

Incauyuyo (*Lippia integrifolia* (Gris.) Hier.): Ensayo exploratorio de domesticación 2016/17

Guariniello, J.¹; Iannicelli, J.¹; Peralta, P.¹; Rubio, E.²; Rosselot, V.³; Escandón, A.S.¹

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Centro de Investigación en Ciencias Veterinarias y Agronómicas (CICVyA), Instituto de Genética “Ewald A. Favret”.

Correo electrónico: guariniello.julian@inta.gov.ar ²Instituto Nacional de Tecnología

Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria Área Metropolitana de

Buenos Aires (AMBA). ³Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA),

Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRN), Instituto de Investigación de Recursos Biológicos.

Introducción

El éxito de un desarrollo biotecnológico se mide a través de la obtención de productos y su transferencia al sector productivo.

El desarrollo y la obtención de la variedad Tawa-INTA (Iannicelli *et al.*, 2016) de incauyuyo tiene por finalidad cambiar el paradigma extractivo de esta especie por uno productivo. Esto implica que necesariamente el paquete tecnológico a transferir sea evaluado y confrontado a campo con el genotipo que le dio origen.

Asimismo, un ensayo de estas características involucra dar los primeros pasos en el proceso de domesticación de esta especie y sirve como ejemplo a seguir para propiciar el desarrollo de nuevo germoplasma de especies en situaciones similares. En este sentido, hay antecedentes en el país con *Minthostachys mollis* (peperina) a partir de los trabajos de Ojeda *et al.* (2004), quienes cultivaron diferentes poblaciones y seleccionaron genotipos por su capacidad de producción de aceites esenciales. Los genotipos selectos fueron micropropagados, tanto para incorporarlos en programas de mejoramiento llevados a campo como para la producción comercial de plantas con calidad homogénea (Bima *et al.*, 2006).

Objetivo

Evaluar el comportamiento agronómico y productivo de la variedad desarrollada “TAWA INTA” (tetraploide) y de su planta madre, el quimiotipo “252” (diploide), en diferentes localidades: Castelar (Buenos Aires), Río Cuarto (Córdoba), Alem (Misiones) y Chamental (La Rioja).

Materiales y métodos

Con el fin de constituir una red de ensayos, se realizaron plantines de incauyuyo por medio de la multiplicación vegetativa por estacas a partir de plantas madres del quimiotipo “252” y de la variedad “TAWA INTA”, las cuales fueron mantenidas en buen estado fitosanitario en el invernáculo del IGEAF. A fines de junio del 2016 los plantines fueron enviados a las localidades para su aclimatación y posterior implantación.

A fines de septiembre del mismo año se realizó la implantación en el AMBA (Hurlingham, Buenos Aires) sobre un lote preparado previamente con lomos separados a 1,4 m cubiertos con “mulch” y cintas de riego. Las plantas se ubicaron a 0,7 m en la línea. Se implantaron 12 individuos del quimiotipo “252” (planta madre diploide) y 25 de la variedad “TAWA INTA” (tetraploide derivado) (Figura 1).

0	1,4	2,8	4,2	5,6	7	8,4	9,8	11,2
0,7	X	X	X	X	X	X	X	X
1,4	X	X	X	X	X	X	X	X
2,1	X	X	X	X	X	X	X	X
2,8	X	X	X	X	X	X	X	X
3,5	X	X	X	X	X	X	X	X
4,2	X	X	X	X	X	X	X	X

Figura 1. Diseño experimental. Distribución de los individuos del quimiotipo “252” (verde) y de la variedad “TAWA INTA” (rojo) en el lote. Área amarilla = borde.

En el lote se aplicó riego durante los primeros estadios del cultivo y se realizó el mantenimiento utilizando un manejo agroecológico.

Durante la etapa vegetativa, se realizó el seguimiento periódico (mediciones cada 15-30 días) del cultivo registrando la altura, el diámetro de la mata y el número de ramas.

Al momento de la floración se realizó la cosecha de las partes aéreas. Como se observó diferente porte de los genotipos, se decidió cosechar el quimiotipo 252 podando a los 0,2 m desde el suelo, mientras que TAWA INTA se podó a los 0,1 m. Se estimó el rendimiento de biomasa determinando mediante balanza analítica peso fresco y oreado total (ramas en floración), y de las fracciones tallo y hoja+flor por separado. Luego se destilaron las fracciones y se midió el rendimiento de aceite esencial absoluto (ml) de la muestra. Finalmente se calculó el rendimiento porcentual expresado por ml/g de biomasa de las fracciones (peso oreado).

Se realizó el análisis estadístico de las variables utilizando ANOVA y el test de Tukey al 5 % de confianza.

Resultados

Los plantines enviados a Córdoba, Misiones y La Rioja no toleraron el traslado y no prosperaron a campo. Por el contrario, los plantines llevados a campo en el AMBA-Ituzaingó se adaptaron satisfactoriamente al ambiente.

En los primeros estadios los genotipos no evidenciaron diferencias en el crecimiento. Al 16/2/17 el quimiotipo 252 se encontraba en prefloración, mientras que en la variedad TAWA INTA la floración se retrasó entre 3 y 4 semanas (Figura 2). Este retardo en el desarrollo también se observó en el menor crecimiento de las plantas de TAWA INTA con respecto al quimiotipo 252, registrándose diferencias significativas ($p < 0,05$), tanto en la menor altura y el diámetro de la mata, como en el número de ramas (Figura 3).



Figura 2. Ensayo de Incayuyo realizado en el AMBA (Bs. As.) a 5 meses de la implantación.

A mediados de marzo se realizó la cosecha del quimiotipo 252 obteniéndose un peso fresco de la biomasa aérea de 204,6 g en promedio (n=12). Luego de 6 días de oreado se obtuvo un peso promedio de 109,4 g (pérdida de agua de 46,5 %). El peso oreado de la fracción tallo fue de 65,4 g y la de hoja+flor de 44,1 g (relación hoja+flor/tallo de 0,69).

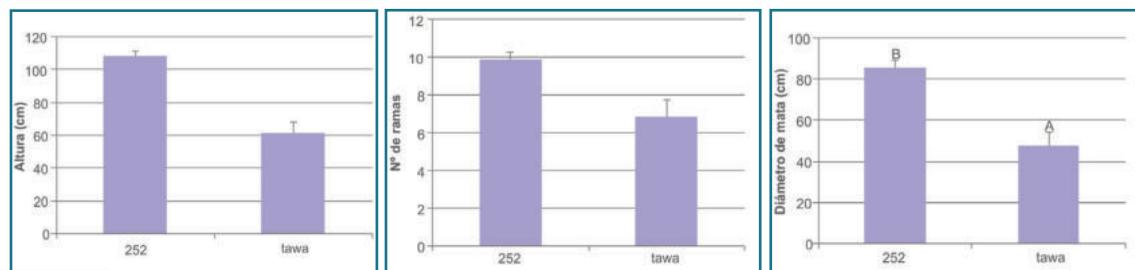


Figura 3. Altura, diámetro (en cm) de la mata y número de ramas del quimiotipo “252” y la variedad “TAWA INTA” a 5 meses de la implantación. Medias con una letra común no son significativamente diferentes (test deTukey, $p > 0,05$).

La cosecha de la variedad TAWA INTA se llevó a cabo a principios de abril del 2017. Si bien las plantas presentaron floración desperejada (50 % de plantas florecidas aprox.) se decidió no retrasar más la cosecha por la aproximación de los días fríos. Se cosecharon 12 plantas al azar (igual n que las 252 cosechadas anteriormente) exceptuando las plantas que fueron atacadas por hormigas. Las plantas presentaron un peso fresco promedio de 110 g. Se las dejó orear y a la semana se separaron las fracciones (Figura 4). El peso oreado total fue de 50 g, el de hoja+flor de 22,64 g y el de tallo de 27,45 g. La relación hoja+flor/tallo fue de 0,84 y la pérdida de agua fue del 54,69 %.



Figura 4. Fraccionamiento del material (tallos y hoja+flor) con 7 días de oreado.

Del análisis estadístico se observó que las diferencias en el tamaño de los genotipos (mayor altura, diámetro y número de ramas del quimiotipo 252) se correlacionaron con las diferencias en los pesos fresco y oreado de la biomasa de las plantas (el quimiotipo 252 produce aproximadamente el doble que TAWA INTA) (test de Tukey, $p > 0,05$). Sin embargo, este último presentó menor proporción de tallo (0,84 vs. 0,69 hoja+flor/tallo). TAWA tuvo mayor rendimiento de aceites que 252, tanto con respecto al peso oreado de la fracción hoja+flor (2,31 vs. 1,91 %) como en referencia a toda la parte aérea incluyendo los tallos (1,03 vs. 0,79 %). La fracción tallos produjo un rendimiento prácticamente despreciable (0,02 %), lo que diluyó el rendimiento de la muestra disminuyendo las diferencias entre los cultivares. Por el contrario, si se analiza el rendimiento absoluto de aceites, el cultivar 252 produjo más ml con respecto a TAWA INTA debido a la mayor biomasa aérea. Esto indica que para el mismo marco de implantación, la menor proporción de tallos y el mayor rendimiento de aceites (%) de la variedad TAWA INTA no llega a compensar la mayor producción de biomasa aérea del quimiotipo 252. Sin embargo, el menor tamaño de planta de TAWA INTA podría hacer que se duplique el rendimiento obtenido al permitir una mayor densidad de implantación (por ejemplo, 0,70 x 0,70 m). Debido al bajo “n” y al diferente porte de los genotipos, para el análisis estadístico no se discriminó el efecto borde de las muestras. La destilación se realizó sobre la muestra completa (sin repeticiones) y no se realizó en forma individual por planta.

Conclusiones

Al primer año de implantación el ensayo comparativo de incayuyo en el AMBA (Bs. As.) produjo resultados promisorios. Permitió comparar rendimientos de aceites y biomasa entre los genotipos, confirmando el mayor rendimiento porcentual de aceites de la variedad TAWA INTA y la mayor producción de biomasa y rendimiento absoluto de aceites del quimiotipo 252. Al segundo año, por diversos factores se registró una alta mortandad de plantas que impidió continuar con la evaluación de los genotipos. Probablemente, el haber cosechado biomasa al primer año de implantación dejó pocos recursos almacenados para el rebrote del año siguiente. El diseño experimental aplicado integrando los dos cultivares no fue válido debido a la diferencia de porte de los cultivares.

Perspectivas – nuevo ensayo para desarrollar

Persiguiendo el mismo objetivo, se comenzó con la multiplicación de estacas *in vivo* para desarrollar una nueva red de ensayos.

Se probó utilizando 1 medio *plug* de 128 alveolos (56 alveolos) con sustrato de enraizamiento (Tabaco-Terra-fertil®) dentro de bandejas de plástico transparente a modo de campana. La realización en IGEAF y AMBA no dio resultado por ataque de hongos y excesivo calor. Se está realizando otra prueba en el invernáculo de Biotecnología, donde ya se ha obtenido más del 95 % de enraizamiento y supervivencia de estacas utilizando macetas plásticas (5 estacas/maceta) cubiertas por bolsas de polietileno (Figura 5). En todos los casos se utilizó segmentos de tallo semileñoso con 1 o 2 nudos de los genotipos 252 y TAWA INTA. La inducción de raíces se realizó utilizando IBA 3000 ppm en polvo.



Figura 5. A. Estacas semileñosas de la variedad “TAWA INTA” dispuestas para su enraizamiento en maceta.
B. Estacas del quimiotipo “252” y la variedad “TAWA INTA” a 10 días de enraizamiento en *plugs* bajo campana (b).

Luego de un mes las estacas enraizadas (Figura 6) se trasplantaron a macetas individuales y los plantines fueron llevados al invernáculo del AMBA para su aclimatación. A la fecha todos los plantines se encuentran en estado saludable.



Figura 6. A. Estacas de incayuyo: quimiotipo “252” y B. variedad “TAWA INTA”, a 30 días de enraizamiento en maceta.

Se implementará un diseño con 3 repeticiones para cada localidad, a determinar. La unidad muestral estará conformada por 9 individuos como mínimo, más el borde. Para el genotipo “252” se prevé mantener el mismo marco de implantación, mientras que el “TAWA INTA” se implantará a una distancia de 0,7 m entre hileras.

Se realizará un seguimiento periódico de las plantas para poder estimar parámetros de crecimiento, fenológicos y productivos a cosecha.

Bibliografía

- BIMA, P.; VARGAS, L.; OJEDA, M. 2006. *In vitro* propagation of peperina (*Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb.). *Molecular Medicinal Chemistry* 11, 3-5.
- IANNICELLI, J.; ELECHOSA, M.A.; JUÁREZ, M.A.; MARTÍNEZ, A.; BUGALLO, V.; BANDONI, A.L.; ESCANDÓN, A.S.; VAN BAREN, C.M. 2016. Effect of polyploidization in the production of essential oils in *Lippia integrifolia*. *Ind Crops and Prod.* 81, 20-29.
- OJEDA, M.; ARROYO, A.; BORGOGNO, P.; BIDERSBOST, E.; BALZARINI, M. 2004. Yield of peperina (*Minthostachys mollis* (Kunth.) Griseb.) populations in the year following planting: response to cropping regimen. *Spanish Journal of Agricultural Research.* 2(3), 393-399.