

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL COMAHUE
Asentamiento Universitario San Martín de los Andes



Inv. 11559

PRACTICA LABORAL

**Enraizamiento de estacas en *Nothofagus nervosa*
(Phil.) Dim et Mil "Raulí" bajo tratamiento hormonal.**

Carrera: Técnico Forestal
Profesor Supervisor: Ing. Agr. Hernán MATTES
Alumno: Uriel Ernesto MELE
Legajo N° 27490
Mayo, 1996

A mi familia, Maty, Tincho y Nacho.

A aquellos que hicieron y hacen el A.U.S.M.A.

EL MILAGRO DEL BOSQUE

La naturaleza hizo el milagro del bosque
con árboles que hablan en cantos transparentes,
con arrullo de pájaros y armonía de voces,
entre danzas de soles y sombras permanentes.

Los bosques siempre guardan secretos milenarios,
la razón de la vida, el corazón del mundo.
Serenos alquimistas, constantes necesarios,
que transforman el aire y lo vuelven más puro.

Los bosques, poco a poco, se van del universo,
gigantes de madera que se alejan llorando.
Se van con los misterios, se llevan los secretos
de dar la vida a un mundo que ya se está acabando.

Y se van con los pájaros y con todos sus cantos,
se llevan en mil rondas las hojas y maderas.
Más huérfanos que nunca nos quedamos mirando
horizontes vacíos y follajes de estrellas.

Los bosques languidecen y habrá que protegerlos.
No todos lo comprenden, están porque nos aman.
Hay manos asesinas que nos dejan sin ellos.
El mundo ya no es mundo si los bosques se acaban.

María Teresa Cibils

INDICE

INTRODUCCION.....	pág. 1
REVISION BIBLIOGRAFICA.....	pág. 4
MATERIALES Y METODOS	pág. 11
RESULTADOS Y DISCUSION.....	pág. 19
CONCLUSIONES.....	pág. 22
RECOMENDACIONES.....	pág. 24
BIBLIOGRAFIA.....	pág. 25
AGRADECIMIENTOS.....	pág. 26

INTRODUCCION

En los Bosques Andino-Patagónicos ha sido común que algunas de las especies nativas hayan sido aprovechadas sin un criterio silvícola que tienda a la reposición del material extraído.

Aunque el hombre haya necesitado siempre de los recursos naturales para la obtención de productos que permitan su desarrollo, no quiere decir que los mismos sean inagotables, en el caso de la madera, y que no piense en una disminución dramática, especialmente los considerados de un valor económico importante.

Las especies del género *Nothofagus*, se han destacado siempre en la comercialización de maderas nativas argentinas y chilenas; se caracterizan por tener un uso muy variado: desde madera aserrada para construcción, muebles, chapas para recubrir tableros, hasta el aprovechamiento como combustible para la fabricación de pulpa de fibra corta.

Cuando nos referimos al bosque nativo siempre hablamos de una ordenación forestal, regulando el aprovechamiento de los bosques, conduciendo las masas hacia su mejor estado de producción, obteniendo el mayor rendimiento constante y sostenido, cuyos productos se adapten a las necesidades del hombre y se logre la perpetuidad del recurso forestal. (M. Porras, 1985)

La Reproducción Asexual de las plantas en general se puede dividir en dos grandes grupos: Reproducción o Propagación Vegetativa y Apomixis.

1- Reproducción Vegetativa:

* *Reproducción Vegetativa Natural*: en la naturaleza, la reproducción vegetativa se produce a partir de simples extensiones del cuerpo de la planta madre con capacidad para desarrollar nuevos individuos. Son ejemplos las raíces adventicias, estolones, rizomas, tubérculos caulinares subterráneos, tubérculos radicales, yemas axilares, bulbos, propágulos.

* *Reproducción Vegetativa Artificial*: creada por el hombre, y se realiza mediante acodos, enraizamiento de estacas, injertos y otros.

2- Apomixis:

Es la reproducción mediante la formación de embriones sin fecundación. Se conocen tres modalidades principales:

* *Partenogénesis*: es el desarrollo de un embrión a partir del óvulo sin previa fecundación.

* *Apogamia*: es la formación del embrión a partir de otras células del gametofito (no del óvulo).

* *Embrionía adventicia*: es el desarrollo de uno o varios embriones a partir de células del esporofito.

Para la especies forestales, los métodos de propagación vegetativa principales son el arraigamiento o enraizamiento de estacas y la propagación in-vitro, organogénesis y embriogénesis somática. Estos métodos varían y son aplicados según las especies, y dentro de éstas según los objetivos.

El proceso de Reproducción Asexual tiene su importancia también en horticultura, ya que el genotipo de los cultivares y plantas ornamentales valiosas, se pierden de inmediato al propagarlos por semillas. La Reproducción Sexual por semillas puede presentar condiciones de latencia muy complejas y demás cuidados importantes, por lo que la Reproducción Asexual se hace casi indispensable.

Esta propagación es altamente importante en genética forestal, permite mover genes de individuos seleccionados y establecerlos en huertos semilleros. En estos sitios, los genes pueden recombinarse y se obtienen semillas de calidad. (Libby, 1974).

Una de las maneras de reproducción de algunas especies nativas de nuestros bosques, en este caso en particular *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim et Mil (Raulí), es la Reproducción Vegetativa mediante Clones.

Se conocen algunos antecedentes que permiten la reproducción asexual de las especies de *Nothofagus* y su posterior cultivo en vivero o en el mismo bosque.

Se define un Clon como un conjunto de individuos procedentes de otro, originario, por alguno de los procedimientos de multiplicación asexual o agámica, sin reproducción cromática. (P. Font Quer, 1982)

Hartmann y Kester definen también a un Clon como un "material genéticamente uniforme derivado de un solo individuo y que se propaga de un modo exclusivo por medios vegetativos como estacas, divisiones o injertos".

El concepto en sí de Clon, no significa que todos los individuos procreados sean por necesidad idénticos en todas sus características a su progenitor.

El aspecto y comportamiento de una planta, es decir su fenotipo, resulta de la interacción de sus genes (genotipo) y su medio ambiente en el cual la planta se desarrolla. Esto quiere decir que, en un Clon determinado algunas de sus características como forma de fuste, copa, crecimiento, por citar ejemplos, puede variar debido al clima, suelo, enfermedades y otras causas.

Tiempo atrás se creía que un Clon se deterioraba con la edad y que sólo podía recuperarse en la propagación por semillas. Con estudios más recientes se ha comprobado que en algunos clones se llegó a un deterioro importante y que se los debe cuidar en la propagación. El factor decisivo puede ser la infección por virus.

Esto predice que un Clon que se cultiva por cierto tiempo, tarde o temprano se infecta, y su supervivencia depende de su capacidad para resistir ese virus.

En los clones pueden ocurrir cambios o mutaciones que no siempre pueden ser degenerativos. Se puede clonar un árbol que tenga características tecnológicas en su madera excelentes para un uso determinado.

Varias especies de latifoliadas desarrollan brotes en pie una vez cortadas (de los tocones), siendo éste el lugar más adecuado para extraer las muestras.

La edad de la planta madre puede ser un factor fundamental para el enraizamiento. En la parte basal del árbol o en el tocón, en especial en los bosques de *Nothofagus*, presentan una retención de hojas hasta fines del otoño, esto indica que esa parte aún se encuentra en estado juvenil. Se supone que cualquier tratamiento que mantenga la fase juvenil de crecimiento, tendrá más posibilidades de enraizar.

En este trabajo se trata de reproducir vegetativamente a través de estacas, extraídas de tocones o cepas, de individuos cortados para la producción de madera, la especie *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim et Mil (Raulí), bajo tratamiento hormonal.

A partir de una información muy escasa acerca de la reproducción vegetativa de las especies nativas de los Bosques Andino-Patagónicos, se plantea la factibilidad de reproducir vegetativamente la especie citada a partir de estacas.

Se desea llegar a un mejoramiento genético de la especie asegurándose de realizar tareas de enriquecimiento y conservación con material genético que asegure su calidad en el bosque.

Sobre este tipo de reproducción asexual a través de estacas, para algunas especies nativas chilenas hay resultados satisfactorios. Son ejemplos: *Ulmus sp.*, *Quercus sp.*, *Eucaliptus sp.*, todos los *Populus sp.*, *Betula sp.*, *Liquidambar sp.*, etc. Es de gran importancia trabajar con estacas recolectadas en primavera o verano para algunas especies, y con estacas extraídas en otoño y comienzo del invierno para otras. En todos estos casos, es necesario aplicar en la base de las estacas hormonas que incentiven el desarrollo radicular; el AIB (Acido Indol Butírico) ha dado muy buenos resultados. Este compuesto es el utilizado en el presente ensayo.

El presente trabajo se enmarca dentro de un Proyecto global Interinstitucional denominado: "Conservación Dinámica de *Nothofagus caducifolios*". Participan del mismo Parques Nacionales, el I.N.T.A. y la Universidad Nacional del Comahue.



REVISION BIBLIOGRAFICA

Importancia de la Reproducción Vegetativa

La Propagación Vegetativa o Asexual consiste en la reproducción de individuos a partir de porciones vegetativas de las plantas, y es posible porque en muchas de éstas los órganos vegetativos tienen capacidad de regeneración.

Cualquier célula viva de una planta tiene toda la información genética necesaria para generar al organismo completo (Hartmann y Kester, 1990).

Las plantas que se propagan vegetativamente reproducen toda la información de la planta progenitora y por este motivo que las características de una planta son perpetuadas, estableciéndose un Clon.

La Propagación Vegetativa tiene una importancia especial en la genética forestal, permite mover genes de individuos seleccionados y establecerlos en huertos semilleros, esto es para obtener semilla de muy buena calidad.

Formación de raíces adventicias. Causas.

Es necesaria la interacción de factores genéticos, químicos y ambientales, de éstos va a depender la capacidad de enraizamiento.

Juvenilidad: una madera juvenil enraiza más fácilmente que una madera adulta.

En un árbol que se encuentra en edad reproductiva hay tres zonas de maduración: una zona juvenil en la corona y base del árbol, una zona de transición, y una zona madura en los sectores apicales de la canopia del árbol. Este fenómeno se lo conoce como tipósis, y sus consecuencias son que los brotes basales de un árbol viejo usualmente pueden enraizar, no así los nuevos (Morgan, 1985).

Hay una alta correlación entre la edad del árbol y la disminución en la capacidad de enraizamiento. Esta capacidad de formar raíces adventicias está relacionada con la condición fisiológica y química de la madera. La madera joven presenta un tejido menos esclerosado y fibroso en relación con la madera adulta que necesita más sostén. Estos tejidos son una barrera física para el proceso de enraizamiento; existiría también una relación entre la lignificación y el aumento de sustancias inhibitorias del enraizamiento.

Recolección del material. Epoca del año.

El momento de la recolección está relacionado con la condición de la madera, si esta es leñosa, semileñosa o herbácea.

Algunos autores señalan que en general, en las especies caducifolias de difícil enraizamiento, se obtienen mejores resultados de enraizamiento con estacas semileñosas, es decir recolectadas durante el periodo de crecimiento.

En las especies de hojas perennes, se han obtenido mejores resultados una vez finalizada la época de crecimiento, vale decir en otoño.

Hay que tener en cuenta que las estacas semileñosas con hojas de especies caducifolias requieren de un mecanismo que eviten la deshidratación.

Condiciones ambientales.

La combinación y la interacción de los factores ambientales van a mejorar el potencial de enraizamiento, esto es a través de una mayor eficiencia fotosintética (Hartmann, 1990).

Los factores ambientales son:

- Humedad: las hojas en las estacas son un fuerte estímulo para la formación de raíces, pero como las estacas no tienen un sistema radicular, se producen déficit hídricos, lo que dificulta el proceso y puede llegar a causar la muerte de la estaca.

En especies de fácil enraizamiento, la pronta formación de raíces colabora con la absorción de agua para que compense las pérdidas por las hojas.

Para reducir al mínimo la transpiración de las hojas de las estacas, la presión del vapor de agua de la atmósfera debe ser o mantenerse lo más similar posible a la presión que existe en los espacios intercelulares de la hoja (Hartmann y Kester, 1977).

Mojar el follaje de la estaca permite cierta absorción de agua a través de sus hojas, reduciendo las pérdidas de agua de la superficie foliar, así conservará su agua interna.

El inconveniente de este mecanismo es que se puede sobresaturar de agua la zona de enraizamiento, lo que va a favorecer el ataque de patógenos. La falta de oxígeno puede afectar la elongación radicular (Press, 1983).

Una aspersión intermitente puede lixiviar nutrientes de las hojas de las estacas, refiriéndose específicamente a cationes intercambiables (nitrógeno, manganeso) y, en menor medida, calcio, azufre, potasio y magnesio. Los síntomas típicos son clorosis, caída de hojas y poca sobrevivencia de las estacas.

Para contrarrestar este inconveniente pueden utilizarse fertilizantes foliares.

Uno de los mejores beneficios en el arraigamiento en las estacas son los sistemas de pulverización de agua. Estas pueden ser expuestas completamente a la luz solar, para lograr la máxima fotosíntesis, sin daño a las hojas por excesivo calor y pérdidas de humedad.

Algunos autores señalan que en general, en las especies caducifolias de difícil enraizamiento, se obtienen mejores resultados de enraizamiento con estacas semileñosas, es decir recolectadas durante el periodo de crecimiento.

En las especies de hojas perennes, se han obtenido mejores resultados una vez finalizada la época de crecimiento, vale decir en otoño.

Hay que tener en cuenta que las estacas semileñosas con hojas de especies caducifolias requieren de un mecanismo que eviten la deshidratación.

Condiciones ambientales.

La combinación y la interacción de los factores ambientales van a mejorar el potencial de enraizamiento, esto es a través de una mayor eficiencia fotosintética (Hartmann, 1990).

Los factores ambientales son:

- Humedad: las hojas en las estacas son un fuerte estímulo para la formación de raíces, pero como las estacas no tienen un sistema radicular, se producen déficit hídricos, lo que dificulta el proceso y puede llegar a causar la muerte de la estaca.

En especies de fácil enraizamiento, la pronta formación de raíces colabora con la absorción de agua para que compense las pérdidas por las hojas.

Para reducir al mínimo la transpiración de las hojas de las estacas, la presión del vapor de agua de la atmósfera debe ser o mantenerse lo más similar posible a la presión que existe en los espacios intercelulares de la hoja (Hartmann y Kester, 1977).

Mojar el follaje de la estaca permite cierta absorción de agua a través de sus hojas, reduciendo las pérdidas de agua de la superficie foliar, así conservará su agua interna.

El inconveniente de este mecanismo es que se puede sobresaturar de agua la zona de enraizamiento, lo que va a favorecer el ataque de patógenos. La falta de oxígeno puede afectar la elongación radicular (Press, 1983).

Una aspersión intermitente puede lixiviar nutrientes de las hojas de las estacas, refiriéndose específicamente a cationes intercambiables (nitrógeno, manganeso) y, en menor medida, calcio, azufre, potasio y magnesio. Los síntomas típicos son clorosis, caída de hojas y poca sobrevivencia de las estacas.

Para contrarrestar este inconveniente pueden utilizarse fertilizantes foliares.

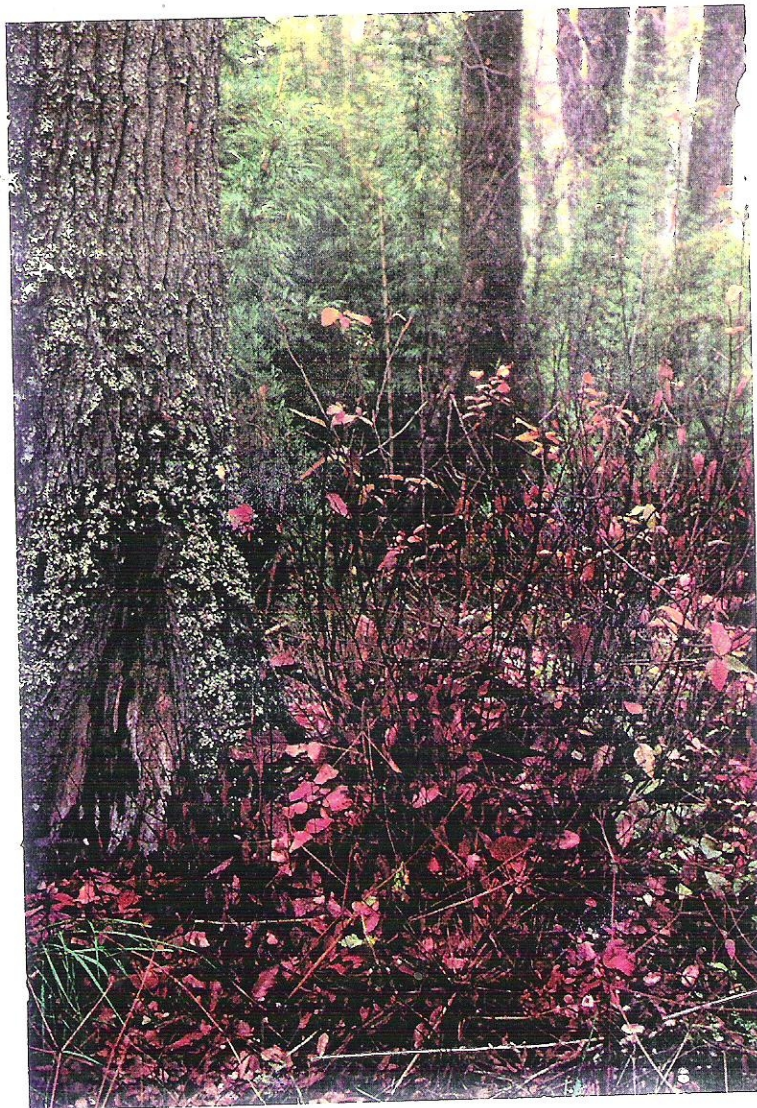
Uno de los mejores beneficios en el arraigamiento en las estacas son los sistemas de pulverización de agua. Estas pueden ser expuestas completamente a la luz solar, para lograr la máxima fotosíntesis, sin daño a las hojas por excesivo calor y pérdidas de humedad.

* propiedades biológicas: el medio debe ser libre de sustancias biológicamente activas y organismos como semillas de malezas, esporas de hongos, larvas de insectos y cualquier materia patógena.

Se requiere en general que algunos productos como la arena , el aserrín, turba o bien suelo de un bosque, sean esterilizados adecuadamente.

- Nutrientes: Las cantidades relativas de nutrientes en las estacas, es un factor importante que afecta la iniciación y crecimiento de raíces. El abastecimiento de carbohidratos y proteínas pueden ser adecuadas para satisfacer los requerimientos de energía y de construcción de tejidos. Una alta relación de carbohidratos y nutrientes ha sido indicada como necesaria para la rápida formación de raíces. Estacas con bajo contenidos de carbohidratos y alto contenido de nutrientes nitrogenados, arraigan pobremente.

Las estacas sin hojas de especies deciduas, dependen totalmente de los nutrientes almacenados hasta el desarrollo de las hojas. Arraigarán mejor si ellas son colectadas cuando la cantidad de nutrientes almacenados en el árbol padre sean altas.



Fitoreguladores u Hormonas Vegetales

Son sustancias orgánicas que, producidas en una parte u órgano de la planta se traslada a otro y en muy bajas concentraciones inducen efectos fisiológicos definidos. Una de las características de las hormonas es la acción a distancia. Trae como consecuencia la manifestación de los fenómenos llamados de correlación. Por ejemplo, el enraizamiento, el crecimiento de los frutos, procesos en los cuales ocurre una desaparición gradual de ciertas hormonas, la entrada al estado de dormición y el aumento en la concentración de otras hormonas. Es ejemplo de lo explicado la rizogénesis. Hormonas producidas en las yemas se trasladan a la base de las ramas.

Fenómenos de correlación. Acción a distancia.

- 1)- Multiplicación celular.
- 2)- Alargamiento celular.
- 3)- Dominancia apical.
- 4)- Actividad de yemas y actividad cambial.
- 5)- Producción de primordios foliares.
- 6)- Polaridad de crecimiento.
- 7)- Fecundación y crecimiento de frutos.
- 8)- Abscisión.
- 9)- Alteración del crecimiento normal.
- 10)- Inhibición o iniciación del crecimiento.



La acción hormonal está integrada por los siguientes factores, entre ellos:

Factores Nutritivos: contribuyen a la síntesis de compuestos estructurales, sustratos respiratorios, compuestos de energía, reserva, ellos son: micro y macronutrientes, agua, oxígeno y dióxido de carbono.

Factores Metabólicos: enzimas. Canalizan, regulan y ordenan, total o parcialmente, la intervención de los factores nutritivos para el cumplimiento de los procesos vitales (fotosíntesis, respiración, etc.).

Factores Hormonales: factores internos que ordenan, aceleran o regulan la intervención e integración de los procesos vitales en el tiempo y en el espacio, manifiestan fenómenos fundamentales: crecimiento, desarrollo y reproducción.

Las hormonas deben cumplir ciertos requisitos:

- a) que se originen en el mismo organismo.
- b) que se traslade del sitio de síntesis al de acción.
- c) que actúe en pequeñas dosis.
- d) que induzca o afecte procesos definidos.

Tipos de Hormonas:

- Auxinas: estimulan la extensión de la pared celular acompañada de entrada de agua, induciendo el alargamiento celular. Pueden ser fitohormonas como el Acido Indol Acético, también sintéticas como el indolpropiónico, indolbutírico, naftalenacético, etc.

También las auxinas participan en la dominancia apical, morfogénesis, abscisión, etc.

- Giberelinas: inducen el alargamiento caulinar en plantas enanas, reemplazan en condiciones no inductivas para la floración, la necesidad de fotoperíodos largos. Además en muchos casos inducen la ruptura de dormición de las yemas.

- Citocininas: reguladores naturales o sintéticos que estimulan el fenómeno de citocinesis o formación del fragmoplasto en la división celular; también intervienen en la senescencia foliar, como así también en la rizogénesis, crecimiento de los tejidos callosos y formación de yemas, junto a las auxinas.

- Precursores: pueden ser convertidos en auxinas, citocininas o giberelinas.

- Antiauxinas: reguladores sintéticos que se oponen competitivamente a la acción de las auxinas sobre el crecimiento.

- Inhibidores: son en su mayoría reguladores naturales y contribuyen a la regulación y periodicidad del crecimiento y se oponen a la acción de las auxinas y giberelinas. Son ejemplos las abscisinas, que son los ácidos abscísico, faseico y lunárico, que parecen ser responsables de la dormición de las yemas, caída de hojas y frutos.

- El Etileno es un producto normal del metabolismo celular, participa en la maduración de frutos y en la inducción de la abscisión.

-Retardantes: son sintéticos. Frenan la división y alargamiento de células meristemáticas subapicales.

Clasificación y estructura química

I) Naturales

1) Fitohormonas

- a) De Auxinas
- b) De Giberelinas
- c) De Citocininas

2) Precursores de hormonas

- a) Auxinas
- b) Giberelinas
- c) Citocininas

II) Sintéticos

1) Auxinas

- a) Grupo indol: Ac. Indolpropiónico (AIP)
Ac. Indolbutírico (AIB)
- b) Grupo Naftaleno: Ac. Naftalenacético (ANA)
- c) Grupo Naftoxi: Ac. Naftoxiacético (NOA)
- d) Grupo Fenoxi: Ac. 2-4 Diclorofenoxiacético (2-4D)

2) Citocinina

- Cinetina (CIN)
- Benciladenina (BA)

3) Antiauxinas: TIBA

El Acido Indol Butírico, una de las más importantes hormonas de crecimiento de las plantas, ha demostrado ser efectiva en estimular la formación de raíces.

El tipo y magnitud de las respuestas obtenidas con las hormonas sintéticas, dependen de la cantidad de compuesto absorbido por la estaca, la cantidad translocada dentro de ella y la capacidad de responder a los estímulos.

MATERIALES Y METODOS

MATERIALES

1) Ubicación del ensayo: se llevó a cabo en el Asentamiento Universitario de San Martín de los Andes, dentro de un compartimiento en desuso del mencionado establecimiento. Se lo lavó, desinfectó y se lo puso en condiciones para que pueda funcionar como "mini-laboratorio".

Se lo acondicionó de tal manera que no pudiesen ingresar agentes patógenos y para poder conservar condiciones favorables de luz, temperatura y humedad.

2) Estacas: el material fue extraído de Quilanlahue, área cercana a la ciudad de San Martín de los Andes (aproximadamente a 25 km.) por la Ruta Provincial N° 48. Se encuentra dentro del Parque Nacional Lanín y comprende 492,43 has. de superficie. En este lugar se está realizando un Plan de Manejo desde el año 1989 a cargo de la Administración del Parque Nacional Lanín.

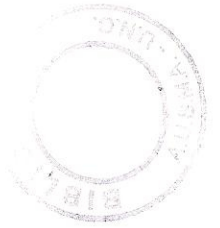
El aprovechamiento de la madera lo realiza CORFONE S.A. a través de contratistas privados, los cuales se encargan de la extracción y de la comercialización del material.

La elección del lugar se determinó por la buena accesibilidad, gran cantidad de material para estudiar y el planteo de reproducir la especie *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim et Mil (Raulí) genética y fenotípicamente. Es de interés en este trabajo recoger muestras de individuos extraídos del aprovechamiento que, debido a su elección para la corta, poseen características importantes de su madera para obtener un alto beneficio.

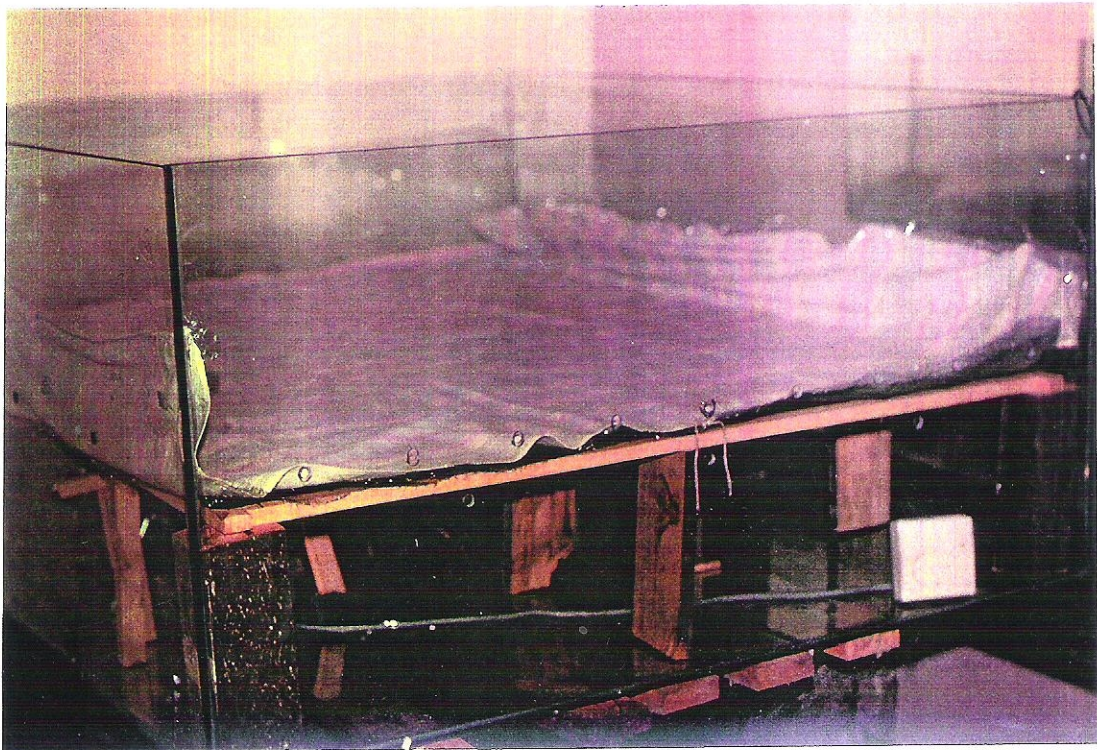
Se identificaron los tocones y se extrajeron entre 10 y 15 muestras de estacas de cada uno de ellos.

Se encontró en el lugar que los rebrotes o retoños de cepa estaban muy dañados, ya sea por ataque de insectos, hongos y el ramoneo de los animales de trabajo. De todas maneras, se trató de seleccionar el mejor material posible.

Se realizaron dos recolecciones del material. La primera se llevó a cabo el 29 de mayo de 1995 (estacas de otoño, sin hojas); la segunda se realizó el 30 de noviembre de 1995 (estacas de primavera, con hojas).



Cámara de Enraizamiento



PRIMERA RECOLECCION. Fecha: 29/05/95

El tamaño de las estacas oscilaba entre los 30 a 40 cm. de largo, y entre 0.3 y 0.7 cm. de espesor. Se eligieron las menos dañadas por agentes externos y las edades oscilaban entre los 2 y 4 años. Se extrajeron 150 estacas, se utilizaron para este procedimiento tijeras de podar, pulverizador de agua para mantener la hidratación durante el traslado, bolsas de polietileno y fungicidas.

El corte de la estaca se realizó lo más cercano posible a la planta madre, a 2 o 3 cm., ésto se debe a que la concentración de nutrientes es mayor en esta zona. El corte se realiza en bisel (45°), algunos autores dicen que este corte ayuda a una mejor formación del callo en la base de la estaca.

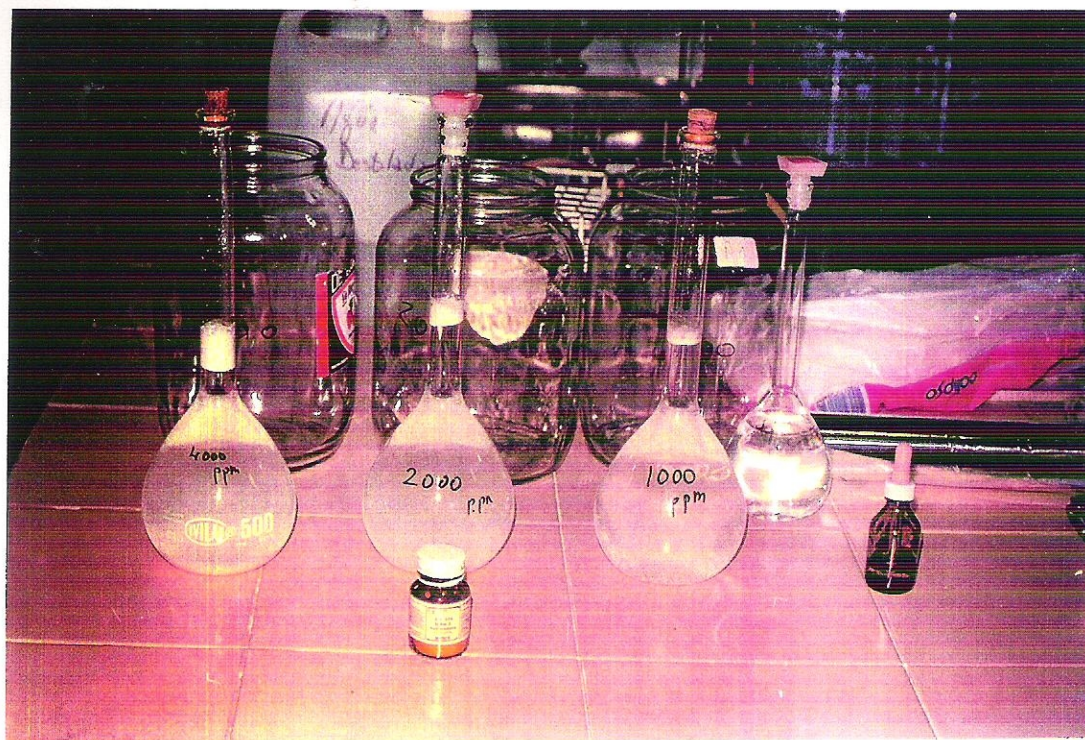
Una vez llevado el material al laboratorio, se lo lavó con agua se lo desinfectó en una solución de Espadol al 5%, nuevamente se lo pasó por agua y finalmente en atados de 10 estacas, se envolvieron en bolsas de polietileno y bien cerradas para evitar el ingreso de cualquier patógeno y la evaporación, se introdujo cada paquete en una heladera a 4°C.

Medio de Arraigamiento

Se confeccionó una caja de vidrio de 1,5 por 1 m. y 0.7m. de profundidad. A 25 cm. del fondo se introdujo una red metálica con bases de madera y sobre ella una tela para impedir el paso de las partículas del sustrato y filtración de agua. En el fondo del compartimiento de vidrio, previamente se introdujo una estufa a cuarzo y un termostato para regular la temperatura del medio de arraigamiento. Esta se mantuvo durante el ensayo entre 19 y 23 °C, temperatura a la cual, según algunos autores, consideran que la fitohormona utilizada comienza a hacer efecto.

El sustrato elegido para este primer ensayo, fue tierra traída del bosque previamente esterilizada en Autoclave, para evitar que algún agente patógeno perjudique el ensayo. La tierra se colocó sobre la tela, con una profundidad de 18 cm., se la subdividió en cuatro sectores de acuerdo a las distintas concentraciones de fitohormonas y una testigo.

Se regó adecuadamente el sustrato hasta dejarlo a capacidad de campo, situación ideal para llevar a cabo el tratamiento. El riego se efectuó con pulverizadores de mano, 3 ó 4 veces por día. El lugar de ensayo poseía buena ventilación y óptimas condiciones de higiene.



Distintas concentraciones en solución de la Fitohormona

METODOS

Se utilizó para el tratamiento la Fitohormona sintética Acido Indol Butirico (AIB), marca Merk (Industria alemana), adquirida en un laboratorio químico de la ciudad de La Plata.

Se prepararon tres concentraciones en solución de la fitohormona: 1.000 ppm (parte por millón), 2.000 ppm y 4.000 ppm.

El procedimiento se llevó a cabo el 28 de agosto de 1995, casi tres meses luego de la recolección del material y luego de haber permanecido las estacas todo este tiempo en la heladera. Estas se encontraban aparentemente en buena condición fisiológica cuando se comenzó con el tratamiento.

La solución hormonal se preparó con agua destilada y una solución de hidróxido de potasio 0.1 N (para la disolución de la Fitohormona).

Antes de introducir las estacas en la cámara de arraigamiento, se las sumergió en la solución hormonal de la siguiente manera:

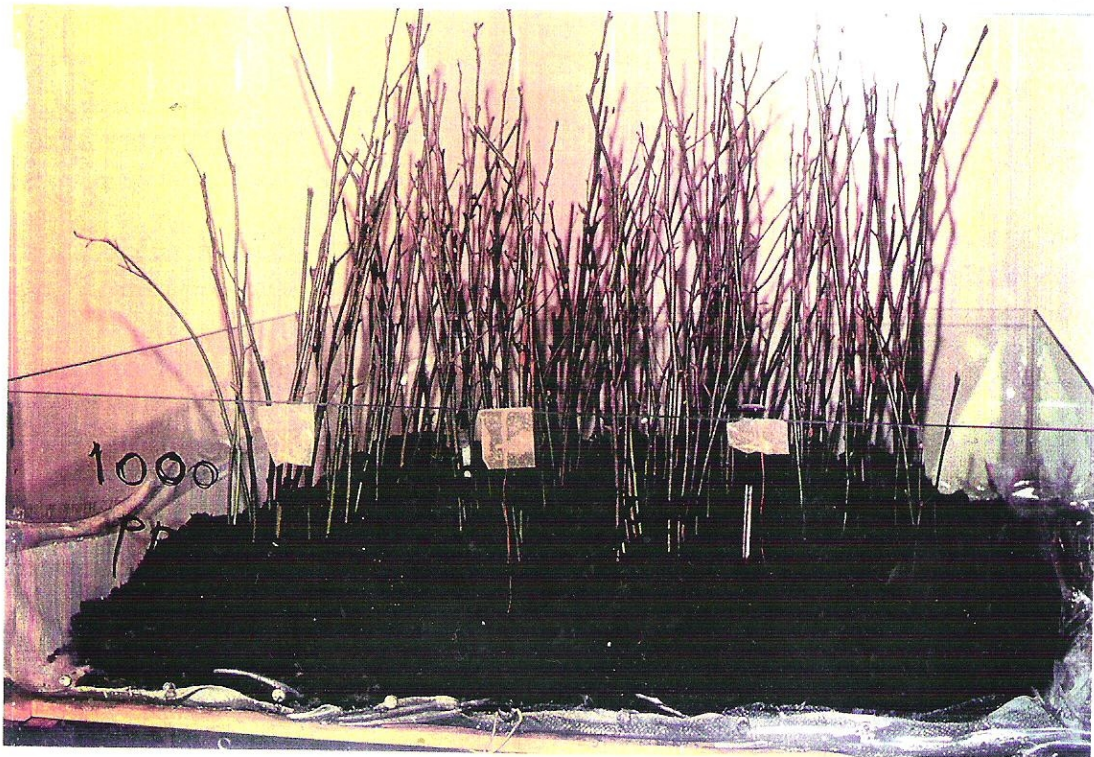
- 40 estacas: inmersión en la solución de 5 cm. a partir de la base de la estaca durante 120 seg. para la concentración de 1.000 ppm
- 40 estacas: inmersión 60 seg. para la concentración de 2.000 ppm.
- 40 estacas: inmersión 30 seg. para la concentración de 4.000 ppm.

Este tiempo fue tenido en cuenta según la bibliografía consultada y para no saturar la estaca de la solución de la hormona que puede tornarse nociva.

Se colocaron en la cámara también 30 estacas testigo (sin tratamiento alguno).

Se aplicó luz artificial durante 14 a 16 hs. diarias, 3 a 4 riegos diarios y tres controles de temperatura del sustrato y ambiental.

Durante los primeros 30 días de iniciado el tratamiento, es decir, una vez introducidas las estacas en la cámara de arraigamiento se llevaron a cabo las siguientes tareas: 3 veces al día se regaban las estacas con pulverizadores de agua, una cantidad aproximada en 1.000 cm³ en total por día. Cada 7 días se rociaban las estacas y el sustrato con fungicida diluido en agua al 30%. Se controlaba diariamente el estado de la turgencia de las yemas como así también el color y aspecto de las estacas.



Estacas en la Cámara de Enraizamiento

Las estacas que se extrajeron tenían un mínimo de 3 a 4 hojas cada una. La gran mayoría estaban atacadas por insectos o dañadas por acción de ramoneo de los animales de trabajo; no fue posible extraer material en mejores condiciones. El tamaño de las estacas fue de 25 a 30 cm. de largo con un espesor de 0.2 a 0.5 cm.

Para la extracción se utilizaron tijeras de podar, pulverizador de agua, fungicidas, bolsas de polietileno y frascos de vidrio con agua para el traslado del material al laboratorio.

En esta recolección también el corte de la estaca se realizó en forma de bisel, cerca de la base del árbol. Inmediatamente luego de efectuar el corte se humectó permanentemente la estaca para evitar su deshidratación y se las introdujo en los frascos con agua, también se las envolvió en bolsas de polietileno y se las dejó listas para su traslado al lugar del ensayo. Con el material en el laboratorio, se le cambió el agua al frasco, se volvió a pulverizar la zona foliar y se lo roció con fungicida. En estas condiciones se dejó el material listo para realizarle el tratamiento al día siguiente.

Medio de Arraigameinto.

En la misma caja de vidrio en que se llevó a cabo el tratamiento anterior, con el mismo sistema de soporte de sustrato, calefacción y riego, se inició el ensayo. Se utilizó aserrín de madera de pino como medio de arraigameinto. A este se lo preparó de la siguiente manera: se lo hirvió en agua por el lapso de aproximadamente 60 minutos, se lo dejó secar y se lo colocó en la caja de vidrio sobre una tela y ésta sobre una malla de alambre. La altura del sustrato fue de 15 cm.

La temperatura del sustrato se mantuvo entre los 18 y 20°C, con una humedad a capacidad de campo como el ensayo anterior. Se utilizó un vaporizador de 2 litros de agua para tratar de mantener la humedad de las hojas dentro de la cámara de arraigamiento; por último se cubrió toda la cama con un nylon transparente para evitar la pérdida de humedad. Las condiciones de humedad, luz, temperatura e higiene del laboratorio fueron las mismas que en el anterior procedimiento.



METODOS

Nuevamente se utilizó para el tratamiento la Fitohormona AIB (Acido Indol Butírico) del mismo origen de la anterior.

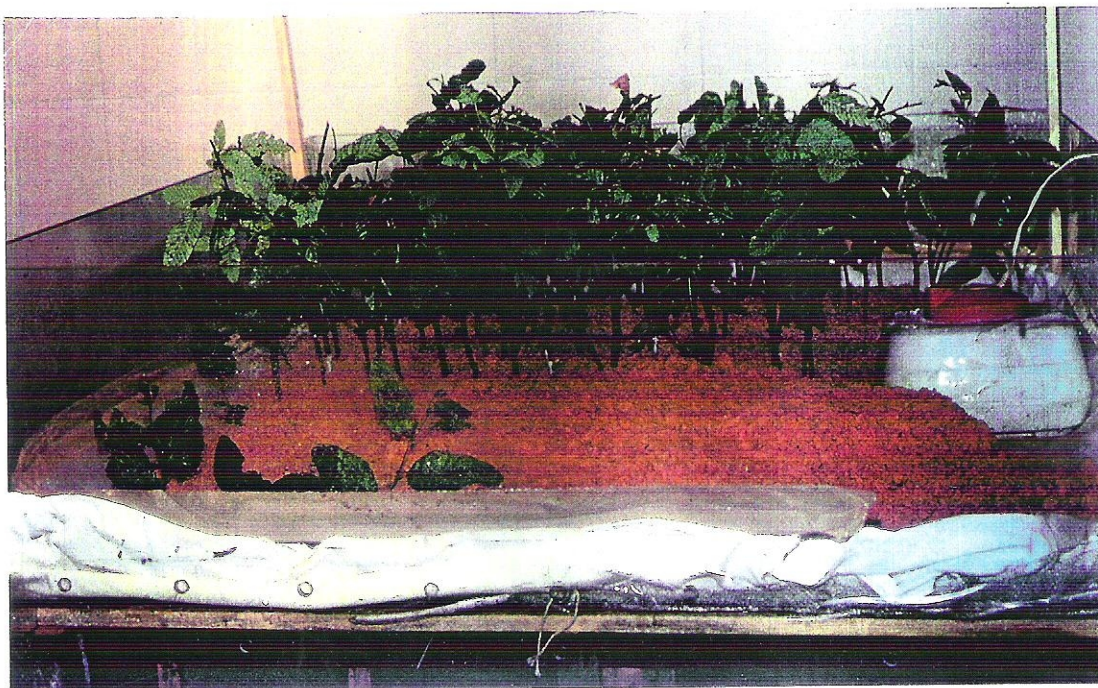
La diferencia estuvo en la preparación de la misma, forma que fue utilizada y la aplicación .

Se compró en una farmacia de la localidad talco neutro con el cual se realizó el medio de aplicación de la Fitohormona.

En bandejas de metal se mezclaron el talco y el AIB en tres concentraciones distintas, distribuidas de la siguiente manera: 400, 700 y 1.000 partes por millón (ppm).

Se utilizaron para esta prueba 25 estacas para cada concentración hormonal. Se sumergió 3-4 cm. la base de cada estaca, previamente mojada, en la bandeja de talco con la hormona durante unos 2 minutos cada una y se la introdujo en la cámara de arraigamiento. También se colocaron 25 estacas testigo.

Para este tratamiento se llevó un riego diario mayor, 6 o 7 veces al día para evitar la pérdida de humedad de las hojas, este punto es crucial para evitar la muerte de las estacas.





Estaca con hoja. Lugar de aplicación de la Fitohormona

RESULTADOS Y DISCUSION

Primer tratamiento:

Según la bibliografía consultada para este tipo de tratamiento, podría haber indicios de formación de raíces a los 20-25 días de iniciado el proceso. Exactamente el día 28/09/95, y en forma aleatoria se seleccionaron diez estacas por concentración.

No se encontró indicio alguno de formación de callos o aparición de algún elemento que indique una futura formación radicular.

Lo que llamó poderosamente la atención fue que las estacas estaban en un estado realmente bueno, con su coloración natural, yemas turgentes y todas vivas y sin ninguna presencia de agentes patógenos.

Algunos autores que han trabajado con estacas de especies caducas de bosques templados en Europa, señalan que aquellas estacas con un diámetro de 0.4 a 0.8 cm. con un tratamiento hormonal similar, pueden demorar en aparecer indicios entre 60 y 90 días.

Se realizaron dos controles los días 06/10/95 y 15/10/95 respectivamente. Se seleccionaron 10 muestras por tratamiento y tampoco se encontró indicio de callosidad en las estacas. Si comenzaron a aparecer las primeras estacas muertas, 4 en la concentración de 1000 ppm, 3 en las de 2000 ppm, 5 en 4000 ppm y 2 en las estacas testigo.

En estos muestreos se encontró que en la parte inferior del sustrato estaba por debajo de la capacidad de campo, señal que llevó a aumentar la cantidad de agua de riego, aparentemente producido por el calor de la estufa a cuarzo.

A los 15 días del último muestreo, se llevó a cabo un control de todas las estacas del ensayo (30/10/95).

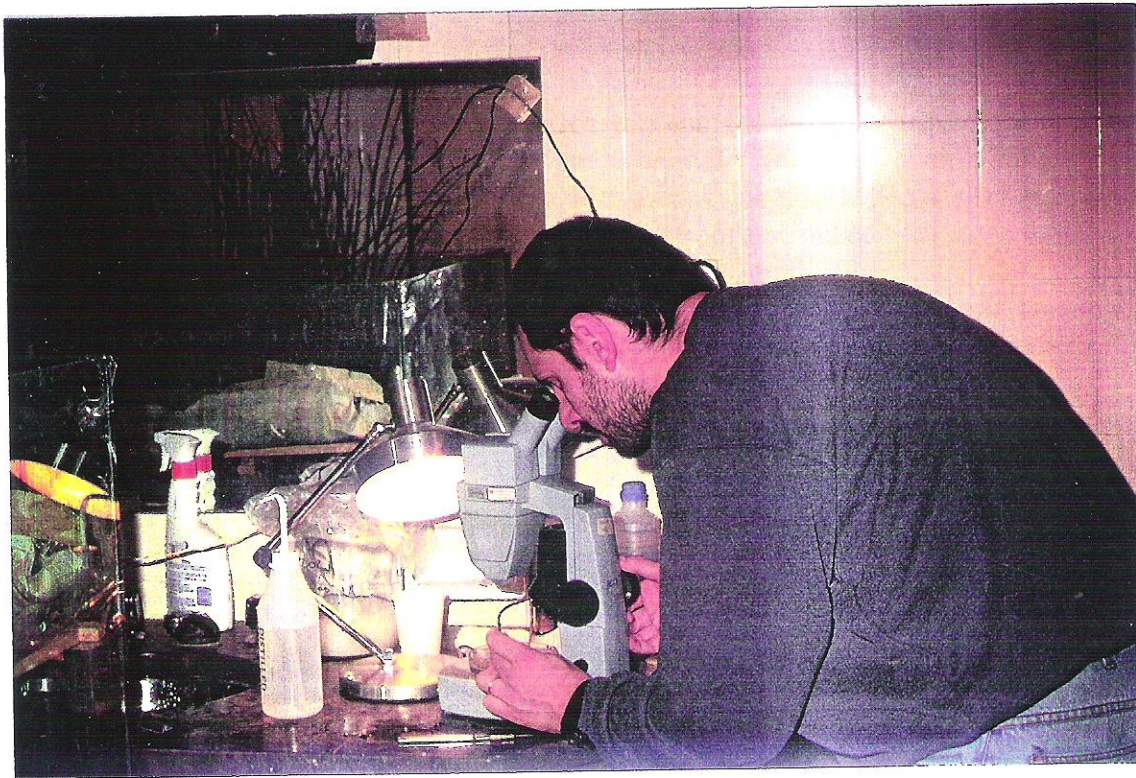
El estado de las mismas era deficitario, con las yemas poco turgentes, colores morados en casi todas las estacas y muchas muertes.

Sólo sobrevivieron entre el 10 y 15% de cada concentración y el 20% de las estacas testigo.

Estas últimas sobrevivientes se las separó, se les dieron mejores condiciones de temperatura y humedad, pero a partir de los 20 días, comenzaron a morir.

Durante el ensayo, y al no tener resultados satisfactorios o indicios de formación de callos o raíces, se trataron de conocer las causas o los motivos de tal resultado.

Se evaluaron la cantidad de días que estuvieron las estacas en el frío, el tamaño de las mismas, el tiempo que ha estado la base de la estaca sumergida en la solución hormonal, la temperatura del sustrato, la cantidad y modalidad del riego, la temperatura y humedad ambiental y la calidad del material seleccionado para el ensayo. También se tuvo en cuenta la época de recolección y el lugar elegido para llevar a cabo el ensayo.



Segundo tratamiento:

Ya a los 7 días de iniciado, se empezaron a evidenciar síntomas de marchitamiento en algunos ejemplares.

A los 14 días se encontraron el 20% de muertes en las 3 concentraciones y testigos. Se sacó el nylon que cubría la cama de arraigamiento para disminuir la temperatura de su ambiente producida por el vaporizador.

Luego de tres semanas ya el 55% de las estacas en tratamiento estaban muertas. La misma se producía desde la yema apical de la estaca, destacándose un color ocre-marrón, hacia las hojas y yemas laterales. Las hojas comenzaban a enrollarse, perdían su color y caían. Las de mayor tamaño se marchitaban primero, las más jóvenes después, tal vez por la acumulación de nutrientes y por ser los tejidos foliares más nuevos. La parte del tallo de la estaca fue lo que más se mantuvo en pie. Esto lo fue hasta que caía su última hoja viva, luego se endurecía y moría.

A los 25 días, no se evidenciaron indicios de formación de callos y/o raíces. Luego de 35 días sólo sobrevivían el 12% de las estacas. Estas estaban en buen estado, conservaban su color y turgencia. Las sobrevivientes eran estacas con hojas pequeñas, no más de tres y alejadas del vaporizador dentro de la cama de arraigamiento.

Ya a los 42 días sólo quedaban en pie el 5% de las estacas, pero aquellas que se las había tratado con la fitohormona; todas las estacas testigo no sobrevivieron.

Según bibliografía consultada para este tipo de tratamiento, se debieron encontrar resultados o indicios de callosidad entre los 25 y 35 días desde su iniciación.

Luego de 61 días, con las últimas estacas sobrevivientes, 4 de cada concentración, se observó en 6 de ellas, 1 en la concentración de 400 ppm, 3 en la de 700 ppm y 2 en la de 1000 ppm, la aparición de una zona oscura cerca de la base de la estaca que podría llegar a ser el indicio de la formación del callo, lugar donde luego se iniciarán los primordios radiculares.

De todas maneras, estos ejemplares ya no estaban turgentes, prontos a morir, sin ningún tipo de posibilidad de mantenerse vivos y de hacer el seguimiento a la respuesta de tratamiento.

CONCLUSIONES

Primeramente habría que hacer un análisis minucioso acerca de las condiciones y de los pocos elementos o equipamiento, prácticamente inexistentes en el Asentamiento Universitario San Martín de los Andes, para llevar a cabo un trabajo de este tipo. Ante todo no existe ningún antecedente en este tema realizado en el establecimiento. Todos los elementos fueron diseñados por quien realizó la experiencia, con recursos propios, tratando de alcanzar semejanzas de las condiciones del ensayo, comparando con lo leído en la bibliografía, creadas para llegar a un resultado satisfactorio.

Posibles causas:

. Estacas sin hojas:

1)- El factor fundamental, que aparentemente influyó en el resultado fue el extenso tiempo en que el material extraído del bosque estuvo conservado en frío en la heladera. Uno de los motivos que ocasionó el atraso en el inicio del ensayo fue la preparación y ambientación del lugar elegido para realizar la experiencia, como así también el tiempo que tardó en llegar a la localidad la fitohormona pedida a un laboratorio de la ciudad de La Plata.

2) - Deshidratación: es posible que el material haya sufrido demasiado en el frío, como para conservar aún sus condiciones de poder llevar a cabo algún proceso fitoquímico-biológico que permita o induzca la formación del callo y posterior rizogénesis.

3)- Tamaño de las estacas: las estacas recogidas en la estación otoño-invierno, fueron demasiado grandes, esto es en tamaño y edad, los tejidos muy lignificados son una barrera para el desarrollo de raíces.

4)- Humedad y temperatura: otra dificultad fue la temperatura que se le suministró al sustrato a través de una estufa a cuarzo; éste es un calor constante pero muy seco, seguramente se produjo una deshidratación en la base de la estaca, tal vez haya afectado una condición básica para que la fitohormona pueda actuar sobre los tejidos vegetales.

El volumen de agua de riego fue suficiente como para conservar las condiciones necesarias de casi todo el sustrato, tal vez, un riego intermitente a través de un temporizador hubiese mantenido las condiciones de humedad que el material requiere.

5)- Luz: las condiciones de luminosidad no fueron factores determinantes en el resultado del ensayo.

6)- Tiempo de inmersión en la solución de la fitohormona: tal vez habría que modificar, aumentando el tiempo de inmersión de la base de la estaca en la solución, siempre que no sea nocivo para el material. En este tratamiento el tiempo elegido de inmersión de la base de la estaca fue muy corto.

Se verificó que la acción de la fitohormona no influyó en el resultado del ensayo debido a que fue comprobado a través de un cultivo in-vitro, con la misma especie, la eficiencia de la misma.

Estacas con hojas:

Para las estacas de primavera, se tuvo un cuidado muy especial y diferente con respecto al primer procedimiento.

A las 24 hs. de haber extraído el material del bosque, se le realizó el tratamiento fitohormonal inmediatamente, y se colocaron las estacas en la cama de arraigamiento. Los cuidados fueron mayores para tratar de mantener la humedad a casi 90-100% en la misma cámara.

1)- La pronta muerte de las estacas se debió a inconvenientes de falta de agua debido a la elevada temperatura que emanaba el vaporizador, que secaba la superficie de las hojas y no dejaba realizar ningún tipo de proceso químico-biológico de las plantas.

2)- También para este tratamiento se hubiese requerido un riego por aspersión intermitente o por niebla (fog), cuya condición es indispensable para que la estaca reduzca al mínimo la respiración también la presión de vapor de agua de la atmósfera que la rodea debe ser similar a la presión de agua que existe en los espacios intercelulares de la hoja. Tal vez con este sistema, que algunos autores lo llaman "mist", buscan cumplir con este objetivo.

Cuando se moja la superficie de la hoja, permite cierta absorción de agua a través de la misma, reduciendo la pérdida de agua de la superficie foliar y conservando su agua interna. Así también la evaporación de agua de la superficie de la hoja enfría la estaca y reduce la respiración.

Las condiciones de higiene del lugar elegido para el ensayo, como así también la nula contaminación del material y del sustrato, nos dice que éstas no son un problema grave para este tipo de tratamiento.

RECOMENDACIONES

Primer tratamiento:

- 1)- Una vez cosechadas las estacas, se deberá aplicar el tratamiento hormonal lo antes posible.
- 2)- Cuando se hace necesario que las estacas pasen por un período de conservación en frío, las condiciones de almacenaje deben ser óptimas de tal forma que permitan conservar el máximo vigor de las estacas. Este puede ser un tema de investigación interesante para este tipo de trabajo.
- 3)- Incrementar el tiempo en que la base de la estaca debe permanecer sumergida en la solución hormonal. Desde 15 a 30 minutos hasta 24 horas.
- 4)- Es necesario trabajar con estacas más jóvenes y/o con un espesor menor de corteza.
- 5)- Sería muy útil tratar de proteger los tocones de las plantas madres del ramoneo de los animales, aislándolos por ejemplo con alambre tejido.
- 6)- Vigorizar los tocones madre aplicando compost.

Segundo tratamiento:

- 1)- Tratar de mantener al 100% la humedad relativa en el ambiente de la cámara de enraizamiento. Sería muy conveniente la utilización de un sistema de microaspersión o "mist", temporizado.
- 2)- Al igual que en el primer tratamiento, es muy recomendable aislar los tocones madre del ataque de los herbívoros.
- 3)- La temperatura del sustrato deberá permanecer constante a 21°C y la del ambiente a 15°C.
- 4)- Es apropiado el empleo de fertilizantes foliares.
- 5)- Aumentar la intensidad lumínica. En lo posible 4-5 horas de luz solar.

Sería conveniente utilizar otro tipo de sustrato para cualquiera de los dos tratamientos, por ejemplo vermiculita o arena mezclada con suelo de bosque; el uso de otro tipo de hormona para efectuar el proceso de enraizamiento como por ejemplo el Acido Naftalén Acético (ANA); quizás ampliar a todo el año la cosecha del material y la variabilidad en la edad de la planta madre.

Por último, sería recomendable crear o instalar sitios de ensayos (Invernaderos), y poder continuar el proceso de rustificación del material enraizado y su comportamiento en un ambiente natural.

BIBLIOGRAFIA

- Sívori, E.; Montaldi, E.; Caso, O.; 1980. Fisiología Vegetal. Ed. Hemisferio Sur.
- Miller, E.; 1967. Fisiología Vegetal.
- Bonga, J. M., Durzán, Don, J.; 1987. Clonal propagation of mature trees: problems and posible solutions. In: Cell and tissue culture in forestry. Vol. I.
- Bonga, J. M.; Durzán, Don, J.; 1987. Case Histories Gymnosperms, Angiosperms and Palms. In: Cell and tissue culture in forestry. Vol. III.
- IX Reunión Nacional de la Sociedad Española de Fisiología Vegetal. II Congreso Hispano-Lugo de Fisiología Vegetal. 24-27 de septiembre de 1991.
- Greengood. M. S. and Hutchison, K. W. Maturation as a Developmental proces. Publicación.
- Caso, O.; 1992. Juvenilidad, rejuvenecimiento y propagación vegetativa de las especies leñosas. Publicación.
- Mott, R. L. Cloning Agricultural Plants via in-vitro Techniques. Cap. 6. Trees.
- Hartmann, H.; Kester, D.; 1980. Propagación de Plantas -principios y prácticas-. Ed. Continental.
- Santelices, R.; 1987. Propagación vegetativa de Raulí, Roble y Coihue a partir de estacas. Publicación.
- González, Juan; 1968. Arraigamiento de estacas de Raulí. Tesis.
- Barrett, W.; 1994. Seminario. Prioridades del Mejoramiento Forestal en Patagonia. CIEFAP. Publicación.

AGRADECIMIENTOS

- Ing. Agr. Hernán Mattes.
- Téc. Forestal: Gabriel Falbo y su familia.
- Téc. Forestal: Leonardo Maresca.
- Ing. Forestal: Leonardo Gallo.
- Ing. Forestal: Luis Chauchard.
- Sra. Mercedes Ferrada.
- Srta. Daniela Coria.
- Sres. Adriano Arach y Sebastián Goicoechea (alumnos del AUSMA)
- Personal Administrativo del AUSMA.