



**UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
FACULTAD DE AGRONOMIA**

**DETERMINACION DE CONDICIONES OPTIMAS PARA LA
PROPAGACION POR ESTACAS DE CLONES SELECTOS DE
EUCALYPTUS GRANDIS.**

por **FACULTAD DE AGRONOMIA**
UNIVERSIDAD DE LA REPUBLICA
MONTEVIDEO

**Javier ALVAREZ SITA
David Andrés DECARLINI SESTO**

**TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo
(Orientación Forestal)**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
1998**

Tesis aprobada por :

Director : Ing. Agr. Zohra BENNADJL Ph. D.
Nombre completo y firma

Ing. Agr. Alfredo GRAVINA
Nombre completo y firma

Ing. Agr. Rafael ESCUDERO
Nombre completo y firma

Fecha : 11 de setiembre de 1998

Autores : Javier ALVAREZ SITA
Nombre completo y firma

David Andrés DECARLINI SESTO
Nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

A la Ing. Agr. Zohra Bennadji por la dirección y colaboración en esta investigación.

Al Ing. Agr. Alfredo Gravina por la codirección y colaboración en la elaboración de este trabajo.

Al Ing. Agr. Rafael Escudero por su aporte en la realización del trabajo y su participación en la evaluación del mismo.

Asimismo hacemos extensivo nuestro agradecimiento a todos los integrantes del Departamento Forestal.

Al Ing. Agr. Juan Burgueño por su gran aporte en la elaboración e interpretación del análisis estadístico

A la Lic. María Nilda García por su colaboración en la corrección de los aspectos formales del trabajo.

Al Sr. Oscar Dalera y a los funcionarios del I.N.I.A que colaboraron en la etapa experimental.

Al Dr. Gabriel Cerizola, nuestro especial reconocimiento.

Agradecemos también a todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO.

	Página
PAGINA DE APROBACION.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	IV
1. <u>INTRODUCCION</u>	1
2. <u>REVISION BIBLIOGRAFICA</u>	3
2.1 PROPAGACION VEGETATIVA DE ESPECIES FORESTALES.....	3
2.1.1 <u>Introducción</u>	3
2.1.2 <u>Usos</u>	4
2.1.3 <u>Propagación vegetativa de especies del género <i>Eucalyptus</i></u>	5
2.1.3.1 Ventajas.....	5
2.1.3.2 Desventajas.....	7
2.1.3.3 Riesgos del uso de la propagación vegetativa a gran escala y sus atenuantes.....	9
2.2 ANTECEDENTES DE LA PROPAGACION VEGETATIVA DE <i>EUCALYPTUS</i> A NIVEL MUNDIAL Y NACIONAL.....	12
2.2.1 <u>La propagación vegetativa a nivel mundial</u>	12
2.2.1.1 Generalidades.....	12
2.2.1.2 Antecedentes en Brasil.....	14
2.2.1.3 Antecedentes en la República Popular del Congo.....	16
2.2.1.4 Antecedentes en Sudáfrica.....	17
2.2.1.5 Antecedentes en Portugal.....	18
2.2.1.6 Antecedentes en Marruecos.....	19
2.2.1.7 Antecedentes en Argentina.....	20
2.2.2 <u>La propagación vegetativa a nivel nacional</u>	21
2.2.2.1 Antecedentes en el INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria).....	21
2.2.2.2 Antecedentes en Facultad de Agronomía (Universidad de la República).....	24
2.2.2.3 Antecedentes a nivel empresarial.....	24
2.3 PROPAGACION DE <i>EUCALYPTUS</i> POR ESTACAS.....	25
2.3.1 <u>Factores que afectan la regeneración de plantas a partir de estacas</u>	25
2.3.1.1 Especie utilizada.....	25
2.3.1.2 Clon utilizado.....	26
2.3.1.3 Edad fisiológica del árbol donador.....	26
2.3.1.3.1 Técnicas de rejuvenecimiento.....	27
2.3.1.4 Condición de la estaca.....	28

2.3.1.5 Reservas y cofactores del enraizamiento.....	29
2.3.1.6 Condiciones ambientales de producción.....	30
2.3.1.7 Tratamientos hormonales.....	32
2.3.1.8 Medios de enraizamiento.....	34
2.3.2 <u>Condiciones generales favorables para el enraizamiento</u>	36
3. <u>MATERIALES Y METODOS</u>	38
3.1 LOCALIZACION Y CONDICIONES AMBIENTALES DEL ENSAYO.....	38
3.2 PERIODO DE EXPERIMENTACION.....	39
3.3 MATERIAL VEGETAL.....	40
3.3.1 <u>Manejo del banco clonal</u>	40
3.3.2 <u>Colecta y acondicionamiento del material</u>	41
3.3.3 <u>Preparación de las estacas</u>	41
3.3.4 <u>Plantación</u>	42
3.4 CONTENEDORES.....	42
3.5 SUSTRATOS.....	43
3.6 FITOREGULADORES DEL ENRAIZAMIENTO.....	44
3.7 DISEÑO ESTADISTICO.....	45
3.8 PARAMETROS EVALUADOS.....	46
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSION</u>	48
4.1 CONSIDERACIONES GENERALES.....	48
4.2 SOBREVIVENCIA.....	49
4.3 ESTRUCTURAS RADICULARES.....	56
4.3.1 <u>Callos</u>	61
4.3.2 <u>Callos con primordios radiculares</u>	62
4.3.3 <u>Raíces</u>	63
4.3.4 <u>Análisis de los callos, callos con inicio radicular y raíces en forma conjunta</u>	67
4.4 LONGITUD RADICULAR.....	68
4.5 BROTACIÓN.....	70
4.6 LONGITUD DE BROTES.....	74
5. <u>CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS</u>	78
6. <u>RESUMEN</u>	80
7. <u>SUMMARY</u>	81
8. <u>BIBLIOGRAFIA</u>	82

9. ANEXO.....	86
Anexo 1 - Cuadro N° 24. Datos obtenidos en la casilla meteorológica correspondientes al período 10/12/97 - 04/02/98.....	87
Anexo 2 - Cuadro N° 25. Lista de clones integrantes del banco clonal de la Unidad Experimental “ La Magnolia”.....	88
Cuadro N° 26. Esquema del banco clonal de <i>Eucalyptus grandis</i> de la Unidad Experimental “ La Magnolia”.....	89
Anexo 3 - Instrumental utilizado en la colecta, preparación y evaluación de las estacas.....	90
Anexo 4 - Fórmulas utilizadas en el análisis estadístico.....	91
Anexo 5 - SOBREVIVENCIA.....	92
Cuadro N° 27. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de sobrevivencia.....	92
Anexo 6 - ESTRUCTURAS RADICULARES.....	93
Cuadro N° 28. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de estacas con estructuras radiculares.....	93
Cuadro N° 29. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para el porcentaje de estacas con estructuras radiculares.....	93
Anexo 7 - CALLOS.....	94
Cuadro N° 30. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de callos.....	94
Cuadro N° 31. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para el porcentaje de callos.....	94
Cuadro N° 32. Resultados de los tratamientos para el porcentaje de callos.....	95
Anexo 8 - CALLOS CON PRIMORDIOS RADICULARES.....	96
Cuadro N° 33. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de callos con primordios radiculares.....	96
Cuadro N° 34. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para el porcentaje de callos con primordios radiculares.....	96
Cuadro N° 35. Resultados de los tratamientos para el porcentaje de callos con primordios radiculares.....	97
Anexo 9 - RAICES.....	98
Cuadro N° 36. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de raíces.....	98
Cuadro N° 37. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para el porcentaje de raíces.....	98
Anexo 10 - LONGITUD RADICULAR.....	99
Cuadro N° 38. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para la longitud radicular.....	99

	Cuadro N° 39. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para la longitud radicular.....	99
	Cuadro N° 40. Resultados de los tratamientos para la longitud radicular 100	100
Anexo 11 -	BROTACION.....	101
	Cuadro N° 41. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de brotación.....	101
	Cuadro N° 42. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para el porcentaje de brotación.....	101
Anexo 12 -	LONGITUD DE BROTES.....	102
	Cuadro N° 43. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para la longitud de brotes.....	102
	Cuadro N° 44. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para la longitud de brotes.....	102
Anexo 13 -	FOTOS.....	103
	Foto N° 1 - Cepa con brotes en el banco clonal de "La Magnolia"	103
	Foto N° 2 - Estaca con callo.....	104
	Foto N° 3 - Estaca con sistema radicular desarrollado.....	105
	Foto N° 4 - Detalle del sistema radicular.....	106
	Foto N° 5 - Estacas brotadas.....	107
	Foto N° 6 - Detalle de estaca brotada (sin sistema radicular).....	108

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.

Cuadro N°		Página
1.	Síntesis de los ensayos de macropropagación efectuados en el INIA.....	23
2.	Fecha de plantación por clon.....	39
3.	Composición química del sustrato Plantmax Forestal	43
4.	Comparación de la Vermiculita y el Plantmax en base a sus características físicas y químicas.....	44
5.	Composición porcentual del Raizal 400.....	45
6.	Sobrevivencia de estacas, expresada en porcentaje, según clon, sustrato, envase y fitoregulador usado.....	49
7.	Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de sobrevivencia del clon VS8.....	53
8.	Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de sobrevivencia del clon VS13.....	53
9.	Estacas con estructuras radiculares, expresadas en porcentaje, según envase y sustrato.....	56
10.	Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de estacas con estructuras radiculares del clon VS8.....	59
11.	Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de estacas con estructuras radiculares del clon VS13.....	59
12.	Estacas con callos según fitoregulador usado.....	61
13.	Estacas con callos más primordios radiculares según clon y fitoregulador usados.....	62
14.	Estacas con raíces según clon y fitoregulador usados.....	63
15.	Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de raíces del clon VS8.....	65
16.	Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de raíces del clon VS13.....	65
17.	Longitud radicular raíces según envase y fitoregulador usados.....	68
18.	Porcentaje de brotación según clon y envase usados.....	70
19.	Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de brotación del clon VS8.....	71
20.	Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de brotación del clon VS13.....	72
21.	Longitud de brotes según clon, envase y fitoregulador usados.....	74
22.	Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en la longitud de brotes del clon VS8.....	76
23.	Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en la longitud de brotes del clon VS13.....	76

Gráfico N°

1.	Porcentaje de sobrevivencia de estacas por clon utilizado.....	49
2.	Porcentaje de sobrevivencia de estacas por sustrato utilizado.....	50
3.	Porcentaje de sobrevivencia de estacas por envase utilizado.....	51
4.	Porcentaje de sobrevivencia de estacas por fitoregulador utilizado.....	52
5.	Interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador para la variable sobrevivencia.....	54
6.	Porcentaje de estacas con estructuras radiculares por envase utilizado.....	56
7.	Porcentaje de estacas con estructuras radiculares por sustrato utilizado.....	57
8.	Porcentaje de estacas con estructuras radiculares por clon utilizado.....	58
9.	Interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador para la variable porcentaje de estacas con estructuras radiculares.....	60
10.	Porcentaje de callos por fitoregulador utilizado.....	61
11.	Porcentaje de callos con inicio radicular por clon utilizado.....	62
12.	Porcentaje de callos con inicio radicular por fitoregulador utilizado.....	63
13.	Porcentaje de raíces por clon utilizado.....	64
14.	Porcentaje de raíces por fitoregulador utilizado.....	64
15.	Interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador para el porcentaje de raíces.....	66
16.	Longitud radicular por envase utilizado.....	68
17.	Longitud radicular por fitoregulador utilizado.....	69
18.	Porcentaje de brotación por clon utilizado.....	70
19.	Porcentaje de brotación por envase utilizado.....	71
20.	Interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador para el porcentaje de brotación.....	72
21.	Longitud de brotes por clon utilizado.....	74
22.	Longitud de brotes por envase utilizado.....	75
23.	Longitud de brotes por fitoregulador utilizado.....	75
24.	Interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador para la longitud de brotes.....	77

1. INTRODUCCION.

La propagación vegetativa de especies de *Eucalyptus* es un método que ha logrado una amplia aceptación, ya que permite obtener grandes ganancias genéticas, aún en aquellas características de baja heredabilidad (tales como crecimiento y contenido de celulosa), permitiendo a su vez mantener las características de los híbridos naturales o controlados (Campinhos, 1987).

La utilización de la propagación vegetativa en *Eucalyptus* para la creación o regeneración de plantaciones comerciales, tuvo su pleno auge en la década de los ochenta gracias a la conjunción de esfuerzos en investigaciones básicas y aplicadas de investigadores como W.J.Libby, A.Franclet, B.Martin, E.Campinhos, Y.K.Ikemori, y otros, en diferentes partes del mundo. Se alimentó también de la toma de conciencia generalizada de las ventajas ofrecidas por la forestación clonal, comparada con la forestación tradicional a partir de semilla.

De todos los métodos de propagación vegetativa usados en especies de *Eucalyptus*, el que actualmente se está desarrollando con mayor rapidez y permite obtener los resultados más consistentes y aceptables económicamente es el de multiplicación por estacas (Zobel et al, 1992).

En nuestro país, hasta la fecha han sido realizadas pocas experiencias con esta técnica, y la misma aún no se ha utilizado para la multiplicación de *Eucalyptus* a escala comercial.

Es en este escenario que las instituciones nacionales de investigación, más precisamente el I.N.I.A., conjugando esfuerzos con la Universidad de la República a través de la Facultad de Agronomía, intentan buscar paquetes tecnológicos para poder desarrollar la forestación clonal a escala comercial, dándole a los productores forestales las herramientas necesarias para su implementación.

El Programa Nacional Forestal del I.N.I.A. dispone actualmente de líneas de clones de *Eucalyptus grandis* , seleccionados en plantaciones comerciales en todo el país (genotipos selectos). El Plan Indicativo a Mediano Plazo (PIMP 1997-2001) prevé estudios para la implementación de la forestación clonal en *Eucalyptus* para su uso en investigaciones futuras (tests clonales) así como en plantaciones a escala comercial.

Ante este hecho se ha detectado una limitante general que radica en el pasaje de la tasa de multiplicación a pequeña escala a la tasa de multiplicación y prendimiento a escala comercial. Esto involucra la adecuación de dos aspectos de relevante importancia, por un lado la obtención de material vegetativo de calidad genética superior y buen enraizamiento, y por otro lado el lograr desarrollar condiciones óptimas para la obtención de altas tasas de prendimiento de las estacas.

Con referencia al primer aspecto, en el I.N.I.A. se trabaja para obtener altas tasas de multiplicación de los clones con técnicas que implican el rejuvenecimiento del material madre (tala rasa y utilización posterior de los rebrotes, manejo permanente del banco clonal con podas de los pies madres, transplante de los pies madres a macetones y cuidado de los mismos bajo condiciones ambientales controladas en invernáculo).

La presente tesis hace referencia al segundo aspecto aquí mencionado, ya que su objetivo es determinar un rango tentativo de condiciones óptimas para la obtención de estacas de clones seleccionados de *Eucalyptus grandis*, evaluando el efecto de diferentes sustratos, envases y fitoreguladores de enraizamiento sobre el desarrollo de las mismas, para su posterior utilización en otras líneas de investigación y en futuros programas comerciales.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA.

2.1 PROPAGACION VEGETATIVA DE ESPECIES FORESTALES.

2.1.1 Introducción.

Las plantas poseen dos formas de propagación : **sexual** y **asexual**. La diferencia básica estriba en el proceso de **fecundación**, que tiene lugar en la primera pero no en la segunda. La **propagación asexual** presenta a su vez, dos modalidades : **apomixis** y **propagación vegetativa**. La **apomixis** consiste en la propagación a partir del desarrollo de uno de los gametos (el óvulo) sin fecundación o de una célula sin reducción, para formar semillas u órganos similares a las semillas (Quijada,1980).

La **propagación vegetativa** 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. (Hartmann et al,1974).

El producto de la multiplicación vegetativa son los **clones**, entendiendo por **clon** al conjunto de individuos genéticamente iguales derivados del árbol inicial. El árbol visible está formado por la interacción entre su genotipo y el ambiente, razón por la cual el mejorador selecciona esta dualidad llamada fenotipo. El clon obtenido al multiplicar vegetativamente ese fenotipo podrá o no variar, de acuerdo a los diferentes ambientes en que sea cultivado, pero la constitución genética de todos sus individuos será la misma (Carpinetti, 1996).

Según Quijada (1980), se han desarrollado distintos métodos de propagación vegetativa, como ser: estacas, acodos, injertos y cultivo de tejidos.

Las **estacas** son secciones separadas del árbol y puestas a enraizar en un medio apropiado.

Los **acodos** son secciones del árbol en las cuales se provoca enraizamiento, para luego separarlas del mismo.

Los **injertos** son plantas obtenidas por soldadura de una parte proveniente del árbol a propagar sobre otra parte que posee su raíz propia.

Otra forma de propagación consiste en el **cultivo de tejidos**, a partir de células con potencial de actividad mitótica, en un medio apropiado y bajo condiciones asépticas.

2.1.2 Usos.

El uso de la propagación vegetativa está aumentando rápidamente y es de vital importancia para el mejoramiento genético forestal. Siempre se la ha utilizado en la preservación de genotipos en bancos clonales y en el establecimiento de huertos semilleros clonales, pero hoy en día ha aumentado el interés por utilizarla en los programas operativos de plantación. Dado que el uso operativo de la propagación vegetativa es bastante reciente, existen aún muchas interrogantes acerca de como aprovecharla mejor. Aún así, se están logrando grandes avances en varias especies, entre ellas las de *Pinus* y *Eucalyptus* (Zobel et al, 1992).

Estos mismos autores proponen los siguientes usos a nivel de investigación :

- análisis genético del material vegetal, incluyendo evaluación de la interacción genotipo-ambiente a través de tests clonales y determinación de correlaciones ambientales y genéticas, como las manifestaciones juveniles y maduras de una misma característica;
- preservación de genotipos mediante el uso de bancos clonales “in situ” e “in vitro” para fines científicos y posible uso posterior en programas operativos;
- traslado de plantas valiosas a laboratorio o invernaderos para realizar estudios y mejorarlas genéticamente;
- acortamiento del ciclo reproductivo para acelerar los cruzamientos y pruebas.

También proponen a nivel operativo los siguientes usos :

- multiplicación de genotipos adecuados para el posterior desarrollo de huertos semilleros clonales y la producción operativa de semillas;
- uso directo de los propágulos vegetativos en programas operativos de plantación obteniendo máxima ganancia genética. Por ejemplo, la propagación vegetativa puede usarse en especies de *Eucalyptus*, para la obtención de madera de calidad (grano recto y sin presiones internas), resistencia a enfermedades, resistencia a factores climáticos, etc.

2.1.3 Propagación vegetativa de especies del género *Eucalyptus*.

2.1.3.1 Ventajas.

A continuación se citan las principales ventajas del uso de la propagación vegetativa en especies del género *Eucalyptus*.

a) Captación y transferencia al nuevo árbol de todo el potencial genético del árbol donador.

Con la propagación vegetativa se rescata tanto la ganancia genética aditiva como la no aditiva, obtenida luego de un proceso de selección, ya que la parte propagada es genéticamente idéntica al individuo original (Carpineti, 1996; Quijada, 1980).

En la regeneración por semilla solo la porción aditiva de la variación genética puede ser rescatada, y para aquellas características con alta proporción de varianza no aditiva (baja heredabilidad) las ganancias obtenidas serán bajas (Zobel et al, 1992).

Por esta razón, resulta particularmente interesante la utilización de la propagación vegetativa para lograr ganancias genéticas en características con un alto componente de variación genética no aditiva, como por ejemplo: crecimiento, peso seco, contenido de celulosa, producción de pulpa, etc (Gutiérrez, 1994).

Según Zobel et al (1992), en características como el crecimiento en volumen (en general de baja heredabilidad), es posible obtener más del doble de ganancia genética utilizando propágulos vegetativos en vez de la regeneración por semilla.

b) Aprovechamiento de la interacción genotipo-ambiente.

Mediante la repetición de un ensayo clonal en distintos sitios, se puede detectar que clones se destacan para ciertas condiciones de sitio (Carpineti, 1996).

Por otro lado, la identificación de clones con poca interacción con el ambiente permite una producción forestal más estable (Assis, 1996).

c) Aprovechamiento comercial de la heterosis.

En el caso de las poblaciones híbridas, la clonación se convierte en una forma muy útil de propagación sin riesgos de segregación en la descendencia (Carpineti, 1996).

Además, la obtención de semillas híbridas en las cantidades necesarias para realizar plantaciones comerciales es muy difícil en las especies de *Eucalyptus*, que presentan flores hermafroditas. Por ello, la clonación es una herramienta fundamental para usar la hibridación dentro de los programas de mejoramiento de las especies de *Eucalyptus* (Assis, 1996).

A continuación se citan ejemplos del uso exitoso de la clonación :

- la utilización de clones de híbridos con resistencia a la sequía y al frío en ambientes marginales, por ejemplo: híbridos *E.grandis* x *E.camaldulensis* y *E.grandis* x *E.tereticornis* , soportaron mejor la sequía que los *E.grandis* como especie pura en Sudáfrica (Darrow, 1995 cit. por Carpineti, 1996); en Francia (1965), se usaron híbridos *E.gunnii* x *E.dalrympleana* resistentes al frío (Martin, 1983; cit. por Carpineti, 1996).

- la utilización de clones híbridos con resistencia a enfermedades, por ejemplo el *E.urograndis* (híbrido entre *E.urophylla* y *E.grandis*), utilizado en Brasil, presenta resistencia al cancro (Ferreira y Santos, 1997); en España y Portugal el ataque del insecto *Phoracantha semipunctata*, es evitado con el uso de híbridos *E.globulus* x *E.camaldulensis*, en lugar del *E.globulus* como especie pura (Carpineti, 1996).

d) Mayor rapidez de utilización de las cualidades genéticas deseadas de los árboles seleccionados (reducción de los ciclos de mejora de los árboles).

No es necesario esperar a la producción de semilla para reproducir los propágulos destinados a la plantación operativa. Una vez que los tests clonales hayan demostrado que un árbol tiene un buen genotipo, se puede propagar vegetativamente (Zobel et al, 1992).

e) Uniformidad.

Se producen bosques con la mayor uniformidad posible en tamaño, calidad y propiedades de la madera. Mediante el uso de la clonación se logra minimizar la variabilidad entre árboles. Esto permite obtener un menor costo de cosecha mecánica, si lo comparamos con el costo de cosecha de plantaciones provenientes de semilla (Zohra Bennadji, com. pers.).

La uniformidad de la materia prima trae como beneficios para el sector industrial, los siguientes aspectos: la mejoría del aprovechamiento de la materia prima, del rendimiento en el proceso y del desempeño industrial como un todo (Assis, 1996).

f) Porcentaje de brotación.

La propagación vegetativa de las especies de *Eucalyptus*, se basa en la utilización de rebrotes de cepa, por lo que se selecciona por capacidad de brotación (Assis, 1996). Esta característica es cada vez menos usada debido a los gastos de manejo (Zohra Bennadji, com. pers.).

Esta selección trae como consecuencia el aumento de la capacidad de brotación luego de la tala y la homogeneidad del crecimiento de los brotes, confiriendo una mayor productividad y calidad a las forestaciones de segunda rotación y de rotaciones posteriores, comparado con forestaciones provenientes de semilla (Assis, 1996).

g) Productividad forestal e industrial.

Según Assis (1996), se han reportado aumentos de productividad volumétrica del orden de 100% en relación a plantaciones efectuadas con semilla. Este aumento de la productividad genera ganancias operacionales y reducción de los costos.

Según el mismo autor, desde el punto de vista industrial, la gran mayoría de las características de interés (por ejemplo: propiedades tecnológicas de la madera) tienen variaciones importantes entre clones. Este hecho, sumado a las altas heredabilidades estimadas para estas características industriales de la madera, marca la posibilidad de obtener altas ganancias mediante el uso de la clonación en los programas forestales integrados a la actividad industrial.

2.1.3.2 Desventajas.

A continuación se citan las principales desventajas del uso de la propagación vegetativa en especies del género *Eucalyptus*.

a) Interacción con el ambiente.

En teoría, una población genéticamente heterogénea produce más biomasa y otorga una mayor estabilidad a la productividad dentro de un rango de condiciones ambientales. Por el hecho de existir árboles genéticamente distintos, ocupando nichos ecológicos ligeramente diferentes, se produce una utilización más eficiente del espacio ecológico por parte de la población, la que además tendrá una mejor capacidad de respuesta y adaptación frente a cambios producidos en el medio ambiente (Lindgren, 1977). Por el contrario, una población genéticamente homogénea no puede superar bien los cambios en las condiciones ambientales (Gutiérrez, 1994).

La forestación clonal es la situación donde se produce una mayor interacción del genotipo (clon) con el medio ambiente. Este hecho conlleva mayores cuidados a la hora de evaluar y posteriormente distribuir los clones en los ambientes más adecuados. Podrían ocurrir pérdidas de productividad en el caso de la instalación de forestaciones clonales poco plásticas en sitios inadecuados. Por ello, la identificación de clones que presenten poca interacción con el ambiente, resultará en una producción forestal más estable (Assis, 1996).

Este punto se tratará con más detalle en el ítem 2.1.3.3.

b) Costo de producción de plantines.

Para la producción de estacas de especies de *Eucalyptus*, es preciso tener instalaciones más sofisticadas como estufas o invernaderos climatizados, usar hormonas para lograr buenos niveles de enraizamiento, además de la necesidad de implantar y manejar intensivamente estaqueros o bancos clonales. Esto hace que los costos de producción de plantines sean más altos cuando se comparan con la producción de ellos por semillas (Assis, 1996).

Esta desventaja desaparece a la hora de evaluar las ganancias obtenidas, ya que estos mayores costos son ampliamente compensados por las mismas, transformándose en una inversión productiva (Carpineti, 1996).

Se puede afirmar que una estaca cuesta generalmente el doble que una planta de semilla; y una planta micropropagada cinco veces ese valor (Oñate; Traverso; Carpineti, 1987 cit. por Carpineti, 1996).

c) Técnica de fin de línea.

La propagación vegetativa es una “técnica de fin de línea” en los programas de mejoramiento genético, dado que proporciona la ganancia máxima por generación de selección, pero ninguna ganancia adicional es obtenida por la multiplicación sucesiva de los mismos clones (Assis, 1996).

d) Conocimiento técnico.

En la clonación se exige conocimiento técnico especializado o entrenamiento específico, tanto para la fase de realización del trabajo base, como para la fase de producción de plantines (Assis, 1996).

e) Períodos de producción de plantines.

Para optimizar los costos de las estructuras de propagación hay que lograr producir plantines el año entero, en períodos que muchas veces no coinciden con las épocas más adecuadas para la plantación. Esta situación genera inconvenientes de tipo técnico importantes, como por ejemplo que los plantines muchas veces son plantados con edades por encima de lo ideal. Para solucionar este problema, en algunos casos hay necesidad de hacer plantaciones irrigadas, encareciendo los costos de implantación (Assis, 1996).

f) Restricciones de orden político y social.

En diversos países hay limitaciones de establecimiento para las plantaciones clonales. Es la legislación la que limita la utilización de estas plantaciones, y las empresas que las realizan deben efectuar estudios ecológicos y evaluar previamente su impacto (Carpinetti, 1996).

2.1.3.3 Riesgos del uso de la propagación vegetativa a gran escala y sus atenuantes.

a) Reducción de la base genética.

El mayor grado de homogeneidad genética de las plantaciones clonales, hace que sean mucho más vulnerables que las forestaciones producidas a partir de semillas, ya que, dada la reducción drástica de la base genética, las forestaciones clonales pueden ser más afectadas por cambios ambientales, como por ejemplo: heladas, sequías, excesos de humedad, etc. Por ello, la selección de clones debe ser realizada en condiciones ambientales posibles de ocurrir en la práctica. Una vez que los clones tolerantes hallan sido testeados y aprobados para estas condiciones ambientales, la plantación clonal puede ser el camino más adecuado para lograr una producción óptima. Además, las forestaciones clonales están más sujetas a sufrir daños por plagas y enfermedades (Assis, 1996).

b) Aparición de nuevas enfermedades.

Las especies del género *Eucalyptus*, son hospederos naturales de una serie de microorganismos que aparecen a nivel endémico, los cuales representan riesgos potenciales para la silvicultura clonal. El uso de clones hace viable la adaptación de algún hongo a los *Eucalyptus*, lo cual puede constituir un grave problema ya que pueden surgir nuevas enfermedades hasta entonces sin importancia económica (Assis, 1996).

c) Agotamiento de la fertilidad natural del suelo.

El alto grado de especificidad de los clones en la absorción de ciertos nutrientes y la estrategia que cada uno utiliza en la distribución e inmovilización de estos nutrientes en los distintos compartimentos del árbol, puede comprometer la disponibilidad de algún elemento en el suelo. Para ello se deben tener en cuenta prácticas ambientales, como por ejemplo dejar restos culturales, no realizar quemas como método de limpieza del área, etc (Assis, 1996).

d) Identificación errónea de los clones a propagar.

En la multiplicación de clones seleccionados, la identificación de cada clon es de suma importancia. Cuando no se dispone de métodos precisos para certificar la identidad de los clones a ser multiplicados, se corre el riesgo de multiplicar el clon errado. La alternativa más adecuada en este caso, es la caracterización genética de los clones basada en técnicas de biología molecular (Assis, 1996).

Algunos de los riesgos anteriormente mencionados, pueden ser significativamente disminuidos, mediante la adopción de las medidas citadas a continuación.

- Número de clones.

La utilización de un número grande de clones, provee una mayor disponibilidad de alternativas en la ocupación de diferentes ambientes, en tanto la utilización de un número muy pequeño potencializa los riesgos. Se aconseja que el número mínimo de clones a utilizar nunca sea inferior a 30, aunque las dimensiones del programa de mejoramiento, es lo que definirá el número de clones a usar (Assis, 1996).

En las prácticas silviculturales se aconseja utilizar una mezcla de clones (mosaicos) para reducir los posibles daños ocasionados por agentes bióticos (ataque de insectos, enfermedades, etc.) o abióticos (heladas, sequías, etc) (Zohra Bennadji, com. pers.).

Según Chaperon (1987), es recomendable el uso de 10 a 50 clones diferentes para prevenir la propagación de enfermedades y la posibilidad de sufrir daños por la ocurrencia de factores ambientales extremos .

- Disposición espacial.

La distribución de los clones en el campo debe ser tal que un mismo clon no ocupe áreas muy extensas de forma continua. Los clones deben ser plantados en forma de mosaico, donde cada bloque del mismo clon quede espacialmente separado de otros bloques del mismo clon (Assis, 1996).

Según Chaperon (1987), los clones deben ser plantados en bloques monoclonales de 5 a 25 hectáreas.

- Disposición temporal.

Otra forma de quebrar la homogeneidad y mejorar la estabilidad de la plantación clonal, es plantar cada clon en distintas edades y creando un mosaico de edades. De ésta manera se logra tener distintos niveles de predisposición frente al ataque de plagas y enfermedades, siempre que la susceptibilidad de las plantas a ciertas plagas y enfermedades varía de acuerdo con su edad (Assis, 1996).

- Manejo ambiental.

En las plantaciones clonales es necesario desarrollar programas de manejo ambiental para conferir una mayor diversidad biológica dentro de las áreas de plantación y en sus alrededores. La preservación de áreas de vegetación natural representa una forma de mejorar el equilibrio del ecosistema. Estas áreas de vegetación nativa funcionan como criaderos naturales de parásitos y predadores de posibles plagas y enfermedades, desempeñando un papel importante en el control natural de focos de insectos (Assis, 1996).

2.2 ANTECEDENTES DE LA PROPAGACION VEGETATIVA DE *EUCALYPTUS* A NIVEL MUNDIAL Y NACIONAL.

2.2.1 La propagación vegetativa a nivel mundial.

2.2.1.1 Generalidades.

Todos los métodos de multiplicación vegetativa han sido probados en especies del género *Eucalyptus*, pero el más difundido es el enraizamiento de estacas, el que se aplica en varios países, especialmente en programas de mejoramiento para aumentar la producción de pulpa (Ipinza et al, 1992).

Los primeros antecedentes de la propagación vegetativa en *Eucalyptus* se sitúan en los trabajos de propagación de *Eucalyptus citriodora* de Larina, en el año 1939 en Rusia. Posteriormente otro ruso, Ivashchenko, en el año 1939, también logra propagar al *Eucalyptus tereticornis* y al *Eucalyptus cinerea* por estacas, con un 40% de enraizamiento (Carpinetti, 1996).

La escuela francesa tiene sus primeros antecedentes en el año 1951 cuando M.Bauvier en Azemaur (Marruecos), logra enraizar ramas en macetas, y posteriormente su hermano J, Bauvier retomó esos ensayos en Port Lyaney, logrando enraizar al *Eucalyptus gomphocephala*. En el año 1956 en Marruecos, Franclet enraiza clones de *Eucalyptus camaldulensis* y a él le siguen Giordano en Italia, en el año 1960 y Pryor y Willing en Australia en el año 1963. Montaldi y Marcavillaca realizan trabajos similares en Argentina en el año 1964 (Carpinetti, 1996).

En relación a los factores ambientales, la resistencia al frío fue buscada en Francia a través de la clonación. En efecto, en el año 1956 y 1962 un frío excepcional limitó el crecimiento de los *Eucalyptus*. Se inició entonces conjuntamente con Italia y la cooperación de F.A.O, en el año 1965, un trabajo de selección de especies resistentes al frío. El paso siguiente fue el uso de híbridos, tales como el de *Eucalyptus gunni*; especie muy resistente al frío y de mala forma, con el *Eucalyptus dalrympleana*, de menor resistencia al frío, pero de buena forma. La clonación fue el paso siguiente para comenzar a solucionar el problema (Martin, 1983, cit. por Carpinetti, 1996).

Hasta ese momento los trabajos fueron puntuales y de interés académico, pero ya en la década del setenta, las primeras plantaciones comerciales usando clones selectos fueron establecidas en el Congo (Martin; Quillet; Chaperon) y en Brasil (Campinhos; Ikemori) (Chaperon, 1987).

DEPARTAMENTO DE
ECONOMÍA, INGENIERÍA Y
BIBLIOTECA

Es en estos países donde se han logrado los resultados más notables con el uso de estacas. En Aracruz, Brasil, usando esta técnica se han propagado clones que han permitido aumentar el rendimiento de los bosques en un 112%, obteniéndose plantaciones uniformes, con excelente poda natural, contenidos de celulosa superiores al 50% e incrementos medios anuales de sobre 70 m³/ha (García, 1984 ; Zobel et al, 1983). En forma análoga, en el Congo, el promedio de productividad se mejoró en menos de 10 años desde 7-10 m³/ha/año hasta 40-45 m³/ha/año como resultado de la silvicultura clonal (Franclet, 1983; Ipinza et al ,1992).

Davidson en 1973, es el primero en lograr el enraizamiento a gran escala con el *Eucalyptus deglupta*, en Papua, Nueva Guinea. Este trabajo antecede al realizado en el C.T.F.T (Centre Technique Forestier Tropical) con el *Eucalyptus platyphylla* en el Congo-Brazzaville y con el híbrido 12-ABL en Madagascar (Martin y Guillet, 1974). Con pequeñas modificaciones el método se aplica en la costa húmeda de Brasil (Ikemori,1975 y 1976), en la empresa Aracruz (Carpineti,1996).

En el año 1979 se logran implantar 3000 ha de *Eucalyptus* en el Congo, y Aracruz comienza a producir 1.000.000 de plantas en Brasil. Al mismo tiempo Cimetal Florestas de Mina Gerais sigue el ejemplo de Aracruz, mostrando ya una expansión de la forestación clonal. En la Argentina recién comienzan las primeras experiencias de propagación comercial en el año 1979 (Carpineti, 1996).

En la década del 80, debido a los excelentes resultados obtenidos en Brasil, Congo y Sudáfrica las experiencias se continúan en países como España, Portugal, Italia, India, U.S.A, etc (Carpineti, 1996).

Actualmente en el mundo se producen millones de plantas por el sistema de estaquillado, principalmente con especies subtropicales como el *Eucalyptus grandis*, y una proporción menor, aunque creciente, de especies de zonas templadas como el *Eucalyptus globulus*. La técnica de propagación vegetativa se está desarrollando muy velozmente y probablemente reemplazará a la producción tradicional de plantas en un futuro muy cercano (Chaperon, 1987; Rojas et al, 1987). Efectivamente, empresas tan importantes como la APPM de Australia, CELBI de Portugal y ENCE en España, entre otras, ya exhiben programas operativos con *Eucalyptus globulus* (Ipinza et al, 1992).

2.2.1.2 Antecedentes en Brasil.

La silvicultura clonal y por ende la propagación vegetativa tiene su punto de inicio en la década del sesenta (Ferreira y Santos, 1997); y su origen está directamente ligado al programa de incentivos fiscales al reforestamiento, instituido a partir de 1966, por el Gobierno Federal del Brasil (Ferreira, 1992).

Según Campinhos y Silva (1990) cit. por Ferreira y Santos (1997), en 1967, la Cía. Aracruz Forestal, situada en la región costera tropical húmeda, inicia su programa de plantación en el Estado de Espírito Santo utilizando las mismas especies cultivadas en las regiones sur y sudeste del Brasil. Estas plantaciones presentaron alta susceptibilidad al cancro *Cryphonectria cubensis* (Burner) (Hodges), más precisamente las especies *Eucalyptus saligna* y *Eucalyptus grandis* (70% del área plantada).

Según Ikemori (1990) cit. por Ferreira y Santos (1997), los rendimientos volumétricos en madera de las tres especies fueron : 24 a 28 m³/ha/año en *Eucalyptus saligna*, 30 a 40 m³/ha/año en *Eucalyptus grandis*, y 22 a 28 m³/ha/año en *Eucalyptus urophylla*, presentando este último una alta variación fenotípica.

Estas poblaciones fueron intensivamente estudiadas en 1974 por Tomazello, en relación a la resistencia al cancro, donde se demostró que: a) las poblaciones eran altamente híbrida; b) había alta resistencia al cancro a nivel individual y que los árboles con cortezas tipo “gum”(lisa) eran los más resistentes; c) para el caso específico del *Eucalyptus urophylla*, era posible asociar la resistencia a los padrones fenotípicos de los árboles: 1- típicos de la especie, 2- híbridos con *E.grandis* / *E.saligna* o 3- híbridos con otras especies como *E.tereticornis*, *E.camaldulensis*, *E.robusta* (Ferreira y Santos, 1997).

Estas conclusiones fueron básicas para establecer la estrategia de utilización clonal de estos individuos superiores, pues su inclusión en el programa de vía sexual sería totalmente inadecuada (Ferreira, 1992).

Teniendo como base los estudios de resistencia al cancro, en función de los padrones fenotípicos se establecieron las pautas para la producción del híbrido *Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*, que se denominaría “*Eucalyptus urograndis*”. La ocurrencia del cancro del *Eucalyptus*, en las regiones tropicales del Brasil, intensificó los estudios de selección de especies y procedencias de las semillas, y despertó el interés por los estudios de reproducción asexual, atendiendo al aprovechamiento de los árboles híbridos, resistentes al cancro y superiores en crecimiento y forma del tronco (Ferreira y Santos, 1997).

Poggiani y Suiter (1974), estudiando el enraizamiento de estacas de *Eucalyptus* en invernaderos con riego por aspersión establecen, simultáneamente a los estudios conducidos en Francia y en la República Popular del Congo, las bases para la macropropagación vegetativa (Ferreira y Santos, 1997) y desarrollan un método de propagación vegetativa con estacas retiradas de brotaciones de cepas (Ferreira, 1992).

A mediados de 1975, en las regiones sur y sudeste del Brasil (que son las regiones de más relevancia en cuanto a plantaciones forestales industriales), ocurrieron intensas heladas provocando importantes pérdidas en la mayoría de las plantaciones de *E. saligna* y *E. grandis*, que son las especies más plantadas en las regiones situadas abajo del Trópico de Capricornio. Este hecho demostró la necesidad de intensificar la selección de procedencias de las semillas de las especies más importantes, fundamentalmente de latitudes más inferiores, o de las mayores altitudes, donde las heladas ocurren con frecuencia. Estudios realizados en esas plantaciones, posteriores a la ocurrencia de las heladas permitieron seleccionar árboles superiores y resistentes a las mismas. Estos árboles resultaron ser híbridos interespecíficos y su aprovechamiento dependía del futuro desarrollo de técnicas de reproducción vegetativa efectivas (Ferreira y Santos, 1997).

En 1979, era establecida la primera plantación clonal comercial de *Eucalyptus* de Brasil en Aracruz, Estado do Espírito Santo, por Aracruz Forestal. La misma constaba de 1000 ha (Ferreira, 1992). En 1989, el programa anual de plantación de la empresa era de 15000 ha (Ikemori, 1990 cit. por Ferreira, 1992).

Según Ferreira y Santos (1997) la producción anual estimada de estacas en 1987 era de :

- Belgo Mineira	: 21 millones
- Cia. Vale do Río Doce	: 20 millones
- Aracruz	: 16.8 millones
- Duratex	: 15 millones
- Champion	: 10 millones
- Jari	: 10 millones
- Klabin	: 10 millones

En 1990, solamente Aracruz Forestal tenía plantadas 110 millones de árboles por medio de estacas enraizadas (Ferreira, 1992).

En el período que va del año 1976 al 1990, las empresas integrantes del sector de la celulosa y el papel pasan a dar prioridad a la silvicultura intensiva clonal por los altos rendimientos obtenidos en el corto plazo, y por los beneficios administrativos, cualitativos y económicos que esta ofrece a la producción (Ferreira y Santos, 1997).

A continuación se citan ejemplos de dos de las principales empresas forestales del Brasil: Aracruz y Champion Papel e Celulosa Ltda.

En Aracruz , 1984, los rendimientos iniciales medidos con material de semillas se encontraban en 33 m³/ha/año. Con la utilización de clones híbridos se llega a 70 m³/ha/año. Esto expresa un 112% de mejora. Con relación a la misma empresa, usando clones se consiguieron aumentos en la densidad básica de la madera del orden de un 25% y en relación al incremento del contenido de celulosa un 6%, lo que implica un incremento de la productividad forestal de un 13% (de 7.85 a 18.45 toneladas de pulpa/ha/año) (Carpineti, 1996; García, 1984) .

En la empresa Champion Papel e Celulosa Ltda., usando clones de *Eucalyptus grandis* se lograron incrementos de 35 m³ a 45 m³/ha/año (28%) en suelos latosólicos rojo-amarillo, en la localidad de Mogui Guacu S.P.; y de 37 a 46 m³/ha/año (24%) en suelos oscuros latosólicos, en la localidad de Brotas, S.P.(Vieira et al cit. por Carpineti, 1996).

En el presente, las empresas centran su investigación en seleccionar el número mínimo de clones a ser usado en las vastas áreas de plantación, los mejores híbridos, en los que la presencia del *Eucalyptus grandis* es primordial para garantizar la mejor calidad de la madera y los métodos de implantación de las forestaciones que serán más económicos y ecológicos. Otro problema surgido en las plantaciones de *Eucalyptus grandis* instaladas en áreas de climas tropicales, además del ya expuesto del cancro era que la productividad de los ciclos sucesivos de tala rasa estaba comprometida por la baja sobrevivencia de las cepas después del corte. En estas áreas la solución a este problema fue el uso del híbrido *Eucalyptus urograndis* a través de la silvicultura clonal (Ferreira y Santos, 1997).

2.2.1.3 Antecedentes en la República Popular del Congo.

En el año 1969 Martin inicia sus trabajos de propagación vegetativa de especies de *Eucalyptus*, en este país, en Brazzaville en el Centre Technique Forestier Tropical (C.T.F.T). Esta técnica permite la producción masiva de *Eucalyptus* híbridos en el C.T.F.T, gracias al trabajo de Martin, Guillet, Laplace, Delwaulle y Chaperon, marcando este hecho la difusión masiva de una tecnología perfectamente ajustada (Carpineti, 1996).

Según el mismo autor, en 1979 se logran implantar 3000 ha de *Eucalyptus*, con plántulas obtenidas mediante propagación vegetativa, y las plantaciones clonales realizadas permitieron pasar de rendimientos de 12 m³/ha/año a 35 m³/ha/año, con el uso de clones de materiales híbridos. FAO cita para el Congo que mientras las ganancias obtenidas por selección de orígenes y procedencias eran del orden del 50-80 %, con la propagación de híbridos clonalmente se lograron valores del 100-150 % .

Según Chaperon (1987), la producción anual estimada de estacas de *Eucalyptus* en el C.T.F.T en 1986 era de 5 millones.

También se cita que en el Congo se logró ampliar las áreas de cultivo hacia zonas marginales, utilizando clones de *Eucalyptus* híbridos como: *E.grandis* x *E.urophylla* ; *E.grandis* x *E.tereticornis* ; *E.saligna* x *E.tereticornis* y *E.alba* x *E.urophylla* (Carpineti, 1996).

2.2.1.4 Antecedentes en Sudáfrica.

La forestación clonal interesó a compañías sudafricanas importantes en 1982-1983, lo cual resultó de la gran publicidad de la exitosa historia de Aracruz y coincidió con la rápida expansión de la pulpa, el papel y la industria minera. Estos desarrollos dieron lugar a programas de forestación clonal para poder abastecer las demandas futuras. Como ejemplo de lo antedicho, en 1983, Mondi, una división de "Mondi Paper Company Limited", se tornó comprometida con la forestación clonal para la producción de pulpa de especies de *Eucalyptus* para Richards Bay Mill. La investigación en Richards Bay, confirmó el valor del peso específico básico como un importante parámetro para la selección del material clonal, y para asegurar las propiedades de la pulpa homogénea, que es más apropiada a las necesidades específicas de Richards Bay, se prefirió la madera en un rango de densidad de 0.48 a 0.52. La uniformidad de los clones a la par con la alta heredabilidad para el peso específico básico podría asegurar la provisión de madera muy uniforme de óptima calidad para este lugar (Denison et al, 1993).

En Mondi, la investigación sobre especies de *Eucalyptus*, se centra en la propagación vegetativa e incluye tratamientos para aumentar el enraizamiento de las estacas y técnicas para promover el enraizamiento en los viveros. En esta compañía se producen entre 8 y 10 millones de estacas anualmente. Los bancos clonales que se cosechan para proveer las estacas para el vivero cubren 35 ha y están bajo irrigación por goteo. La experimentación en esta área se dirige a la planta madre para maximizar el número y la calidad de las estacas obtenidas por planta para asegurar que las estacas estén en condiciones óptimas para enraizar (Herman et al, 1991).

Encarando aspectos diferentes a la calidad de la madera, se puede citar que la incidencia creciente de enfermedades de las especies de *Eucalyptus*, junto con la severa sequía de 1991 y 1992 confirmaron lo correcto de la decisión de Mondi de perseguir la opción clonal (Denison et al, 1993).

En Sudáfrica, se logró obtener mediante el uso de híbridos resistencia a la sequía y al frío, lo cual también permitió extender el área de cultivo de esta especie. Los híbridos entre *E.grandis* x *E.camaldulensis* y *E.grandis* x *E.tereticornis*, soportaron mejor la sequía que los *E.grandis* como especie pura (Darrow, 1995 cit. por Carpineti, 1996).

En Mondi se han logrado buenos progresos en el clonado de especies de *Eucalyptus* tolerantes al frío e híbridos. En 1993, su programa clonal operacional estaba confinado a las especies de *Eucalyptus* subtropicales, que comprenden : *E.grandis* y sus híbridos con *E.camaldulensis* , *E.tereticornis* y *E.urophylla*. El programa clonal de forestación de Mondi ocupa actualmente, una buena posición para soportar los desafíos de una industria con demanda y asegurar la alta producción futura y la calidad de la fibra de madera sobre una base sostenible (Denison et al, 1993).

2.2.1.5 Antecedentes en Portugal.

La compañía portuguesa Stora Celbi inició su programa de forestación clonal en 1985 con los objetivos de capturar la ganancia genética a partir de individuos y familias de *Eucalyptus globulus* perfeccionadas genéticamente, siendo desarrolladas en su programa de mejoramiento. Sin duda, esta fue la primera compañía en producir estacas de *Eucalyptus globulus* en Portugal, y tiene los ensayos clonales de campo provenientes de estacas más antiguos y más extensos. Estos incluyen tanto primera como segunda generación de clones de *Eucalyptus globulus* crecidos a lo largo de un amplio rango de ambientes en Portugal (MacRae et al, 1997).

Desde 1985 hasta 1992, la estrategia clonal de Stora Celbi fue desarrollar clones de *Eucalyptus globulus* por medio de estacas de tallo. Esta compañía construyó un nuevo vivero de producción comercial en la costa central de Portugal para permitir la propagación de clones de *Eucalyptus globulus* todo el año partiendo de plantas madres en contenedores mantenidas dentro de un invernadero. La investigación de la macropropagación en esta forma resultó en una producción exitosa durante todo el año de clones de *Eucalyptus globulus* de segunda generación por medio de estacas de tallo con un enraizamiento promedio por encima del 70%, adquirido en por lo menos ocho meses del año (MacRae et al, 1997).

Cotterill y Brindbergs (1997) reportaron que de generación en generación los plantines de semilla tienden a superar a los clones macropropagados en crecimiento. Esto contradice al supuesto de que las ganancias genéticas deberían ser incrementadas por la clonación. Este pobre crecimiento de las estacas clonales ha conducido a Stora Celbi a suspender su programa clonal comercial hasta tanto se pueda llevar a cabo más investigación al respecto. A pesar de esta experiencia negativa y de que la forestación clonal no ha jugado un mayor rol en la forestación con *Eucalyptus* en Portugal, se cita que la misma se está expandiendo rápidamente, y la propagación clonal por estacas está jugando un papel cada vez más importante, dadas las demandas por árboles genéticamente mejorados en dos compañías portuguesas de pulpa y papel (MacRae et al, 1997).

En Portugal, desde 1995, algunas compañías han comenzado a plantar áreas bastante extensas de estacas de *Eucalyptus globulus*. En la empresa Soporcel (1996), trabajando con *Eucalyptus globulus* y sin la utilización de híbridos; los clones permitieron alcanzar mejoras del orden del 30% en los mejores sitios y del 70% en los lugares menos fértiles en relación al material proveniente de semillas (Rui Souza, cit. por Carpineti, 1996).

En relación a plagas específicas, en España y Portugal el problema del ataque del insecto *Phoracantha semipunctata* en plantaciones de *Eucalyptus globulus* es salvado con el uso de híbridos tales como *Eucalyptus camaldulensis* x *Eucalyptus globulus* (Carpineti, 1996).

2.2.1.6 Antecedentes en Marruecos.

Los primeros antecedentes en este país datan del año 1956, donde Franclet enraiza clones de *Eucalyptus camaldulensis* (Carpineti, 1996), pero es en el año 1987 en que el comienzo de un importante programa de mejoramiento introdujo la forestación clonal y actualmente todas las plantaciones están cerca de ser realizadas usando propagación por estacas (Marien, 1991).

J.N.Marien (1991) cita que la producción de estacas de clones selectos de *Eucalyptus camaldulensis* en ese año fue de 2 a 3 millones.

2.2.1.7 Antecedentes en la Argentina.

A continuación se expone el desarrollo histórico que ha tenido la propagación vegetativa en la Argentina, según Carpineti, 1996.

La técnica de la macropropagación, luego de los trabajos pioneros de Marcavillaça y Montaldi (1964), no se reanudó hasta que en el año 1977, en la Estación Experimental Concordia del INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria), los Ings. Agrs. Marcó y Glade demuestran la factibilidad de usar esta tecnología en una cabina de propagación de diseño propio.

Es a partir de los años 90, cuando la micro y la macropropagación se integran a un plan de Mejora Forestal (INTA-Concordia). Hasta el año 1994, se obtuvieron en la E.E.A.(Estación Experimental Agropecuaria) Concordia aproximadamente 850 estacas de 23 clones distintos. Durante el año 1995, con el sistema de cortina de agua incorporado, el nuevo invernáculo permitió obtener unas 2000 estacas de 44 clones distintos (incluyendo los 23 anteriores).

En la actualidad se trabaja tanto en micro como en macropropagación, en diversas especies de *Eucalyptus* en el INTA Castelar, la E.E.A. Concordia y la E.E.A. Bella Vista en Corrientes. También existen grupos de investigación dedicados a estas técnicas de propagación vegetativa en los *Eucalyptus* en la Universidad de la Plata y en la Universidad de Cuyo.

Hace 15 años aproximadamente se inició en el E.E.A. Concordia del INTA, un trabajo de selección de árboles de la especie *Eucalyptus grandis*, con la finalidad de instalar un huerto semillero clonal (1981), usando la técnica de enraizamiento de estacas como método de propagación vegetativa. Posteriormente se seleccionaron nuevos individuos en ensayos y plantaciones comerciales de procedencias sudafricanas y australianas.

A partir del año 1991, el INTA inicia un conjunto de ensayos de diversos orígenes y/o progenies de *Eucalyptus grandis*, que tienen réplicas en diversos sitios de la Mesopotamia y serán la base de selección de nuevos clones. La intensidad de selección es de alrededor de un árbol por ha. En la actualidad el INTA cuenta con más de 50 árboles selectos, de los cuales, 15 tienen pruebas de progenie, y además 3 híbridos interespecíficos que también integran el banco clonal. El INTA tiene previsto llegar a un mínimo de 100 selecciones en el banco clonal, a los efectos de lograr de 20 a 25 buenos clones con alto porcentaje de enraizamiento.

En el año 1996 se ha iniciado un programa de cruzamientos que contempla hibridaciones interespecíficas y también cruzamientos intraespecíficos entre los mejores orígenes y/o procedencias de *Eucalyptus grandis*, a los híbridos obtenidos se les aplicará la técnica clonal para su reproducción.

Con respecto a las empresas privadas, la empresa forestadora Tapebicuá, trabajó en las técnicas de macropropagación desde la década del 80, en experiencias piloto, hasta la actualidad, en que la empresa a logrado el desarrollo de una tecnología eficaz que le permitirá, en poco tiempo, plantar las primeras hectáreas clonales de *Eucalyptus grandis* en Corrientes. Otro ejemplo en la actividad privada es el de la empresa Iberpapel Argentina S.A., que actualmente trabaja en la propagación clonal de *Eucalyptus globulus* en la localidad de Colón (Entre Ríos).

2.2.2 La propagación vegetativa a nivel nacional.

2.2.2.1 Antecedentes en el I.N.I.A (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria).

A continuación se expone el desarrollo que ha tenido la propagación vegetativa en el I.N.I.A según Bennadji (1996) y Bennadji et al (1998).

En el Programa Nacional Forestal del I.N.I.A, se hace uso de técnicas de propagación vegetativa de especies de *Eucalyptus*, en dos ópticas:

- a) como herramientas al servicio de programas de mejoramiento genético a través de la multiplicación de genotipos selectos.
- b) como métodos de mejora de por sí a través de la generación de nuevos genotipos de interés.

Durante la ejecución del Proyecto I.N.I.A-J.I.C.A (Agencia de Cooperación Internacional del Japón) (1993-1998), se desarrollaron técnicas de macropropagación (estacas, injertos, acodos) y micropropagación (cultivo de tejidos y técnicas de aclimatación) con material selecto y no selecto según el estado de avance de las acciones de mejora genética de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus globulus ssp globulus* y *Eucalyptus globulus ssp maidenii*. En preparación de estacas, se probaron además otras especies en estudio en el Programa Nacional Forestal del I.N.I.A (*Eucalyptus bicostata*, *Eucalyptus dunnii*, *Eucalyptus badjensis*, etc).

Los ensayos de macropropagación de especies de *Eucalyptus* se extendieron desde 1993 a la fecha en la Estación Experimental del Norte, y se desarrollaron básicamente técnicas de multiplicación por estacas. El objetivo general de ésta línea de trabajo es establecer un paquete tecnológico comprobado para la producción de plantas madre para la instalación de un banco clonal modelo para la retroalimentación a largo plazo de las otras líneas de investigación, la conservación de genotipos valiosos y la posterior transferencia de tecnología de producción masiva de estacas para fines de implantación comercial a nivel de productores forestales.

En el cuadro N° 1 se presenta una síntesis de los ensayos realizados en este campo en el correr del proyecto, así como los resultados alcanzados. En estos ensayos, se probaron diferentes combinaciones de sustratos, envases, concentraciones hormonales y condiciones ambientales. Se utilizó vermiculita, arena, tierra franca, safgno, y rock wool. Los envases consistieron en tubetes, bolsas y bandejas de diferente tamaño.

Los trabajos realizados en macropropagación en la Estación Experimental del Norte durante la ejecución del Proyecto I.N.I.A.-J.I.C.A. permiten sacar las siguientes conclusiones:

- la aptitud de enraizamiento varía entre especies y en proporción considerable entre clones de la misma especie, lo cual hace de esta variable un criterio de selección de alto valor en el esquema general de mejora de la especie; en los ensayos realizados en el período 1993-1994, la única especie que enraizó fue el *Eucalyptus grandis*; los *Eucalyptus globulus ssp.globulus* y *Eucalyptus globulus ssp. maidenii* formaron callos y se observaron sobrevivientes durante un período largo, pero se considera sumamente difícil su enraizamiento (Shiozuru, 1995) ;

- las condiciones óptimas de enraizamiento en el año, se encuentran reunidas en el período de mejores condiciones climáticas para el crecimiento global de los *Eucalyptus*, o sea en primavera y al principio del verano ;

- ubicándose en las condiciones óptimas de producción de estacas, se puede esperar lograr porcentajes de enraizamiento promedio del 80% ;

- con respecto a la edad fisiológica del material vegetal usado, se comprobó que el porcentaje de enraizamiento disminuye con la edad, siendo el mejor material el rejuvenecido, como son los rebrotes de cepa y/o las yemas epicórmicas (Bennadji, com.pers.).

Cuadro N° 1. Síntesis de los ensayos de macropropagación efectuados en el I.N.I.A

AÑO	ESPECIE	MATERIAL MADRE	TECNICA	PARAMETRO	RESULTADOS
1993	<i>E. grandis</i>	- introducciones de Australia	- injertos - estacas	- tasa de prendimiento del injerto - sobrevivencia - formación de callo - % de enraizamiento - tipo y tamaño de raíces formadas	- 0 a 40 % de éxito - 0 a 90 % de enraizamiento - efecto clon - efecto edad fisiológica del material vegetal - efecto estación
1994	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	- progenies de árboles "plus" de <i>E. grandis</i> y <i>E. globulus</i> - introducciones de Australia	- injertos - estacas	- ídem 1993 - % de enraizamiento	- 6 al 80 % - 0 al 60 % - 4 al 40 %
1995	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	- introducciones de Australia - progenies de árboles "plus" - rebrotes de cepas de progenies de árboles "plus"	- injertos - estacas - acodos	- ídem 1993	- confirmación a gran escala de resultados 1993
1996	<i>E. grandis</i> <i>E. globulus</i> <i>E. maidenii</i>	- ramas del banco clonal - rebrotes de cepas del banco clonal - introducciones de Australia	- estacas	- sobrevivencia - formación de callo - % de enraizamiento - tipo y tamaño de raíces	- ídem 1995
1997	<i>E. grandis</i>	- rebrotes del banco clonal	- estacas	- ídem 1996	- efecto clon-sustrato-envase - fitohormona (tesis actual)

Fuente: Bennadji, 1998.

2.2.2.2 Antecedentes en la Facultad de Agronomía (Universidad de la República).

En el área de micropropagación, Major et al (1993), señalan que se debe descartar el uso de yemas adultas de campo como fuente de explantos, y que el empleo de brotaciones epicórmicas como fuente de yemas “rejuvenecidas” para introducir in vitro, se considera altamente satisfactorio en función de los resultados obtenidos.

Con respecto a la técnica de estacas, Oscar Arca (1981), obtuvo los resultados que se detallan en el punto 2.3.2

2.2.2.3 Antecedentes a nivel empresarial.

En la actualidad algunas de las empresas que llevan a cabo investigación en clonación de *Eucalyptus* son: Forestal Oriental S.A., Eufores S.A. y Cofusa S.A.

En Eufores S.A., desde julio de 1997 a febrero de 1998, se llevó a cabo un proyecto sobre selección, clonación y multiplicación de árboles superiores de *Eucalyptus globulus ssp. globulus* y *ssp. maidenii*.

Los porcentajes de enraizamiento obtenidos fueron bajos para las dos especies, variando para *E. globulus ssp. globulus* entre 13,2 % y 25,08 %, y para *E. globulus ssp. maidenii* entre 10,17 % y 28 %.

2.3 PROPAGACION DE *EUCALYPTUS* POR ESTACAS.

2.3.1 Factores que afectan la regeneración de plantas a partir de estacas.

2.3.1.1 Especie utilizada.

Muchas especies de interés no son propagadas vegetativamente a escala comercial debido a que presentan limitaciones en términos de capacidad rizogénica. Tal es el caso de especies como: *Eucalyptus globulus*, *Eucalyptus nitens*, *Eucalyptus dunnii*, *Eucalyptus viminalis*, *Eucalyptus maculata*, *Eucalyptus citriodora* y *Eucalyptus cloeziana* entre otros (Assis, 1996).

Campinhos e Ikemori (1986), cit. por Shimizu (1988), clasifican a las especies de *Eucalyptus* en dos grupos:

a) fáciles de propagar por estacas: *E. grandis*, *E. pilularis*, *E. saligna*, *E. brassiana*, *E. microcorys*, *E. tereticornis*, *E. urophylla*, *E. resinifera*, *E. robusta*, *E. alba*, *E. torelliana*, *E. acmenioides*, *E. deglupta*, y muchos híbridos.

b) difíciles de propagar por estacas: *E. citriodora*, *E. maculata*, *E. propinqua*, *E. cloeziana*.

Según Campinhos (1987), en Aracruz Florestal S.A. (Brazil), se testearon algunas especies de *Eucalyptus* para determinar su capacidad de enraizamiento, y se obtuvieron los siguientes resultados:

-resultado positivo: *E. pilularis*, *E. brassiana*, *E. microcorys*, *E. pellita*, *E. tereticornis*, *E. urophylla*, *E. resinifera*, *E. robusta*, *E. alba*, *E. grandis*, *E. torelliana*, *E. acmenioides*, *E. saligna* y *E. deglupta*.

Híbridos: *E. torelliana* x *E. citriodora*, *E. grandis* x *E. urophylla*.

-resultado negativo: *E. propinqua*, *E. cloeziana*, *E. maculata* y *E. citriodora*.

2.3.1.2 Clon utilizado.

La historia de la propagación de *Eucalyptus*, muestra claramente la técnica de producción de estacas extendiéndose de especies de fácil enraizamiento (*E.deglupta*, *E.tereticornis*, *E.camaldulensis*, *E.grandis*, *E.gunnii*), a especies difíciles de enraizar (*E.globulus*), en base a la selección de clones con alta capacidad de enraizamiento (Chaperon, 1987).

La influencia del tipo de clon seleccionado dentro de una misma especie de *Eucalyptus* para el enraizado de estacas es muy importante como se observó en diferentes citas bibliográficas.

Según Chaperon (1987), el porcentaje de enraizamiento en el Congo (C.T.F.T.) ha aumentado de 61% en 1976 a más de 90% en 1986 por mejoramiento de la técnica y por selección de clones.

El mismo autor cita que en Portugal (CELBI), el porcentaje promedio de enraizamiento con *Eucalyptus globulus* es 50% (el cual es muy buen porcentaje para esta especie), pero la selección de los mejores clones en capacidad de enraizado puede aumentar este porcentaje a 90%.

2.3.1.3 Edad fisiológica del árbol donador.

La juvenilidad del material a propagar es una característica fundamental para conseguir un enraizamiento exitoso. El material que presenta un avanzado estado de maduración normalmente no enraiza o lo hace en baja proporción (Gutiérrez, 1995).

Según Franclet (1979): "existe una pérdida progresiva de la aptitud para la propagación vegetativa con la edad". Los tejidos fisiológicamente maduros tienen un menor porcentaje de enraizamiento, tardan más en iniciar el desarrollo de las raíces y originan un menor número de raíces que el material juvenil (Zobel et al, 1992).

Ya es un hecho probado que las estaquillas confeccionadas con brotes regulares de árboles de edad superior a 4 o 5 años difícilmente forman raíz (Durand-Cresswell et al, 1985).

"Aún con la utilización de sustancias promotoras, no ha sido posible obtener resultados satisfactorios con estacas provenientes de árboles adultos de *Eucalyptus*" (Poggiani y Suiter, 1974, cit. por Arca, 1981).

Según Paton et al (1970) cit. por Arca (1981), el *Eucalyptus* adulto produciría una sustancia que inhibe la emisión de raíces por parte de las estacas y su capacidad de enraizamiento estaría restringida apenas a un corto período de edad juvenil.

El efecto del envejecimiento sobre el enraizamiento de estacas no se presenta sólo en el porcentaje de arraigamiento; normalmente las estacas obtenidas desde la copa de árboles adultos desarrollan raíces de peor calidad, requieren más tiempo para enraizar, reducen su crecimiento y vigor vegetativo, aumenta el plagiotropismo y se incrementa el tiempo requerido para que un brote recupere el crecimiento ortotrópico (Kleinschmit, 1977; Rauter, 1983; Roulund y Olesen, 1992; Thompson, 1983, cit. por Gutiérrez, 1995).

Individuos genéticamente idénticos, a menudo crecen en forma distinta dependiendo de la posición que ocupaban en la planta madre (topófisis) y de la edad de ésta al tomar el propágulo (ciclófisis) (Zobel y Talbert, 1992). Esta variación dentro del clon aumenta con la edad del ortet del que proviene, y aumenta también en la medida que se acentúa la diferenciación entre órganos, tejidos y células en el rameto (Franclet, 1979, cit. por Gutiérrez, 1995).

Cuando los posibles árboles padres poseen la edad suficiente como para poder ser seleccionados de acuerdo a la característica a mejorar o perpetuar, normalmente ya han perdido su capacidad de enraizamiento (Hartney, 1980), lo que resulta un obstáculo cuando lo que se busca es propagar árboles con genotipos probadamente superiores (Zobel y Talbert, 1992) y obliga a aplicar técnicas de rejuvenecimiento, que demandan un gasto adicional de tiempo y recursos, antes de iniciar la producción y enraizamiento de los propágulos (Ipinza et al, 1994).

2.3.1.3.1 Técnicas de rejuvenecimiento.

Las dificultades asociadas a la propagación de árboles adultos hacen necesario recurrir a las técnicas de rejuvenecimiento como una medida intermedia para poder aplicar el estaquillado en forma operativa y funcional. Se han desarrollado varios métodos para retardar, al menos parcialmente, la maduración y ocasionalmente inducir rejuvenecimiento. En el caso de los *Eucalyptus*, el rejuvenecimiento es fácil de obtener al cortar los árboles pues los retoños que se desarrollan desde el tocón exhiben características juveniles, incluyendo una aceptable capacidad de enraizar (Zobel et al, 1983; McComb y Bennett, 1986). Esta característica de los *Eucalyptus* favorece la formación de setos a partir de retoños enraizados, permitiendo la obtención de plantas madres que generan estacas con una capacidad de enraizamiento superior a la de los brotes de tocón y que constituyen el elemento fundamental de los programas operativos de producción de plantas por enraizamiento de estacas implementados en España y

Portugal con *Eucalyptus globulus* (Gutiérrez, 1995).

Hartney (1980), afirma que la capacidad de enraizar se puede conservar, retardando la maduración del árbol madre mediante podas intensas que eviten su crecimiento en altura y lo transformen en un seto. El mismo autor indica que setos derivados de estacas enraizadas de *Eucalyptus grandis* han proporcionado material para nuevas estacas por más de 7 años, sin que decline la capacidad de enraizar.

La propagación sucesiva también permite lograr grados crecientes de rejuvenecimiento. Así al aplicar injertos en forma iterativa se logra una ganancia en la recuperación de características juveniles, por cada vez que se injerta. Efectivamente, Franclet (1983), determinó que después del tercer injerto sucesivo, a intervalos de dos o tres meses, los clones de *Eucalyptus camaldulensis* de 83 años, recuperaron las características juveniles (Gutiérrez, 1995).

Las estacas enraizadas, producidas desde retoños de tocón o brotes de una púa injertada, pueden usarse como fuente de material para nuevas estacas, lo que mejora los porcentajes de arraigamiento (Heth et al, 1986). La capacidad de enraizamiento de las estacas aumenta de generación en generación. Lo anterior se puede ilustrar con los trabajos de Franclet (1983), donde trabajando en propagación por estacas, provenientes de retoño de tocón del híbrido *Eucalyptus tereticornis x Eucalyptus camaldulensis* de 40 años de edad, se obtuvo como mejor enraizamiento un 8%, pero en un segundo ensayo, tomando el material desde las estacas enraizadas en la fase anterior el porcentaje de enraizamiento llegó hasta un 65% (Gutiérrez, 1995).

La técnica de micropropagación se usa en algunos programas operativos de producción de estacas para rejuvenecer el material y generar plantas madres más reactivas y apropiadas para la propagación masiva por enraizamiento de estacas (Gomes y Coucelo, 1992).

2.3.1.4 Condición de la estaca.

Según el grado de lignificación, las estacas se pueden definir como lignificadas, semilignificadas y sin lignificar o de madera dura, semidura o blanda (Koenig y Melchior, 1978).

Los trabajos realizados por Martín y Quillet (1979), demostraron que el empleo de estacas leñosas no es aconsejable, debido al bajo porcentaje de enraizamiento (15 a 20% en las mejores condiciones), lento desarrollo de yemas axilares y un sistema radicular superficial, rasante. De estos trabajos se concluyó que la mejor zona para la obtención de estacas corresponde al tercio superior del rebrote, exceptuando el extremo

del mismo (Arca, 1981).

Ikemori (1976) cit. por Arca (1981) de acuerdo con los resultados de los ensayos realizados establece que los rebrotes adecuados para la obtención de estacas de *Eucalyptus grandis* y *Eucalyptus urophylla* son de 30 a 50 cm de altura, ni herbáceas ni leñosas. El extremo superior del rebrote es herbáceo y no produce buenas estacas, pues se curvan en el ápice y son susceptibles a la pudrición de la base y caída de las hojas.

Con referencia al desarrollo de las raíces, es de destacar que en las estacas lignificadas se produce en primera instancia una emisión de hojas a partir de las reservas acumuladas en la porción de tallo, en tanto que la formación de raíces se produce en una segunda etapa, cuando la fotosíntesis es suficiente. En las estacas herbáceas ocurre el fenómeno inverso, las reservas son prácticamente inexistentes y son reemplazadas por la nebulización, que aporta los productos minerales y sobre todo mantiene las hojas vivas, que permiten una fotosíntesis continua. Las raíces se forman en primer lugar, y la parte aérea, por desarrollo de yemas axilares, se forma luego del enraizamiento (Martín y Quillet, 1973 cit. por Arca, 1981).

2.3.1.5 Reservas y cofactores del enraizamiento.

La iniciación de raíces en las estacas requiere de energía. Considerando que las sustancias lipídicas normalmente no son abundantes en los tallos, la degradación de carbohidratos se constituye probablemente en la única fuente de energía en la estaca para activar el proceso rizogénico, señalándose que el almidón, cuando está presente, actúa como la fuente principal, y posiblemente única, de energía para la iniciación y desarrollo del primordio radical (Puri y Khara, 1992 cit. por Gutiérrez, 1995).

Aún así, las aplicaciones artificiales de estos compuestos no son capaces de reemplazar a la presencia de hojas en estacas de *Eucalyptus camaldulensis*, como condición esencial para que el enraizamiento se produzca (Hartney, 1980). Efectivamente, Geary y Harding (1984) trabajando con estacas de esta misma especie, concluyen que la remoción del 100% de las hojas de la estaca impide el enraizamiento, mientras que una remoción parcial del 50 al 75% lo estimula (Gutiérrez, 1995).

La importancia de las hojas tiene relación con el aporte de fotosintatos a la raíz, pues el 75% de ellos proviene del follaje original de la estaca (Rauter, 1983, cit. por Gutiérrez, 1995).

Indudablemente los carbohidratos traslocados desde las hojas contribuyen a la formación de las raíces adventicias, pero este efecto puede deberse a factores más directos, especialmente si se considera que las hojas y yemas son grandes productoras de auxina (Hartmann y Kester, 1976).

La capacidad de enraizamiento de las estacas también ha sido positivamente correlacionada con la cantidad de antocianinas formadas en las hojas de estacas de *Eucalyptus camaldulensis*, señalándose que tratamientos en base a sucrosa y riboflavina (un precursor de la antocianina) estimulan el enraizamiento (Hartney, 1980).

Según el mismo autor, las leucoantocianinas también tienen cierta relación con la respuesta rizogénica. Ellas están asociadas a áreas de crecimiento activo en los *Eucalyptus*, presentando una alta concentración en las hojas jóvenes durante el crecimiento primaveral, así como en el tejido cambial en división activa.

2.3.1.6 Condiciones ambientales de producción.

El éxito de una propagación por estacas depende de las condiciones inherentes a las mismas y de las condiciones ambientales durante la formación de las raíces (Koenig y Melchior, 1978 cit. por Arca, 1981).

Las condiciones esenciales para el éxito en el enraizamiento de estacas con hojas son: una temperatura de 18°C a 24°C, una atmósfera muy húmeda, amplia provisión de luz y un medio de enraíce limpio, húmedo, bien aireado y bien drenado (Hartmann y Kester, 1976).

La humedad relativa del aire, se menciona como uno de los factores más decisivos para el enraizado de estacas (Koenig y Melchior, 1978). Para mantener las estacas sin marchitarse hasta que se produzcan raíces hay que lograr mantener la humedad relativa del aire alrededor de las estacas a un nivel elevado (Hartmann y Kester, 1976) ; se debe mantener alrededor del 80%, siempre constante durante todo el período de enraizamiento (Goncalves y Bertoloti, 1980), (Arca, 1981).

Aunque la presencia de hojas en las estacas es un fuerte estímulo para la iniciación de las raíces, la pérdida de agua a través de ellas puede reducir el contenido de agua de las estacas hasta un nivel tan bajo que ocasione su muerte antes que se formen las raíces. Una forma de controlar la humedad, es la práctica de hacer enraizar estacas con hojas bajo aspersiones de neblina de agua. Estas aspersiones producen sobre las hojas una película de agua la cual baja la temperatura de las mismas, reduce su transpiración y en muchas especies produce mejor enraizamiento (Hartmann y Kester, 1976).

Según Martín y Quillet (1973) cit. por Arca (1981), el contenido de humedad en torno a las estacas debe ser del 100% con el fin de reducir al máximo las pérdidas por evapotranspiración lo que se logra mediante un sistema de nebulización artificial.

La utilización de lloviznas o nebulizaciones intermitentes, que mantengan constantemente humedecida la superficie de las hojas, son esenciales para un enraizamiento exitoso (Chaperon, 1983; Poggiani y Suiter, 1974 cit. por Ipinza y Gutiérrez, 1992).

Según Goncalves y Bertoloti (1980) cit. por Arca (1981), la temperatura tiene una importante función reguladora sobre el metabolismo de las estacas. Esta debe ser de tal forma en la base de las estacas, que determine condiciones para que haya inducción, desarrollo y crecimiento de las raíces como también para el mantenimiento y sobrevivencia de las hojas, yemas y brotes. La fluctuación de la temperatura es perjudicial para la sobrevivencia de las estacas y consecuentemente para su enraizamiento. En las condiciones tropicales y subtropicales la temperatura del ambiente debe variar de 25 a 35°C, y en el sustrato de 21 a 26°C.

La propagación en invernáculos requiere la regulación de la temperatura óptima (sistemas de calentamiento o de enfriado) y control de la humedad. Las condiciones climáticas ideales son: una temperatura de aire entre 20°C y 28°C, y una temperatura de sustrato entre 25°C y 30°C (Chaperon, 1987).

Según Rauter (1983) cit. por Ipinza y Gutiérrez (1992), existe consenso entre múltiples autores en que las condiciones propicias deben considerar una alta humedad relativa del aire que rodea a los esquejes y condiciones cálidas en la base de éstos. Este gradiente de temperatura permite mayor actividad en la base y minimiza la transpiración y estrés hídrico en la parte superior de la estaquilla.

Según Martín y Quillet (1973) cit. por Arca (1981), la luz es un factor primordial. Se deberá asegurar a las estacas el máximo de iluminación a fin de favorecer la fotosíntesis. No obstante es necesario evitar los golpes de sol que son muy perjudiciales. El mismo autor señala que es importante asegurar una buena ventilación natural para permitir una oxigenación adecuada, así como también mantener el medio lo más estéril posible para evitar ataques de origen fúngico.

2.3.1.7 Tratamientos hormonales.

Las raíces adventicias de las estaquillas se forman como resultado de la estimulación auxínica y de otros factores que emigran a dicha zona. Se ha confirmado que las auxinas solo aumentan una potencialidad ya existente en las especies que enraízan sin dificultad, enfatizando el desarrollo de primordios previamente formados (Pardos, 1985, cit. por Gutiérrez, 1995).

Hay variedad de compuestos químicos sintéticos, incluyendo el ácido indolacético (AIA), que tienen actividad auxínica y han sido aislados o se ha demostrado su presencia en los tejidos vegetales. Otros compuestos químicos tienen también actividad auxínica pero no han sido aislados de tejidos vegetales, entre los que se cuentan el ácido naftalenacético (ANA), el ácido indol-butírico (AIB) y el ácido 2-4-diclorofenoxiacético (Hartmann y Kester, 1976).

En el caso de los *Eucalyptus* se pueden obtener altas tasas de enraizamiento tratando las estacas con AIB o ANA (Ye, 1984; Jagadesh y Adkoli, 1987 cit. por Ipinza y Gutiérrez, 1992).

El AIB tiene una actividad auxínica débil y los sistemas de enzimas destructores de auxinas, lo destruyen en forma relativamente lenta. Se retiene cerca del sitio de aplicación debido a que se desplaza muy poco (Weaver, 1976). Su molécula atraviesa menos rápidamente los diferentes tejidos de la planta y por eso permanece más tiempo en el punto de aplicación. Su aplicación es más localizada (Beauchesne, 1973).

El ANA tiene las mismas características que el AIB, no obstante es de un empleo más delicado, porque el margen entre el umbral de su actividad y el umbral de su toxicidad es muy pequeño; para concentraciones iguales es más activo que el AIB, pero es mucho más fitotóxico (Beauchesne, 1973).

De entre ellos el regulador que generalmente se utiliza en *Eucalyptus* es el AIB, diluido y aplicado con polvo talco (Zobel et al, 1983; Camphinos e Ikemori, 1983; González et al, 1987; Gurumurti et al, 1988; Aguirre y Arce, 1988 cit. por Ipinza y Gutiérrez, 1992), a una concentración de 0.3% a 1%, estando las concentraciones más comunes entre 0.6 y 0.8% (Chaperon, 1987).

También es frecuente remojar las estaquillas de *Eucalyptus* en soluciones líquidas de AIB, en concentraciones de 100 a 200 ppm por 24 horas (Poggiani y Suiter, 1974; Francllet, 1983 cit. por Ipinza y Gutiérrez, 1992).

A partir de estacas obtenidas de rebrotes de cepas de *Eucalyptus grandis* de seis años de edad; estacas de aproximadamente 15 cm. de largo con un par de hojas, previamente remojadas en fungicida y tratadas con una solución de 200 ppm de AIB durante 24 horas, Poggiani y Suiter (1974) cit. por Arca (1981), obtuvieron el mayor porcentaje de enraizamiento de todos los tratamientos realizados.

Bachelard y Stowe (1963) cit. por Rojas et al (1987), probaron diferentes auxinas en estacas de *Eucalyptus camaldulensis* en medio líquido y obtuvieron los mejores resultados con AIB, en solución de 1.0 mg./lt. En medio sólido, en cambio, esta hormona es comúnmente usada en diferentes especies de *Eucalyptus*, en concentraciones que oscilan las 500 a 8000 ppm (Celbi, 1982; Max de Borba y Brune, 1983; Campinhos e Ikemori, 1983, cit. por Rojas et al, 1987).

Según Campinhos e Ikemori (1983), se han conseguido propagar estacas de *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus saligna* y *Eucalyptus urophylla* con 8000 ppm. de AIB, mientras que en *Eucalyptus globulus* sólo 500 ppm de AIB fueron necesarias para conseguir porcentajes de arraigamiento superiores al 70% (Rojas, 1987).

El *Eucalyptus camaldulensis* se ha descrito como una especie muy plástica, puesto que se ha inducido neoformación de raíces con concentraciones de 800 a 3000 ppm de AIB (Cauvin, 1981; Geary y Harding, 1984 cit. por Rojas et al, 1987). Los mismos autores, confirman lo anteriormente dicho y citan concentraciones de entre 2000 y 8000 ppm de AIB para el arraigamiento del mismo.

El tratamiento de la superficie basal de las estacas con fitohormonas no sólo puede acelerar la formación de raíces, sino reducir adicionalmente la pudrición de las estacas antes y durante la formación de las mismas (Koenig y Melchior, 1978 cit. por Arca, 1981).

Las concentraciones de reguladores del crecimiento inmediatamente inferiores al punto tóxico, resultan óptimas en la promoción del enraizamiento. Las concentraciones demasiado fuertes pueden inhibir el desarrollo de yemas o provocar el amarillamiento o caída de las hojas, o bien incluso la muerte de la estaca (Weaver, 1976).

En cuanto a los métodos de aplicación de las auxinas se citan el método de espolvoreado, el método de remojo prolongado y el método de inmersión rápida (Beauchesne, 1973; Weaver, 1976; Hartmann y Kester, 1976).

En el método de espolvoreado, la base de la estaca se trata con una hormona de crecimiento mezclada con un portador (un polvo fino, inerte que puede ser arcilla o talco). Se deben hacer cortes frescos en la base de la estaca poco antes de que se sumerjan en el polvo para facilitar su absorción (Weaver, 1976).

La pulgada basal de las estacas se humedece luego en agua y se revuelca en el polvo. Debe retirarse de las estacas todo exceso de polvo a fin de impedir los efectos tóxicos posibles, se espera que el polvo que se adhiere a las estacas luego de haberlas sacudido, sea suficiente para producir el efecto deseado. A continuación las estacas se plantan inmediatamente, teniendo cuidado de no eliminar por frotación la capa delgada del polvo adherido (a ese fin, puede utilizarse un cuchillo grueso para hacer una zanja en el medio de enraizamiento, antes de insertar las estacas) (Hartmann y Kester, 1976).

En el método de remojo prolongado se prepara una solución madre concentrada de auxinas, con etanol al 95%, y luego se diluye en agua para obtener la dosis deseada (Beauchesne, 1973).

La pulgada basal de las estacas se remoja en la solución durante 24 horas en un lugar sombreado y a la temperatura ambiente, colocándolas inmediatamente en el medio de enraizamiento. Las concentraciones usadas varían de 20 ppm para especies de fácil enraizamiento a cerca de 200 ppm para especies de difícil enraizamiento. Las estacas deberán mantenerse en una atmósfera húmeda durante el período de remojo, de modo que se obtenga una absorción más lenta pero continua (Weaver, 1976).

En el método de inmersión rápida los extremos basales de las estacas se sumergen aproximadamente durante 5 segundos en una solución concentrada (500 a 10000 ppm) del producto químico en alcohol, y luego se insertan éstas de inmediato en el medio de enraizamiento (Hartmann y Kester, 1976).

2.3.1.8 Medios de enraizamiento.

Las estacas de muchas plantas enraízan con tal facilidad que hay poca diferencia en qué medio de enraizamiento se utilice. En plantas de enraizamiento más difícil, como es el caso de las especies de *Eucalyptus*, el medio de enraizamiento puede influir considerablemente, no sólo en el porcentaje de estacas que enraízan, sino también en el tipo de sistema radical que se forme. El sustrato tiene tres funciones principales: (1) sostener la estaca en su lugar durante el período de enraizamiento, (2) proporcionar humedad a las estacas y (3) proporcionar aire a la base de la estaca (Hartmann y Kester, 1976).

Un medio de enraizamiento ideal es aquel que tenga suficiente porosidad para permitir una buena aireación y una capacidad elevada de retención del agua, pero al mismo tiempo que tenga buen drenaje (Hartmann y Kester, 1976).

Según Martín y Quillet (1973), cit. por Arca (1981), el sustrato debe tener una alta capacidad de drenaje, no teniendo efecto alguno el enriquecimiento mineral del mismo.

Según Chaperon (1987), el medio de enraizamiento debe permitir un buen sostén, buen drenaje y aireación y en lo posible una buena capacidad de absorción de los nutrientes.

El enraizamiento de las estacas es influenciado por el tipo de medio de propagación usado. La estructura física de los materiales puede afectar el microambiente alrededor de la base de la estaca, particularmente con respecto a los contenidos de aire y humedad; es conocida la influencia de ambos factores en la formación de raíces en las estacas (Hartmann y Kester, 1975; Loach, 1988, cit. por Carter y Slee, 1991).

Estacas de especies de *Eucalyptus* fueron reportadas teniendo exitosos enraizamientos en un rango de medios incluyendo turba, arena, vermiculita, rock wool, mantillo, y mezclas de algunos de ellos (Chaperon, 1983; cit. por Carter y Slee, 1991).

El sustrato más común usado en especies de *Eucalyptus* es la vermiculita (Brasil, Congo, Argentina, Sudáfrica), pero algunas organizaciones están usando la combinación de turba y "styrofoam" (1:1; Portugal), turba y perlita (1:1; España), perlita (Italia), y corteza pura de pino (Francia). El medio de enraizamiento puede ser fertilizado con fertilizante de liberación lenta (Francia, España, Congo) (Chaperon, 1987).

Según Loach(1985), cit. por Maile y Nieuwenhuis(1996), la influencia de los medios de crecimiento en el enraizado puede ser sustancial, pero el mejor medio difiere entre especies .

2.3.2 Condiciones generales favorables para el enraizamiento.

Arca (1981), utilizando estacas de *Eucalyptus grandis* y *Eucalyptus globulus*, llegó las siguientes conclusiones:

- la mezcla de arena media, arena gruesa y tierra en relación 5-1-0.5, es más favorable que el empleo de diferentes mezclas de perlita y arena, ya que constituye un mejor medio de sostén para las estacas, permite un contacto estaca-sustrato mayor y en general es suficientemente adecuado para el enraizamiento. La calefacción del sustrato, manteniendo la temperatura entre 21 y 26°C, favorece la emisión radicular y permite acelerar el proceso.
- en *Eucalyptus grandis* el empleo de dosis de 100 y 200 ppm de AIB durante 24 horas dan los mejores resultados pero presentan dificultades para su aplicación. También se concluyó que dosis de 5000 ppm en etanol durante 15 segundos dan también buenos resultados, constituyendo un tratamiento de más fácil aplicación.

Rojas et al (1987), trabajando con estacas de *Eucalyptus camaldulensis*, concluyeron que:

- existen diferencias altamente significativas en la capacidad de enraizamiento según el árbol de donde se colecten las estacas (se utilizaron 3 árboles de diferentes procedencias).
- no existen diferencias significativas en la concentración de la hormona (AIB : 2000, 5000 y 8000 ppm) ni en el sustrato utilizado (vermiculita, vermiculita y turba 1:1 v/v), ni en las interacciones de los factores, cuando se considera el enraizamiento.

Carter y Slee (1991), usando estacas de *Eucalyptus grandis* evaluaron cuatro sustratos diferentes en relación a las características físicas de los mismos (contenidos de aire y humedad), llegando a las siguientes conclusiones:

- el enraizamiento de las estacas fue influenciado por el medio usado, y el mejor enraizamiento (83%), fue observado en la mezcla de turba, perlita y arena (1:1:1 v/v);
- estacas en turba enraizaron mejor (40%) que aquellas puestas en perlita (25%) o arena (20%);
- altos contenidos de humedad pueden ser más importantes que altos contenidos de aire para una máxima formación de raíces en las estacas;

- posiblemente otros medios con características físicas similares a la mezcla, podrían ser adecuados y ellos podrían prepararse usando materiales como corteza, aserrín, cáscara de arroz o vermiculita, proporcionando un producto final con adecuado contenido de agua;
- para estacas de *Eucalyptus* el medio de propagación debería tener un contenido de agua mínimo del 50%.

Según Carpineti (1996), en los ensayos de macropropagación del INTA (Concordia), utilizando tubetes plásticos de 200 cm³ de volumen, corteza molida de pino y turba (1:1 v/v) e introduciendo los extremos de cada estaca en soluciones de polvo de talco con las hormonas AIB : 6000 ppm y AIB: 6000 ppm + ANA: 2000 ppm, se obtuvieron con *Eucalyptus grandis*, porcentajes de enraizamiento variables, alcanzando 81% en el mejor clon y superando el 60% (límite para uso comercial) en los 6 mejores clones.

Maile y Nieuwenhuis (1996), enraizaron estacas de *Eucalyptus nitens* en cuatro tipos de sustratos, utilizando dos tratamientos hormonales (no inmersión, e inmersión en polvo de 0.8% de AIB), llegando a las siguientes conclusiones :

- el enraizamiento de las estacas, no fue influenciado efectivamente por la aplicación de AIB;
- el mejor enraizamiento fue obtenido con la mezcla de turba, arena y vermiculita (67%), seguido por la vermiculita pura (50%);
- el aumento del enraizamiento observado con vermiculita puede ser debido a la buena aireación del medio, que favorece a la formación radicular;
- la turba pura, no puede ser recomendada por su escasa capacidad de drenaje.

3. MATERIALES Y METODOS.

3.1 LOCALIZACION Y CONDICIONES AMBIENTALES DEL ENSAYO.

El ensayo fue realizado en el invernáculo del Programa Nacional Forestal (Estación Experimental del Norte, INIA- Tacuarembó, Ruta 5, km 386), el cual presenta las siguientes características:

-estructura: aluminio prefabricado; ventanas y techo de vidrio; suelo de portland con recubrimiento de balasto; tres mesadas de aluminio y madera con tejido de alambre.

-medidas: 15,75 m de largo, 4,5 m de ancho y 3,6 m de alto.

-ventilación: ventanas laterales de apertura manual y ventanas de techo de apertura automática y manual.

-sombra: dos cortinas por debajo del techo de apertura automática y manual.

-temperatura: posee sólo calefacción no refrigeración, la calefacción funciona en base a aire caliente suministrado por una estufa con ventilador que funciona a queroseno.

-humedad: no posee control de humedad. La misma se mantiene en general cerca del 100% por niebla (mist).

-riego: es automático, funciona con un timer cuya frecuencia máxima es cada 5 minutos, con un rango de tiempo de riego de 0 a 60 segundos. Posee en total 41 aspersores con un caudal de 0,3 litros de agua por minuto cada uno. El agua es almacenada en un tanque de 1000 litros que tiene una bomba EBARA con las siguientes características: presión - 2,5 kg/cm² , 200 V y 750 W.

Durante el ensayo, las estacas fueron mantenidas en el invernáculo, bajo las siguientes condiciones ambientales :

a) humedad relativa.

La superficie de las hojas se mantuvo humedecida mediante aspersiones de agua, realizadas en forma automática, a intervalos de 30 minutos por 1 minuto de duración. Esto permitió lograr una humedad relativa dentro del invernáculo de 100%.

b) temperatura del aire.

La temperatura del aire fue registrada tanto en el interior del invernáculo como en el exterior del mismo.

En el interior, se registró la temperatura diariamente con un termohigrógrafo. La temperatura del aire promedio para el período de experimentación fue de 24 °c.

En el exterior, la temperatura fue registrada diariamente en una casilla meteorológica. (Anexo 1)

3.2 PERIODO DE EXPERIMENTACION.

El ensayo fue instalado entre el día 10 y el día 12 de Diciembre de 1997, según se detalla en el siguiente cuadro:

Cuadro N° 2. Fecha de plantación por clon .

Clon	Fecha de Plantación
VS8	10/12/97
U2	11/12/97
VS13	12/12/97

Fuente : Elaboración propia.

La duración del ensayo fue de 55 días (aproximadamente 8 semanas). La evaluación de los parámetros comenzó el día 2 y se extendió hasta el día 4 de febrero de 1998 inclusive. Lo ideal hubiera sido la instalación de todo el ensayo en una misma fecha, pero por razones operativas esto no fue posible.

Otro punto importante a mencionar es el atraso en la fecha de instalación del ensayo, que se debió a la ocurrencia de heladas en el mes de setiembre, lo que provocó muerte de rebrotes y postergó la colecta al mes de diciembre.

3.3 MATERIAL VEGETAL.

Se trabajó con rebrotes de cepas de tres clones de *Eucalyptus grandis*, los cuales fueron colectados del banco clonal de la Unidad Experimental “La Magnolia” (Anexo 2).

Los clones usados fueron: **VS8** (Villasboas-Durazno), **VS13** (Villasboas-Durazno) y el **U2** (UTE-Rincón del Bonete). Estos son parte de un conjunto de clones reproducidos “in vitro” a partir de árboles plus seleccionados en todo el país, según las siguientes características : altura total, altura de copa, diámetro de copa, rectitud de fuste, espiralamiento del fuste, desrame natural y ángulo de inserción de las ramas. Además, cabe subrayar que estos son los mejores de un conjunto de clones que fueron rankeados por capacidad de enraizamiento “in vitro”, superando el 50 % de enaizamiento.

3.3.1 Manejo del Banco Clonal.

El banco clonal de *Eucalyptus grandis* de la Unidad Experimental “La Magnolia”, está integrado por 13 clones; tiene una superficie de 0,5 ha y está dividido en 4 bloques (con un espaciamiento entre ellos de 8 m), que a su vez se dividen en 9 parcelas cada uno. Los clones se distribuyen en parcelas con 8 individuos cada una (con un espaciamiento entre individuos de 4 m), existiendo 4 repeticiones, una por cada bloque (Anexo 2).

El manejo silvícola realizado en el banco clonal consistió en:

- 1) limpieza de malezas 2 veces al año, al principio manuales alrededor de los clones y luego mecánicas en la entrefila por la agresividad de las malezas.
- 2) apeo de los árboles (primavera, 1996), dejando cepas para posterior manejo de rebrotes, con una altura de 10 a 15 cm (Anexo 13 - Foto N° 1).
- 3) fertilización alrededor de las cepas con 100 gr de triple 15 (28/8/97 y 29/8/97).
- 4) control permanente de hormigas con Folimur en polvo.

Como medida complementaria de emergencia, luego de la ocurrencia de fuertes heladas, el 12/8/97 se realizó un manejo de rebrotes consistente en una tala rasa o en el mantenimiento de 2 a 3 rebrotes, según la intensidad de los daños. Este fue un evento no esperado que comprometió la fecha prevista para la instalación del ensayo.

3.3.2 Colecta y acondicionamiento del material.

Del banco clonal se colectó el material vegetal para el experimento. Este fue trasladado del campo al laboratorio, en bolsas de polietileno, debidamente mojado con una solución de Benlate a una concentración de 2g/l de agua destilada (acción fungicida) y adecuadamente apilado en conservadoras, que contenían un líquido refrigerante en contenedores de plástico, tomando todas las precauciones para evitar su lesión y marchitamiento.

3.3.3 Preparación de las estacas.

Una vez en el laboratorio, se extrajo el material vegetal de las conservadoras y se lavó con agua y detergente líquido.

Para la preparación de las estacas, se seleccionaron los rebrotes de buen desarrollo y adecuada pigmentación clorofílica, evitando aquellos demasiado herbáceos, muy lignificados o con ramificaciones axilares.

Las estacas se obtuvieron a partir del tercio medio de cada rebrote, descartando tanto la base (muy lignificada) como el ápice (demasiado herbáceo) del mismo. Las mismas se confeccionaron con una longitud de 10 a 12 cm, un par de hojas (las cuales fueron cortadas transversalmente por la mitad para evitar la transpiración excesiva y el sombreado de las estacas vecinas), y en lo posible con dos yemas.

El corte basal de las estacas fue oblicuo o en bisel (esto se realiza para aumentar la superficie de contacto de los tejidos con el sustrato y la hormona), mientras que el corte superior fue recto, para limitar la evapotranspiración y penetración de hongos.

La mitad de las estacas preparadas fueron sumergidas (los 2 cm basales) en una solución de un formulado comercial, durante aproximadamente 1 hora. Para ello se utilizaron 12 frascos, y se colocaron 10 estacas en cada uno.

A la mitad restante se le aplicó AIB en polvo al 1%, introduciendo la base de las estacas en un recipiente conteniendo el producto, y tomando la precaución de espolvorear sólo la superficie del corte.

3.3.4 Plantación.

Luego de preparadas, las estacas fueron plantadas, la mitad en tubetes y la otra mitad en bolsas. Los envases fueron llenados en forma manual con los sustratos correspondientes. Las bolsas fueron perforadas en la base para permitir el drenaje de agua con varios orificios de pequeño diámetro.

Una vez en el invernáculo, las estacas fueron selladas en su corte superior con una cera antitranspirante y antifúngica.

La mitad de las estacas, luego de plantadas fueron regadas con la solución del formulado comercial, utilizando la misma concentración ya usada para sumergirlas en etapas anteriores. Para ello se aplicaron 80 ml de la solución por planta, según recomendación del proveedor.

Desde el momento de instalación del ensayo hasta la remoción del mismo, se realizaron semanalmente, aplicaciones preventivas de Benlate a una concentración de 2 g/l de agua destilada.

El instrumental utilizado en la colecta, preparación y evaluación de las estacas se detalla en el Anexo 3.

3.4 CONTENEDORES.

Para el experimento se usaron dos tipos de envases:

a) Bolsas de polietileno.

- altura: 15 cm
- diámetro: 6.37 cm
- volumen: 385 cm³

b) Tubetes de plástico individuales.

- altura: 19 cm
- diámetro superior externo : 6,3 cm
- diámetro superior interno : 5 cm
- diámetro inferior externo : 1,5 cm
- diámetro inferior interno : 1,2 cm
- espesor : 2,5 mm
- volumen : 320 cm³

3.5 SUSTRATOS.

Para el llenado de los envases se utilizaron dos tipos de sustratos:

a) Vermiculita expandida.

Es un producto resultante de la expansión de la vermiculita cruda, al ser tratada a elevadas temperaturas (800 a 900 °C), lo que le confiere un elevado volumen de poros y gran capacidad de absorber líquidos (es capaz de absorber hasta 5 veces su peso en agua), así como una baja masa específica aparente (80-125 Kg/m³).

Es un mineral micáceo, químicamente inerte, estéril, incombustible e inodoro, y puede retener fertilizantes por su alta capacidad de intercambio catiónico. Químicamente es un silicato hidratado de Fe, Al y Mg.

b) Sustrato Plantmax.

Es un producto comercial elaborado con materia orgánica de origen vegetal compostada (corteza de pino, turba) y vermiculita expandida. Además, la mezcla contiene fertilizantes minerales conteniendo macro y micronutrientes.

El fabricante alega también, que el sustrato está exento de plagas, semillas de malezas e impurezas y que tiene una capacidad de retención de agua mínima de 200 % en masa.

El análisis químico del sustrato Plantmax Forestal fue realizado en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas y Aguas del I.N.I.A.- La Estanzuela, y la información obtenida de dicho análisis se presenta en el siguiente cuadro:

Cuadro N° 3. Composición Química del Sustrato Plantmax Forestal.

pH (H ₂ O)	C %	P (Resinas) ug P/g	K meq/100g	N %	Textura (%)		
					Arena	Limo	Arcilla
Rel. 1/10 5.4	11.64	1480	2.87	0.71	6	86	8

A continuación se presenta un cuadro comparativo de los dos sustratos usados.

Cuadro N° 4. Comparación de la Vermiculita y el Plantmax en base a sus características físicas y químicas.

SUSTRATO	Mea (Kg/m ³)	% Humedad	Ph (CaCl ₂)	Capacidad de retención de agua (%)
Vermiculita	85 +/- 8 %	7 +/- 2	7.0 +/- 1.4	400-500
Plantmax	410 +/- 8 %	45 +/- 5	6.0 +/- 0.5	200-300

Fuente : Eucatex Mineral Ltda.

3.6 FITOREGULADORES DEL ENRAIZAMIENTO.

Se utilizaron los siguientes fitoreguladores :

a) AIB.

- preparación comercial en base a talco y AIB (sobres de 10 g)
- concentración: 1%

b) Formulado comercial.

El Raizal 400 es una fórmula de uso comercial desarrollada para proveer de nutrientes y estimular el crecimiento de raíces de plantas jóvenes, permitiendo lograr un mejor brote de raíces y un crecimiento más rápido y vigoroso.

La composición porcentual de este producto se presenta en el cuadro N° 5.

Cuadro N° 5 . Composición porcentual del Raizal 400.

Componente	% en peso
Nitrógeno total	9,0 %
Fósforo disponible	45,0 %
Potasio	11,0 %
Magnesio	0,6 %
Azufre	0,8 %
Fitohormonas (auxinas)	400 ppm

Fuente : Grupo Bioquímico Mexicano, S.A. de C.V.

En el ensayo este producto se aplicó disuelto en agua destilada a una concentración de 10 g/l según recomendación del proveedor.

3.7 DISEÑO ESTADÍSTICO.

El diseño estadístico fue completamente al azar, con un arreglo factorial completo 3 x 2 x 2 x 2 (clon , envase, sustrato, fitoregulador), existiendo 24 tratamientos, con 30 repeticiones cada uno, lo que totaliza 720 estacas, 240 de cada clon.

Se seleccionaron estacas de cada clon de diámetros lo más homogéneos posible, las que se mezclaron, asignándose al azar cada tratamiento.

Para homogeneizar las condiciones de temperatura dentro del invernáculo, los tratamientos fueron distribuidos en 3 mesadas de igual altura, procurando mantener una equidistancia respecto a los aspersores, para evitar la variabilidad debida al riego y evitando también el efecto borde del invernáculo. Dado que se trata de un invernáculo de última tecnología, en el cual se comprobó que la variación de la temperatura dentro del mismo no es significativa, junto con las medidas mencionadas anteriormente, se logra asegurar la homogeneidad de las condiciones ambientales.

3.8 PARAMETROS EVALUADOS.

La medición de los parámetros se efectuó entre los días 2 y 4 de Febrero de 1998.

Los parámetros analizados estadísticamente fueron los siguientes:

- **porcentaje de sobrevivencia** : para cada tratamiento se contaron las estacas vivas (con o sin estructuras radiculares).
- **porcentaje de estacas con estructuras radiculares** : para cada tratamiento se contaron las estacas que presentaban alguna estructura radicular, ya sea callo, callo con primordios radiculares o raíces ya diferenciadas y se dividieron sobre el total de estacas (30).
- **porcentaje de callos** : para cada tratamiento se contaron las estacas que presentaron callos y se dividieron sobre el total de estacas que presentaron estructuras radiculares.
- **porcentaje de callos con inicio radicular** : para cada tratamiento se contaron las estacas que presentaron callos con inicio radicular y se dividieron sobre el total de estacas con estructuras radiculares.
- **porcentaje de raíces** : para cada tratamiento se contaron las estacas con raíces y se dividieron sobre el total de estacas con estructuras radiculares.
- **porcentaje de brotación** : para cada tratamiento se contó el número de estacas que emitieron brotes y se dividió sobre el total de estacas (30).
- **longitud de brotes (cm)** : para cada tratamiento se midió el largo total de los brotes generados por las estacas durante el experimento. Para los casos en que había más de un brote por estaca, el largo total fue el resultado de la suma de los largos parciales de cada brote. Luego, los datos obtenidos por estaca fueron sumados y divididos sobre el número de estacas que brotaron, obteniendo una longitud de brote promedio.
- **longitud radicular (cm)** : para la medición de este parámetro se procedió a :
 - 1- separación del sistema radicular de la parte aérea
 - 2- secado del mismo con papel secante
 - 3- extendido de las ramificaciones radiculares con pinza y pegado con cinta adhesiva en hojas previamente identificadas según tratamiento.
 - 4- fotocopiado de las hojas anteriormente descriptas
 - 5- medida del largo siguiendo el eje longitudinal del sistema radicular (desde la base de

la primera raíz hasta el ápice).

6- los datos obtenidos por estaca fueron sumados y divididos sobre el número de estacas con raíces, obteniendo una longitud radicular promedio.

Para el análisis estadístico de los datos se usó el programa SAS V.6.12. (SAS Institute, Inc. Cary, N.C. 1997). Para las variables con distribución continua se utilizó un modelo lineal, mientras que para las variables con distribución binomial se utilizó un modelo lineal generalizado.

Para las variables binomiales se utilizó como método de estimación del modelo el de máxima verosimilitud. Se hizo la transformación logit ($\log(p/(1-p))$) y se utilizó un modelo que incluye los efectos clon, sustrato, envase, hormona y todas sus interacciones (Anexo 4).

Para calcular los porcentajes promedio de los factores, en las variables con distribución binomial que poseen base 30 (porcentaje de sobrevivencia, porcentaje de estacas con estructuras radiculares, porcentaje de brotación) se trabajó con los porcentajes reales calculados directamente a partir de las planillas originales; y en las que tienen base menor a 30 (porcentaje de callos, porcentaje de callos con inicio radicular y porcentaje de raíces) se realizó un ajuste del modelo retransformando las medias.

Las variables continuas analizadas fueron: longitud radicular (cm) y longitud de brotes (cm). El modelo consideró los mismos efectos que para las variables binomiales. Se realizó análisis de varianza y pruebas de comparación de diferencia mínima significativa en el caso de encontrar efectos significativos.

Para todos los análisis estadísticos se consideraron efectos significativos cuando los valores de significancia fueron menores a 0.05.

4. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1 CONSIDERACIONES GENERALES.

Los significados de las abreviaturas utilizadas en este ítem, se detallan a continuación:

- Ve : vermiculita
- Pl : Plantmax
- Bo : bolsa
- Tu : tubete
- AIB : ácido indol-butírico
- Raiz : formulado comercial

En la evaluación de las estructuras radiculares, se consideraron como estacas con callo aquellas que presentaron una masa irregular de células en su extremo basal, estacas con callo con primordios radiculares, aquellas en las que del callo emergían primordios de raíces de cualquier largo, y estacas con raíces a aquellas que presentaron un sistema radicular completo (raíz principal y raíces secundarias) (Anexo 13 - Fotos N° 2, 3, 4).

El clon U2 fue descartado de los análisis estadísticos por presentar muy bajos índices de sobrevivencia (25%) y de estructuras radiculares (22.1%), los cuales estarían muy por debajo de los límites aceptados comercialmente para enraizamiento (60%). Sólo se lo cita en los resultados en los casos en que es conveniente su comparación con los otros clones. También es importante considerar que para este clon se usaron gran cantidad de estacas herbáceas, debido a la escasez de material disponible, dada por la muerte de rebrotes ocasionada por la ocurrencia de heladas.

En el Anexo se detallan, para cada parámetro, los efectos y las interacciones con sus respectivas significancias, las fórmulas utilizadas para realizar el análisis estadístico y los promedios de los factores no significativos al 0,05 (Anexos 4 - 12). También se observan en las fotos N° 5 y 6 del Anexo 13, estacas con brotes de diferentes longitudes.

4.2 SOBREVIVENCIA.

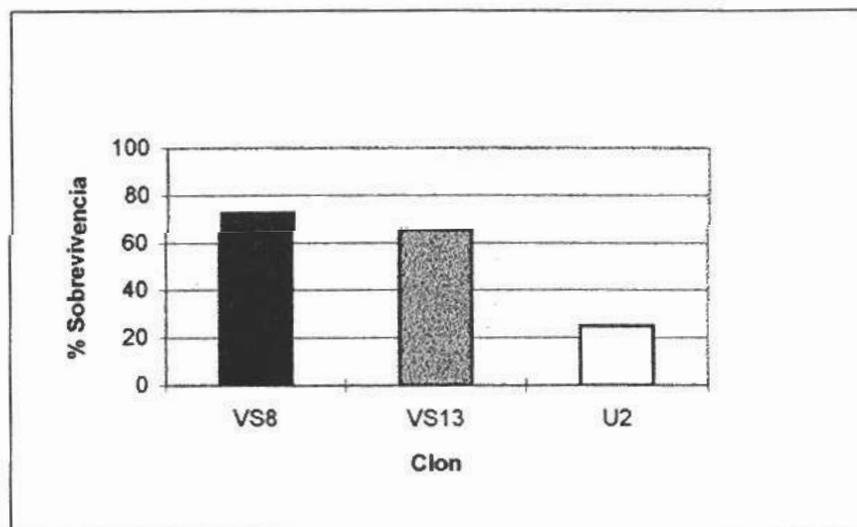
La sobrevivencia de las estacas presentó diferencias significativas en el clon, sustrato, envase y fitoregulador utilizados, así como en la interacción entre ellos. Los resultados correspondientes se presentan en los cuadros N° 6, 7, y 8, y se ilustran en los gráficos N° 1, 2, 3, 4, y 5.

Cuadro N° 6. Sobrevivencia de estacas, expresada en porcentaje, según clon, sustrato, envase y fitoregulador usado.

FACTOR	TIPO	% SOBREVIVENCIA
Clon	VS8	72.50 a
	VS13	65.42 b
	U2	25.00 c
Sustrato	Vermiculita	75,42 a
	Plantmax	62,50 b
Envase	Tubete	75.00 a
	Bolsa	62.92 b
Fitoregulador	Formulado comercial	69,58 a
	AIB	68,33 b

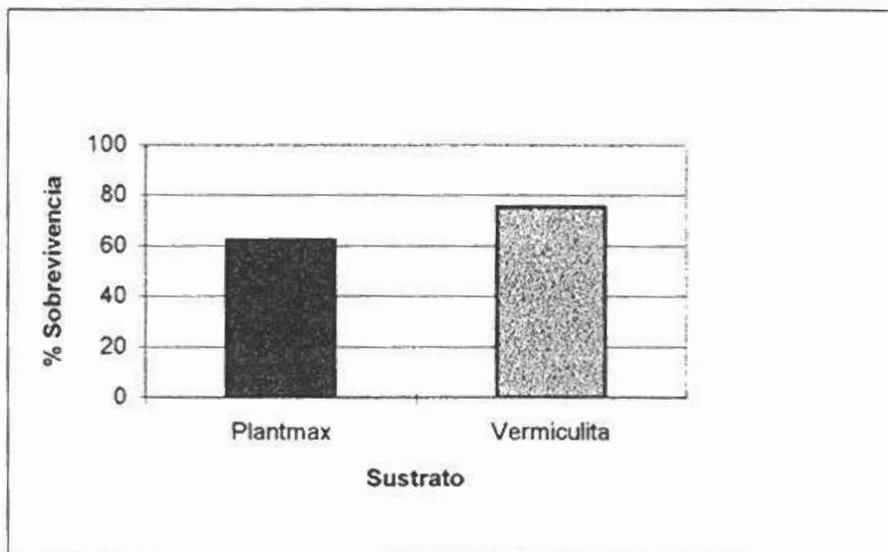
* letras diferentes son significativas al 0,05.

Gráfico N° 1. Porcentaje de sobrevivencia de estacas por clon utilizado.



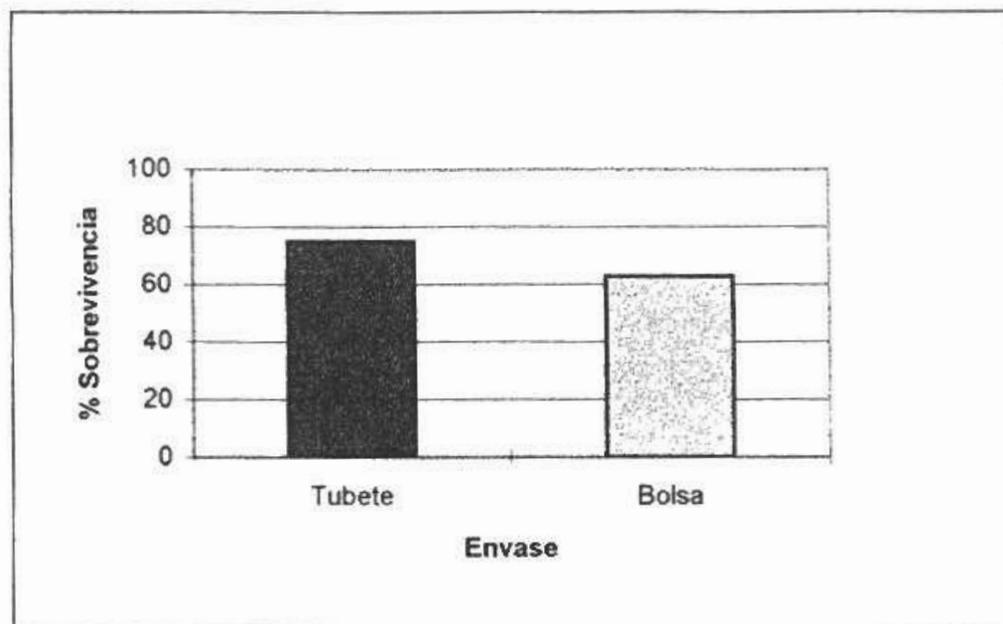
En cuanto al clon, se detectan diferencias significativas para los tres clones usados. Se observa que los clones VS8 y VS13 tienen altos porcentajes de sobrevivencia; esto era esperable ya que como se mencionó anteriormente, estos clones fueron reproducidos "in vitro" a partir de árboles plus y sobrepasaron el 50 % de sobrevivencia y enraizamiento. El clon U2, a pesar de haber sido seleccionado al igual que los otros presentó bajos índices de sobrevivencia, los cuales podrían ser explicados en gran parte, por la calidad del material utilizado (se usaron estacas herbáceas), ya que Ikemori (1976) cit. por Arca (1981) afirma que el material demasiado herbáceo no produce buenas estacas debido a que son susceptibles a la pudrición de la base y caída de las hojas.

Gráfico N° 2 . Porcentaje de sobrevivencia de estacas por sustrato utilizado.



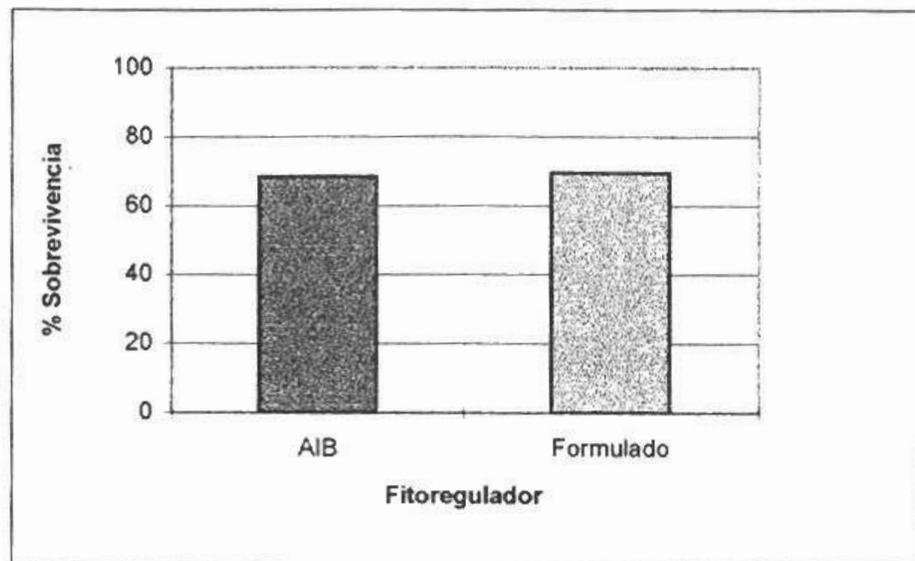
Con respecto al sustrato, el mayor porcentaje de sobrevivencia promedio obtenido con la vermiculita se debería a las características físicas de ésta, que aseguran una mayor retención de agua y un mayor espacio ocupado por macroporos, lo que posibilitaría una mayor aireación en la base de la estaca, y a su vez una mayor velocidad de drenaje (cuadro N° 4).

Gráfico N° 3 . Porcentaje de sobrevivencia de estacas por envase utilizado.



En cuanto al envase, se observa el mayor porcentaje de sobrevivencia promedio en el tubete; esto podría atribuirse a que este tipo de envase permite un drenaje adecuado y más rápido del agua en comparación con la bolsa, que drena en forma más lenta y mantiene el medio de enraizamiento saturado por más tiempo, aumentando el riesgo de pudrición en la base de las estacas. El drenaje más lento de la bolsa se podría deber al mayor volumen de esta (385 cm³) con respecto al tubete (320 cm³) y a su estructura, ya que en la bolsa se realizaron varias perforaciones pequeñas, mientras que el tubete tiene un único orificio de salida de mayor diámetro. Esta diferencia de velocidad de drenaje entre ambos envases pudo observarse visualmente durante el período de experimentación.

Gráfico N° 4. Porcentaje de sobrevivencia de estacas por fitoregulador utilizado.



En relación a los reguladores de crecimiento, el formulado comercial presentó los mejores resultados promedio, los cuales se podrían deber al aporte de nutrientes que brinda el mismo. Este incluye en su composición, además del complejo de auxinas, los nutrientes N-P-K-Mg-S, que podrían estar contribuyendo a la manutención de la estaca con vida.

Cuadro N° 7. Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de sobrevivencia del clon VS8.

Clon	Tratamiento	% Sobrevivencia	Intervalo de confianza (95%)
VS8	VeTuRaiz	100,00 a	(100,00-100,00)
VS8	VeTuAIB	86,67 b	(69,41-94,90)
VS8	PITuAIB	86,67 b	(69,41-94,90)
VS8	PIBoRaiz	76,67 b	(58,50-88,45)
VS8	PIBoAIB	70,00 bc	(51,66-83,59)
VS8	VeBoRaiz	63,33 bc	(45,12-78,40)
VS8	VeBoAIB	60,00 bc	(41,95-75,69)
VS8	PITuRaiz	36,67 c	(21,60-54,88)

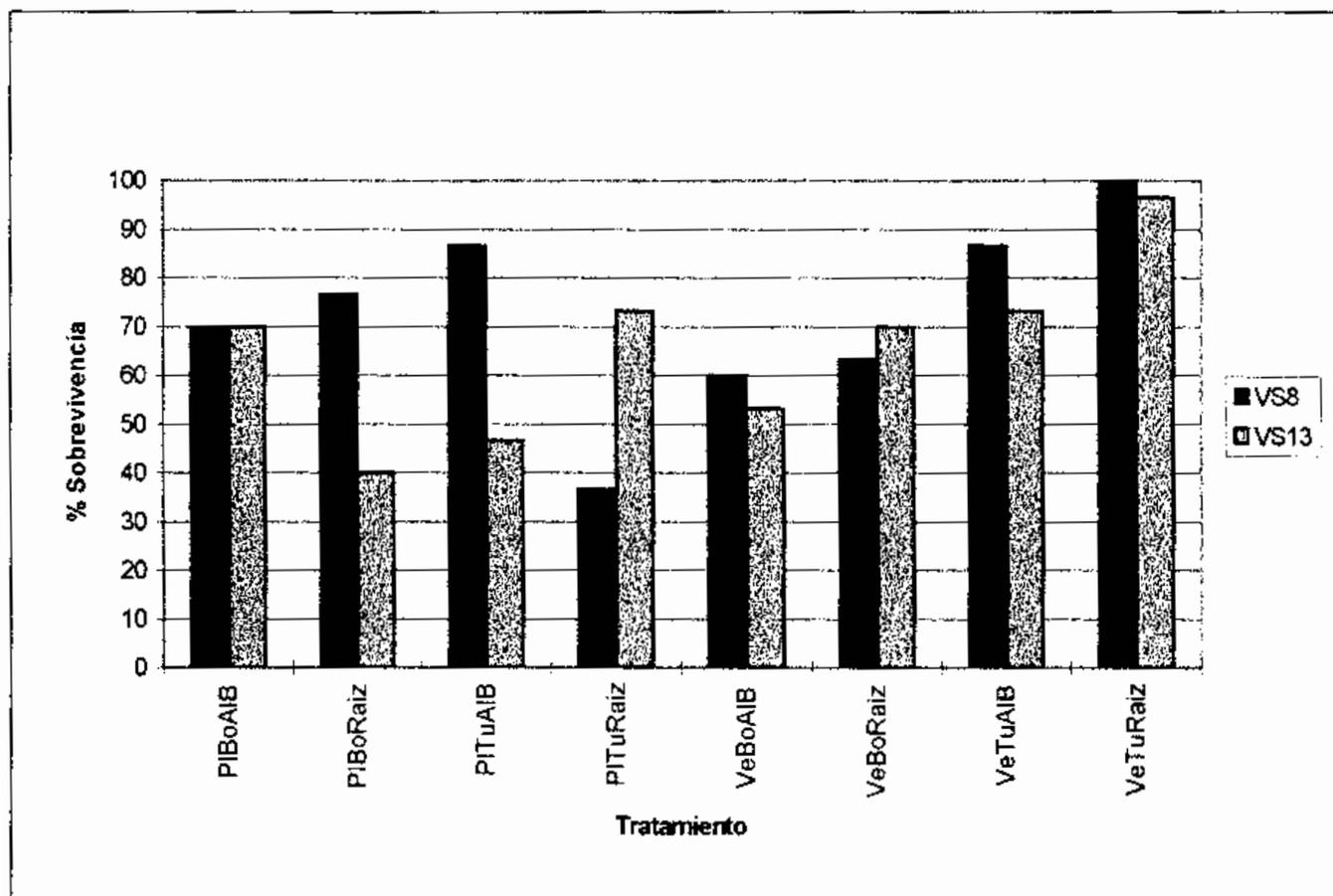
* tratamientos con letras diferentes difieren significativamente al 0,05.

Cuadro N° 8. Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de sobrevivencia del clon VS13.

Clon	Tratamiento	% Sobrevivencia	Intervalo de confianza (95%)
VS13	VeTuRaiz	96,67 a	(79,80-99,53)
VS13	VeTuAIB	73,33 ab	(55,04-86,07)
VS13	PITuRaiz	73,33 ab	(55,04-86,07)
VS13	VeBoRaiz	70,00 ab	(51,66-83,59)
VS13	PIBoAIB	70,00 ab	(51,66-83,59)
VS13	VeBoAIB	53,33 b	(35,81-70,07)
VS13	PITuAIB	46,67 b	(29,93-64,19)
VS13	PIBoRaiz	40,00 b	(24,31-58,05)

* tratamientos con letras diferentes difieren significativamente al 0,05.

Gráfico N° 5. Interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador para la variable sobrevivencia.



En cuanto a la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador se observó lo siguiente:

- para el clon VS8 se diferencian tres categorías de tratamientos. El tratamiento VeTuRaiz resultó superior frente a los restantes tratamientos. Un grupo intermedio estaría integrado por los tratamientos VeTuAIB, PITuAIB, PIBoRaiz, PIBoAIB, VeBoRaiz y VeBoAIB, los cuales podrían tener una respuesta muy buena, si se considera que todos podrían pasar el 60 % de enraizamiento (límite mínimo aceptable comercialmente, según Carpineti, 1996), en el caso de que estas estacas luego lleguen a enraizar. La menor sobrevivencia se obtuvo con la combinación PITuRaiz lo que indica que, para este clon, cuando se cambia la vermiculita por el Plantmax, dejando constante el tubete y el formulado comercial se obtienen resultados inferiores.

- para el clon VS13 se pueden distinguir tres categorías de tratamientos. Una categoría superior estaría integrada por el tratamiento VeTuRaiz, otra intermedia compuesta por los tratamientos VeTuAIB, PITuRaiz, VeBoRaiz y PIBoAIB, y una categoría inferior que estaría integrada por los tratamientos: VeBoAIB, PITuAIB y PIBoRaiz de los cuales el último no podría llegar al nivel mínimo aceptable comercialmente para enraizamiento.
- para ambos clones el tratamiento con mayor porcentaje de sobrevivencia fue VeTuRaiz, el cual concuerda con la combinación de los factores que se mostraron con comportamiento superior al ser considerados individualmente.

4.3 ESTRUCTURAS RADICULARES.

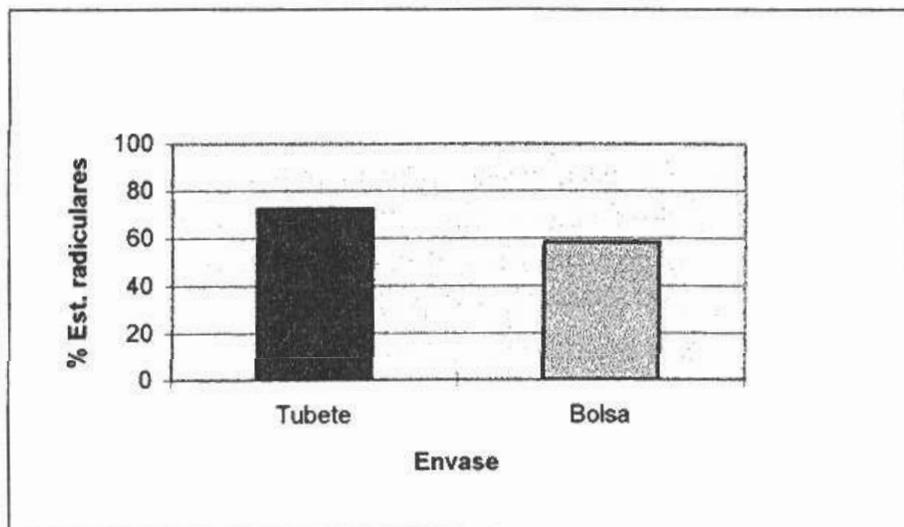
El porcentaje de estacas con estructuras radiculares presentó diferencias significativas en el envase y en el sustrato utilizados, así como en la interacción entre los cuatro factores. Los resultados correspondientes se presentan en los cuadros N° 9, 10, y 11, y se ilustran en los gráficos N° 6, 7, 8, y 9.

Cuadro N° 9. Estacas con estructuras radiculares, expresadas en porcentaje, según envase y sustrato.

FACTOR	TIPO	% ESTRUCTURAS RADICULARES
Envase	Tubete	72,50 a
	Bolsa	58,33 b
Sustrato	Vermiculita	71,25 a
	Plantmax	59,58 b

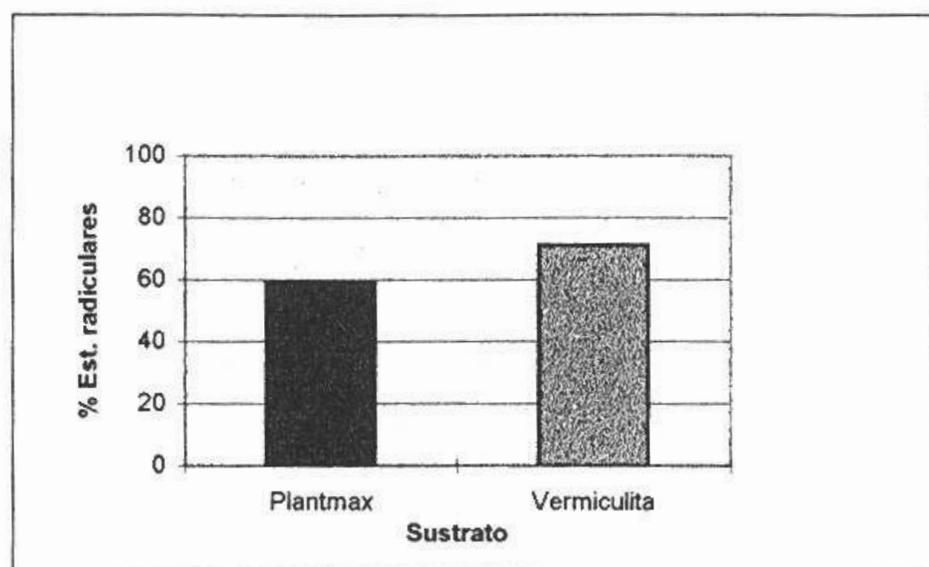
* letras diferentes son significativas al 0,05.

Gráfico N° 6. Porcentaje de estacas con estructuras radiculares por envase utilizado.



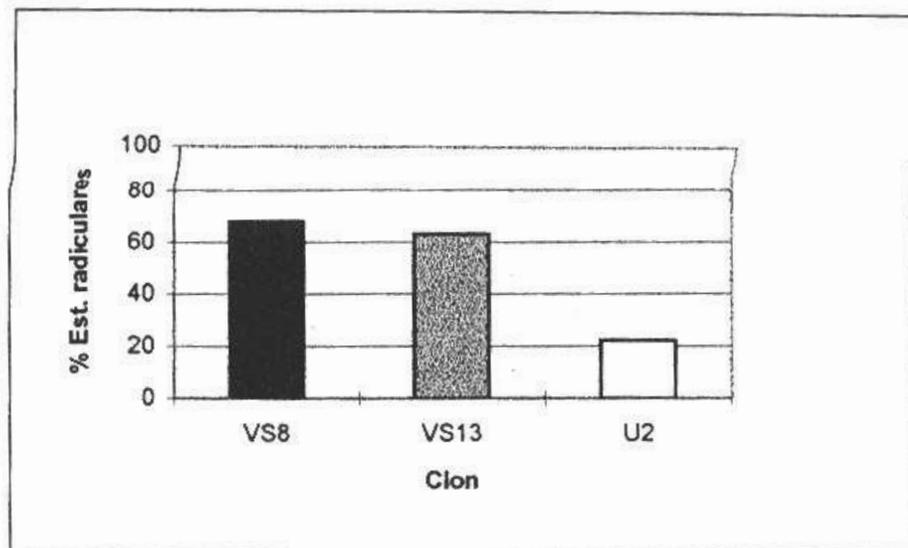
En cuanto al envase se observa que en promedio el tubete dio mejores resultados, mientras que en la bolsa se observó un promedio inferior. Esto podría deberse a la mayor velocidad de drenaje que permite este envase.

Gráfico N° 7 . Porcentaje de estacas con estructuras radiculares por sustrato utilizado.



Con respecto al sustrato, la vermiculita presentó el mayor promedio de estacas con estructuras radiculares. Esto podría deberse por un lado a la buena capacidad de aireación que presenta la vermiculita frente al Plantmax, lo que concordaría con Maile y Niewenhuis (1996), los cuales citan que el aumento del enraizamiento observado con vermiculita es debido a la buena aireación, que favorece la formación radicular. Por otro lado la alta capacidad de retención de agua (ver cuadro N° 4), y el adecuado drenaje de este sustrato podrían estar influyendo en este aumento de la cantidad de estructuras radiculares, lo que estaría de acuerdo con lo citado por Hartmann y Kester (1976). El efecto positivo de la vermiculita también concordaría con lo citado por Martín y Quillet (1973) los cuales afirman que el sustrato debe tener una alta capacidad de drenaje, no teniendo efecto alguno el enriquecimiento mineral del mismo.

Gráfico N° 8. Porcentaje de estacas con estructuras radiculares por clon utilizado.



En cuanto al clon usado, no existen diferencias significativas en el porcentaje de estacas con estructuras radiculares al comparar el clon VS8 (67,92 %) con el VS13 (62,92 %). Sí existen diferencias al compararlos con el clon U2 (22,10 %), el cual como ya se explicó anteriormente, no fue incluido en el análisis estadístico por presentar bajos índices de sobrevivencia y de estructuras radiculares. Las diferencias muy marcadas del clon U2 no pueden ser sólo atribuidas al efecto clon, hay que recordar la baja calidad del material vegetal usado, que podría estar repercutiendo en estos índices. Como ya se comentó anteriormente el grado de lignificación usado para el clon U2 no fue el óptimo, ya que se usaron estacas demasiado herbáceas. Esto concuerda con Ikemori (1976) cit. por Arca (1981) el cual afirma que el material demasiado herbáceo no produce buenas estacas debido a que son susceptibles a la pudrición de la base y caída de las hojas.

Cuadro N° 10. Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de estacas con estructuras radiculares del clon VS8.

Clon	Tratamiento	% Estructuras radiculares	Intervalo de confianza (95%)
VS8	VeTuRaiz	96,67 a	(79,80-99,53)
VS8	PITuAIB	90,00 a	(73,19-96,74)
VS8	VeTuAIB	86,67 ab	(69,41-94,90)
VS8	PIBoAIB	70,00 abc	(51,66-83,59)
VS8	PIBoRaiz	66,67 abc	(48,35-81,03)
VS8	VeBoAIB	56,67 bcd	(38,84-72,92)
VS8	VeBoRaiz	46,67 cd	(29,93-64,19)
VS8	PITuRaiz	30,00 d	(16,41-48,34)

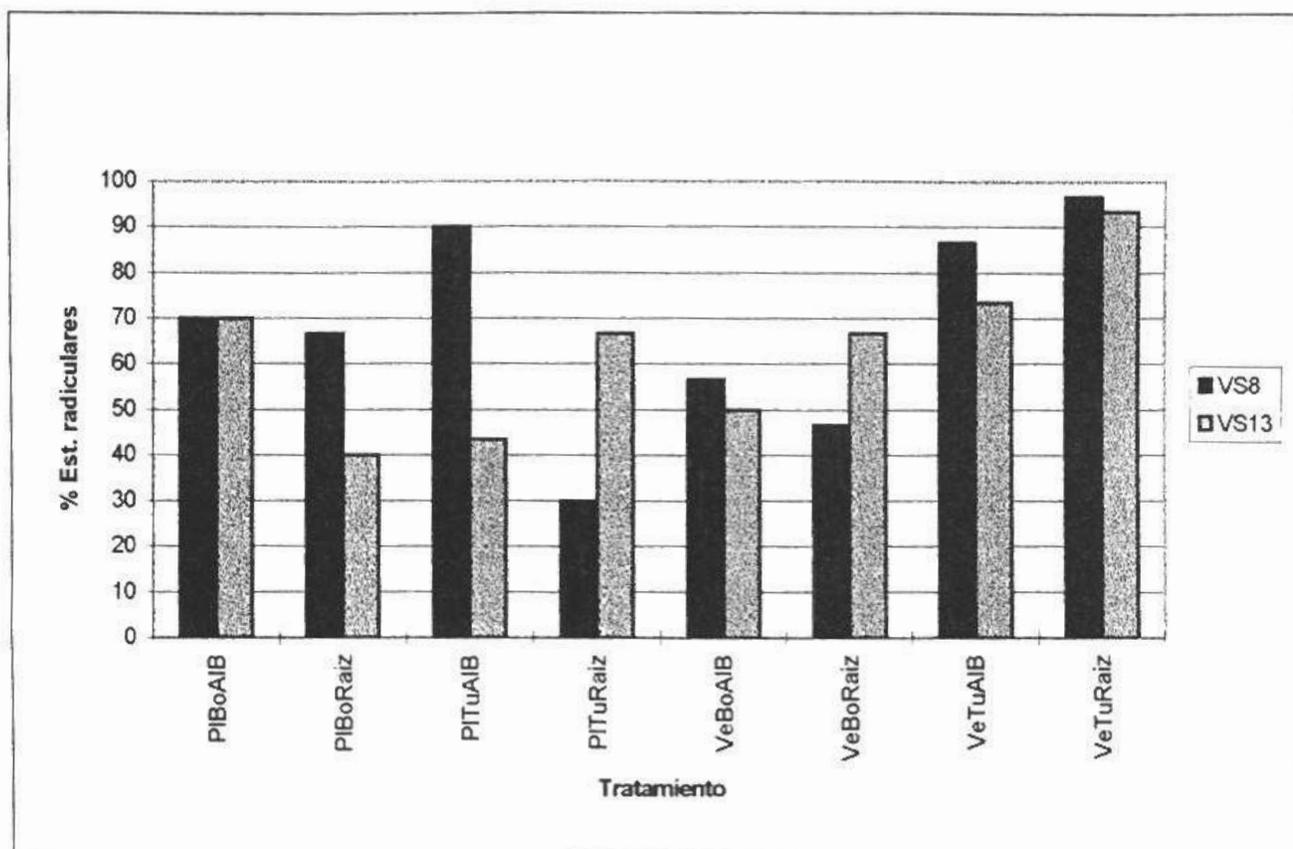
* tratamientos con letras diferentes difieren significativamente al 0,05.

Cuadro N° 11. Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de estacas con estructuras radiculares del clon VS13.

Clon	Tratamiento	% Estructuras radiculares	Intervalo de confianza (95%)
VS13	VeTuRaiz	93,33 a	(76,93-98,33)
VS13	VeTuAIB	73,33 ab	(55,04-86,07)
VS13	PIBoAIB	70,00 ab	(48,35-81,03)
VS13	VeBoRaiz	66,67 ab	(48,35-81,03)
VS13	PITuRaiz	66,67 ab	(51,56-83,59)
VS13	VeBoAIB	50,00 b	(32,83-67,17)
VS13	PITuAIB	43,33 b	(27,08-61,16)
VS13	PIBoRaiz	40,00 b	(24,31-58,05)

* tratamientos con letras diferentes difieren significativamente al 0,05.

Gráfico N° 9 . Interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador para la variable porcentaje de estacas con estructuras radiculares.



Con respecto a la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador se observó lo siguiente:

- en el clon VS8 se podrían distinguir tres categorías de tratamientos, un grupo superior (VeTuRaiz, PITuAIB y VeTuAIB), presentando como factor común el tubete, un grupo intermedio (PIBoAIB, PIBoRaiz, VeBoAIB y VeBoRaiz) que podría tener una respuesta buena si se considera que podría pasar el 60 % de enraizamiento, presentando como factor común la bolsa, y un tratamiento inferior (PITuRaiz) el cual no podría llegar a niveles aceptables comercialmente.

- en el clon VS13 se podrían diferenciar tres categorías de tratamientos, una superior (VeTuRaiz), un grupo intermedio (VeTuAIB, PIBoAIB, VeBoRaiz y PITuRaiz), y un grupo inferior (VeBoAIB, PITuAIB y PIBoRaiz).

- para ambos clones la combinación VeTuRaiz está entre los tratamientos superiores. Se observa que este tratamiento incluye a la vermiculita y al tubete que fueron los factores superiores cuando se los consideró individualmente.

4.3.1 Callos.

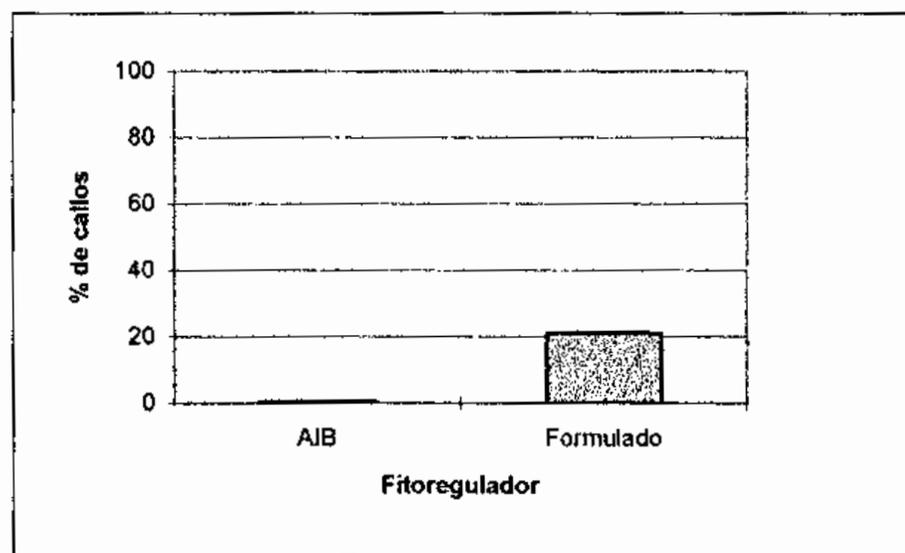
El porcentaje de estacas con callos presentó diferencias significativas según el fitoregulador usado. Los resultados se muestran en el cuadro N° 12.

Cuadro N° 12. Estacas con callos según fitoregulador usado.

FITOREGULADOR	% CALLOS
Formulado comercial	21,18 a
AIB	0,61 b

* letras diferentes son significativas al 0,05.

Gráfico N° 10 . Porcentaje de callos por fitoregulador utilizado.



Cabe señalar que la formación del callo es la primera etapa del proceso de diferenciación radicular aunque el tamaño de este sea variable. Luego sigue una etapa en la cual a partir del callo comienzan a aparecer los primordios radiculares, y finalmente a partir de estos se desarrolla el sistema radicular normal (Anexo 13 - Fotos N° 2, 3 y 4).

Como se observa en el gráfico N° 10, se encontraron diferencias significativas según el fitoregulador utilizado, siendo mayor en promedio el porcentaje de estacas con callos cuando se utilizó el formulado comercial y menor con AIB.

4.3.2 Callos con primordios radiculares.

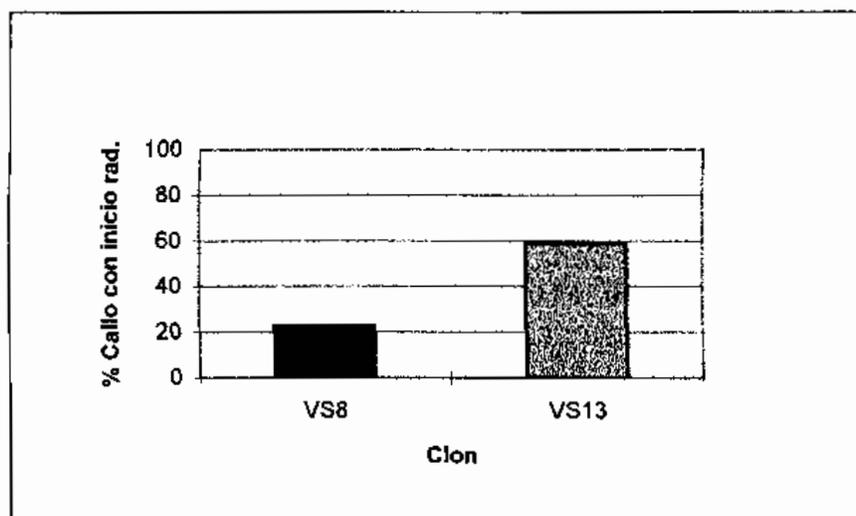
Para este parámetro se observaron diferencias significativas en el clon y fitoregulador usados. Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro N° 13, y se ilustran en los gráficos N° 11 y 12.

Cuadro N° 13. Estacas con callos más primordios radiculares según clon y fitoregulador usados.

FACTOR	TIPO	% CALLOS CON PRIMORDIOS RADICULARES
Clon	VS13	58,88 a
	VS8	22,64 b
Fitoregulador	Formulado comercial	46,98 a
	AIB	32,11 b

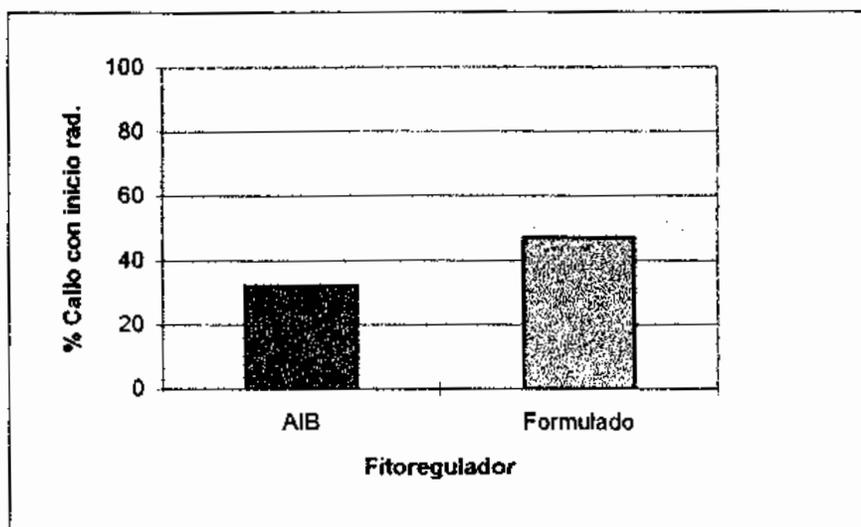
* letras diferentes son significativas al 0,05.

Gráfico N° 11 . Porcentaje de callos con inicio radicular por clon utilizado.



En cuanto al clon usado el VS13 resultó en promedio superior al VS8.

Gráfico N° 12. Porcentaje de callos con inicio radicular por fitoregulador utilizado.



Con respecto al fitoregulador utilizado, se observa en el gráfico N° 12, que el formulado comercial presentó el mayor promedio cuando se lo comparó con el AIB.

4.3.3 Raíces.

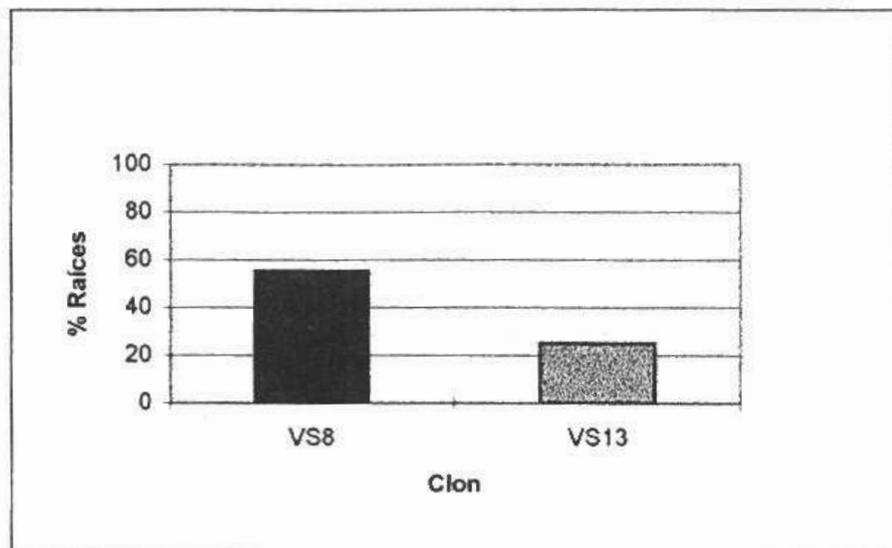
El porcentaje de estacas con raíces presentó diferencias significativas en el clon y el fitoregulador utilizados, así como en la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador. Los resultados correspondientes se presentan en los cuadros N° 14, 15, y 16, y se ilustran en los gráficos N° 13, 14, y 15.

Cuadro N° 14. Estacas con raíces según clon y fitoregulador usados.

FACTOR	TIPO	% RAICES
Clon	VS8	55,36 a
	VS13	25,12 b
Fitoregulador	AIB	56,80 a
	Formulado comercial	24,04 b

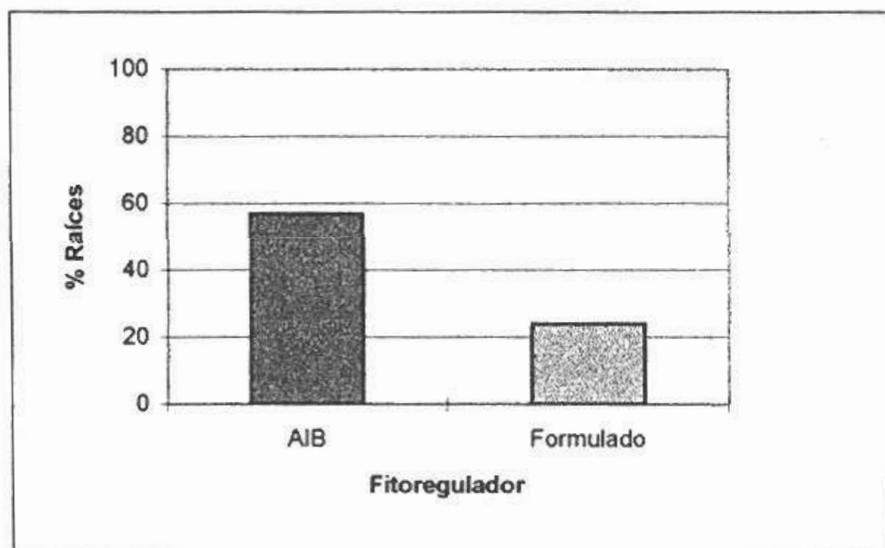
* letras diferentes son significativas al 0,05.

Gráfico N° 13 . Porcentaje de raíces por clon utilizado



Como se observa en el gráfico N° 13, el clon VS8 resultó superior en promedio al clon VS13. Esta diferencia entre clones está de acuerdo con las citas de Chaperon (1987), el cual menciona a la selección de clones como herramienta fundamental para lograr porcentajes de enraizamiento aceptables. Además, Rojas et al. (1987) probaron que existen diferencias altamente significativas en la capacidad de enraizamiento, según el árbol de donde se colecten las estacas.

Gráfico N° 14 . Porcentaje de raíces por fitoregulador utilizado.



En el gráfico N° 14 se observa que el AIB produce un mayor número de sistemas radiculares completos en comparación al formulado comercial.

Cuadro N° 15. Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de raíces del clon VS8.

Clon	Tratamiento	% Raíces	Intervalo de confianza (95%)
VS8	VeBoAIB	88,24 a	(63,17-97,04)
VS8	PIBoAIB	71,43 ab	(49,24-86,57)
VS8	PITuAIB	59,26 ab	(40,30-75,81)
VS8	PIBoRaiz	55,00 ab	(33,62-74,68)
VS8	VeTuAIB	46,16 ab	(28,39-64,95)
VS8	VeTuRaiz	41,38 b	(25,21-59,64)
VS8	VeBoRaiz	35,71 b	(15,70-62,37)
VS8	PITuRaiz	33,33 b	(11,11-59,64)

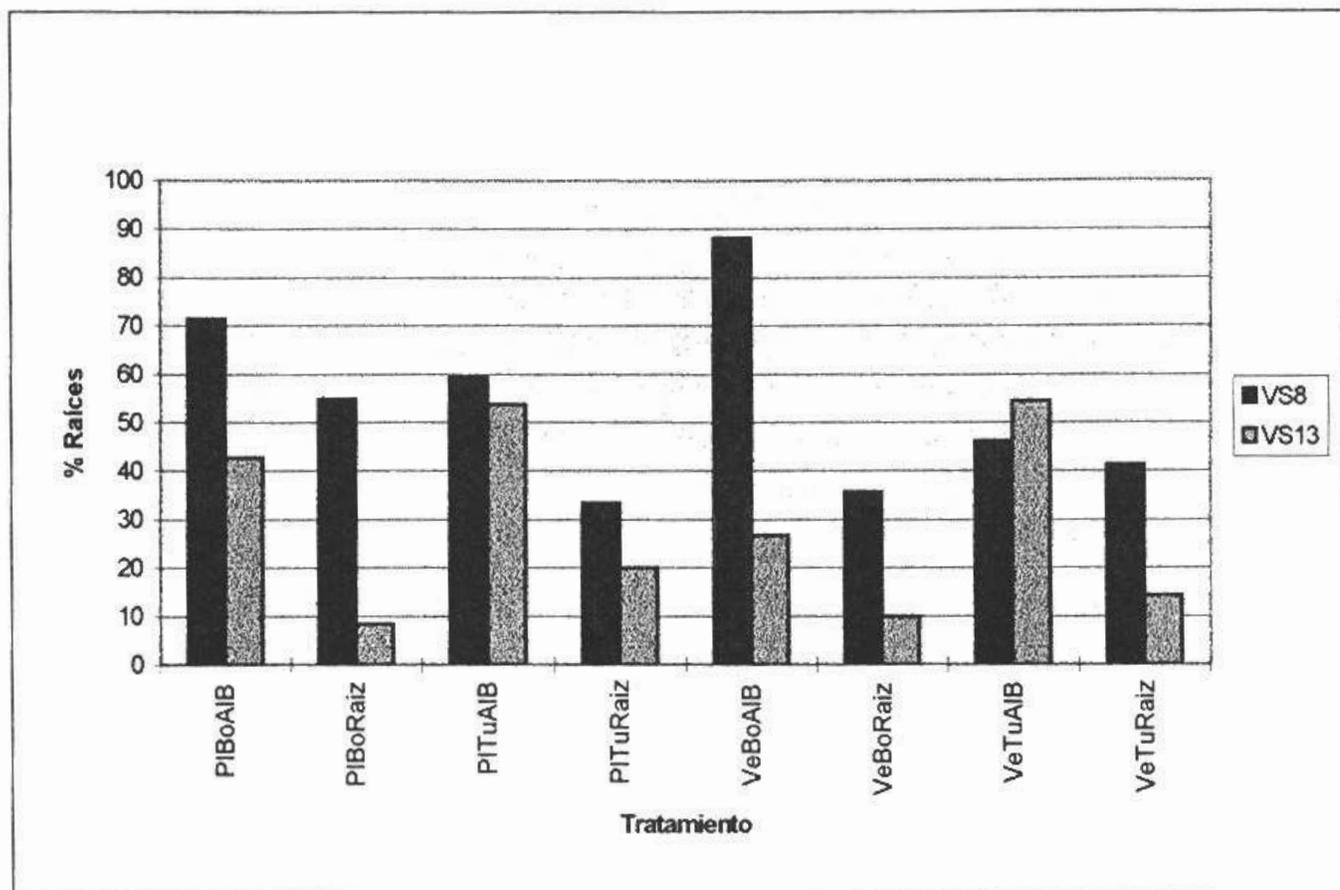
* tratamientos con letras diferentes difieren significativamente al 0,05.

Cuadro N° 16. Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de raíces del clon VS13.

Clon	Tratamiento	% Raíces	Intervalo de confianza (95%)
VS13	VeTuAIB	54,54 a	(34,14-73,53)
VS13	PITuAIB	53,85 ab	(28,17-77,64)
VS13	PIBoAIB	42,86 ab	(24,01-64,03)
VS13	VeBoAIB	26,66 ab	(10,38-53,31)
VS13	PITuRaiz	20,00 ab	(7,71-42,78)
VS13	VeTuRaiz	14,29 b	(5,47-32,45)
VS13	VeBoRaiz	10,00 b	(2,51-32,38)
VS13	PIBoRaiz	8,33 ab	(1,16-41,32)

* tratamientos con letras diferentes difieren significativamente al 0,05.

Gráfico N° 15 . Interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador para el porcentaje de raíces.



En cuanto a la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador se observó que:

- para el clon VS8 se podrían distinguir dos categorías de tratamientos, una categoría superior que incluiría los tratamientos VeBoAIB, PIBoAIB, PITuAIB, PIBoRaiz y VeTuAIB, en la que predomina la hormona AIB, y una categoría inferior (VeTuRaiz, VeBoRaiz y PITuRaiz), en la que todos los tratamientos incluyen el formulado comercial.

- esta misma tendencia se observa también para el clon VS13, por lo que se podría decir que considerando el enraizamiento, la hormona AIB es para casi todos los tratamientos superior al formulado comercial.

4.3.4 Análisis de los callos, callos con inicio radicular y raíces en forma conjunta.

Del análisis conjunto de estos parámetros surgen las siguientes observaciones :

- en cuanto al clon, el VS8 se muestra superior en la formación de raíces, mientras que el VS13 se muestra superior en la cantidad de callos con primordios radiculares.

- en cuanto a los fitoreguladores usados, vemos que el formulado comercial resultó superior en el número de callos y callos con inicio radicular, mientras que el AIB resultó superior en la formación de sistemas radiculares normales. No obstante, considerando el porcentaje de estacas con estructuras radiculares no existen diferencias significativas entre ambos fitoreguladores, lo que sugiere que el formulado comercial podría llegar a formar la misma cantidad de raíces que el AIB.

- el AIB tuvo un resultado positivo en cuanto a la diferenciación radicular se refiere. La concentración usada (1 %) concuerda con lo citado por Chaperon, 1987, que sostiene que para el género *Eucalyptus* se usan concentraciones que varían entre 0,3 % y 1 %, combinado con polvo talco.

4.4 LONGITUD RADICULAR.

En éste parámetro se encontraron diferencias significativas en el envase y en el fitoregulador utilizados. El tubete y el AIB fueron superiores para todos los tratamientos, ya que no existieron interacciones significativas de ningún tipo.

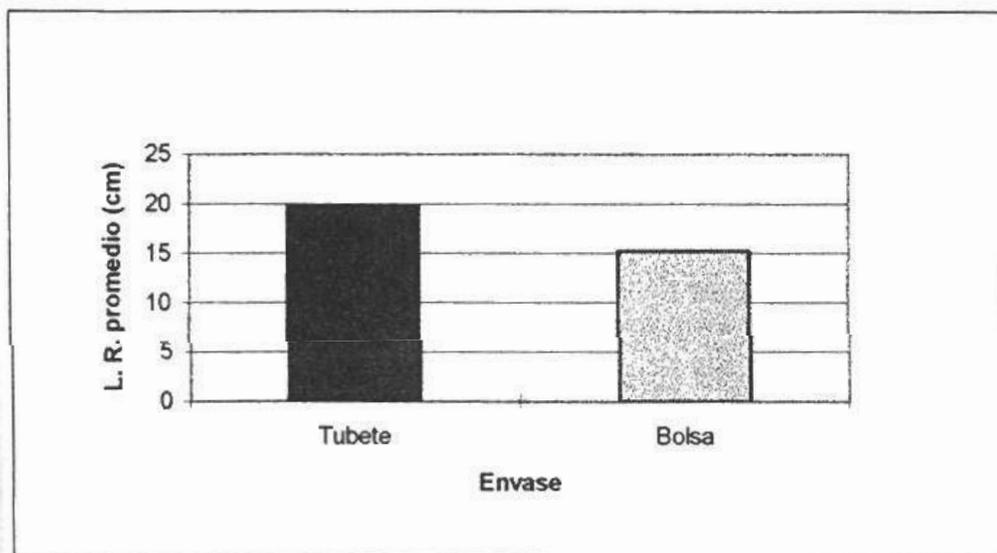
Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro N° 17, y son ilustrados en los gráficos N° 16 y 17.

Cuadro N° 17. Longitud radicular según envase y fitoregulador usados.

FACTOR	TIPO	LONGITUD RADICULAR PROMEDIO (cm)
Envase	Tubete	19,77 a
	Bolsa	15,20 b
Fitoregulador	AIB	20,67 a
	Formulado comercial	14,31 b

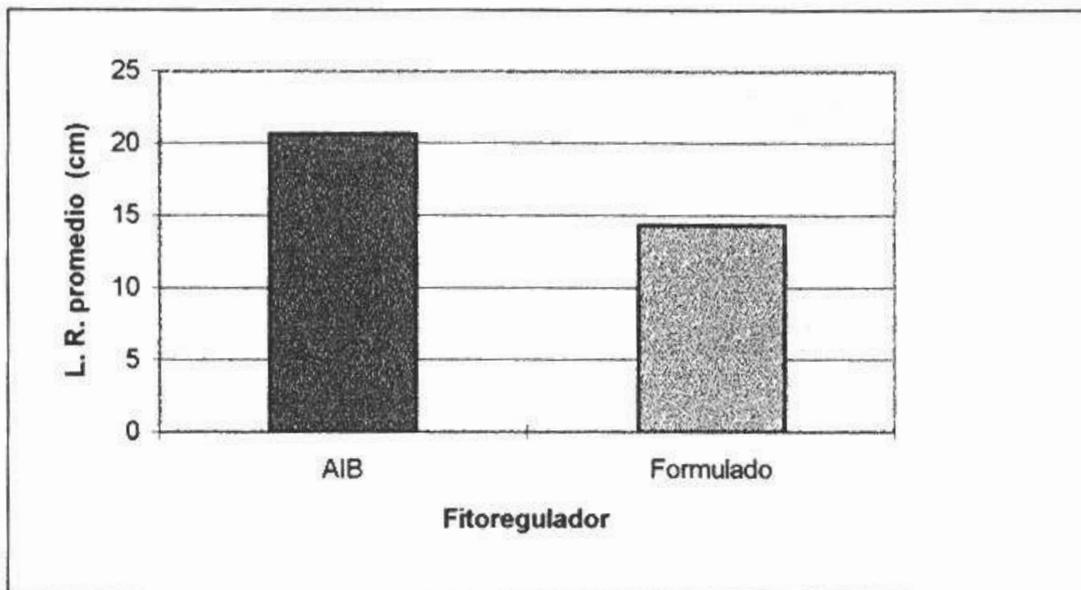
* letras diferentes son significativas al 0,05.

Gráfico N° 16 . Longitud radicular por envase utilizado.



Con respecto al tipo de envase resultó superior el tubete contra la bolsa en todos los tratamientos que se aplicaron. Esto se debería a que el tubete tiene un largo mayor que la bolsa, por lo que la raíz puede crecer más en longitud. Hechas estas consideraciones se puede concluir que la longitud radicular se ajustó totalmente a la profundidad de los recipientes. Lo anterior se comprueba al comparar los largos (tubete: 19 cm, bolsa: 15 cm) con la longitud promedio de los sistemas radiculares (19,77 y 15,20 cm respectivamente).

Gráfico N° 17 . Longitud radicular por fitoregulador utilizado.



Refiriéndonos al fitoregulador utilizado se observó una mayor longitud de raíz con AIB. Esto es significativo para todos los tratamientos evaluados.

4.5 BROTACION.

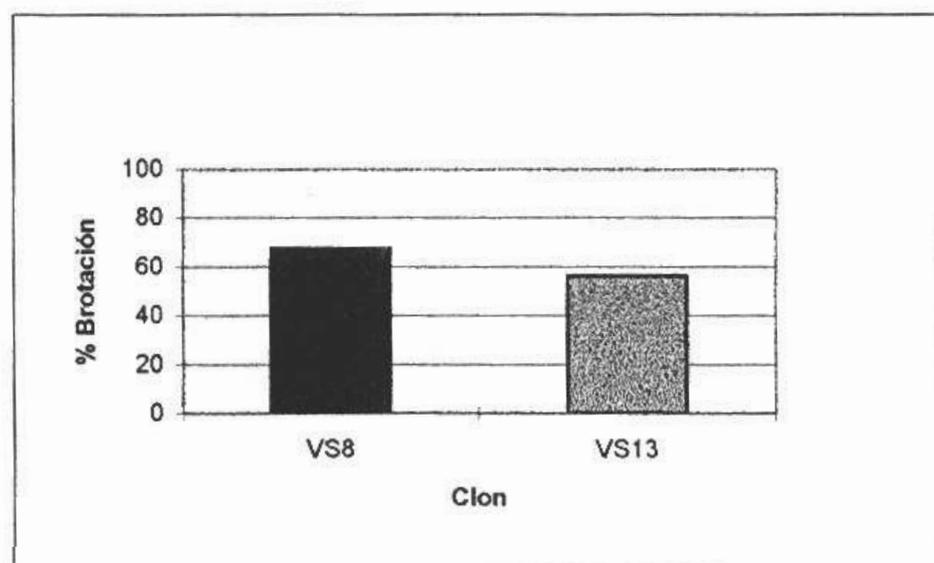
En el porcentaje de brotación se observan diferencias significativa en el clon y en el envase usados, así como en la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador. Los resultados correspondientes se presentan en los cuadros N° 18, 19, y 20, y se ilustran en los gráficos N° 18, 19, y 20.

Cuadro N° 18. Porcentaje de brotación según clon y envase usados.

FACTOR	TIPO	% DE BROTACION
Clon	VS8	67,50 a
	VS13	56,25 b
Envase	Tubete	66,25 a
	Bolsa	57,50 b

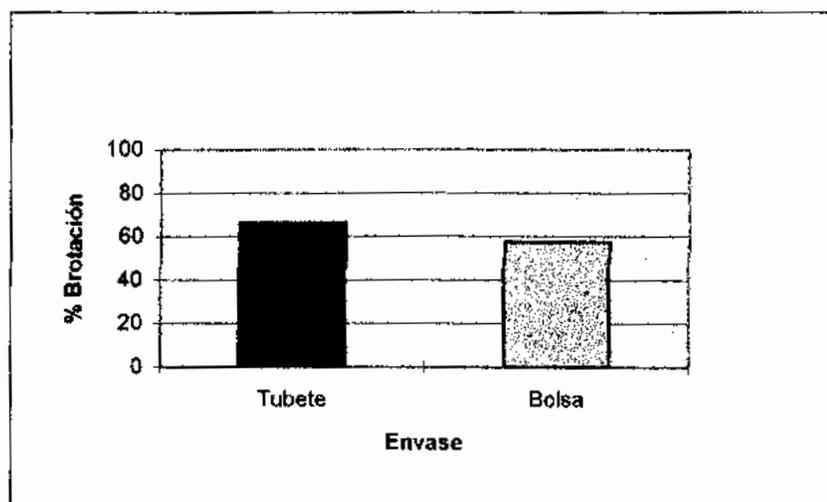
* letras diferentes son significativas al 0,05.

Gráfico N° 18 . Porcentaje de brotación por clon utilizado.



Como se observa en el gráfico N° 18, existen diferencias significativas en la brotación de las estacas según el clon usado, siendo en promedio superior el clon VS8.

Gráfico N° 19 . Porcentaje de brotación por envase utilizado.



En cuanto al factor envase se constata que en promedio el porcentaje de brotación fue mayor en el tubete.

Cuadro N° 19. Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de brotación del clon VS8.

Clon	Tratamiento	% Brotación	Intervalo de confianza (95%)
VS8	VeTuRaiz	86,67 a	(69,41-94,90)
VS8	PITuAIB	86,67 a	(69,41-94,90)
VS8	PIBoRaiz	76,67 a	(58,50-88,45)
VS8	PIBoAIB	70,00 ab	(51,66-83,59)
VS8	VeTuAIB	66,67 ab	(48,35-81,03)
VS8	VeBoRaiz	60,00 ab	(41,95-75,69)
VS8	VeBoAIB	56,67 ab	(38,84-72,92)
VS8	PITuRaiz	36,67 b	(21,60-54,88)

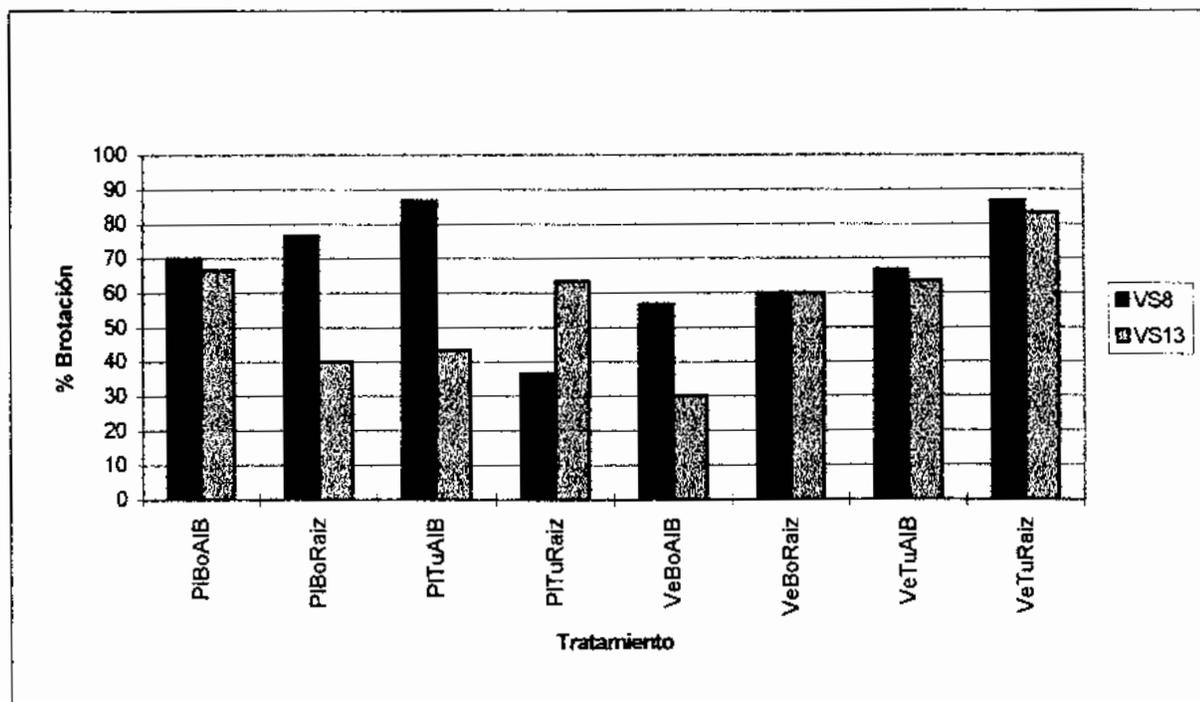
* tratamientos con letras diferentes difieren significativamente al 0,05.

Cuadro N° 20. Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en el porcentaje de raíces del clon VS13.

Clon	Tratamiento	% Brotación	Intervalo de confianza (95%)
VS13	VeTuRaiz	83,33 a	(65,68-92,89)
VS13	PIBoAIB	66,67 ab	(48,35-81,03)
VS13	VeTuAIB	63,33 abc	(45,12-78,40)
VS13	PITuRaiz	63,33 abc	(45,12-78,40)
VS13	VeBoRaiz	60,00 abc	(41,95-75,69)
VS13	PITuAIB	43,33 bc	(27,08-61,16)
VS13	PIBoRaiz	40,00 bc	(24,31-58,05)
VS13	VeBoAIB	30,00 c	(16,41-48,34)

* tratamientos con letras diferentes difieren significativamente al 0,05.

Gráfico N° 20 . Interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador para el porcentaje de brotación.



En cuanto a la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador, se puede observar que:

- para el clon VS8 se distinguen tres categorías de tratamientos, una primera integrada por VeTuRaiz, PITuAIB y PIBoRaiz que presenta un comportamiento superior, una categoría intermedia integrada por PIBoAIB, VeTuAIB, VeBoRaiz y VeBoAIB, y la última con un comportamiento inferior (PITuRaiz). Aquí se observa que al cambiar la vermiculita por el Plantmax, dejando constante el tubete y el formulado comercial, se pasa de los mejores a los peores resultados.

- para el clon VS13 se pueden separar tres categorías: superior (VeTuRaiz y PIBoAIB), intermedia (VeTuAIB, PITuRaiz, VeBoRaiz, PITuAIB y PIBoRaiz), e inferior (VeBoAIB).

- el tratamiento VeTuRaiz se encuentra entre los de resultado superior, y tiene incluido al tubete que fue uno de los factores que resultó superior cuando se lo consideró individualmente.

4.6 LONGITUD DE BROTES.

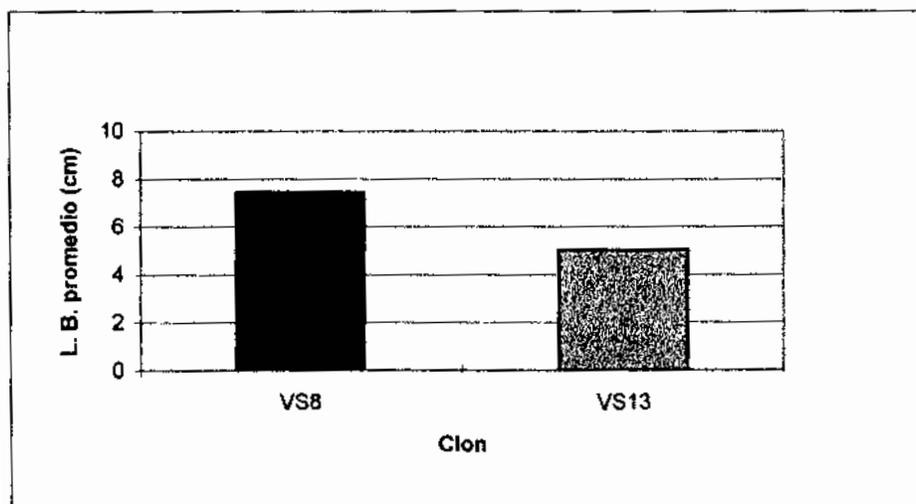
En este parámetro se encontraron diferencias significativas en los clones, envases, y fitoreguladores usados, así como en la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador. Los resultados correspondientes se presentan en los cuadros N° 21, 22, y 23, y se ilustran en los gráficos N° 21, 22, 23 y 24.

Cuadro N° 21. Longitud de brotes según clon, envase y fitoregulador usados.

FACTOR	TIPO	LONGITUD DE BROTES PROMEDIO (cm)
Clon	VS8	7,45 a
	VS13	5,02 b
Envase	Bolsa	6,98 a
	Tubete	5,48 b
Fitoregulador	AIB	8,90 a
	Formulado comercial	3,57 b

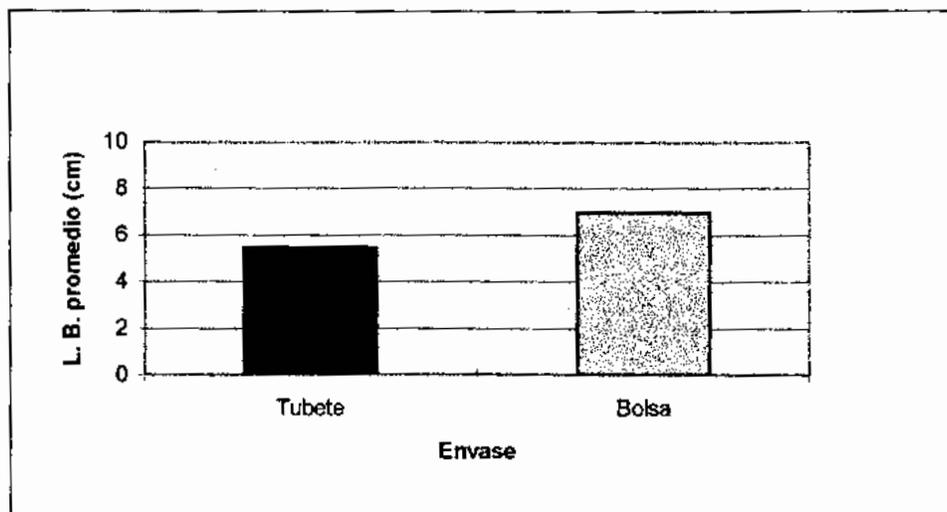
* letras diferentes son significativas al 0,05.

Gráfico N° 21 . Longitud de brotes por clon utilizado.



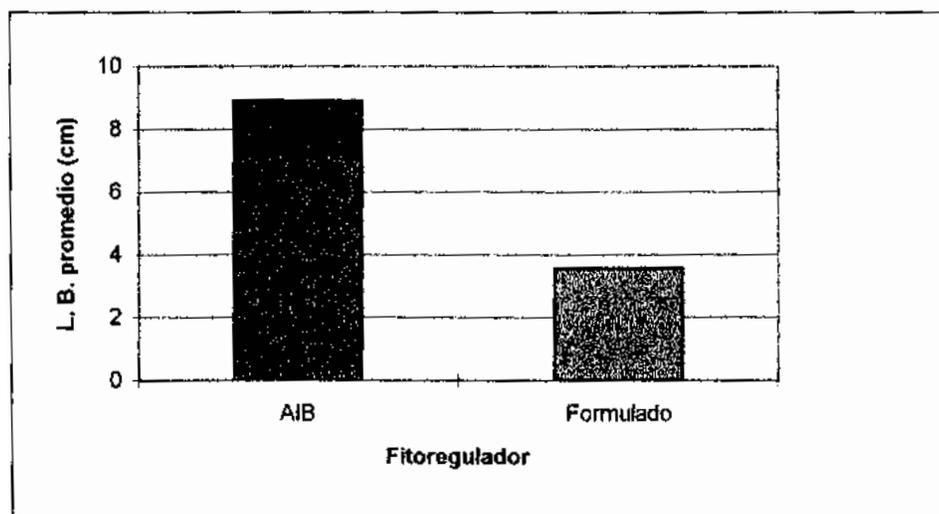
Se observa que el clon VS8 tiene un largo de brotes mayor que el VS13.

Gráfico N° 22 . Longitud de brotes por envase utilizado.



La longitud de brotes promedio resultó mayor en la bolsa. Esto se podría deber a una mayor exploración radicular que es permitida en este envase, ya que posee un volumen mayor que el tubete, lo que permitiría una mayor absorción de agua y en consecuencia un mayor crecimiento.

Gráfico N° 23. Longitud de brotes por fitoregulador utilizado.



Teniendo en cuenta el efecto de los fitoreguladores, el AIB resultó en promedio superior al formulado comercial. Esto podría deberse a que con AIB se obtuvieron una mayor cantidad de plantas con sistemas radiculares, y además una mayor longitud de los mismos, lo que permitiría una mayor absorción de agua, que estaría explicando el mayor crecimiento de la planta.

Cuadro N° 22. Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en la longitud de brotes del clon VS8.

Clon	Tratamiento	Long brotes promedio (cm)	Intervalo de confianza (95%)
VS8	VeBoAIB	18,56 a	(15,98-21,13)
VS8	PIBoAIB	10,15 b	(7,83-12,47)
VS8	PITuAIB	9,89 b	(7,81-11,97)
VS8	PIBoRaiz	5,56 c	(3,35-7,78)
VS8	VeTuAIB	4,29 c	(1,97-6,61)
VS8	PITuRaiz	4,07 c	(0,87-7,27)
VS8	VeBoRaiz	3,69 c	(1,19-6,19)
VS8	VeTuRaiz	3,39 c	(1,31-5,47)

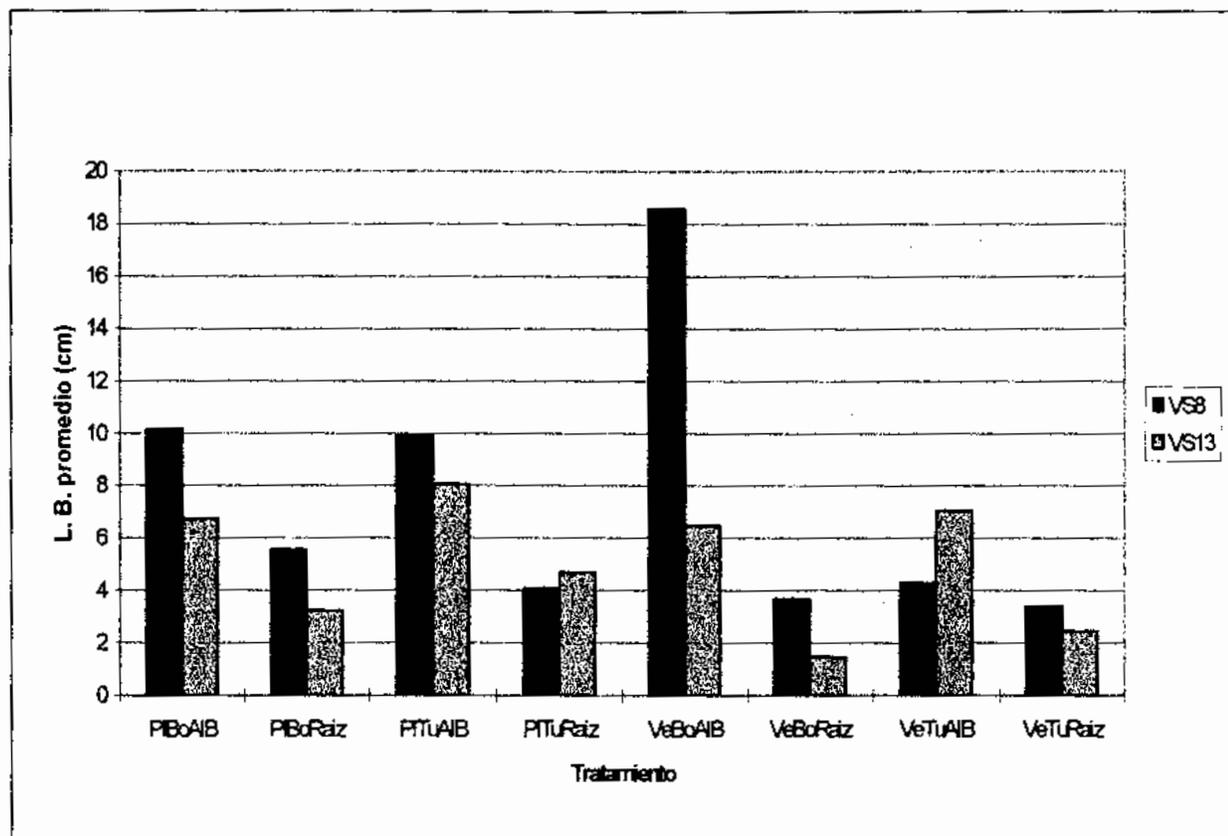
* tratamientos con letras diferentes difieren significativamente al 0,05.

Cuadro N° 23. Efecto de la interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador en la longitud de brotes del clon VS13.

Clon	Tratamiento	Long brotes promedio (cm)	Intervalo de confianza (95%)
VS13	PITuAIB	8,05 a	(5,10-10,99)
VS13	VeTuAIB	7,05 a	(4,62-9,49)
VS13	PIBoAIB	6,73 ab	(4,36-9,10)
VS13	VeBoAIB	6,48 abc	(2,94-10,02)
VS13	PITuRaiz	4,67 abc	(2,24-7,11)
VS13	PIBoRaiz	3,23 abc	(0,17-6,30)
VS13	VeTuRaiz	2,46 bc	(0,34-4,58)
VS13	VeBoRaiz	1,46 c	(- 1,04-3,96)

* tratamientos con letras diferentes difieren significativamente al 0,05.

Gráfico N° 24 . Interacción clon x sustrato x envase x fitoregulador para la longitud de brotes.



En la interacción de los cuatro factores se observa lo siguiente:

- para el clon VS8 se podrían separar tres categorías de tratamientos, la superior (VeBoAIB) y la intermedia (PIBoAIB y PITuAIB) tienen en común el AIB, la inferior (PIBoRaiz, VeTuAIB, PITuRaiz, VeBoRaiz y VeTuRaiz) tiene en su mayor parte el formulado comercial incluido. Si comparamos este parámetro con el porcentaje de brotación se observa que el tratamiento VeTuRaiz superior en cantidad de estacas brotadas es el que tiene una menor longitud de brotes promedio. En este parámetro es interesante observar que el tratamiento superior no tiene aporte de nutrientes, ya que el sustrato utilizado es la vermiculita, por lo que el crecimiento en longitud de los brotes podría estar explicado por una mayor absorción de agua.

- para el clon VS13 se observa la misma tendencia en cuanto a la hormona.

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

A continuación se presentan las conclusiones preliminares del ensayo, así como las consideraciones a tener en cuenta para futuras investigaciones:

1) Debido a que en Uruguay se ha realizado hasta el momento poca investigación sobre propagación vegetativa de *Eucalyptus* usando estacas, esta tesis ofrece un aspecto novedoso y, a pesar de que no brinda una respuesta total y definitiva, sí ofrece los lineamientos generales para investigaciones futuras que afinen aún más, las soluciones que el tema demanda.

2) El factor clon es un elemento muy importante a tener en cuenta en una producción de estacas a escala comercial, ya que la capacidad de enraizamiento varía ampliamente entre clones y es de fundamental importancia para el éxito en la implementación de un programa de forestación clonal.

3) La cantidad de material vegetal, así como la calidad del mismo, son fundamentales a la hora de instalar un ensayo de este tipo. Esto se comprueba en el presente trabajo con el clon U2, en el cual la escasa disponibilidad de material con que se contó, obligó a utilizar estacas demasiado herbáceas, y no permitió que los resultados experimentales obtenidos, puedan expresar su verdadera capacidad para formar raíces normales, ya probada en los ensayos de enraizamiento "in vitro". Por lo tanto sería importante incluir a este clon en futuros ensayos de esta índole, utilizando material vegetal con un adecuado grado de lignificación.

De lo anterior se concluye que al ajustar las bases de un programa de forestación clonal a nivel comercial, debe tenerse en cuenta la protección brindada a los pies madres, los cuales, en lo posible, deberían estar protegidos de condiciones ambientales adversas que pudiesen comprometer la cantidad, y por ende, la calidad del material vegetal para la confección de las estacas.

4) Al analizar los parámetros en su conjunto se concluye que:

- el clon que aparece como superior para la mayoría de los parámetros analizados es el VS8. El clon VS13 sólo resultó superior en la formación de callos con primordios radiculares.

- el tubete es el envase que se muestra como superior para la mayoría de los parámetros. En el único parámetro en que la bolsa aparece como superior es en la longitud de brotes.

- el sustrato es significativo en la sobrevivencia y en el porcentaje de estacas con estructuras radiculares. En los dos casos, la vermiculita aparece como superior con respecto al Plantmax. Esta superioridad se explica por sus características físicas, que implican un buen drenaje, una alta capacidad de retención de agua y una buena aireación, que como se desprende de la bibliografía, son esenciales para obtener buenos resultados.

- en cuanto a los reguladores de crecimiento, al analizar todos los parámetros en su conjunto, no se encuentra uno superior para todos ellos. En la sobrevivencia, el formulado comercial aparece superior al AIB. En esto debe tenerse en cuenta el aporte de nutrientes que brinda este formulado a la planta (efecto "starter"). Considerando el porcentaje de estacas con estructuras radiculares, no existen diferencias significativas entre ambos fitoreguladores; si hay diferencias significativas en el tipo de estructura radicular, ya que con el AIB se obtuvieron mayores porcentajes de raíces, y con el formulado comercial se obtuvieron mayores porcentajes de callos con inicio radicular. Por esto se podría incluir al formulado en ensayos de mayor duración, para ver si logra llegar a formar sistemas radiculares completos en un mayor número.

Si se considera la longitud radicular y la longitud de brotes, el fitoregulador que da mejores resultados es el AIB.

5) Con respecto a los tratamientos aplicados, al analizarlos en forma conjunta para todos los parámetros, surgen las siguientes conclusiones:

- el tratamiento vermiculita-tubete-formulado fue el que alcanzó una mayor sobrevivencia y un mayor porcentaje de estacas con estructuras radiculares para los clones VS8 y VS13. También es el que presenta un mayor porcentaje de brotación para el clon VS13, y está entre los tratamientos superiores para el clon VS8 cuando se considera este parámetro. Este tratamiento combina la vermiculita y el tubete, que son los factores que se mostraron con comportamiento superior al ser considerados individualmente. Quedaría la interrogante del pasaje de la etapa de callo a la etapa de raíz y el tiempo que este podría llevar.

- para lograr un mayor porcentaje de raíces, así como una mayor longitud radicular y de brotes, no aparece un tratamiento superior común; lo que se observa como importante es la presencia del AIB en los tratamientos de mejor performance.

6. RESUMEN.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar condiciones óptimas para la obtención de material agámico de clones seleccionados de *Eucalyptus grandis*, evaluando el efecto de diferentes sustratos, envases y fitoreguladores sobre el desarrollo de estacas de dichos clones, para su posterior utilización en programas comerciales y/o de investigación.

Con esta finalidad se planteó un diseño estadístico completamente al azar, con un arreglo factorial completo $3 \times 2 \times 2 \times 2$ (clon, sustrato, envase, fitoregulador), existiendo 24 tratamientos, con 30 repeticiones cada uno, lo que totaliza 720 estacas, 240 de cada clon. Los tratamientos se distribuyeron al azar en las mesadas del invernáculo, en una cantidad de 8 por mesa.

Cada tratamiento consistió en una combinación clon-sustrato-envase-fitoregulador. Se utilizaron tres clones obtenidos de árboles "plus" seleccionados en plantaciones comerciales del país y pertenecientes a los mejores de un ranking de enraizamiento "in vitro". Como sustratos se usaron vermiculita y Plantmax (sustrato comercial), los envases usados fueron tubetes y bolsas, y las hormonas, AIB (ácido indol butírico) y un formulado comercial.

El ensayo tuvo una duración de 55 días, desde el 10 de diciembre de 1997 hasta el 4 de febrero de 1998.

Se procedió al análisis estadístico de 8 variables biológicas, las cuales son: porcentaje de sobrevivencia; porcentaje de estructuras radiculares; porcentaje de callos; porcentaje de callos con primordios radiculares; porcentaje de raíces; porcentaje de brotación; longitud total de brotes por estaca (cm.) y longitud de raíz (cm). Para el análisis estadístico de éstas variables se utilizó, un modelo lineal para las variables con distribución continua y un modelo lineal generalizado para las variables con distribución binomial.

En síntesis, se encontraron interacciones significativas entre los factores analizados para todas las variables, excepto para la longitud radicular.

Del presente trabajo se concluye que en una producción de estacas a escala comercial es importante tener en cuenta el clon a usar así como la cantidad y calidad del material. Los factores que resultaron en promedio superiores fueron: clon VS8, vermiculita y tubete. Para los fitoreguladores usados no hay ninguno que resalte como claramente superior.

7. SUMMARY.

This work aims to the determination of the best conditions for a successful production of agamic material from selected clones of *Eucalyptus grandis*, by means of an evaluation of different growing media, containers and rooting hormones over the development of cuttings from the mentioned clones so as to be able to use them in commercial programmes as well as research studies.

For this purpose a completely randomized design was planned, evaluating the effect of the different growing media, containers and rooting hormones with a factorial complete randomization $3 \times 2 \times 2 \times 2$ (clone, growing media, container, hormone), 24 treatments in all, each of them with 30 repetitions, total number of cuttings 720, 240 of each clone.

The treatments were studied and measured under glasshouse conditions. Each treatment consisted of a combination: clone-growing media-container-hormone.

Three clones obtained from "plus" trees selected all around the country and belonging to the best ones of a rooting "in vitro" ranking, were utilized. As growing media, vermiculite and Plantmax (commercial growing media) were used; the containers were test tubes and bags, and the hormones, AIB (Indol butyric acid) and a commercial formulation.

The trial took 55 days, from 10 December, 1997 until 4 February, 1998.

Eight biological variable statistical analysis was performed: survival value percentage, root structures percentage, callus percentage, callus with root primordium percentage, root percentage, shooting percentage, total number of shoots per cutting (cm) and length of root (cm).

Two different models were utilized: a lineal one for the variable with a continuous distribution and a generalized lineal one for the variables with a binomial distribution.

Excepting root length, significant interactions among all the analysed factors were confirmed.

Evidence is presented that the success of clonal propagation at commercial scale lies on the clone to be used, and the amount and quality of the vegetal material. The factors that turned out to be superior on average were: clon VS8, vermiculite and test tube. Regarding the hormones, no one proved to be clearly superior to the others.

8. BIBLIOGRAFIA.

1. ARCA, O.R.1981. Reproducción agámica de especies de Eucalyptus. Tesis Ing.Agr. Montevideo, Uruguay, Facultad de Agronomía. 78p.
2. ASSIS, T.F.de.1996. Utilização comercial da propagação agâmica de espécies de Eucalyptus. In Jornadas Forestales de Entre Ríos, (11ª,1996, Concordia, Argentina). Concordia, Argentina, INIA. pp II-10 - II-16.
3. BEAUCHESNE, G.1973.1973. Las hormonas de enraizamiento. In Reguladores de Crecimiento. Beaulieu, R. et al. Barcelona, Oikostau. pp 75-91.
4. BENNADJI, Z. 1996. Clonación de especies de Eucalyptus. INIA. Serie de Actividades de Difusión nº 120. 6 p.
5. ----- ; UETSUKI, Y.; DALERA, O. 1998. Propagación vegetativa de especies de Eucalyptus. INIA. Serie de Actividades de Difusión nº 157. 7p.
6. CAMPINHOS, E. 1987. Propagação vegetativa de Eucalyptus spp. por enraizamiento de estacas. In Simposio sobre Silvicultura y Mejoramiento Genético de Especies Forestales,(1987, Buenos Aires, Argentina).Trabajos invitados. Buenos Aires, Argentina, CIEF.pp 208- 214.
7. CARPINETI, L. 1996. Propagación Agámica de Eucalyptus. In Jornadas Forestales de Entre Ríos,(11ª, 1996, Concordia, Argentina).Concordia, Argentina, INTA. pp III-17- III-29.
8. CHAPERON, H. 1987. Vegetative propagation of Eucalyptus. In Simposio sobre Silvicultura y Mejoramiento Genético de Especies Forestales,(1987, Buenos Aires, Argentina).Trabajos invitados. Buenos Aires, Argentina, CIEF. pp 215-228.
9. DENISON, N.P; KIETZKA, J.E. 1993. The Development and Utilisation of Vegetative Propagation in Mondi for Commercial Afforestation Programmes. South African Forestry Journal Nº 166 : 53-60.

10. DURAND-CRESSWELL, R; BOULAY, M.; FRANCLLET, A.1985. Vegetative Propagation of Eucalyptus. In Bonga, J.M. and DURZAN, D.J.eds. Tissue Culture in Forestry. 2º ed. Netherlands. Nijhoff, M. and Junk, W. publishers. pp 150-181.
11. FERREIRA, M. 1992. Melhoramento e a Silvicultura Intensiva Clonal. IPEF. Piracicaba nº 45. 8p.
12. ----- ; SANTOS, P.E.T. 1997. Melhoramento Genético Florestal dos Eucalyptus no Brasil. Breve Histórico e Perspectivas. In Conferência IUFRO sobre Silvicultura e Melhoramento de Eucaliptos. (1997, Salvador, Brasil) Anais. EMBRAPA, COLOMBO. pp 14 - 31.
13. GOMES, F.; COUCELO, F. 1992. Micropropagation of Eucalyptus globulus. In Workshop Eucalyptus for Biomass Production. J.S.Pereira y H.Pereira Editores. Lisboa. 1992. pp 171-173.
14. GUTIERREZ, B . 1995. Consideraciones sobre la fisiología y el estado de madurez en el enraizamiento de estacas de especies forestales. Ciencia e Investigación Forestal. 9(2) : 261-277.
15. HARTMANN, H.T; KESTER, D.E. Propagación de plantas ; principios y prácticas. México, CECSA, 1976. 810 p.
16. HARTNEY, V. 1980. Vegetative Propagation of eucalypts. Australian Forestry Research. 10(3) : 191-211.
17. HERMAN, B ; DENISON, G ; FRIEDMAN, G ; LE ROUX, J. J; McKELLAR, D. 1991. Biotechnology / Vegetative propagation in Mondi. In Symposium on Intensive Forestry, (1º, 1991, Durban, South Africa). The role of Eucalyptus. Durban, South Africa, IUFRO. pp. 94-103.
18. IPINZA, R.; GUTIERREZ, B. 1992. Resultados preliminares de un ensayo de enraizamiento de estaquillas de Eucalyptus globulus ssp. globulus. Ciencia e Investigación Forestal. 6(1): 62-79.
19. ----- ; CHUNG, P. 1994. La Propagación Vegetativa en la Producción de Eucaliptos. Ciencia e Investigación Forestal. 8(1) : 148-156.

20. MACRAE, S.; COTTERILL, P.P. 1997. Macropropagation and Micropropagation of *Eucalyptus globulus* : Means of Capturing Genetic Gain. In Conferência IUFRO sobre Silvicultura e Melhoramento de Eucaliptos. (1997, Salvador, Brazil), EMBRAPA, COLOMBO. pp 102-109.
21. MAILE, N; NIEUWENHUIS, M. 1996. Vegetative Propagation of *Eucalyptus nitens* using stem cuttings. *South African Forestry Journal* N° 175 : 29-34.
22. MAJOR, G ; KRAUSE, M ; ROSS, S; TRUJILLO, Y. Micropropagación de árboles adultos de *Eucalyptus grandis* (Hill) Maiden. In Congreso Nacional de Ingeniería Agronómica, (6°, 1993, Montevideo), 1993. Trabajos presentados. Montevideo, Asociación de Ingenieros Agrónomos del Uruguay. pp. III13-III14.
23. MARIEN, J.N. Clonal Forestry in Morocco. Propagation and Maturation Problems. In Symposium on Intensive Forestry, (1°, 1991, Durban, South Africa), 1991. The role of *Eucalyptus*. Durban, South Africa, International Union of Forestry Research Organizations. pp. 126-132.
24. QUIJADA, M. 1980. Métodos de Propagación Vegetativa. In Mejora genética de árboles forestales. Roma, FAO, pp 189-196 (Estudio FAO : Montes. N° 20).
25. ROJAS, P ; ARCE, P; ARRIAGADA, M. 1987. Propagación vegetativa por estacas en *Eucalyptus camaldulensis*. *Ciencia e Investigación Forestal*. 1(2) : 1-9.
26. SHIMIZU, J.Y. 1988. La propagación vegetativa en el mejoramiento genético de plantaciones industriales. *Ciencia e Investigación Forestal*. 2(4) : 28-33.
27. TAKAMICHI, S. 1995. Ensayos de estacas de *Eucalyptus* y sus Perspectivas Futuras (Consiste principalmente en la especie *grandis*). INIA. Serie de Actividades de Difusión n°68. 19 p.
28. WEAVER, R.J. 1976. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura . México, Trillas. 622 p.
29. WIGNALL, T.A ; BROWN, S.N.; PURSE, J.G. The Intensive Cultivation of *Eucalyptus grandis* Clonal Stockplants in Glasshouses. In Symposium on Intensive Forestry, (1°, 1991, Durban, South Africa), 1991. The Role of *Eucalyptus*. Durban, South Africa, International Union of Forestry Research Organizations. pp. 162-179.

30. ZOBEL, B.; TALBERT, J. 1992. Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales. México, Limusa. 545 p.

9. ANEXO

ANEXO 1

Cuadro N° 24. Datos obtenidos en la casilla meteorológica correspondientes al período 10/12/97 - 4/02/98.

	Temperatura mínima (°c)	Temperatura máxima (°c)	Temperatura promedio(°c)	Humedad promedio(%)	Precipitaciones (mm)
Mínima	10	18	16,5	66,5	-----
Máxima	23,5	36,6	27,7	98,2	-----
Promedio	17,12	26,60	21,68	80,32	-----
Total	-----	-----	-----	-----	743,1

ANEXO 2

Cuadro N° 25. Lista de clones integrantes del banco clonal de la Unidad Exp. "La Magnolia".

CODIGO	IDENTIFICACION
1	VS11 (Villasboas)
2	VS8 (Villasboas)
3	VS13 (Villasboas)
4	VS4 (Villasboas)
5	VS7 (Villasboas)
6	JLS/N (Juan Lacaze)
7	U5 (UTE, Rincón del Bonete)
8	U6 (UTE, Rincón del Bonete)
9	U2 (UTE, Rincón del Bonete)
10	JL1 (Juan Lacaze)
11	JL8 (Juan Lacaze)
12	BIC3 (Bicentenario, Bañado de Medina)
13	JL22 (Juan Lacaze)

Nota : los nombres de los clones se refieren a la localización geográfica del árbol "plus" de donde fue extraído el material madre. Los códigos de esta lista se corresponden con el esquema del banco clonal citado a continuación.

Cuadro N° 26. Esquema del banco clonal de *Eucalyptus grandis* de la Unidad Experimental "La Magnolia".

BLOQUE I

2	2	2	2	8	8	8	8	9	9	9	9
2	2	2	2	8	8	8	8	9	9	9	9
6	6	6	6	4	4	4	4	1	1	1	1
6	6	6	6	4	4	4	4	1	1	1	1
7	7	7	7	3	3	3	3	5	5	5	5
7	7	7	7	3	3	3	3	5	5	5	5

BLOQUE II

5	5	5	5	1	1	1	1	7	7	7	7
5	5	5	5	1	1	1	1	7	7	7	7
4	4	4	4	8	8	8	8	9	9	9	9
4	4	4	4	8	8	8	8	9	9	9	9
6	6	6	6	3	3	3	3	2	2	2	2
6	6	6	6	3	3	3	3	2	2	2	2

BLOQUE III

4	4	4	4	7	7	7	7	5	5	5	5
10	10	10	4	7	7	7	7	5	5	5	5
11	11	11	6	1	1	1	1	3	3	3	3
11	11	11	6	1	1	1	1	3	3	3	3
9	9	9	9	8	8	8	8	2	2	2	2
9	9	9	9	8	8	8	8	2	2	2	2

BLOQUE IV

11	11	6	6	5	5	5	5	8	8	8	8
11	11	6	6	5	5	5	5	8	8	8	8
12	12	1	1	2	2	2	2	9	9	9	9
12	12	1	1	2	2	2	2	9	9	9	9
10	10	4	4	7	7	7	7	3	3	3	3
10	10	10	4	13	7	7	7	3	3	3	3

ANEXO 3

Instrumental utilizado en la colecta, preparación y evaluación de las estacas.

En la colecta del material se utilizaron los siguientes instrumentos:

- mochila de aspersión para la aplicación de Benlate, de 2 lt de capacidad
- tres tijeras de podar
- dos conservadoras para mantener el material refrigerado durante el traslado y posterior preparación de las estacas
- líquido refrigerante en contenedores de plástico
- bolsas de polietileno para guardar el material colectado, identificadas según el clon.

Para la preparación de las estacas se utilizaron:

- tres tijeras de podar
- doce frascos de una capacidad de 250 ml para sumergir las estacas en Raizal
- vasos de Bohemia de 80 ml para regar las estacas ya plantadas con Raizal
- bandejas de plástico para colocar las estacas
- agua destilada
- cera antifúngica y antitranspirante.

En la etapa de evaluación se usó:

- regla milimetrada
- fotocopidora y hojas de fotocopia
- pinza de laboratorio (para separar las raíces)
- bandejas plásticas

ANEXO 4

Fórmulas utilizadas en el análisis estadístico.

Modelo Lineal Generalizado.

$$\log (p/1-p) = u + C + S + E + H + C \times S + C \times E + C \times H + S \times E + S \times H + E \times H + \\ C \times S \times E + C \times S \times H + S \times E \times H + C \times E \times H + C \times S \times E \times H$$

donde : p = porcentaje
 u = media
 C = efecto clon
 S = efecto sustrato
 E = efecto envase
 H = efecto hormona
 x = interacción

Fórmula para transformar las medias del Modelo Lineal Generalizado.

$$P = e (\exp u + C + S + E \dots) / 1 + e (\exp u + C + S + E \dots)$$

ANEXO 5

SOBREVIVENCIA.

Cuadro N° 27. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de sobrevivencia.

Fuente	DF	Chi Cuadrado	Nivel de significancia (Pr > chi)
Clon	1	4,1038	0,0428
Sustrato	1	16,1586	0,0001
Clon x Sustrato	1	0,4399	0,5072
Envase	1	18,7747	0,0001
Clon x Envase	1	0,8660	0,3521
Sustrato x Envase	1	20,9728	0,0001
Clon x Sus. x Env.	1	2,9436	0,0862
Fitoregulador	1	3,9243	0,0476
Clon x Fitoregulador	1	0,0652	0,7984
Sustrato x Fitoregulador	1	16,2441	0,0001
Clon x Sus. x Fit.	1	1,4046	0,2360
Envase x Fitoregulador	1	4,1110	0,0426
Clon x Env. x Fit.	1	0,0089	0,9250
Sus x Env. x Fit.	1	5,5188	0,0188
Clon x Sus. x Env. x Fit.	1	7,4958	0,0062

ANEXO 6

ESTRUCTURAS RADICULARES.

Cuadro N° 28. Niveles de significancia para los factores y sus interacciones para el porcentaje de estacas con estructuras radiculares.

Fuente	DF	Chi Cuadrado	Nivel de significancia (Pr > chi)
Clon	1	2,4148	0,1202
Envase	1	18,0049	0,0001
Clon x Envase	1	0,9997	0,3174
Sustrato	1	9,7251	0,0018
Sustrato x Clon	1	0,2425	0,6224
Envase x Sustrato	1	18,9994	0,0001
Envase x Sustrato x Clon	1	1,3745	0,2410
Fitoregulador	1	0,0014	0,9698
Clon x Fitoregulador	1	3,8051	0,0511
Envase x Fitoregulador	1	1,2065	0,2720
Env. x Fit. x Clon	1	3,8173	0,0507
Sustrato x Fitoregulador	1	13,4417	0,0002
Sus. x Fit. x Clon	1	0,7207	0,3959
Env. x Sus. x Fit.	1	3,3040	0,0691
Clon x Sus. x Env. x Fit.	1	9,4416	0,0021

Cuadro N° 29. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para el porcentaje de estacas con estructuras radiculares.

Fitoregulador	% de estructuras radiculares
AIB	67,50
Formulado comercial	63,33

ANEXO 7

CALLOS.

Cuadro N° 30. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de callos.

Fuente	DF	Chi Cuadrado	Nivel de significancia (Pr > chi)
Clon	1	0,1070	0,7435
Envase	1	0,2139	0,6437
Clon x Envase	1	1,2591	0,2618
Fitoregulador	1	9,5387	0,0020
Clon x Fitoregulador	1	8,5748	0,0034
Envase x Fitoregulador	1	2,0416	0,1530
Clon x Env. x Fit.	1	0,6235	0,4297
Sustrato	1	2,8401	0,0919
Clon x Sustrato	1	0,0384	0,8447
Envase x Sustrato	1	3,2245	0,0725
Clon x Env. x Sus.	1	0,9199	0,3375
Fitoregulador x Sustrato	1	1,0473	0,3061
Clon x Fit. x Sus.	1	7,9769	0,0047
Env. x Fit. x Sus.	1	0,5850	0,4443
Clon x Env. x Fit. x Sus.	1	0,3687	0,5437

Cuadro N° 31. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para el porcentaje de callos.

FACTOR	TIPO	PORCENTAJE DE CALLOS
Clon	VS13	12,10
	VS8	1,18
Envase	Bolsa	12,68
	Tubete	1,12
Sustrato	Plantmax	16,55
	Vermiculita	0,82

Cuadro N° 32. Resultados de los tratamientos para el porcentaje de callos.

Clon	Tratamiento	Porcentaje de callos
VS8	PIBoAIB	9,52
VS8	PIBoRaiz	15,00
VS8	PITuAIB	11,11
VS8	PITuRaiz	33,33
VS8	VeBoAIB	5,88
VS8	VeBoRaiz	50,00
VS8	VeTuAIB	0,00
VS8	VeTuRaiz	41,38
VS13	PIBoAIB	9,52
VS13	PIBoRaiz	16,67
VS13	PITuAIB	15,38
VS13	PITuRaiz	35,00
VS13	VeBoAIB	13,33
VS13	VeBoRaiz	5,00
VS13	VeTuAIB	9,09
VS13	VeTuRaiz	7,14

ANEXO 8

CALLOS CON PRIMORDIOS RADICULARES.

Cuadro N° 33. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de callos con primordios radiculares.

Fuente	DF	Chi Cuadrado	Nivel de significancia (Pr > chi)
Clon	1	33,3793	0,0001
Envase	1	0,0401	0,8412
Clon x Envase	1	10,3870	0,0013
Fitoregulador	1	4,6760	0,0306
Clon x Fitoregulador	1	4,1614	0,0414
Envase x Fitoregulador	1	1,8765	0,1707
Clon x Env. x Fit.	1	1,7368	0,1875
Sustrato	1	0,1037	0,7474
Clon x Sustrato	1	4,7378	0,0295
Envase x Sustrato	1	1,7106	0,1909
Clon x Env. x Sus.	1	0,5957	0,4402
Fitoregulador x Sustrato	1	0,0030	0,9561
Clon x Fit. x Sus.	1	1,4615	0,2267
Env. x Fit. x Sus.	1	0,2455	0,6203
Clon x Env. x Fit. x Sus.	1	2,0994	0,1474

Cuadro N° 34. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para el porcentaje de callos con primordios radiculares.

FACTOR	TIPO	% CALLOS CON PRIMORDIOS RADICULARES
Sustrato	Vermiculita	40,44
	Plantmax	38,17
Envase	Bolsa	40,00
	Tubete	38,60

Cuadro N° 35. Resultados de los tratamientos para el porcentaje de callos con primordios radiculares.

Clon	Tratamiento	% callos con primordios radiculares
VS8	PIBoAIB	19,05
VS8	PIBoRaiz	30,00
VS8	PITuAIB	29,63
VS8	PITuRaiz	33,33
VS8	VeBoAIB	5,88
VS8	VeBoRaiz	14,29
VS8	VeTuAIB	53,85
VS8	VeTuRaiz	17,24
VS13	PIBoAIB	47,62
VS13	PIBoRaiz	75,00
VS13	PITuAIB	30,77
VS13	PITuRaiz	45,00
VS13	VeBoAIB	60,00
VS13	VeBoRaiz	85,00
VS13	VeTuAIB	36,36
VS13	VeTuRaiz	78,57

ANEXO 9

RAICES.

Cuadro N° 36. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de raíces.

Fuente	DF	Chi Cuadrado	Nivel de significancia (Pr > chi)
Clon	1	21,8693	0,0001
Envase	1	0,0175	0,8947
Clon x Envase	1	8,0167	0,0046
Fitoregulador	1	26,7441	0,0001
Clon x Fitoregulador	1	0,9127	0,3394
Envase x Fitoregulador	1	0,6227	0,4301
Clon x Env. x Fit.	1	0,9083	0,3406
Sustrato	1	0,1073	0,7433
Clon x Sustrato	1	0,1890	0,6637
Envase x Sustrato	1	0,0219	0,8822
Clon x Env. x Sus.	1	0,0736	0,7862
Fitoregulador x Sustrato	1	0,0491	0,8247
Clon x Fit. x Sus.	1	0,4138	0,5201
Env. x Fit. x Sus.	1	0,3515	0,5533
Clon x Env. x Fit. x Sus.	1	3,1667	0,0752

Cuadro N° 37. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para el porcentaje de raíces.

FACTOR	TIPO	% DE RAICES
Sustrato	Plantmax	40,37
	Vermiculita	38,07
Envase	Bolsa	39,68
	Tubete	38,75

ANEXO 10

LONGITUD RADICULAR.

Cuadro N° 38. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para la longitud radicular.

Fuente	NDF	DDF	F	Nivel de significancia (Pr > F)
Clon	1	96	0,30	0,5864
Envase	1	96	4,35	0,0398
Clon x Envase	1	96	1,75	0,1886
Sustrato	1	96	0,04	0,8502
Clon x Sustrato	1	96	1,03	0,3123
Envase x Sustrato	1	96	2,39	0,1257
Clon x Env. x Sus.	1	96	0,35	0,5547
Fitoregulador	1	96	8,60	0,0042
Clon x Fitoregulador	1	96	0,02	0,8921
Envase x Fitoregulador	1	96	0,00	0,9488
Clon x Env. x Fit.	1	96	0,26	0,6098
Sustrato x Fitoregulador	1	96	0,38	0,5405
Clon x Sus. x Fit.	1	96	0,03	0,8704
Env. x Sus. x Fit.	1	96	1,30	0,2579

Cuadro N° 39. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para la longitud radicular.

FACTOR	TIPO	LONGITUD RADICULAR PROMEDIO (cm)
Clon	VS8	18,11
	VS13	16,87
Sustrato	Vermiculita	17,66
	Plantmax	17,32

Cuadro N° 40. Resultados de los tratamientos para la longitud radicular.

Clon	Tratamiento	Longitud radicular promedio (cm)
VS8	PIBoAIB	14,91
VS8	PIBoRaiz	12,27
VS8	PITuAIB	23,12
VS8	PITuRaiz	16,30
VS8	VeBoAIB	0,00
VS8	VeBoRaiz	14,63
VS8	VeTuAIB	11,24
VS8	VeTuRaiz	15,98
VS13	PIBoAIB	13,89
VS13	PIBoRaiz	13,50
VS13	PITuAIB	26,83
VS13	PITuRaiz	17,73
VS13	VeBoAIB	17,20
VS13	VeBoRaiz	8,00
VS13	VeTuAIB	21,70
VS13	VeTuRaiz	16,10

ANEXO 11

BROTACION.

Cuadro N° 41. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para el porcentaje de brotación.

Fuente	DF	Chi Cuadrado	Nivel de significancia (Pr > chi)
Clon	1	6,9157	0,0085
Sustrato	1	0,3835	0,5357
Clon x Sustrato	1	0,5912	0,4419
Envase	1	5,2774	0,0216
Clon x Envase	1	0,7221	0,3955
Sustrato x Envase	1	9,9864	0,0016
Clon x Sus. x Env.	1	0,0000	0,9979
Fitoregulador	1	0,5912	0,4419
Clon x Fitoregulador	1	2,8524	0,0912
Sustrato x Fitoregulador	1	13,5222	0,0002
Clon x Sus. x Fit.	1	0,2297	0,6318
Envase x Fitoregulador	1	0,0000	0,9979
Clon x Env. x Fit.	1	4,3445	0,0371
Sus. x Env. x Fit.	1	1,0624	0,3027
Clon x Sus. x Env. x Fit.	1	12,9866	0,0003

Cuadro N° 42. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para el porcentaje de brotación.

FACTOR	TIPO	% DE BROTACION
Fitoregulador	Formulado comercial	63,33
	AIB	60,42
Sustrato	Vermiculita	63,33
	Plantmax	60,42

ANEXO 12

LONGITUD DE BROTES.

Cuadro N° 43. Niveles de significancia de los factores y sus interacciones para la longitud de brotes.

Fuente	NDF	DDF	F	Nivel de significancia (Pr > F)
Clon	1	282	13,80	0,0002
Sustrato	1	282	0,90	0,3432
Clon x Sustrato	1	282	1,10	0,2957
Envase	1	282	5,23	0,0229
Clon x Envase	1	282	15,53	0,0001
Sustrato x Envase	1	282	7,14	0,0080
Clon x Sus. x Env.	1	282	4,93	0,0271
Fitoregulador	1	282	66,27	0,0001
Clon x Fit.	1	282	3,42	0,0653
Sustrato x Fitoregulador	1	282	2,40	0,1228
Clon x Sus. x Fit.	1	282	0,25	0,6162
Envase x Fitoregulador	1	282	6,43	0,0118
Clon x Env. x Fit.	1	282	5,41	0,0207
Sus. x Env. x Fit.	1	282	8,75	0,0034
Clon x Sus. x Env. x Fit.	1	282	8,08	0,0048

Cuadro N° 44. Promedios de los factores no significativos al 0,05 para la longitud de brotes.

FACTOR	TIPO	PROMEDIO PARA LARGO DE BROTES (cm)
Sustrato	Plantmax	6,54
	Vermiculita	5,92

ANEXO 13**FOTOS**

Foto N° 1 - Cepa con brotes en el banco clonal de "La Magnolia".



Foto N° 2 - Estaca con callo.

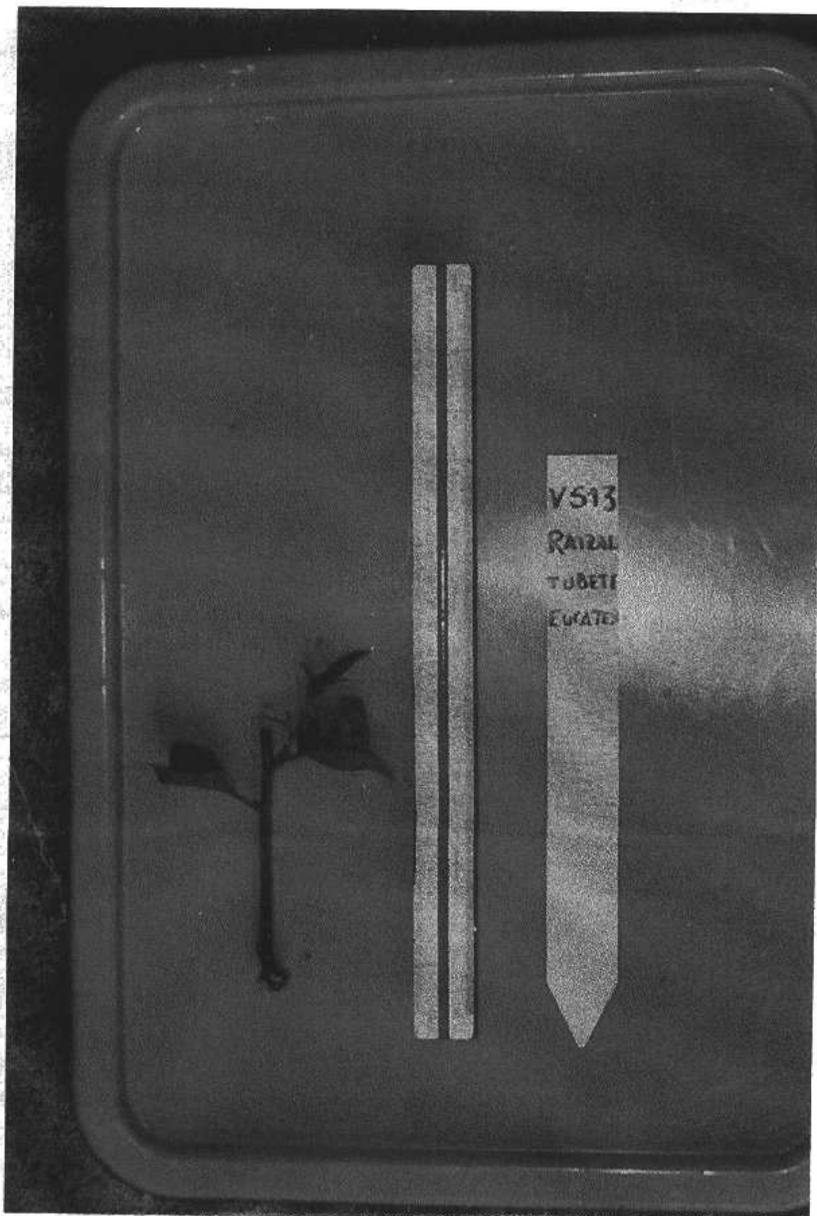


Foto N° 3 - Estaca con sistema radicular desarrollado.

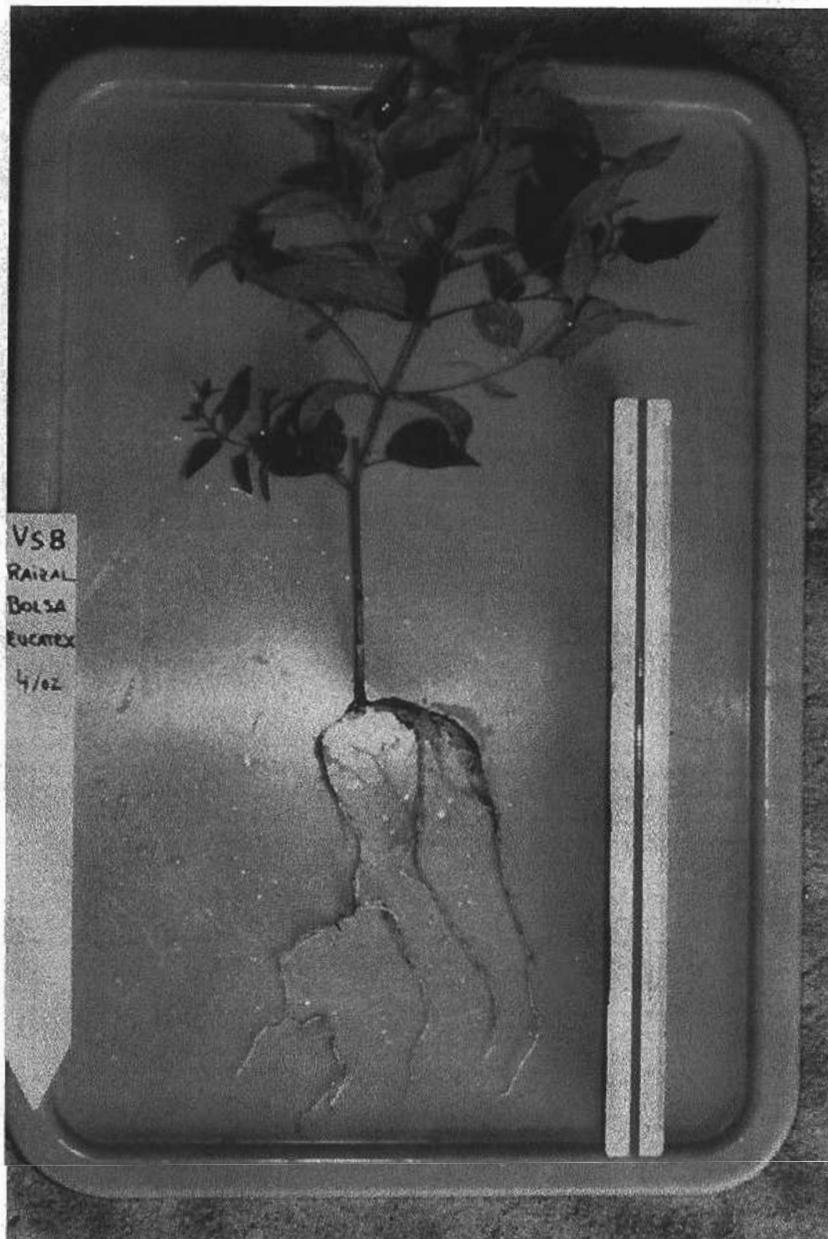


Foto N° 4 - Detalle del sistema radicular.



Foto N° 5 - Estacas brotadas.

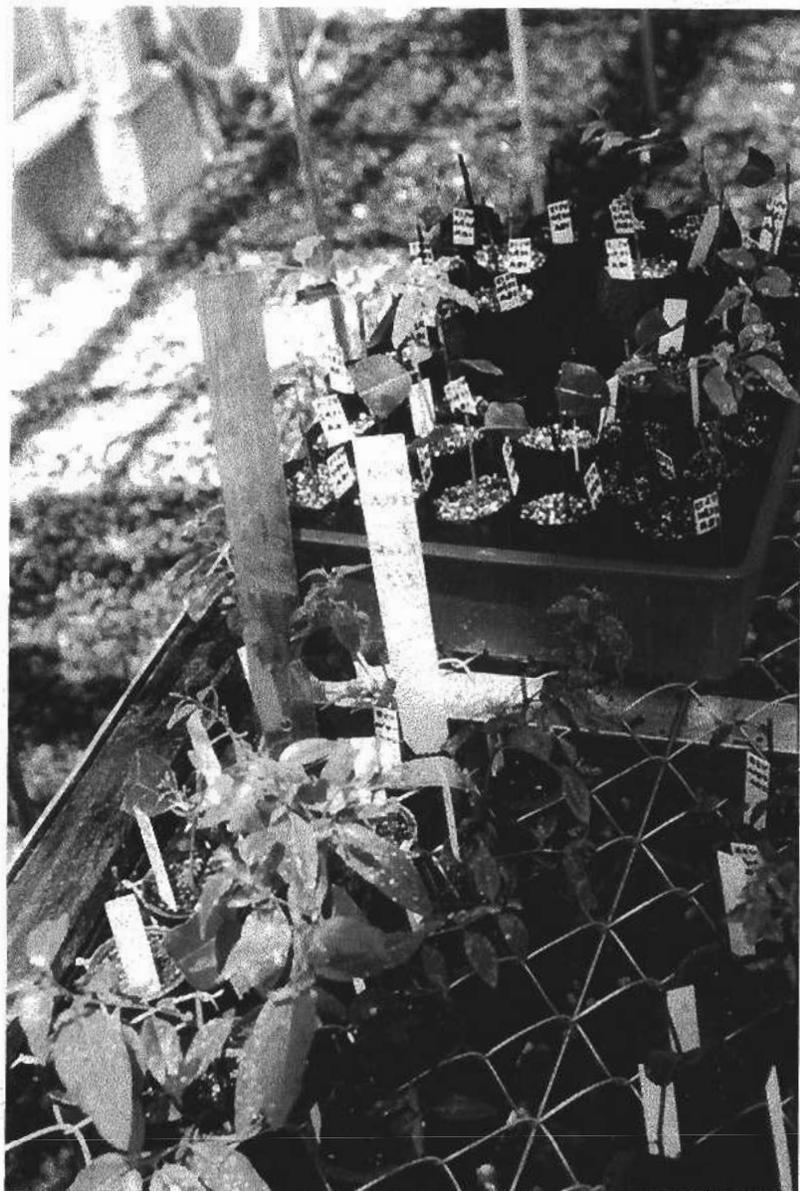


Foto N° 6 - Detalle de estaca brotada.

