

ESTUDIO DE FACTORES QUE AFECTAN LA CAPACIDAD DE ENRAIZAMIENTO DE MINESTACAS DE *Ilex paraguariensis* ST. HIL

STUDY OF FACTORS AFFECTING THE ROOTING CAPACITY OF MINI-CUTTINGS OF *Ilex paraguariensis* ST. HIL

Fecha de recepción: 10/10/2017//Fecha de aceptación: 11/12/2017

Misael Naumann

Estudiante de Ing. Agronómica-FCF-UNaM- Becario UNaM. Laboratorio de Propagación Vegetativa (LPV) Facultad de Ciencias Forestales-UNaM

Patricia Rocha

Docente FCF-UNaM. Laboratorio de Propagación Vegetativa (LPV) Facultad de Ciencias Forestales-UNaM procha910@gmail.com

Evelyn Duarte

Docente FCF-UNaM. Becaria Posdoctoral CONICET-CEDIT

Valeria Morales

Docente FCF-UNaM. Responsable Técnica Vivero VYO

Fernando Niella

Docente FCF-UNaM. Laboratorio de Propagación Vegetativa (LPV) Facultad de Ciencias Forestales-UNaM

RESUMEN

Según datos del INYM, 2016, existen 165.326,811 hectáreas cultivadas de yerba mate (*Ilex paraguariensis*). No obstante, su domesticación es muy reciente, razón por la cual, las plantaciones son heterogéneas, presentan plantas de diferentes tamaños, crecimiento y vigor, resistencia a enfermedades, tipo de hojas entre otras. La multiplicación por semilla tiene varias limitaciones, tales como, bajo porcentaje de germinación (14%). La propagación vegetativa, a través de la técnica de macropropagación por minicepas y miniestacas de yerba mate, representa una oportunidad para solucionar las limitaciones que tiene la reproducción sexual. El objetivo del presente trabajo fue estudiar los factores que influyen la capacidad de enraizamiento de miniestacas de yerba mate. Específicamente, la época de cosecha de la miniestaca, y el tratamiento inductivo en el enraizamiento de miniestacas de yerba mate. Se cosecharon miniestacas, de plantines juveniles en cuatro épocas del año distintas, otoño, invierno,

SUMMARY

According to data from the INYM, 2016, there are 165,326,811 hectares cultivated with yerba mate (*Ilex paraguariensis*). However, its domestication is very recent; therefore, the plantations are heterogeneous, having plants of different sizes, growth and vigor, resistance to diseases, and leaf type among others. Seed multiplication has several limitations, such as, low percentage of germination (14%). The vegetative propagation, through the technique of macropropagation by minihedges and mini-cuttings of yerba mate, represents an opportunity to solve the limitations of sexual reproduction. The objective of the present work was to study the factors that influence the rooting capacity of yerba mate mini-cuttings and more specifically, the harvest time of the mini-cuttings, and the inductive treatment in the rooting capacity of yerba mate. Mini-cuttings were harvested from juvenile seedlings, in four different seasons of the year, autumn, winter, spring and summer and two rooting inductive treatments; a control without applications of auxin (WATER),

primavera y verano; y dos tratamientos inductivos, un control sin aplicaciones de auxina (AGUA), y otro con aplicación de auxinas (IBA). Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con 30 repeticiones por tratamiento, en cada uno de los ensayos establecidos en cada época de cosecha. La variable analizada en el presente trabajo fue la capacidad de enraizamiento de las estacas, y los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza, utilizando Software R. Los resultados indicaron, interacción significativa entre la época de cosecha y el tratamiento inductivo. Observándose, la mayor capacidad de enraizamiento, en las estacas cosechadas en otoño, sin aplicación de auxinas.

Palabras clave: yerba mate, época de cosecha, Ácido Indol Butírico, inducción.

and other with application of auxins (IBA), were studied. A completely randomized design was used, with 30 replications per treatment, for each experimental season test. The analyzed variable in the present work was the rooting capacity of the mini-cuttings, and the data obtained were subjected to analysis of variance, using the Software R. The results indicated significant interaction between harvest time and inductive treatment. It could be observed, the greater capacity of rooting, in cuttings harvested in autumn, without application of auxins.

Key words: yerba mate, harvest season, Indole Butyric Acid, induction.

INTRODUCCION

La yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) constituye uno de los principales cultivos de Misiones. Según datos del INYM, 2016, existen 165.326,811 hectáreas cultivadas de yerba mate (INYM, 2016). La tendencia va en aumento de acuerdo con las mejoras de los precios, exportándose a diferentes partes del mundo, principalmente a Medio Oriente, Estado Unidos y Europa. Representando una fuente importante de trabajo, con potencial para proveer servicios ambientales, como es el caso del secuestro de carbono (ALEGRE *et al* 2007).

La yerba mate, se caracteriza por presentar una baja y heterogénea capacidad germinativa, problema atribuido a la falta de maduración del embrión, lo que dificulta la producción de plantines en vivero (CUQUEL *et al*, 1994; FOWLER y STURION, 2000). Por otro lado, su domesticación es un proceso muy reciente, con no más de 40 años de desarrollo (RAKOCEVIC *et al*, 2012), por lo que las ganancias genéticas potenciales por cultivar material genético de calidad sean muy altas. Por tal motivo, es requerimiento indispensable contar con un sistema de propagación que permita la clonación de los genotipos superiores, y facilite la producción en vivero. Si bien la propagación vegetativa en yerba mate, viene siendo estudiada desde hace más de una década (PERCY SALAS Y LAVIOSA, 1998; Wendling *at al*, 2003, 2007 y 2014; TARRAGÓ *et al*, 2012; BRONDANI *et al*, 2008 y 2009; BITENCOURT *at al*, 2009); son muchos los factores que influyen el proceso de enraizamiento de estacas, pudiéndose citar entre ellos, la edad de la planta madre, la época de cosecha, y los tratamientos inductivos con reguladores de crecimiento (ALTOÉ *et al*, 2011; WENDLING *et al*, 2014; STUEPP *et al*, 2014 y

2017; FRAGOSO *et al*, 2015; FERREIRA *et al*, 2010; PIZZATTO *et al*, 2011). El objetivo del presente trabajo fue identificar los factores que afectan el enraizamiento de germoplasma local, que permitan a futuro generar un protocolo optimizado de propagación vegetativa para viveros comerciales.

METODOLOGÍA

Material Vegetal

Manejo de las plantas madres

Para la formación de las plantas madres, se utilizaron plantines de 12 meses de edad, provenientes de un vivero comercial de la región. Las mismas fueron criadas en macetones de 10 L, con sustrato de corteza de pino compostada (comercial) y fertilizante de liberación lenta (Plantacote Plus®, 3 kg.m⁻³), en condiciones controladas de humedad y temperatura, en invernáculo, con media sombra del 75%. Las plantas madres, fueron decapitadas para forzar el rebrote y producción de estacas.

Cosecha y manejo de estacas para enraizamiento

De las plantas madres, se cosecho el rebrote en cuatro épocas del año diferente: otoño, invierno, primavera y verano. Los brotes obtenidos fueron procesados y se obtuvieron estacas uni o binodales, para la inducción de raíces.

Inducción de raíces

Para la formación de raíces, en cada época de cosechas, se aplicó untratamiento inductivo, el cual consistió en la inmersión, por 24hs, de la base de la estaca en una solución líquida de 300 ppm de Ácido Indol Butírico (IBA), disuelto en agua. El

tratamiento control, consistió, en la inmersión, por 24hs, de la base de la estaca en una solución de agua.

Posteriormente al tratamiento inductivo, las bases de las estacas fueron sumergidas en una solución de fungicida durante 20 minutos para finalmente insertarlas en el sustrato de enraizamiento formado por una mezcla de corteza de pino compostada y perlita (3:1).

Diseño Experimental y Análisis

En cada época de cosecha (otoño, invierno, primavera, verano), se estudió el efecto del tratamiento inductivo. Utilizándose un diseño completamente aleatorizado, con 30 repeticiones (estacas) por tratamiento, siendo la estaca la unidad experimental. La evaluación se realizó a los 60 días de la aplicación del tratamiento inductivo, para cada época de cosecha. La variable considerada análisis fue la capacidad de enraizamiento, definida como el porcentaje de estacas enraizadas. Debido a que dicha variable presenta una distribución binomial, la misma fue transformada, con la función arco seno raíz cuadrada del valor original. Posteriormente, el análisis se llevó a cabo con la variable transformada y sin transformar (en ambos casos, los resultados, fueron similares, por lo cual, los mismos se expresan en su valor original). Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza, con un nivel de significancia del 0.05, utilizando en Software R (R Core Team, 2017).

el valor de la variable observada (capacidad de enraizamiento) en la i -ésima época de cosecha, con el j -ésimo tratamiento inductivo; μ es la media general; E_i es el efecto fijo del i -ésima época de cosecha; I_j es el efecto fijo de la j -ésimo tratamiento inductivo; $E I_j$ es el efecto fijo de la interacción de la i -ésima época de cosecha con el j -ésimo tratamiento inductivo; ε_{ij} es el error experimental.

RESULTADOS

El análisis de los datos obtenidos indicó para la capacidad de enraizamiento de miniestacas de *Ilex paraguariensis*, una interacción estadísticamente significativa (p-valor: 8.35e-06), entre la época de cosecha y el tratamiento inductivo.

Las estacas inducidas con el tratamiento CONTROL (Agua), obtenidas en otoño, presentaron el porcentaje de enraizamiento más alto (80 ± 2.62); mientras que las estacas inducidas con IBA (300 ppm), solo enraizaron un $10 \pm 1.97\%$ de las mismas. En invierno, primavera y verano, la capacidad de enraizamiento no fue significativamente afectada por el tratamiento inductivo. Las estacas cosechadas en verano, fueron las que presentaron el menor porcentaje de enraizamiento, $20 \pm 2.63\%$ para las estacas inducidas con IBA y $26.7 \pm 2.90\%$ para las estacas inducidas con agua (Tabla 1).

Tabla 1: Respuesta de la capacidad de enraizamiento (porcentaje de enraizamiento promedio) de miniestacas de yerba mate según la época de cosecha y tratamiento inductivo.

Table 1: Rooting capacity response (percentage of average rooting) of yerba mate minicuttings according to the harvest season and inductive treatment.

Época	Tratamiento Inductivo	N ¹	%Prom. \pm E. E. ²
Otoño	AGUA	30	$80 \pm 2.62a$
Otoño	IBA 300 ppm ³	30	$10 \pm 1.97b$
Invierno	AGUA	30	$27 \pm 2.90b$
Invierno	IBA 300 ppm	30	$27 \pm 2.90b$
Primavera	AGUA	30	$30 \pm 0.30b$
Primavera	IBA 300 ppm	30	$27 \pm 2.90b$
Verano	AGUA	30	$27 \pm 2.90b$
Verano	IBA 300 ppm	30	$20 \pm 2.63b$

¹Numero de repeticiones por tratamientos

²% Porcentaje promedio \pm Error Estándar

³ppm: partes por millón

DISCUSIÓN Y CONCLUSION

La época de cosecha tuvo un efecto significativo en la capacidad de enraizamiento de las estacas de yerba mate, observándose interacción con el tratamiento inductivo. Las estacas cosechadas en otoño sin aplicación de auxinas, presentaron una mayor capacidad de enraizamiento. Mientras que en verano la capacidad de enraizamiento de las estacas fue muy baja. Resultados similares fueron publicados por STUEPP *et al* (2017) y BENNADJ *et al* (2017), en estacas de yerba mate de 12 años de edad, en Brasil y Uruguay, respectivamente. La propagación por estacas en especies leñosas generalmente está influenciada por la existencia de sustancias de reserva en el tallo, específicamente carbohidratos, los que aportan la energía requerida para la formación de raíces (OLIVEIRA *et al*, 2012, citado por STUEPP *et al*, 2017). Durante el período de latencia ocurre la translocación de los fotosintatos, desde las hojas a yemas, tallos y raíces, por vía floemática, por lo tanto, el otoño es el tiempo que proporciona estas reservas de inmediato (DENAXA *et al*, 2012, citado por STUEPP *et al*, 2017), lo que concuerda con el presente estudio.

Naturalmente las auxinas vegetales inducen a la formación de raíces, siendo necesaria la aplicación de auxinas en especies difíciles de enraizar (HARTMANN *et al.*, 2002). No obstante, los resultados del presente trabajo demostraron que la aplicación de auxinas exógenas, no son indispensables para la inducción de raíces en yerba mate, coincidiendo con los resultados obtenidos en diferentes estudios de enraizamiento de especies leñosas (APARICIO-RENTERÍA *et al*, 2014; MAJADA *et al*, 2011; ALCANTARA *et al.*, 2008; NIELLA *et al*, 2014 y 2015; ROCHA *et al*, 2015); y en yerba mate en particular (BITENCOURT *et al*, 2009; STUEPP *et al*, 2017; BENNADJ *et al*, 2017). La interacción entre la época de cosecha de la estaca y el tratamiento inductivo, demostrada en el presente estudio, coincide con lo postulado por NANDA *et al* (1971), que la capacidad de enraizamiento está determinada por un equilibrio adecuado entre los factores nutricionales y las sustancias reguladoras presente en la planta madre, y por ende en las estacas que se cosechan de la misma.

Podemos concluir que las estacas obtenidas de plantines juveniles de yerba mate tienen mayor capacidad para formar las raíces en el otoño, seguidas por las estacas cosechadas en primavera, y que el tratamiento inductivo con IBA no aumenta el potencial de enraizamiento. Un porcentaje de enraizamiento del 80%, sin necesidad de aplicación de auxinas exógenas, potencia la transferibilidad de estos resultados a un protocolo operativo para pequeños y medianos viveristas.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo es financiado por el Instituto de la Yerba Mate (INYM) y UNaM.

BIBLIOGRAFIA

ALCANTARA G. B.; Lopes, F. R., Rioyei, H. and Zufellato, R. 2008. Effect of indolbutyric acid (IBA) and the collection of shoots in different seasons of the year on minicutting rooting of *Pinus taeda* L. *Scientia Forestalis Piracicaba* 36:151-156.

ALEGRE, J. C.; Vilcahuaman, L. J.; y Correa, G. 2007. Generacao da curva alometrica para avaliar as reservas de carbono em plantios de erva-mate, no Sul do Brasil. In: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento (33, 19p), Colombo, Brasil; Embrapa Florestas

ALTOÉ J. A, Marinho, C.S.; Terra, M. I. C; Carvalho, A. J. C. 2011. Multiplicação de cultivares de goiabeira por miniestaquia. *Bragantia*; 70(4):801-9.

APARICIO-RENTERÍA A.; Juárez-Cerrillo, S. y Sánchez-Velásquez, L. R. 2014. Propagación por enraizamiento de estacas y conservación de árboles plus extintos de *Pinus patula* procedentes del norte de Veracruz, México. *Madera y Bosques* 20:85-96.

BENNADJ, Z.; Mello, S.; Alfonso, M. 2017. Avances en Multiplicación Vegetativa de Yerba Mate en Uruguay. Actas VII Congreso Sul-Americano da Erva-Mate III Simpósio Internacional de Erva-Mate e Saúde I Feira de Tecnologia na Indústria Ervateira. Erechim, Rio Grande do Sul, Brasil, 16 a 18 de maio de 2017. Pp.: 10.

BITENCOURT, J.; Ribas, K. C. Z.; Wendling, I.; Koeler, H. 2009. Rooting of "erva-mate" (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hill.) cuttings from rejuvenated sprouts. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 11, n. 3, p. 277-281.

BRONDANI, G. E.; Araujo, M. A.; Wendling, I.; Kratz, D. 2008. Enraizamento de miniestacas de erva-mate sob diferentes ambientes. *Pesquisa Florestal Brasileira*, n. 57, p. 29-38.

BRONDANI, G. E.; Wendling, I.; Araujo, M. A.; Santin, D.; Benedetti, E. L.; Roveda, L. F. 2009. Composições de substratos e ambientes de enraizamento na estaquia de *Ilex paraguariensis* St.-Hill. *Floresta*, v. 39, n. 1, p. 41-49.

CUQUEL, F. L.; Carvalho, M. L. M.; Chamma, H. M. C. P. 1994. Avaliação de métodos de estratificação para a quebra de dormência de sementes de erva-mate. *ScientiaAgricola*, v. 51, n. 3, p. 415-421.

DENAXA, N. K; Vemmos S. N; Roussos P. A. 2012. The role of endogenous carbohydrates and seasonal variation in rooting ability of cuttings of an easy and a hard to root olive cultivars (*Olea europaea* L.). *Scientia Horticulturae*; 143:19-28.

FERREIRA B. G. A; Zuffellato-Ribas K. C.; Wendling I.; Koehler H. S.; Nogueira A. C. 2010. Miniestaquia de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax com o uso de ácido indol butírico e ácido naftaleno acético. *Ciência Florestal* 20:19-31.

FOWLER, J.A.P. y STURION, J.A. 2000. Aspectos da formação do fruto e da semente na germinação de erva-mate. Colombo: Embrapa Florestas, 5p. (EmbrapaFlorestas. Comunicado Técnico, 45).

FRAGOSO, R. O; Witt N. G. P. M.; Obrzut V. V.; Valério S.; Zuffellato-Ribas K. C.; Stuepp C. A. 2015. Maintenance of leaves and indolebutyric acid in rooting of juvenile Japanese Flowering Cherry cuttings. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*; 10:97-101.

HARTMANN, H. T.; Kester, D. E.; Davies, Jr. F. T. and Geneve, R. L. 2002. *Plant Propagation, Principles and Practices*. 7th ed. Prentice-Hall, Upper Saddle River, New Jersey. 880 p.

INYM. 2016. Superfície cultivada por Departamentos. <http://www.inym.org.ar/publicaciones/superficie-cultivada-por-departamento/>

MAJADA, J.; Martínez-Alonso, C.; Feito, I.; Kidelman, A.; Aranda, I. and Alia, R. 2011. Mini-cuttings: an effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 41:399-412.

NANDA, K.K., Jain, M.K., Malhotra, S. 1971. Effect of glucose and auxins in rooting etiolated stem segments of *Populus nigra*. *Physiol. Plant* 24, 387-391.

NIELLA, F.; Rocha, P.; Eibl, B.; Schoffen, C.; Martínez, M.; Conti, P.; Franco, M. Y Ayala L. 2015. Propagación clonal de *Peltophorum dubium* (Caña fistola), *Myrocarpus frondosus* (Incienso), y *Cordia trichotoma* (Peteribi) para su conservación y domesticación. *Revista Forestal Yvyrareta online- www.yvyrareta.com.ar* . Pp.:43-50

NIELLA, F.; Rocha, P.; Eibl, B.; Schoffen, C.; Martínez, M.; Conti, P.; Franco, M. Y Ayala L. 2014. Extendiendo los beneficios de las técnicas de propagación clonal a pequeños y medianos productores como estrategia de conservación y domesticación. 16as Jornadas Técnicas Forestales y Ambientales 15,16 y 17 de mayo de 2014 FCF – INTA. Pp.: 308-316.

OLIVEIRA, R. J. P; Bianchi, V.J.; Aires, R.F.; Campos, A.D. 2012. Teores de carboidratos em estacas lenhosas de mirtilheiro. *Revista Brasileira de Fruticultura*; 34:1199-207.

PERCY SALAS, P. y Laviosa, G. 1998. Multiplicación vegetativa de yerba mate por estacas terminales con hojas. *Investigación Agraria*, vol. 2 n° 1.

PIZZATTO, M.; Wagner Júnior, A.; Luckmann, D.; Pirola, K.; Cassol, D., A. Mazaro, S. M. 2011. Influência do uso de AIB, época de coleta e tamanho de estaca na propagação vegetativa de hibisco por estaquia. *Revista Ceres*;58(4):487-92.

RAKOCEVIC, M.; Janssens, M. and Schere, R. 2012. Light responses and gender issues in the domestication process of Yerba Mate, a subtropical Evergreen. Chapter 2. In; *Evergreens*. Nova Science Publishers, Inc. Eds.: Bezerra D. A. and Ferreira T. S. ISBN: 978-61942-177-6.

ROCHA, P.; Niella, F.; Eibl, B.; Schoffen, C.; Martínez, M.; Conti, P.; Franco, M.; Ayala, L. Darío, K.; Thalmyr P.; Ramírez C. y Scherf A. 2015. Desarrollo de protocolos de propagación vegetativa de especies leñosas, nativas y exóticas de la Provincia de Misiones. Congreso Nacional de Viveros Cítricos, Forestales y Ornamentales. Posadas, Misiones 4, 5, y 6 de Agosto de 2015. Pp.: 52-54.

R CORE TEAM. 2017. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org>.

STUEPP, C. A.; Zuffellato-Ribas, K.C.; Wendling I.; Koehler H.S.; Bona C. 2014. Vegetative propagation of mature dragon trees through epicormic shoots. *Revista Bosque*; 35(3):333-41.

STUEPP, C. A.; de Bitencourt, J., Wendling, I.; Soares Koehler, H. and Zuffellato-Ribas, K. C. 2017. Age of stock plants, seasons and iba effect on vegetative propagation of *Ilex paraguariensis*. *Revista Árvore*;41(2):1-7.

TARRAGÓ, J.; Filip, R.; Mroginski, L.; Sansberro, P. (2012) Influence of the irradiance on phenols content and rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings collected from adult plants. *Acta Physiol Plant* 34:2419–2424.

WENDLING, I.; Trueman, S. J.; Xavier, A. 2014. Maturation and related aspects in clonal forestry-part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. *New Forests*; 1:1-14.

WENDLING, I.; Dutra, L. F.; Grossi, F. 2007. Produção e sobrevivência de miniestacas e minicepas de erva-mate cultivadas em sistema semi-hidropônico, *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 42, n. 2, p. 289-292.

WENDLING, I.; Souza Júnior, L. 2003. Propagação vegetativa de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) por miniestaquia de material juvenil. In: Congresso Sul-Americano da Erva-Mate, 3.; Feira do Agronegócio da Ervamate, Chapecó. Anais. Chapecó: EPAGRI.