamente distintos; $\alpha: 0.05$

Guatambú

El análisis de los resultados (Tabla 2) indica diferencias significativas en el porcentaje de enraizamiento (%ENRAIZ), longitud máxima (LMAX) y número de raíces laterales primaria (LP) para los diferentes tratamientos inductivos utilizados para el enraizamiento de *Guatambú* (p-value: 0.046; 0.0007 y 0.0001 respectivamente; $\alpha=0.05$). En todos los

tratamientos inductivos se observó respuesta a la inducción. Las estacas tratadas con 5000 mg/l de AIB presentaron los valores más altos de porcentaje de enraizamiento, longitud máxima de raíz y el número de raíces laterales primarias, aunque no demostró diferencias significativas con respecto a los tratamientos sin AIB (0-AIB Agua o 0-AIB Etanol) (Tabla 2).

El test de comparaciones múltiples (Fisher's LSD) identifica las diferencias significativas entre los tratamientos inductivos para la variable porcentaje de enraizamiento, longitud máxima de raíces y raíces laterales primarias. La frecuencia de enraizamiento vario de un $50 \pm 11.47\%$ cuando las estacas fueron tratadas con 5000 mg/l de AIB, a un mínimo de $15 \pm 8.197\%$ en el tratamiento con 100 mg/l de AIB. Mientras que las estacas tratadas con concentraciones altas de AIB 1, 10 y 1000 mg/l la frecuencia de enraizamiento fue de un $20 \pm 9.176\%$ (Tabla 2). Las variables longitud máxima (LMAX) y raíces laterales primarias (LP) fueron afectadas por los tratamientos inductivos, observándose un promedio de LMAX que fue de 1.40 ± 0.384 cm, cuando las estacas fueron tratadas con 5000 mg/l de AIB, a un mínimo de 0.17 ± 0.110 cm cuando fueron inducidas con 100 mg/l de AIB. El número de raíces laterales primarias varió de un promedio de 2.05 ± 0.60 raíces en estacas inducidas con 5000 mg/l de AIB, a un promedio mínimo de 0.20 ± 0.009 raíces en el tratamiento AIB 1000 mg/l (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto de los tratamientos de inducción y manejo en estacas de *Guatambú*, promedios \pm error estándar y numero de observaciones (N) para las variables Porcentaje de enraizamiento (%Enraiz), longitud máxima (LMAX), y raíces laterales primarias (LP).

AIB mg/l	N	%ENRAIZ	LMAX	ROOTS
0 AIB-Etanol	20	45 ± 11.413 ab	0.55 ± 0.230 b	1.45 ± 0.400 a
0 AIB-Agua	20	40 ± 10.32 a	0.57 ± 0.321 b	1.62 ± 0.360 a
1	20	20 ± 9.176 bc	0.22 ± 0.154 b	0.25 ± 0.123 b
10	20	20 ± 9.176 bc	0.18 ± 0.110 b	0.35 ± 0.181 b
100	20	15 ± 8.197 c	0.17 ± 0.110 b	0.20 ± 0.116 b
1000	20	20 ± 9.176 bc	0.37 ± 0.194 b	0.20 ± 0.091 b
5000	20	50 ± 11.47 a	1.40 ± 0.384 a	2.05 ± 0.600 a

Fisher LSD, tratamientos con la misma letra no son significativamente distintos; α : 0.05

Inciense

El análisis de los resultados (Tabla 3) indica diferencias significativas en el porcentaje de enraizamiento (%ENRAIZ), longitud máxima (LMAX) y número de raíces laterales primaria (LP) para los diferentes tratamientos inductivos utilizados para el enraizamiento de *Inciense* (p-value: 0.0001; $\alpha=0.05$). Las estacas tratadas con agua (0 AIB-Agua) o etanol diluido (0 AIB-Etanol) presentaron los valores más altos de porcentaje de enraizamiento, longitud máxima de raíz y el número de raíces laterales primarias, observándose diferencias no significativas entre estos tratamientos controles (Tabla 3). Mientras que las estacas tratadas con 1, 10 y 100 mg/l de AIB no mostraron respuesta al tratamiento inductivo. En las estacas tratadas con concentraciones altas de AIB 1000 y 5000 mg/l se observó respuesta al enraizamiento, no obstante, con valores más bajos que los tratamientos sin AIB (Tabla 1).

El test de comparaciones múltiples (Fisher's LSD) identifica las diferencias significativas entre los tratamientos inductivos para la variable porcentaje de enraizamiento, longitud máxima de raíces y raíces laterales primarias. La frecuencia de enraizamiento vario

de un $80 \pm 10.02\%$ cuando las estacas fueron tratadas con agua (0 AIB-Agua), a un 0 % en los *tratamiento con AIB* 1, 10 y 100 mg/l. Mientras que las estacas tratadas con concentraciones altas de AIB 1000 y 5000 mg/l la frecuencia de enraizamiento fue de un $30 \pm 10.51\%$ a un $15 \pm 8.19\%$, respectivamente (Tabla 3). Las variables longitud máxima (LMAX) y raíces laterales primarias (LP) fueron afectadas por los tratamientos inductivos, observándose un promedio de LMAX que fue de 1.20 ± 0.291 cm, cuando las estacas fueron tratadas 0 mg/l de AIB (0 AIB-Etanol), a un mínimo de 0.15 ± 0.089 cm cuando fueron inducidas con 5000 mg/l de AIB. El número de raíces laterales primarias varió de un promedio de 2.85 ± 0.549 raíces en estacas inducidas con 0 mg/l de AIB (0 AIB-Etanol), a un promedio mínimo de 0.45 ± 0.256 raíces en el tratamiento AIB 5000 mg/l (Tabla 3)

Tabla 3. Efecto de los tratamientos de inducción y manejo en estacas de *Inciense*, promedios \pm error estándar y numero de observaciones (N) para las variables Porcentaje de enraizamiento (%Enraiz), longitud máxima (LMAX), y raíces laterales primarias (LP).

AIB mg/l	N	%ENRAIZ	LMAX	ROOTS
0 AIB-Etanol	20	75 ± 9.993 a	1.20 ± 0.291 a	2.85 ± 0.549 a
0 AIB-Agua	20	80 ± 10.023 a	1.01 ± 0.266 a	2.45 ± 0.482 a
1	20	0 c	0 b	0 c
10	20	0 c	0 b	0 c
100	20	0 c	0 b	0 c
1000	20	30 ± 10.513 b	0.40 ± 0.179 b	0.85 ± 0.364 b
5000	20	15 ± 8.191 bc	0.15 ± 0.089 b	0.45 ± 0.256 bc

Fisher LSD, tratamientos con la misma letra no son significativamente distintos; α : 0.05

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Los resultados presentados en este trabajo evidencian que los tratamientos de inducción pueden afectar en forma significativa la capacidad de enraizamiento en estacas de *Araucaria*, *Guatambú* e *Inciense*. De todos los tratamientos inductivos estudiados, las estacas tratadas con *solución de agua o etanol, sin AIB*, presentaron los valores significativamente más altos de enraizamiento, comparado con las estacas tratadas con AIB. La inducción a la formación de raíces adventicias sin la aplicación de auxinas, demuestra que los niveles endógenos son suficientes para sostener la formación de raíces en la estaca, y que la aplicación exógena de AIB pudo haber afectado negativamente la formación de raíces. Resultados publicados por Thetford y Blazich (1995), Frampton et al. (1999), y Rocha y Niella (2000 y 2002) mostraron una tendencia similar, donde las estacas no tratadas presentaron un porcentaje de enraizamiento significativamente mayor que las estacas tratadas con AIB. El hecho de que las plantas madres de las cuales se obtuvieron las estacas, fueran criadas a bajas intensidades lumínicas (50% media sombra) pudo haber contribuido al que las estacas obtenidas tuvieran un balance de carbohidratos-auxinas óptimo para el enraizamiento (Hansen, et al.; 1978; Kramer and Kozlowski; 1979; Kozlowski; 1992), sin la necesidad de aplicación de auxinas exógenas.

Los resultados del presente estudio son relevantes desde tres puntos: 1) demuestran la capacidad de enraizamiento de las especies estudiadas; 2) descartan la necesidad de utilizar auxinas, con el consiguiente reducción de costos operativos, 3) demuestran que la tecnología de macropropagación desarrollada para *Pinus sp.* puede en buena medida ser extrapolada a especies leñosas nativas a la *Selva Paranaense*, de la Provincia de Misiones; y 4) permite

avanzar en el desarrollo de un programa de propagación vegetativa operacional para estas especies. A partir de este estudio y como parte un proyecto tendiente al desarrollo de métodos operacionales de propagación vegetativa de las especies leñosas nativas a la *Selva Paranaense* de la Provincia de Misiones, se iniciaron en el corriente año (2003), en el Laboratorio de Propagación Vegetativa de FCF-UNAM, estudios de manejo del rebrote de planta madre en *Araucaria*, *Inciense*, y *Palo Rosa* (*Aspidosperma polynerum*) y enraizamiento subsiguiente de los mismos.

BIBLIOGRAFÍA

- FRAMPTON, J. Goldfarb, B. and Surles, S. 1999. Nursery rooting and growth of loblolly pine cuttings: effects of rooting solutions and full-sib family. South. J. Appl. For. 23 (2): 108-115.
- HANSEN, J.; L. Stromquist and A. Ericsson. 1978. Influence of the irradiance on carbohydrate content and rooting of cuttings of Pine seedlings (*P. Sylvestris* L.). Plant Physiol. 61, 975-979.
- KOZLOWSKI, T. 1992. Carbohydrate sources and sinks in woody plants. Bot. Rev. 58: 108-222
- KRAMER, P. and T. Kozlowski, T. 1979. Physiology of woody plants. Academic press, New York, San Francisco, London. 811p.
- LAND, S. B. and Cunningham, M. 1994. Rooted cutting macropropagation of Harwoods. En: Proceedings of the Southern regional information Exchange Group Biennial Symposium on Forest genetics: Applications of Vegetative Propagation In Forestry. Huntsville, Alabama - Published by: Southern forest Experiment Station, New Orleans, Louisiana, USA.. Pg: 75-96.
- PEREYRA FOWLER, J; A. Bianchetti y A. Zanon. 1998. Conservacao de sementes de Pinheiro-do-Paraná sob diferentes condicoes de ambiente e embalagens. EMBRAPA Comunicado Técnico No. 34:1-4.
- ROCHA, P. y Niella, F. 2000. Informe técnico: Presentación de avances en técnicas de propagación vegetativa para *Pinus taeda* y *Pinus elliottii x caribaea*. Presentado en: Seminario interno Abril 2000. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Nacional de Misiones. Eldorado, Misiones. Circulación interna. 63 p.
- ROCHA, P. y Niella, F. 2001. Manual de procedimientos: Metodología de manejo de plantas madres, producción de brotes y enraizamiento subsecuente para la propagación vegetativa de *Pinus taeda* y *Pinus elliottii x caribaea*. Presentado en: Seminario interno Diciembre 2001. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Nacional de Misiones. Eldorado, Misiones. Circulación interna. 24 p.
- ROCHA, P. Y Niella, F. 2002. Efecto de tratamientos inductivos en el enraizamiento de estacas de *Pinus elliottii x caribaea* y *Pinus taeda*. 9na Jornadas Técnicas Forestales. Mayo 15-17, 2002. FCF-UNaM-INTA-ME y RNR y T- Eldorado, Misiones-Argentina.
- TARNOWSKI, B. 1996. Manejo del "Parque Provincial Cruce caballero: Diagnostico de la situación del Parque Provincial "Cruce Caballero" Informe. Facultad de Ciencia Forestales-UNaM y Ministerio de Ecología y Recursos Naturales Renovables. 35 pp.

THETFORD, M. and Blazich F. 1995. Comparison of IBA and P-IPB for propagation of Loblolly pine stem cuttings. SNA Research Conference-Vol. 40:269-271