



Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

TRABAJO FINAL

“Evaluación del crecimiento vegetativo de plantas madres de diferentes portainjertos del género *Prunus* sp. para la obtención de estacas leñosas”

Alumno: Rivas, Martín Alejandro

Nº de Legajo: 26057/8

D.N.I. 31760920

Correo electrónico: martinrivas@hotmail.com

Teléfono: (0299)15-5782946

Director: Ing. Agr. Romero, María de los Ángeles

Co-Director: Dr. Gustavo E. Gergoff Grozeff

Fecha de entrega: Octubre de 2017

Expediente 200-1397/15

Agradecimientos

Agradezco enormemente a quien defienden y construyen la educación pública, gratuita y de calidad.

A mi Directora y co-director de tesis, Marita y Gustavo quienes me abrieron las puertas de la cátedra sin haber cursado la materia, mi agradecimiento infinito y mi admiración eterna, no solo por su profesionalidad sino por su calidez humana.

A mis viejos por dejar irme de casa cuando solo tenía 13 años y ausentarme de casa por 4 años para ir a cumplir un sueño. Hoy valoro su decisión como uno de los gestos de amor grandes de la tierra.

A mis hermanos Israel, Paula y Franco porque son todo lo que quiero ser.

A mi novia por compartir su vida conmigo, nada hubiera sido lo mismo sin su amor.

A mis amigos de cualquier parte del país, todos ellos son imprescindibles para mí.

ÍNDICE GENERAL

	<i>Pág.</i>
RESUMEN	4
1. INTRODUCCIÓN	5
2. HIPOTESIS	8
3. OBJETIVOS	8
4. MATERIALES Y MÉTODOS	9
5. RESULTADOS	12
6. DISCUSIÓN	21
7. CONCLUSIONES	25
8. BIBLIOGRAFIA	26

Resumen

La multiplicación agámica de frutales requiere de ciertas normas de calidad en cuanto a sanidad e identidad certificada, siendo uno de los principales desafíos de la producción viverística. Las Plantas Madres (PM) requieren de un manejo adecuado de la poda, la fertilización, el contenido de carbohidratos y de luz, para favorecer la obtención de las ramas que originan las estacas. En la presente investigación el material vegetal a estudiar se encuentra en el vivero ubicado en la Estación Experimental Julio Hirschhorn de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la U.N.L.P. (Lat. 34° 52' S y Long. 57° 58'). En el sector estaquero de PM con un diseño de plantación en "seto simple" distribuidas en dos densidades.

El ensayo evalúa el crecimiento vegetativo de las ramas de las PM del género *Prunus sp.* (Julior Ferdor, Mr.S 2/5 y San Julián) bajo dos densidades de plantación. A partir de ello se evaluó la capacidad de producir estacas y el desempeño en la formación de callos. Se midieron la longitud, el peso de la madera, la formación de callo y brotes, junto con la concentración de azúcares totales, reductores y la concentración de proteínas solubles, en estacas leñosas.

En base a los resultados obtenidos, el mayor distanciamiento entre plantas se comporta de manera positiva, para el número de ramas de madera para los tres portainjertos (PI), no así con el vigor, el cual disminuyó en términos generales. Con respecto al contenido de azúcares totales y reductores, el mayor distanciamiento aumenta el contenido de éstos en los tres PI, pero en cuanto al contenido de proteínas solubles, los resultados son dispares entre portainjertos.

Por lo tanto se presume que el proceso de producción de estacas en plantas madres es complejo y se podría suponer que el distanciamiento es otro de los factores que lo determinan.

Palabras claves: Vivero, plantas madres, estaca, Julior Ferdor, Mr.S 2/5, San Julián

1. INTRODUCCIÓN

La producción de plantas frutales de calidad con sanidad e identidad certificada es uno de los desafíos a tener en cuenta al momento de plantear un sistema productivo. La obtención de dichas plantas se concreta a partir del manejo en el vivero. Actividad regulada por la ley de semillas y creaciones fitogenéticas, Ley 20.247/73 del Poder Ejecutivo Nacional Resolución 149/98. Esta ley establece las normas para la producción y comercialización de plantas de vivero, protege al usuario de plagas y enfermedades, asegurándose la sanidad e identidad varietal, genera protección a los derechos de obtentor de nuevos materiales genéticos y consolida los programas de sanidad llevados a cabo por SENASA.

Existen diferentes sistemas de propagación vegetativa, agámica o asexual, de los cuales los más utilizados son el de estaca, el acodo, el injerto y últimamente el cultivo de tejido *in vitro* (Hartmann y Kester, 1999).

Esta forma de propagación consiste en la multiplicación de individuos a partir de porciones vegetativas, en virtud de la capacidad que tienen esos fragmentos para regenerar tallos o raíces. Esto es posible gracias a dos características de las células de los tejidos vegetales, las cuales son la totipotencia (las células poseen la información genética para generar un individuo completo) y la dediferenciación (capacidad de las células especializadas, que cumplen funciones en un determinado tejido, de regresar a un estado meristemático) (Hartmann y Kester, 1999a).

La multiplicación de ejemplares comerciales frutícolas, como por ejemplo el ciruelo (*Prunus ssp.*) se realiza mediante la técnica de injertación, que conlleva el uso de púas y portainjertos (PI) de variado crecimiento, vigor y precocidad. Mediante la cual se obtienen árboles que están formados por el PI, que aportara la raíz y base del tronco y por la púa o injerto, que contribuye con la parte aérea (Hartmann y Kester , 1999b).

Una de las formas de obtención del PI se realiza mediante el uso de material de propagación vegetativo (estaca leñosa). La extracción de las mismas se efectúa en el sector de plantas madres (PM) conducidas al aire libre. Las PM se caracterizan por ser de tamaño reducido tipo “seto”, el cual se logra mediante podas anuales, que tiene por objetivo mantener su ciclo biológico en una fase juvenil, la que se ubica en la zona basal de los árboles con alto potencial de enraizamiento natural. Esta condición se explica en

mayor medida por la fisiología de la planta, debido a que las raíces se generan a partir del floema secundario joven y a que su relación C/N alta indica la acumulación de carbohidratos que luego tendrán un rol fundamental para abastecer al sistema radicular en crecimiento. Kraus (1925) a principios del S XX destaca que en la fase juvenil la relación C/N es alta mientras que en la etapa adulta, es baja. Otros trabajos en duraznero determinan que la relación C/N se ve influenciada por la poda y que el nitrógeno se encuentra limitado de acuerdo a la cantidad de destinos (Mediene *et al.*, 2002). En el caso del manzano, Cheng y Fuchigami (2002) encontraron que la relación entre el contenido de nitrógeno y carbono, influencia fuertemente el crecimiento y vigor de las plantas. Por otro lado, los carbohidratos libres en las plantas tienen una gran preponderancia en el crecimiento en general y en la dominancia apical (Van der Ende, 2014), como lo es también la concentración de auxinas (Salisbury y Ross, 1992). La importancia del estado nutricional de los órganos vegetales destinados a la propagación, fue descrita por Baldini (1992), con especial referencia al papel de los carbohidratos. Campana y Ochoa (2006) hacen referencia a cuatro aspectos básicos que deben cumplir las PM, a saber:

IDENTIDAD: se deben propagar plantas de identidad conocidas, con características típicas de la especie o cultivar.

SANIDAD: las PM deben estar libres de cualquier tipo de insectos o enfermedad fúngica, bacteriana, viral u otra.

CRECIMIENTO MODERADO: las PM muy vigorosas o muy débiles tienen dificultades en la multiplicación.

BUEN ESTADO: el plantel de PM debe considerarse cuidadosamente, pues los fenómenos que le ocasionan estrés, como sequías, heladas, defoliaciones, o los descuidos en la nutrición y otras tareas culturales, determinan la obtención de un material de propagación deficiente y con probabilidades menores de alcanzar el éxito.

Baldini (1992), destaca la importancia del manejo de las PM para optimizar la capacidad de enraizamiento de estacas, en cuanto a poda, fertilización, balance en el contenido de carbohidratos y manejo de la luz. Cobianchi *et al.* (1989) sugieren que el manejo adecuado de las PM permite disminuir la pérdida de material durante el enraizamiento de la estaca y posterior injertación.

Durán Torrallardona (1993) afirma que la misión de un PI radica en tres funciones,

primero anclaje, segundo una acción fisiológica (absorción de agua y nutrientes) y por último una actividad biológica, como la de inducir a una variedad a un comportamiento determinado.

Por lo tanto los criterios que se deben tener en cuenta para la elección de un PI son la adaptación al terreno y buena afinidad con la variedad a injertar.

El PI debe adaptar la planta al terreno de acuerdo con:

- La disponibilidad de agua (con o sin irrigación)
- La fertilidad del suelo
- Textura, porosidad, así como también a la capa freática y todo lo que afecta a la aireación y/o el drenaje del mismo.
- El pH
- La presencia de agentes patógenos (nematodos, hongos, bacterias)

Cumplido el requisito elemental de una buena afinidad, el PI influye sobre la variedad en los siguientes aspectos:

- Vigor y desarrollo
- Precocidad de entrada en producción
- Fertilidad y productividad
- Modificando las fechas de maduración de distintas variedades
- Afectando las formas de calibre y coloración de los frutos
- Longevidad a la planta
- Modificando el grado de resistencias o sensibilidad a diferentes patógenos y alteraciones.

Sin embargo hasta la fecha no se han encontrado trabajos que determinen cuál es la densidad óptima de plantación de las plantas madres y de cómo esto influye sobre la producción de estacas leñosas. Tampoco se han realizado evaluaciones en cuanto al contenido de azúcares simples ni de proteínas solubles.

A partir de esto, se han elegido tres variedades del género *Prunus spp.* que se utilizan para la producción de frutales injertados y a continuación se hace referencia de las características de cada uno de ellos:

Julior Ferdor: es un híbrido entre San Julián de Orleáns (*P. insistitia*) y cv.Pershore (*P. domestica*) obtenido por el INRA en la estación de La Grande Ferrad. Provee estiones vigorosas. En los primeros años tiene un buen crecimiento, para luego reducirse. La productividad que induce es buena, aunque en condiciones favorables el vigor produce

una menor floración. La afinidad con durazneros, pelones, ciruelos y damascos es buena. Se comporta bien en suelos con deficiencias de aireación, aunque resulta ser exigente en agua y calidad de suelo. Resulta sensible a la clorosis férrica. Con respecto a los hongos causantes de podredumbres en el suelo se presenta como sensible y al grupo de los nemátodos del género *Meloidogine*, presenta poca susceptibilidad (Loreti y Massai, 1999).

Mr.S 2/5: Esta selección fue efectuada por la Universidad de Pisa, Italia, dentro de una población de Mirabolano bajo condiciones de polinización libre. Su origen es incierto, por cuanto se trata de un pentaploíde espontáneo, probablemente originado por hibridación natural entre *Prunus cerasífera L* y *Prunus spinosa L*. Confiere un vigor de medio a bueno. Tiene un aparato radical potente y de buen anclaje. La afinidad es buena con todos los durazneros y pelones, como así también da buena calidad y productividad con variedades de éstas dos especies. El comportamiento frente a asfixia es muy bueno y frente al calcáreo, se comporta bastante bien. Si bien no tiene una resistencia específica a nemátodos tampoco se ve especialmente afectado por ellos. (Loreti y Massai, 1999). Como desventajas se puede decir que emite brotes de raíz, aunque éstos no son difíciles de eliminar.

San Julián GF-655/2: Corresponde a una selección de ciruelo San Julián de Orleáns (*P. insistitia L.*), llevada a cabo en la Estación de La Grande Ferrade (INRA, Francia). Se trata del PI más enanizante, posee una muy buena productividad y una excelente calidad, como así también una rápida entrada en producción. Tiene muy buena afinidad con todas las variedades de durazneros y pelones, su resistencia a la asfixia radicular es media y se lo debe instalar en terrenos de buena fertilidad. Tiene una buena resistencia a los ataques de *Phitophthora cactorum*, como así también presenta una baja sensibilidad a *Agrobacterium tumefaciens*. No presenta resistencia a la clorosis férrica, a la falta de agua y además emite brotes de raíz. (Loreti y Massai, 1999).

2. HIPOTESIS

El aumento en la distancia de plantación de PM de los portainjertos Julior, Ferdor, Mr.S 2/5 y San Julián GF 655/2, para la obtención de estacas y las podas de recorte intenso repercutirían positivamente en el crecimiento vegetativo, aumentando el rendimiento en estacas leñosas. A su vez una disminución en la densidad de plantas hará que el contenido de azúcares y de proteínas solubles aumente en las estacas leñosas, induciendo de esta manera un mayor peso de los callos.

3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar y cotejar el crecimiento vegetativo de tres variedades de PM del género *Prunus sp.* (Julior Ferdor, Mr.S 2/5 y San Julián) en la obtención de ramas de madera para estacas leñosas y su desempeño en la formación de callos bajo dos densidades de plantación.

Objetivos específicos

- Determinar los crecimientos vegetativos de PM de los PI (Julior Ferdor, Mr.S 2/5 y San Julián) y las diferentes producciones de madera (brindillas, ramas de madera y chuponas) en dos densidades de plantación.
- Cuantificar el contenido de proteínas totales y de carbohidratos simples (azúcares reductores y azúcares totales) en las PM para PI en dos densidades de plantación.
- Evaluar el comportamiento de las estacas de madera básicas con respecto a su capacidad en la formación de callos en las PM para PI en dos densidades de plantación.

4. MATERIALES Y METODOS

El material vegetal se encuentra en el vivero ubicado en la Estación Experimental Julio Hirschhorn de la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales de la U.N.L.P. (Lat. 34° 52' S y Long. 57° 58').

En el sector denominado estaquero de PM de Julior Ferdor, Mr. S 2/5 y San Julián con un diseño de plantación denominado "seto simple" de acuerdo a indicaciones de Ryugo, K. (1993) distribuidas en dos densidades. (Cuadro 1).

Las densidades de plantación utilizadas fueron:

Variedades	Distanciamiento entre plantas y fila 1	Densidad 1	Distanciamiento entre plantas y fila 2	Densidad 2
JuliorFerdor	0,4 m (e/ pl) X 3 m. (e/ pl)	8333.3 pl/ha	0,8 m. (e/ pl) X 3 m. (e/ pl)	4166.6 pl/ha
Mr. S 2/5	0,3 m. (e/ pl) X 3 m. (e/ pl)	11.111;11 pl/ha	0,6m. (e/ pl) X 3 m. (e/ pl)	5.555,55 pl/ha
San Julián	0,35 m. (e/ pl) X 3 m. (e/ pl)	9.523,8 pl/ha	0,7 m. (e/ pl) X 3 m. (e/ pl)	4.761,9 pl/ha

Cuadro 1. Densidades de plantación para cada variedad de planta madre

La orientación de las hileras de plantación es de Noroeste-Sureste, de forma tal que los árboles estén expuestos en la mañana y en la tarde a la luz solar, factor esencial para la acumulación de carbohidratos de reservas.

4.1 Determinaciones en las PM

Se individualizaron 15 ramas por planta de cada variedad, distribuidas en todo el perímetro de la copa.

4.1.1 Longitud de las producciones

Se diferenciaron las producciones en ramas según la longitud. Se midió con cinta métrica en unidades de centímetro

- Brindilla de 2 a 20 cm. de largo
- Ramas de madera (RM) de 20 a 100 cm.
- Chuponas de más de 100 cm. de largo.

4.1.2 Número de yemas

Se contabilizó el número de yemas que se generó a lo largo de la rama seleccionada en la PM.

4.1.3 Diámetro basal de las producciones

Se midió con calibre el diámetro basal de las ramas seleccionadas, expresado en mm.

4.1.4 Peso individual de cada tipo de producción

Luego con balanza de precisión se tomó el peso de cada una en los distintos grupos.

4.1.6 Determinaciones de azúcares totales, reductores y proteína soluble.

Se cortaron discos de la zona basal de las RM para la determinación del contenido de proteínas solubles, azúcares totales y reductores. Las muestras fueron guardadas en freezer a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de las mediciones en el laboratorio.

El contenido de proteína total se realizó de acuerdo a Bradford (1976) y el contenido de azúcares totales y reductores de acuerdo a especificaciones de Yanniccari *et al.* (2012).

4.1.6.1 Preparación del extracto para la determinación de azucares

Se procesaron las muestras en 3 ml de etanol (85 % v/v) con mortero y pilón y se calentó a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos, luego se centrifugó a 10.000 r.p.m. Se extrajo el sobrenadante y se reservó. Luego al tubo con el sobrenadante, se le agregó nuevamente 5 ml de etanol 85% y se calentó a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos. Este proceso se repitió tres veces en total. A partir de la colección del sobrenadante se obtuvo un extracto que fue enrasado a 10 ml. Los extractos etanólicos se guardaron en freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta sus determinaciones.

4.1.6.2 Determinación de azúcares totales

Del extracto de cada muestra se realizaron dos repeticiones tomando 250 μl en cada una. Luego, se le agregó 1 ml de agua bidestilada y 0,5 ml de HCl (0,1 M) a cada una, se agitó suavemente y se llevó a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos. Después de dejarlo enfriar a temperatura ambiente, se incorporó 1 ml del reactivo cúprico (tartrato de potasio y sodio 1,2 % p/v; Na_2CO_3 2,4 % p/v; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,4 % p/v; NaHCO_3 1,2 % p/v y Na_2SO_4 18 % p/v) y se calentó a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 10 minutos. Se dejó enfriar y se agregó 0,5 ml del reactivo arsenomolibdato ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 5 % p/v; H_2SO_4 4,2 % v/v y $\text{Na}_2\text{HASO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,6 % p/v) y se agitó suavemente durante 10 segundos. Finalmente, se enrasó a 25 ml con agua bidestilada y se midió la absorbancia a $\lambda=520\text{nm}$ mediante espectrofotómetro.

La concentración de azúcares se estimó a partir de una curva patrón realizada con diferentes concentraciones de sacarosa (0 a 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$). Finalmente, las mediciones

fueron realizadas por triplicado y los resultados de cada una de las repeticiones fueron promediados.

4.1.6.3 Determinación de azúcares reductores

Se realizaron dos repeticiones por muestra tomando en cada una 250 μ l del extracto etanólico. Se le agregó 1 ml del reactivo cúprico y se calentó a 100 °C durante 10 minutos. Luego, se agregó 0,5 ml del reactivo arsenomolibdato y se agitó suavemente durante 10 segundos. Al igual que en la determinación anterior, se enrasó a 25 ml con agua bidestilada y se midió la absorbancia a $\lambda=520$ nm utilizando un espectrofotómetro.

La concentración de azúcares se estimó a partir de una curva patrón realizada con diferentes concentraciones de sacarosa (0 a 500 μ g ml⁻¹). Finalmente, las mediciones fueron realizadas por triplicado y los resultados de cada una de las repeticiones fueron promediados.

4.1.6.4 Determinación de proteínas

Se colocó el mortero con la muestra en una cubeta con hielo para garantizar la no desnaturalización de las proteínas y se realizó el mortereado de cada muestra. Al extracto se le colocaron 3 ml de reactivo Bradford pH=7,5 y se midieron las muestras en espectrofotómetro a $\lambda=595$ nm. Se utilizó albúmina suero bovino como estándar y cada muestra fue determinada por duplicado.

4.1.7 Capacidad de formación de callos y brotes

Las estacas leñosas obtenidas de las plantas madres de los tres PI de cada ensayo se llevaron a incubación cálida por 15 días a 21 +/- 2°C y se evaluó la capacidad de producción de callos y brotes y los pesos respectivos.

4.1.8 Análisis estadístico

Se utilizó un modelo completamente al azar y se analizaron los datos mediante la prueba ANOVA con un nivel de significancia de 0,05 y en aquellos casos en que se rechace la hipótesis se continuará con el test de Student "t" ($P<0,05$) con los datos de cada muestra. Se utilizó el software de estadística Statgraphics.

5. RESULTADOS

5.1 Longitud de las ramas, numero de nudos y diámetro basal

PM de Julior Ferdor

Como se observa en la tabla 5.1 los valores obtenidos para los tres parámetros de crecimiento, son mayores en la plantación en alta densidad. Esta diferencia entre los promedios es estadísticamente significativa siendo $P < 0.05$.

TABLA 5.1

Julior Ferdor	Alta densidad	Baja densidad	Valor P(*)
LONGITUD (cm)	96,22 b	54,3 a	0.000071
NUDOS(N°)	36,5 b	27,23 a	0.000942
DIAMETRO BASAL (mm)	10,86 b	7,63 a	0.04

* $P < 0.05$

TABLA: promedios de longitud, numero de nudo y diámetro para los dos tratamientos con el valor P según test de Student para una nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

PM Mr. S 2/5

Analizando las variables longitud y nudos la respuesta es similar arrojando diferencias significativas. Mientras que para el diámetro basal vemos que no existen diferencias significativas entre los tratamientos. Tabla 5.2.

TABLA 5.2

MRS	Alta densidad	Baja densidad	Valor P
LONGITUD (cm)	84.94 b	58.33 a	0.016
NUDOS (N°)	29.67 b	23.36 b	0.049
DIAMETRO BASAL (mm)	9.33 a	7.1 a	0.112

TABLA: promedios de longitud, numero de nudo y diámetro para los dos tratamientos con el valor P según test de Student para una nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

PM San Julián

En este caso solo la variable longitud es estadísticamente significativa para los promedios en alta densidad, mientras que para nudos y diámetro no existen diferencias significativas. Tabla 5.3

TABLA 5.3

San Julian	Alta densidad	Baja densidad	Valor P
LONGITUD (cm)	82.43 b	58.3 a	0.018
NUDOS (N°)	35.36 a	41.53 a	0.073
DIAMETRO BASAL (mm)	11.56 a	9.8 a	0.074

TABLA: promedios de longitud, numero de nudo y diámetro en alta y baja densidad con el valor P según test de Student para un nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

5.2 Numero de Ramas

Para poder realizar un mejor análisis estadístico se divide el material en dos categorías de ramas siendo por un lado “ramas de madera” RM (20 a 100 cm) un grupo y el otro será “no ramas de madera” (las que se encuentran por debajo de 20cm y las que superan los 100cm) (BRINDILLAS + CHUPONAS). La finalidad es aumentar el “n” poblacional del grupo “no ramas de madera”. Esta definición solo se hace para el conteo de número de ramas de las diferentes categorías para todas las PM de los PI evaluados

PM de Julior Ferdor

En los tratamientos que correspondieron a este PI la mayor producción de RM dio diferencias significativas a favor de baja densidad

Mientras que para el grupo no ramas de madera (BRINDILLAS y CHUPONAS) la diferencia no es significativa. Tabla 5.4

TABLA 5.4

	Julior Ferdor	Alta densidad (Nº)	Baja densidad (Nº)	Valor P
	RAMA DE MADERA	36,5 a	47,5 b	0,0000007
NO RAMAS DE MADERA				
	BRINDILLA	8,0 a	9,0 a	
				0,161179
	CHUPONA	4,5 a	4,5 a	

TABLA: promedios del N° de varas producidos en alta y baja densidad con el valor P según test de Student para una nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

PM Mr. S 2/5

Para este PI solo se analiza la producción de Rama de Madera, debido a que no hubo crecimientos del segundo grupo “no ramas de madera (BRINDILAS Y CHUPONAS). RM presenta diferencia significativa a favor de las bajas densidades de plantación. Tabla 5.5

TABLA 5.5

	MRS	Alta densidad (Nº)	Baja densidad (Nº)	Valor P
	RAMA DE MADERA	27,5 a	35,5 b	0,0000256
NO RAMAS DE MADERA				
	BRINDILLA	0 a	8.5 b	
				0,0001
	CHUPONA	0 a	1 b	

TABLA: promedios del N° de varas producidos en alta y baja densidad con el valor P según test de Student para una nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

PM San Julián

En este PI el análisis arroja diferencias significativas a favor de la plantación en baja densidad para los dos grupos de ramas estudiados

TABLA 5.6

	San Julián	Alta densidad (Nº)	Baja densidad (Nº)	Valor P
	RAMA DE MADERA	73,5 a	86 b	0,0000041
	BRINDILLA	13 b	11,5 a	
NO RAMAS DE MADERA				0,023
	CHUPONA	8,5 b	7,5 a	
	Total	95	105	

TABLA: promedios del N° de varas producidos en alta y baja densidad con el valor P según test de Student para una nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

5.3 Peso de ramas de madera, brindillas y chuponas en las PM

Julior Ferdor

El marco de plantación en baja densidad presenta mayores promedios de pesos en las tres categorías de ramas, pero las diferencias son significativas en ramas de madera y brindillas.

TABLA 5.7

Juilor Ferdor	Alta densidad (g)	Baja densidad (g)	Valor P
RAMA DE MADERA	72,03 a	87,61 b	0.023
BRINDILLA	18,6 a	29,32 b	0.0078
CHUPONA	269,85 a	278,56 a	0.074

TABLA: promedios de peso de varas producidos en alta y baja densidad con el valor P según test de Student para una nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

PM Mr. S 2/5

En baja densidad las ramas de madera y brindillas tiene promedios significativamente mayores respecto al marco de plantación de alta densidad. Respectos a ramas chuponas el promedio también difiere significativamente salvo que el promedio es mayor en ramas chuponas.

TABLA 5.8

Mr. S 2/5	Alta densidad (g)	Baja densidad (g)	Valor P
RAMA DE MADERA	72,03 a	87,61 b	0.023
BRINDILLA	18,6 a	29,32 b	0.0078
CHUPONA	269,85 a	278,56 a	0.074

TABLA: promedios de peso de varas producidos en alta y baja densidad con el valor P según test de Student para una nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

PM San Julián

Las ramas de madera de San Julián se comportan de igual forma que Julior Ferdor. Las diferencias significativas en los promedios del peso son mayores en baja densidad tanto para ramas de madera y brindillas, ocurriendo lo contrario en ramas chuponas donde el promedio es mayor en altas densidades pero la diferencia no es significativa.

TABLA 5.9

San Julian	Alta densidad (g)	Baja densidad (g)	Valor P
RAMA DE MADERA	71,58 a	100,85 b	0.016
BRINDILLA	40,42 b	28,6 a	0.0003
CHUPONA	323,74 a	295,8 a	0.329
Total	95	105	

TABLA: promedios de peso de varas producidos en alta y baja densidad con el valor P según test de Student para un nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

5.4 Resultado de azúcares totales

La concentración de azúcares totales varió significativamente. El mayor distanciamiento entre plantas (menor densidad) posee mayor contenidos de los mismos y esto se refleja en las tres variedades.

TABLA 5.10

	Alta densidad (mg g ⁻¹)	Desvio standar	Baja densidad (mg g ⁻¹)	Desvio standar
JULIOR FERDOR	2.75 a	0.77	6.85 b	1.25
Mr. S 2/5	3.45 a	1.38	6.71 b	0.41
SAN JULIAN	2.3 a	0.66	6.05 b	0.51

TABLA: Promedio de concentración de azúcares totales y valoración de diferencias significativas según test estadístico ANOVA

5.5 Resultados de azúcares reductores

De la misma manera que con el contenido de azúcares totales, se detecta una mayor concentración de azúcares reductores a baja densidad en los tres PI e inclusive el Mr. S 2/5 se diferenció aún más de los restantes para baja densidad.

TABLA 5.11

	Alta densidad (mg/gr)	Desviostandar	Baja densidad (mg/gr)	Desviostandar
JULIOR FERDOR	2,33 a	0,42	4,36 b	0,80
Mr. S 2/5	2,48 a	0,57	6,68 c	1,87
SAN JULIAN	1,87 a	0,33	4,43 b	0,74

TABLA: Promedio de concentración de azúcares totales y valoración de diferencias significativas según test estadístico ANOVA

5.6 Resultado de las concentraciones de proteínas

Las diferentes variedades de portainjertos no presentaron diferencias significativas en el contenido de proteínas totales cuando fueron plantadas a alta densidad (Tabla 9). Por otro lado, al disminuir la densidad de plantación, solamente Mr. S 2/5 aumentó el contenido de proteínas totales, mientras que Julior Ferdor no mostró diferencias y San Julián disminuyó su contenido.

TABLA 5.12

	Alta densidad (mg/gr)	Desviostandar	Baja densidad (mg/gr)	Desviostandar
JULIOR FERDOR	2,63 bc	0,65	2,8bc	0,3
Mr. S 2/5	2,48 ab	0,59	3,2 c	0,5
SAN JULIAN	2,95 bc	0,60	2,0 a	0,4

TABLA: Promedio de concentración de azúcares totales y valoración de diferencias significativas según test estadístico ANOVA

5.7 Peso de las estacas

En cuanto a este parámetro, la alta densidad presentó estacas más pesadas que las que crecieron en bajas densidades. Este efecto se produjo en las PM de los tres PI, habiendo una caída altamente significativa para el PI Mr. S 2/5.

TABLA 5.13

	VARIETADES	Alta densidad (gr)	Baja densidad (gr)	Valor P
	JULIOR FERDOR	17,03 b	11,92 a	0,0148
	Mr. S 2/5	13,69 b	6,15 a	0,0001
	SAN JULIAN	19,57 a	14,37 a	0,084
	Total	95	105	

TABLA: promedios de peso de estacas de los diferentes PI producidos en alta y baja densidad con el valor P según test de Student para una nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

5.8 Formación de callos

En la base de la estaca recién cortada proliferan células jóvenes que se encuentran en la región del cambium vascular, dando origen al callo también pueden contribuir

células de la corteza y de la medula. Para su evaluación las estacas, se almacenaron por el término de 15 días en cámara húmeda.

En Julior Ferdor la mayor proporción de callos obtenidos fue para ramas de PM en baja densidad pero no fue significativo estadísticamente. Mientras que para Mr. S 2/5 el aumento sí fue significativo. Y en San Julián la diferencia es significativa a favor de las estacas obtenidas de las PM en alta densidad. (Tabla 5.14).

La formación de callo es un buen indicador a futuro en la generación de raíces pero no garantiza un buen enraizamiento, ya que este fenómeno debe estar acompañado por otros factores como el nivel hormonal y nutricional.

TABLA 5.14

VARIETADES	Alta densidad (g)	Baja densidad (g)	Valor P
JULIOR FERDOR	0,0129 a	0,0287 a	0,246
Mr. S 2/5	0,025 a	0,0054 b	0.00008
SAN JULIAN	0,0204 b	0,0107 a	0.019

TABLA: promedios de peso de callos de los diferentes PI producidos en alta y baja densidad con el valor P según test de Student para una nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

5.9 Brotes

En las plantas caducifolias luego del periodo de reposo, cumplido el enfriamiento invernal con el avance de las temperaturas, las yemas comienzan a formar los brotes, independientemente de la formación de raíces.

En el PI Julior Ferdor hay diferencias significativas a favor de las estacas obtenidas en alta densidad.

En Mr. S 2/5 no hubo producción de brotes en las estacas obtenidas en alta densidad. Mientras que para baja densidad hubo brotación con diferencias significativas.

En San Julián la mayor producción de brotes se encuentra en alta densidad con diferencias significativas.

TABLA 5.15

VARIEDADES	Alta densidad (N°)	Baja densidad (N°)	Valor P
JULIOR FERDOR	1,96 b	1,06 a	0.0082
Mr. S 2/5	0 a	0,18 a	0,16
SAN JULIAN	1,78 b	0,56 a	0.000000015

TABLA: promedios del número de brotes producidos por los diferentes PI en alta y baja densidad con el valor P según test de Student para un nivel de significancia de 0.05 y la determinación de diferencia significativa.

6. Discusión

En referencia a los trabajos realizados por Dessy *et al.* (2000), en donde se evaluó el comportamiento del enraizamiento de los portainjertos Julior Ferdor, Mr. S 2/5, San Julián GF677 bajo distintos tratamientos hormonales y junto con la aplicación de calor basal en las estacas de estos mismos PI (Dessy *et al.*, 2004), en el presente trabajo se pretendió apreciar una nueva variable, el manejo de las plantas madres estaqueras de estas tres variedades.

El vigor es una de las características más importantes del portainjerto ya que influye en el cultivar injertado (Webster, 1995). La planta de la que se extrae el material a injertar ejerce una notable influencia sobre la nueva planta. En el peral, la manzana y el olivo, las yemas para injertar tomadas de ramas muy vigorosos y con caracteres muy juveniles inducen un acentuado vigor en los nuevos árboles (Agustí, 2004).

Según Baldini (1992) el vigor obtenido por el cultivar depende en primer lugar del portainjerto utilizado. A su vez Archer (2002) señala que un vigor excesivo puede tener varias desventajas, como por ejemplo, el retraso en la madurez de la fruta, el crecimiento activo de los brotes durante el período de maduración de la fruta, los cuales compiten con ésta por los fotoasimilados y generan una menor absorción de los mismos por parte de los racimos, originándose de este modo problemas de calidad a consecuencia de una nutrición deficiente. También puede disminuir la fertilidad de la planta, debido a la mala condición de luminosidad en el interior del canopeo. Además el pobre aireamiento puede promover el desarrollo de patologías fungosas. Otro efecto negativo del exceso de vigor en una planta al cual Pino (2000) hace mención, es la propensión al daño por frío invernal

a la que está expuesta una planta vigorosa ubicada en una zona proclive a heladas a inicios de invierno, debido su entrada a receso más tardía.

Los parámetros de crecimiento representados por la longitud de las ramas, número de nudos y diámetro basal de varas, los cuales expresan el vigor de las plantas (Fariña Nuñez, 2003) y son presentados en las Tablas 5.1, 5.2 y 5.3 demuestran que este cae con el distanciamiento entre plantas de forma significativa en todos los casos para la longitud de las producciones en las PM de los PI estudiados. El número de nudos y diámetro disminuye pero no en todos los caso es significativo, como para PI San Julián (Tabla 5.3), no así en Julior Ferdor (Tabla 5.4). Por otra parte el peso y número de ramas producidas, los cuales también forman parte del vigor (Fariña Nuñez, 2003), aumentan en todas las variedades con el distanciamiento entre plantas de forma significativa, especialmente en ramas de madera para los tres PI (Tablas 5.7, 5.8 y 5.9), las cuales nos interesan por su valor viverístico, ya que de su división obtendremos las futuras estacas (Tablas 5.4, 5.5 y 5.6)

Analizando la condición de vigor la cual disminuye con el distanciamiento de plantación para los tres PI, donde afecta de forma positiva según la bibliografía citada en principio podríamos confirmar nuestra hipótesis.

En cuanto a la condición fisiológica en términos estrictos de azúcares totales y azúcares reductores, estos acusan diferencias significativas en las tres variedades de PI, confirmando nuevamente nuestra hipótesis, lo cual determina que a densidades menores de plantas su contenido aumenta significativamente (Tablas 5.12 y 5.13)

La nutrición de las PM puede ejercer una fuerte influencia en el desarrollo de raíces y tallos de las estacas. Este efecto, que puede estar relacionado con un estado fisiológico del tejido, asociado con ciertas relaciones de carbohidrato/nitrógeno. Por ejemplo Kraus y Kraybill (1918) observaron al trabajar con estacas de tomate, que aquellas con tallos amarillentos, ricos en carbohidratos pero pobres en nitrógeno, producían muchas raíces, pero tallos débiles, mientras que los verdes, que contenían muchos carbohidratos pero más nitrógeno produjeron menos raíces con tallos fuertes. Los tallos verdes y succulentos, muy pobres en carbohidratos y ricos en nitrógeno, se pudrieron todos sin producir raíces ni tallos.

Un estudio en el cual se determinaron estos factores en cultivares de crisantemos de enraizamiento fácil y difícil, la única correlación que se pudo obtener fue que los tallos con reserva de carbohidratos tienen mayor facilidad para enraizar (Hartmann y Kester, 1999).

Las estacas de madera suave de lúpulo, mantenidas con luz de baja luminosidad respondieron a pre tratamientos con azúcares con un gran incremento de producción de raíces. La necesidad de aplicar glucosa o sacarosa para la formación de raíces en segmentos de tallos ha sido demostrada con pruebas in vitro aunque las concentraciones excesivas pueden disminuir el enraizamiento (Hartmann y Kester, 1999).

Un método adicional para seleccionar material para estacas que tengan un contenido elevado de carbohidratos deseable (en forma de almidón), es la prueba de yodo. Las puntas recién cortadas de un manojo de estacas se sumergen durante un minuto en una solución al 0.2% de yodo en yoduro de potasio. Las estacas con mayor contenido de almidón se tiñen de color más oscuro, pudiendo clasificarlas en ricas, intermedias y pobres en almidón, de acuerdo a la intensidad del color obtenido. En pruebas de este tipo realizadas en vides, enraizó el 63 % de las ricas en almidón, el 35% de intermedias y el 17% de las pobres en almidón (Hartmann y Kester, 1999). En este caso no se determinó el contenido de almidón de las estacas, pero resultaría un dato de sumo interés para poder complementar el resultado obtenido con los azúcares reductores y totales.

Continuando con resultados bioquímicos, el contenido de proteína soluble arroja una diversidad de resultados con el mayor distanciamiento, donde Julior Ferdor no presenta diferencias significativas, Mr. S 2/5 aumenta su contenido proteico significativamente entre los promedios y el PI San Julián disminuye su concentración de proteína de forma estadísticamente significativa.

Para que pueda realizarse la iniciación de raíces, el nitrógeno es necesario para la síntesis de ácidos nucleicos y de proteínas, entre otros compuestos nitrogenados. En plantas madres, el equilibrio del bajo contenido de nitrógeno y altos de carbohidratos, parece favorecer el enraizamiento (Azcon-Vieto y Talon, 2000). Si bien en nuestro ensayo no se puede hacer una relación C/N ya que los azúcares totales y la proteína no representan todo el carbono de la planta ni todo el nitrógeno, los valores obtenidos nos dan una referencia importante.

Los callos consisten de una masa amorfa surgida de la proliferación de células del parénquima. Frecuentemente es el resultado de una herida, un callo se forma en el corte de un tallo o raíz. Los callos no tienen patrones predecibles de organización, están presentes en centros localizados de actividad meristemática y a menudo aparecen en regiones cambiales rudimentarios con zonas de diferenciación vascular. Una de las características importantes del callo, desde un punto de vista funcional, es su irregular crecimiento, teniendo el potencial para desarrollar raíces normales, brotes y embriones que luego formarán plántulas. De la misma manera que en propagación *in vitro*, La característica general del crecimiento de los callos, abarca una compleja relación entre el material usado para iniciar los callos, la composición del medio, y las condiciones experimentales durante el período de incubación (Lallana y Lallana, 2003).

Los resultados de la generación de callos (Tabla 5.14) y brotes (Tabla 5.15) señalan que a mayor distanciamiento entre plantas, se aumenta el peso de los callos en el caso de Mr. S 2/5 y San Julián, no habiendo diferencias significativas para Julior Ferdor (Tabla 5.14); y en el caso del número de brotes, estos disminuyen cuando disminuye la densidad en Ferdor Julior y San Julián, pero no se ven diferencias en Mr. S 2/5 (Tabla 5.15).

Por lo tanto se puede suponer que el proceso de producción de estacas es un proceso complejo que requiere de la evaluación de nuevas variables y que se encuentra influenciado por diferentes factores, como es en este caso el distanciamiento entre plantas.

7. Conclusiones.

Si bien es claro el concepto de cercanía entre plantas madres para limitar los recursos del suelo, favorecer la competencia entre plantas para generar el crecimiento vegetativo y obtener plantas con relaciones de C/N altas, el distanciamiento entre las misma para montes avanzados en términos etarios repercute de forma positiva en las condición de vigor y nutrición de plantas madres.

En base a los resultados obtenidos, el mayor distanciamiento entre plantas se comporta de manera positiva, para el rendimiento en el número de ramas de madera, mientras que su vigor disminuyó a nivel general en los tres portainjertos.

En cuanto al contenido nutricional, el mayor espaciamiento generó menor competencia y resultó generar estacas en mejor condición nutricional en cuanto a azúcares totales y reductores en los tres PI, mostrando resultados dispares entre variedades a la hora de analizar el contenido de proteínas solubles.

Estas características son muy importantes a la hora de la elección de material para la clonación de PI, pero no se puede afirmar que estas características estén invariablemente asociadas con la factibilidad de enraizamiento. Otros factores que ejercen una mayor influencia como los promotores de enraizamiento (reguladores hormonales) son vitales para la generación de raíces en las técnicas de propagación vegetativa, los cuales deberán ser estudiados en futuros trabajos de propagación.

BILIOGRAFIA

- Agustí, M., 2004. Propagación y mejora vegetal Cap. 10. En: *Fruticultura* Primera Edición. Ed. Agustí, M. Editorial Mundi-prensa. Madrid, España. Pp. 509.
- Archer, E., 2002. *Vitis* especies and rootstocks cultivars. University of Stellenbosh, Department of Viticulture and Oenology. pp 156.
- Azcon-Vieto, J. y Talon, M., 2000. *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Editorial Mac Graw Hill / Ediciones Universitat de Barcelona, Barcelona 581 pp.
- Baldini, E., 1992. *Arboricultura general*. Cap. 1. Propagación. 1.2.2 Multiplicación por estaca pp 30-44. Editorial Mundi-Prensa, Madrid. pp379.
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-274.
- Campana, B.M.R. y Ochoa M.J., 2006. Propagación vegetativa o agámica de especies frutales. Cap 5. pp. 141-148. En: Sozzi, G.B., ed., (*et al.*). 2006. *Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento*. Buenos Aires: Editorial Facultad de Agronomía. Universidad de Buenos Aires. 805 pp.
- Cheng, L. y Fuchigami, L.H., 2002. Growth of young apple trees in relation to reserve nitrogen and carbohydrates. *Tree Physiology* 22: 1297-1303.
- Cobianchi, D., Bergamini, A., Cortesi, A., 1989. *El ciruelo*. Capítulo 2. Las especies botánicas y sus portainjertos. Pp 33-38 Editorial Mundi-Prensa, Madrid. pp 281
- Dessy, S., Radice, S., Adorno, A., 2004. Ferdor-Julior, Myran-Yumir and St. Julien GF 655-2 Rootstocks: Propagation by Cuttings with Growth Regulators and Bottom Heat. Proc Ist IS Rootstocks – Decid. Fruit - ISHS Eds. M.Á. Moreno Sánchez and A.D. Webster Acta Hort 658: 629-635
- Dessy, S., 2000. Comportamiento en el vivero de portainjertos micropropagados del genero Prunus- parte 1 crecimineto de los portainjertos SANJULIAN HIBRIDO N°1; MRS 2/5; FERDOR JULIOR Y GF 655/2
- Durán Torrallardona, S., 1993. *Melocotoneros, nectarinas y paviás*. Parte I. Portainjertos para melocotoneros, paviás y nectarines. Pp 9-54. Editorial Fundación "la Caixa". Pp 152
- Durán, S., 1976. *Replantación de frutales*. Cap. 14. Portainjertos de ciruelo. Pp 219-226. Editorial Aedos, Barcelona. Pp 332
- Fariña Nuñez, E., 2003. Comunicación personal INTA- EEA Reconquista

- Feucht, W., Vogel, T., Schimmlpfeng, H., Treuter, D., Zinkernagel, V. 2001. *Cultivo de cerezos y ciruelos*. Capítulo 3. Las distintas especies de ciruelos. Pp 99-100 Ediciones Omega, Barcelona. Pp.136
- Hartmann H.T. y Kester D.E. 1999a. *Propagación de plantas*. Cap. 8. Aspectos generales de la propagación sexual pp. 219-225. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. México. Pp. 760
- Hartmann H.T. y Kester D.E., 1999b. *Propagación de plantas*. Cap. 13. Técnicas para injertos de yema pp. 471-493. Compañía Editorial Continental, S.A. de C.V. México. Pp. 760
- I.T.E.A. (Información Técnica Económica Agraria), 1990. *Estado Actual de los Patrones Frutales*. Asociación Interprofesional para el desarrollo Agrario. Volumen Extra, Número 9. XXII Jornadas de Estudio. Zaragoza, España.
- Kraus E.J. y Kraybill, H.R., 1918. Vegetation reproduction with special reference to the tomato. *Ore. Agr. Exp. Sta. Bul.* 149.
- Kraus, E.J., 1925. Soil nutrients in relation to vegetation and reproduction. *American Journal of Botany* 12(8): 510-516.
- Lallana, V.H. y Lallana, Ma. del C., 2003. Manual de Prácticas de Fisiología Vegetal Pp 82. Edición digital Pp 84
- Ley de Semillas y Creaciones Fitogenéticas [N° 20.247/73](#) . Buenos Aires, 30 de abril de 1973. Presidencia de la Nación. Disponible on line: http://www.inase.gov.ar/index.php?option=com_content&view=article&id=160&Itemid=157 Última visita 20 de octubre de 2017
- Loreti, F. y Massai, R., 1999. I portainnesti del pesco. *L'Informatore Agrario*, 6 (LV) 39-44
- Loreti, F., 1992. *Curso de Portainjertos de Frutales de Pepita y Carozo*. XV Congreso Argentino de Horticultura. Alto valle de Río Negro y Neuquén, 28 de septiembre al 3 de octubre de 1992.
- Mediene, S., Jordan, M.O., Pages, L., Lebot, J., Adamowicz, S., 2002. The influence of severe shoot pruning on growth, carbon and nitrogen status in young peach trees (*Prunus persica*). *Tree Physiology* 22, 1289–1296
- Pino, R. 2000. Descripción agronómica de 25 portainjertos para almendro, ciruelo, damasco, nectarín y duraznero existentes en Chile. Tesis Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 106p
- Razeto Migliaro, B. 1999a. *Para entender la fruticultura*. Cap. 1.1 El vivero de plantas frutales. Pp 23-28. Editorial Vértigo, Santiago de Chile. Pp. 373

- Razeto Migliaro, B. 1999b. *Para entender la fruticultura*. Cap. 1.6 Portainjertos para árboles frutales. Pp 53-60. Editorial Vértigo, Santiago de Chile. Pp. 373
- Romero, M. de los Á. y Urrutia, I., 2013. Influence of San Julian GF 655/2, MRS 2/5 Julior Ferdor and Cuaresmillo Rootstocks on the Plum Cultivar 'Ozark Premier'. Proc. 4th International Symposium on Tropical and Subtropical Fruits Eds.: Endah Retno Palupi et al. *Acta Hort.* 975: 343-34
- Ryugo, K. 1993. *Fruticultura. Ciencia y Arte*. Cap. 7. Establecimiento y manejo de huerta. Pp 238-242. Editorial AGT S.A., México, D.F. pp. 304
- Salisbury, F.B. & Ross, C.W. 1992. Hormonas y Reguladores del crecimiento: Auxinas y Giberelinas Capítulo 17. pp. 395-422 *En: Plant Physiology*. Eds. Salisbury, F.B. y Ross, C.W. Fourth Edition. Wadsworth Publishing, California, USA. Pp. 759
- Van der Ende, W., 2014. Sugar stake a central position in plant growth, development and stress responses. A focus on apical dominance. *Frontiers in Plant Science* 5:1-3
- Wester, A.D., 1995. Rootstock and interstock effects on deciduous fruit tree vigour, precocity, and yield productivity. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 23(4): 373-382
- Yanniccari M., Tambussi E., Istilart C., Castro A.M., 2012. Glyphosate effects on gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of two *Lolium perenne* L. biotypes with differential herbicide sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry* 57: 210-217