

Desarrollo y transferencia de un método para la macropropagación de *Pinus taeda* y *Pinus elliottii* x *caribaea*¹

Niella, Fernando²; Rocha, Patricia³

Laboratorio de Propagación Vegetativa de la Facultad de Ciencias Forestales

UNaM. El Dorado Misiones

Resumen

Los programas de mejoramiento genético forestal desarrollados en el género *Pinus*, en la provincia de Misiones, se basan en ciclos continuos de selección de árboles plus, ensayos de progenies, evaluación, y la polinización controlada de árboles con características sobresalientes. Las semillas generadas de estos cruzamientos, representan un alto valor genético y comercial, y da lugar a la silvicultura familiar implementada a escala comercial en la región. No obstante, estas semillas son escasas y caras, por lo que surge la necesidad de implementar la propagación vegetativa (macro y micropropagación), como alternativa para captar las ganancias genéticas proporcionadas y transferirlas a las plantaciones comerciales. El protocolo para la producción de brotes a partir de plantas donantes juveniles de *Pinus taeda* y *Pinus elliottii* var *elliottii* x *Pinus caribea* var *hondurensis* (P. híbrido) y el enraizamiento subsiguiente fue desarrollado a partir de una serie de ensayos cuyos análisis, resultados y conclusiones fueron publicados oportunamente en informes técnicos a empresas patrocinantes y publicaciones (*Informes técnicos* Julio 1998- Diciembre 2001; *Silvoargentina I*, Sep. 2000; Southern Forest Tree Improvement Conference, 2001; Jornadas de Mejoramiento Genético para Productores Forestales, 2004; Jornadas Forestales de Entre Ríos, 2003; Publicaciones *Revista Yvyrareta*, 2003 y 2010, 4to Congreso Forestal Argentino y Latinoamericano Iguazú, 2013), y fueron gradualmente transferidos a las siguientes

¹ Los autores desean expresar su agradecimiento a la Facultad de Ciencias Forestales, UNAM y las empresas DKM S.A; Forestal Bosques del Plata S.A y Pérez Companc S.A.; SAGPyA, MINAGRI(UCAR) , por el apoyo financiero a este proyecto.

² fernandoniella@gmail.com

³ lpv@facfor.unam.edu.ar

empresas patrocinantes: Bosques del Plata, Ex PeCom Forestal, DKM S.A. y Agroforestal San Miguel SC., y la SAGPyA, MINAGRI-UCAR, en el marco de proyectos de investigación y desarrollo durante el periodo 2001-2014, y actualmente en uso en la mayoría de los viveros forestales de la provincia de Misiones. Los factores que afectan el status fisiológico de la planta madre y por lo tanto la producción de brotes y su posterior enraizamiento que fueron estudiados, incluyeron: a) genotipo; b) edad de la planta madre; c) posición del brote en la planta madre; d) morfología del brote; e) tratamientos inductivos; f) factores ambientales como luz, temperatura, riego y nutrición. Los tratamientos culturales de la planta madre demostraron influenciar: a) en el número de brotes por planta madre; b) la morfología del brote por obtener, c) el enraizamiento posterior de los brotes; d) el comportamiento a campo de los brotes (cuttings) enraizados. A medida que la edad de la planta madre aumenta, la reinvigorización y juvenilidad de los brotes cambia y como consecuencia se tiende a una mayor variabilidad en los porcentajes de enraizamiento de los cuttings obtenidos. La poda adecuada del plantín y manejo adecuado del rebrote posterior tendiente a formar setos bajos, reduce la velocidad de maduración y prolonga las características juveniles en la planta madre aumentando así el número de brotes útiles por planta madre y el porcentaje de enraizamiento. El protocolo desarrollado en LPV–FCF y probado a escala comercial en las empresas patrocinantes, demostró una producción promedio anual de 80 brotes útiles por planta madre y un 80-100% de enraizamiento para ambas especies.

Palabras claves: semillas, *Pinus taeda*, *Pinus elliottii x caribaea*

1. Introducción

Los procesos de domesticación y mejoramiento genético con el objetivo de aumentar la productividad y rendimiento por hectárea, se hallan altamente desarrollados en especies agrícolas comestibles con etapas que van desde un proceso de selección recurrente de mejora genética (selección y cruzamiento de los mejores individuos) desde tiempos prehispánicos en América del Sur en especies como el maíz, y desde la época de la antigua civilización egipcia para el caso del trigo. Este proceso milenario culmina de alguna forma en la actualidad en un proceso de domesticación intensivo, y con especial énfasis en nuestro país, en el desarrollo e implementación de germoplasma transgénico (con características de resistencia a insectos, herbicidas), especialmente para soja, maíz y algodón, y que actualmente se planta a escala comercial, prácticamente en un 100% de la superficie total de siembra con estos cultivos.

Sin embargo, en especies leñosas y específicamente para las especies foresto-industriales como los géneros *Pinus sp*; *Eucalyptus sp*; *Populus* y *Salix*, los procesos de domesticación y mejora genética han sido mucho más reciente con programas intensivos que no se inician no más allá de la década del 50's, especialmente en Estados Unidos con *Pinus taeda*; con el género *Eucalyptus* en Australia y Brasil; las especies del género *Populus* y *Salix* en USA, Europa y nuestro país, y más reciente, el caso de *Pinus radiata* en Nueva Zelanda y Chile y *Pinus taeda*, *Pinus elliottii x caribea* y *Pinus elliottii* en el nordeste de Argentina.

Los programas de mejoramiento genético forestal desarrollados en el género *Pinus*, en la provincia de Misiones y resto de las provincias mesopotámicas, se basan en ciclos continuos de selección de árboles plus en poblaciones base con amplia distribución geográfica, ensayos de progenies, evaluación, y la polinización controlada de árboles con características sobresalientes. Las semillas generadas de estos cruzamientos, representan un alto valor genético y comercial y da lugar a la silvicultura familiar implementada a escala comercial en la región. No obstante, estas semillas son escasas y caras, por lo que surge la necesidad de implementar las técnicas de propagación vegetativa o clonal. Esto es, el desarrollo y utilización de técnicas de cultivo *in vitro* (laboratorio de cultivo de tejidos), como la multiplicación vía axilar y la embriogénesis somática; y por otro lado, las técnicas de cultivo *ex vitro* de mas fácil implementación a escala comercial, como la macropropagación y/o miniestaquia.

Básicamente, la macropropagación consiste en la formación de plantas madres donantes de brotes y su posterior enraizamiento en condiciones semi-controladas de invernáculo y posterior formación de una planta con ideotipo normal para su plantación a escala comercial; o más recientemente, los sistemas también conocidos como “miniastaquia”, para la formación de minicepas (plantas dadoras de brotes) en sistemas semihidropónicos, y posteriormente, el enraizamiento de miniestacas en condiciones semicontroladas de invernáculo.

El desarrollo de técnicas de propagación vegetativa para especies leñosas, con distinto grado de complejidad, permite facilitar y aumentar la disponibilidad de material plantable y, además, multiplicar clonalmente material genético selecto, haciendo accesible la ganancia genética potencial en menor tiempo. Sin embargo, hasta el año 1997 en la Argentina, las técnicas de propagación vegetativa para las especies *Pinus taeda* y *Pinus híbrido*, aún no se hallaban desarrolladas ni testeadas en el país. De esta forma, surgió la necesidad de un conjunto de empresas regionales interesadas en impulsar un programa de investigación que se concentre en el desarrollo de técnicas de propagación clonal, y así aumentar el número de hectáreas forestadas con material genético elite. En este contexto, se firmó un convenio entre un grupo de empresas forestales de la región y la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional de Misiones, con el objetivo central consistió en desarrollar técnicas de propagación clonal costo efectivas que incluya al *Pinus taeda* y al *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *Pinus caribaea* var. *hondurensis* (*P. híbrido*), ambas con un programa de mejora genética en un importante grado de avance. El programa se extendió por espacio de siete años y con resultados claramente alentadores al tercer año de su inicio. Durante el quinto año (2003) de iniciado el programa y en base a los excelentes resultados demostrados a la fecha, una de la empresas participantes tomó la decisión de llevar a escala operativa los avances y ensayos, desarrollados en la Facultad de Ciencias Forestales, constituyéndose así en un claro ejemplo de transferencia y trabajo conjunto universidad-empresa.

Actualmente, las técnicas de propagación desarrolladas entonces, se utilizan por la mayoría de los viveros de la región dedicadas a la silvicultura del genero *Pinus sp*. La transferencia a pequeños y medianos productores y viveristas se realizó a partir del trabajo conjunto universidad-empresa, mediante la organización de las Jornadas de Mejoramiento Genético para Productores Forestales (2004), con un notable impacto notable y alcance regional.

A continuación, se hace referencia en forma concisa a las hipótesis y objetivos específicos planteados al inicio del programa, además, una descripción de aquellos resultados que han sido claves en el inicio de inversiones necesarias para el desarrollo a escala operativa. La información se organizará en dos etapas claves que son por un lado a) los ensayos realizados para la formación de la planta madre donante de brotes, y por otro lado; b) los ensayos e hipótesis probadas para el enraizamiento y formación de una planta con un ideotipo listo para ser llevado a una plantación comercial.

2. Metodología

2.1. Manejo de plantas madres donantes de brotes

Un método de macropropagación costo efectivo debe contemplar, entre otros factores, un manejo de planta madre (planta donante de brotes), que permita maximizar la producción de brotes utilizables. Esto es, brotes con una alta capacidad de enraizamiento que resulten en la formación de una planta normal, comparable al ideotipo de plantín utilizados en programas de forestación local. La hipótesis general de este trabajo establece que la intensidad lumínica (para *P. taeda*) y el tamaño del contenedor (para *P. taeda* y *P. híbrido*), con la que se cría la planta madre, influyen en forma significativa el número y calidad de brotes a obtener durante un ciclo de producción no menor a tres años.

Con el objetivo de estudiar la influencia de factores que afectan la tasa de producción de brotes útiles/planta (BUP) bajo un régimen intensivo de cosechas, plantas madres de *Pinus taeda* y *P. híbrido*, de cinco meses de edad, fueron sometidos a diferentes tratamientos de manejo: tamaño de contenedor e intensidad lumínica. En cada ciclo de cosecha, se evaluó el número de brotes totales/planta (BTP) y brotes útiles (BUP) producidos por planta madre. Seis ciclos de cosecha fueron evaluados por un periodo total de dos años. Plantas madres de *P. taeda* criadas a pleno sol y en contenedores de 15 litros demostraron una productividad promedio de 85 BUP/año comparado a 55 BUP/año en plantas madre criadas en media sombra y contenedores de 7 litros. Plantas madres de *P. híbrido* criadas en contenedores de 15 litros demostraron una productividad promedio de 109 BUP/año comparado a 88 BUP/año en plantas madre criadas en contenedores de 7 litros.

2.2. Enraizamiento de estacas o brotes

Existe un amplio rango de tratamientos que pueden aplicarse a las estacas para incrementar su capacidad de enraizamiento. Dentro de los productos químicos aplicados en estacas de coníferas se pueden mencionar las auxina (polvo o líquida), fungicidas y retardantes de crecimiento de brotes (Wise y Caldwell, 1992; Greenwood et al, 1980 y 1995). En general los resultados para el género *Pinus* han sido dispares. Un protocolo de enraizamiento de estacas costo-efectivo, con promedios de enraizamiento no menores al 70 % y genotipo independiente, es necesario si se quiere implementar esta técnica a escala comercial. El análisis del porcentaje de enraizamiento revela que los tratamientos de manejo e inducción de las estacas afectan significativamente la capacidad de enraizamiento de *P. taeda* y *P. híbrido*. De todos los tratamientos estudiados en ambas especies, solamente el tratamiento de estacas almacenadas a 4°C en oscuridad por un período de siete días superó significativamente al tratamiento control (estacas no tratadas). Mientras que los tratamientos con AIB, en ningún caso, difirieron significativamente del tratamiento control. Esto indicó que el AIB no es efectivo para mejorar la capacidad de enraizamiento en *P. taeda* y *P. elliotii x caribaea*. El hecho de que las estacas tratadas con AIB presentaran menor capacidad de enraizamiento que el control, sugiere que el AIB haya inhibido el enraizamiento en las condiciones ensayadas.

El incremento en el porcentaje de enraizamiento de estacas que fueron almacenadas a 4°C y oscuridad puede estar asociado con un incremento en los niveles de auxinas endógenas de la estaca, ya con la exclusión de luz de las estacas y las bajas temperatura es posible que eviten la destrucción de las auxinas endógenas (ácido indol acético, AIA) que son sensibles a la luz y a las altas temperaturas. Desde el punto de vista del desarrollo de un sistema de macropropagación operativo a gran escala, esos resultados son relevantes desde tres puntos: 1) aumentan el porcentaje de enraizamiento hasta un 20%, con respecto al control, 2) descartan la necesidad de utilizar auxinas, con el consiguiente reducción de costos operativos y 3) facilita el manejo operativo de las estacas, a fin de planificar mejor las cosechas y posterior enraizamiento de las estacas; 4) los porcentajes de enraizamiento de 97% para el *Pinus taeda* y del 100% para *P. híbrido* en forma consistente y predecible demostraron la factibilidad de llevar el protocolo de enraizamiento a escala operativa en forma costo efectiva.

3. Conclusión

Los resultados de productividad de brotes por planta madre y los altos porcentajes de enraizamientos obtenidos en *P. taeda* y *P. híbrido* (superiores al 80%,) publicados por Rocha y Niella (2002), demuestran la factibilidad de aplicar esta tecnología a escala operacional. El protocolo desarrollado en la Facultad de Ciencias Forestales y probado a escala comercial en las empresas patrocinantes (Bosques del Plata, PeCom Forestal (Actualmente APSA), Vivero DKM y Vivero Agroforestal San Miguel), demostró en forma consistente una producción promedio anual de ochenta brotes útiles por planta madre y un 80-100% de enraizamiento para ambas especies. Ambos factores han sido claves en el éxito y la adopción que han tenido las técnicas desarrolladas en la mayoría de los viveros y empresas forestales medianas y grandes de la región mesopotámica.

Bibliografía

Dickman, D.; K. Pregitzer. (1992). "The structure and dynamics of woody plant root systems". In *Ecophysiology of Short Forest Crops*, pp. 95-123. London: Elsevier Applied Sciences.

Dickson, R.E. (1991). "Assimilate distribution and storage". In *Physiology of Trees*, pp. 51-85. New York, Toronto, Singapore: Ed. A. Raghavendra.

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, pp. 975-979.

Kozłowski, T. (1992). "Carbohydrate sources and sinks in woody plants". *Bot. Rev.* 58, pp. 108-222.

Kramer, P. and T. Kozłowski, T. (1979). "Physiology of woody plants". New York, San Francisco, London: Academic press.

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*, pp. 75-96. Huntsville, Alabama - USA. Southern forest Experiment Station, New Orleans, Louisiana.

Máson, M and C. Nelson. (1997). "Stem cutting production and rooting in a slash pine diallelmanage for rapid cutting production". 24th Southern Forest Tree Improvement Conference, June 9-12, 1997, Orlando, Fl. En *Décimas Jornadas Técnicas Forestales y Ambientales - Facultad de Ciencias Forestales -UNaM- EEA Montecarlo -INTA Eldorado, Misiones, Argentina.*

Máson, W. (1992). "Reducing the cost of Sitka spruce cuttings". In *Super Sitka for the 90's. Forestry Commission Bulletin 103*, pp. 25-37.

Nelson, C.; T. Caldwell, and J. Hammaker. (1993). "Stem cutting production and rooting performance in an S2 population of loblolly pine". *22nd Southern Forest Tree Improvement Conference*, June 14-17, 1993, Atlanta, GA.

Niella, F.; P. Rocha, R. Pezzutti; R. Schenone. (2010). "Manejo intensivo para la producción de estacas en plantas madres de *Pinus taeda* y *Pinus elliottii x caribaea*: efecto del tamaño de contenedor e intensidad lumínica". *Revista Forestal YVYRARETA*17, pp.14-19.

Rocha, P.; Niella, F; Bohren, A.; Schoffen, C.; Martinez, M. y Aguilera, G. (2013). "Herramientas para la implementación de la silvicultura clonal de *pinus taeda*". En *4to Congreso Forestal Argentino y Latinoamericano Iguazú*.

F. Niella; P. Rocha. (2004). "Efecto del manejo del rebrote y fertilización en la producción de estacas en plantas madres de *Pinus taeda*". En *Actas Jornadas de Mejoramiento Genético para Productores Forestales*, pp.87. Posadas, Misiones.

S. Melgarejo, F. Niella; P. Rocha. (2004) "Efecto de la fertilización en la planta madre, morfología de la estaca, tipo de contenedor y fertilización del sustrato en la capacidad de enraizamiento de *Pinus taeda*". En *Actas Jornadas de Mejoramiento Genético para Productores Forestales*, pp.88. Posadas, Misiones.

Rocha, P.; Niella, F. (2003). "Efecto de tratamientos inductivos en el enraizamiento de estacas de *Pinus elliottii x caribaea* y *Pinus taeda*". *YVYRARETA* 12, pp. 50-54.

Rocha, P.; Niella, F. (2000). "Informe técnico: Presentación de avances en técnicas de propagación vegetativa para *Pinus taeda* y *Pinus elliottii x caribaea*". En: *Seminario interno Abril 2000. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Nacional de Misiones. Eldorado, Misiones. Circulación interna, pp. 63.*

Rocha, P. and Niella, F. (2001). "Research and development of vegetative propagation techniques for *Pinus* sp. in the northeast region of Argentina. Proceedings of the 26th. Biennial Southern Forest Tree Improvement Conference. June 26-29, 2001", pp.32-38. USA: Ed.: Jeffrey F. D. Dean-Georgia University.

Rocha, P.; 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*". En: *Seminario interno Diciembre 2001. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Nacional de Misiones. Eldorado, Misiones. Circulación interna, pp. 24.*

Von Fircks, Y. and L. Sennerby-Forsse. (1998). "Seasonal fluctuations of starch in roots and stems tissues of coppice *Salix viminalis* plants grown under two nitrogen regimes". *Tree physiology* 18, pp.243-249.

Welander, M. (1994). "Influence of environment, fertilizer and genotype on shoot morphology and subsequent rooting of birch cuttings". *Tree Physiology* 15, pp. 11-18.

Wise, F.; and Caldwell, T. (1992). "Macropropagation of conifers by stem cuttings. In: Proceedings of the Southern regional information Exchange Group Biennial Symposium on Forest genetics: Applications of Vegetative Propagation In Forestry. Huntsville, Alabama" *Southern forest Experiment Station*, pp.51-73.