

CONSIDERACIONES SOBRE LA FISIOLOGÍA Y EL ESTADO DE MADUREZ EN EL ENRAIZAMIENTO DE ESTACAS DE ESPECIES FORESTALES. Braulio Gutiérrez C., Ing. Forestal (e), División Silvicultura, Instituto Forestal, Barros Arana 121, Concepción, Chile

RESUMEN

Se analiza la importancia de aspectos fisiológicos en el enraizamiento de estacas de especies forestales, describiendo teorías que explican el proceso, entregando información acerca de la regulación hormonal del enraizamiento y el efecto de otros compuestos sobre la inducción de raíces adventicias.

También se analiza el efecto del estado de madurez sobre el enraizamiento, describiendo aspectos teóricos de la juvenilidad, maduración y envejecimiento, y las características generales de las técnicas de rejuvenecimiento.

Se entregan conclusiones aplicables al campo de la silvicultura clonal y propagación vegetativa de especies forestales.

Palabras Clave: *Propagación vegetativa, Fisiología, Rejuvenecimiento.*

ABSTRACT

The importance of the physiology on rooting of cuttings from wood species is analyzed. Theories which explain the process are described. Information about the hormonal control and the effect of other compounds on the induction of adventitious roots is given up.

The effects of maturity status on rooting of cutting is analyzed too, showing theoretical topics about juvenility, maturity and aging. The main characteristics of rejuvenation techniques also are shown.

Conclusions suitable for clonal forestry and vegetative propagation of woody species are discussed.

Keywords: *Vegetative propagation, Physiology, Rejuvenation.*

INTRODUCCIÓN

Es ampliamente reconocido que las técnicas de propagación vegetativa son frecuentemente difíciles y a veces imposibles de aplicar en árboles adultos. La capacidad de enraizar de los árboles está asociada a su fase juvenil de desarrollo, jugando la edad, o el estado de madurez del individuo, un importante papel en la eficiencia de la propagación y en el desarrollo de los propágulos.

Uno de los principales problemas asociados al enraizamiento de estacas de especies forestales es que al tener los árboles una edad suficiente, como para ser seleccionados en base a las características que se pretenden mejorar o perpetuar, estos ya han perdido su capacidad de enraizamiento. Al respecto, si bien existen algunas técnicas de rejuvenecimiento que permiten superar en alguna medida esta situación, existe también controversia respecto al impacto que ellas puedan tener y si representan efectivamente una reversión de las características propias del estado adulto o corresponden sólo a una revigorización del individuo.

Por el momento, la ausencia de marcadores que definan los estados de juvenilidad y madurez más allá de las características morfológicas, limita la capacidad del propagador para determinar si efectivamente ha ocurrido rejuvenecimiento, y enfatiza la utilidad que tendría el contar con un mayor conocimiento de los aspectos fisiológicos y bioquímicos que regulan los procesos de maduración y envejecimiento.

Por otra parte, el mecanismo de iniciación de raíces en estacas de tallo, al igual que muchos aspectos de la fisiología de la diferenciación, es aún poco conocido.

La formación de raíces depende fundamentalmente de una serie de factores internos o endógenos, los que interactúan en forma compleja y generan un amplio rango de efectos sobre el metabolismo, crecimiento y diferenciación. La falta de conocimiento sobre estos factores restringe severamente las posibilidades del propagador en cuanto a su modificación, quedando este limitado principalmente a la manipulación y control de los factores externos o ambientales que inciden en el proceso rizogénico.

En general existe mucho más información en cuanto a los factores externos que a los internos, reconociéndose entre estos últimos a la identidad genética, el grado de maduración y los aspectos fisiológicos como los principales. De ellos, la identidad genética se refiere al origen taxonómico del individuo, así como a su genotipo específico, mientras que la maduración y los aspectos fisiológicos serán los temas a tratar en este apunte.

Este documento no pretende llegar a dilucidar la problemática asociada a estos factores, pero puede ser una contribución que ayude a definir o reorientar líneas de investigación dentro del campo de la propagación clonal de especies forestales.

ASPECTOS FISIOLÓGICOS DEL ENRAIZAMIENTO

Para explicar el proceso de inducción de raíces, normalmente se recurre a la teoría de la rizocalina de Bouillene. Esta teoría, postulada en 1955, establece que un compuesto fenólico específico (posiblemente dihidroxifenol) actúa como cofactor del enraizamiento. Este cofactor es producido en las hojas y yemas de la estaca y posteriormente traslocado a la región de enraizamiento, donde en presencia de un factor no específico, que es translocado y que se encuentra en concentraciones bajas en los tejidos (la auxina), y de una enzima específica, localizada en las células de ciertos tejidos (polifenol-oxidasa), completan un complejo (la rizocalina), que actúa como estimulante de la rizogénesis (Bonga, 1983; Pardos, 1985; Hartmann y Kester, 1990).

Los factores que componen este complejo, junto a otros factores determinantes de naturaleza endógena y ambiental, harían posible el enraizamiento, mientras que la ausencia de alguno de ellos lo impediría.

Los polímeros de dihidroxifenol actuarían como un protector de la auxina (la cual se puede oxidar en presencia de luz de baja intensidad), teniendo como función mantener los tejidos en un estado de reducción. Esto significa que ellos actúan como antioxidantes, pudiendo mantener bajo el potencial redox (óxido- reducción), lo que es una condición asociada y propia de las etapas juveniles, la que a su vez es la condición más favorable para el enraizamiento.

Posteriormente, se obtuvo evidencia de que la auxina al formar un complejo con un determinado factor móvil desconocido, podía inducir la formación de raíces, lo que coincidía con lo propuesto por Bouillene, pero se rechazó el concepto de la intervención de una enzima no móvil, afirmándose que la auxina misma produce la desdiferenciación celular y determina el sitio de formación de las raíces (Libbert, 1964, cit por Hartmann y Kester, 1990)

Actualmente, las hipótesis más aceptadas dicen relación con la existencia de receptores específicos capaces de reconocer a la hormona, así como la sensibilidad del tejido para responder a su acción (Pardos, 1985).

Regulación Hormonal del Enraizamiento.

Las raíces adventicias de las estaquillas se forman como resultado de la estimulación auxínica y de otros factores que emigran a dicha zona (Pardos, 1985).

Normalmente se ha señalado a la auxina como el factor cuya acción inductora desencadena la secuencia de etapas que culminan con la rizogénesis. Efectivamente, en especies fáciles de enraizar se ha observado que la aplicación exógena de una auxina sintética, incrementa sustancialmente el movimiento de carbohidratos, compuestos nitrogenados y otros, desde el ápice hacia la base de la estaca, favoreciendo el fenómeno

rizogénico (Celestino, 1985; Puri y Khara, 1992). Por otra parte, se reconoce que el efecto del regulador de crecimiento depende tanto de la especie como del grado de madurez del árbol, o del órgano, desde donde se extrae la estaca.

A pesar de lo anterior, hasta ahora persiste cierta controversia en relación al efecto de las hormonas y reguladores de crecimiento sobre la formación de raíces en estacas (Puri y Khara, 1992), reconociéndose que es un fenómeno complejo, en que cada una de sus fases se encuentra controlado en distinta forma por el balance entre hormonas, inhibidores y otros compuestos bioquímicos.

Algunos compuestos, como los ácidos fenólicos, flavonoides y terpenos, son capaces de modificar los procesos de crecimiento y desarrollo vegetal, generando en muchos casos una modificación del nivel de auxina en los tejidos, mediante la activación o inhibición de las enzimas que regulan su metabolismo. En general, estos compuestos parecen no inhibir la acción específica de la hormona, si no que actúan sobre procesos metabólicos generales, indispensables para cualquier forma de crecimiento, como por ejemplo; la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, formación de ATP y otros procesos, aparentemente a través de la inhibición de la actividad de algunas enzimas del metabolismo general.

Se ha confirmado que las auxinas sólo aumentan una potencialidad ya existente en las especies que enraizan sin dificultad, enfatizando el desarrollo de primordios previamente formados (Pardos, 1985; Rauter, 1983), y observándose que la aplicación exógena de auxina no resulta efectiva en estacas de especies de difícil enraizamiento (Celestino, 1985). También se ha confirmado, después de aislar algunos compuestos que actúan en forma sinérgica con la auxina, que ella no es el único factor determinante de la rizogénesis, y que su acción inductora es potenciada enormemente por compuestos de naturaleza fenólica, situación que se discutirá más adelante.

Hess (cit por Celestino, 1985) postula que la regulación del proceso rizogénico obedece a un complejo conformado por la auxina y un cofactor, el cual podría actuar desbloqueando genes reprimidos, generando como resultado la síntesis de enzimas nuevas, requeridas para la iniciación del proceso. En forma complementaria, Haissig (cit por Celestino, 1985) sugiere que las modificaciones en la capacidad de enraizamiento provocadas por tratamientos químicos o ambientales podrían estar basados en la actividad de un sistema enzimático capaz de inducir la formación del complejo auxina-fenol.

Un complejo estimulante del enraizamiento ha sido estudiado en yemas y hojas jóvenes de *Pinus banksiana*, determinándose que se encuentra constituido por una fracción auxínica y otra no auxínica. La primera de ellas es inicialmente necesaria para la formación del callo en la base de la estaca, pero la conjunción de ambas es requerida para la iniciación del primordio, siendo la fracción no auxínica el factor limitante de la respuesta rizogénica

Durante el enraizamiento de estacas de especies fáciles de enraizar se han observado variaciones importantes en el nivel de auxina endógena, mientras que en especies difíciles de enraizar estas variaciones no se manifiestan. Por lo mismo, los estudios referentes a este proceso actualmente dan más importancia a la dinámica de los reguladores, que a su cantidad total en el tejido vegetal, descartando un antiguo principio que consideraba que la cantidad de compuestos activadores o inhibidores, presentes en el tejido vegetal, estaba directamente relacionado con las respuestas organogénicas (Celestino, 1985).

La dinámica de los niveles de auxina se encuentra fuertemente relacionado con la actividad de las enzimas peroxidasas, las cuales se encargan de la oxidación del ácido indolacético (AIA). Estas peroxidasas son un grupo muy heterogéneo de isoenzimas, y no todas manifiestan la misma actividad en la degradación de la auxina (Ballester, 1985).

Efectivamente, estudios realizados in vitro demuestran que las enzimas peroxidasas básicas (isoenzimas catódicas) son más efectivas que las ácidas (isoenzimas anódicas) para oxidar el AIA. Los mismos estudios indican que durante el proceso de enraizamiento se observa un aumento progresivo en la cantidad de peroxidasas catódicas, las que alcanzan un máximo justo antes de la aparición morfológica de las raíces.

Durante el proceso rizogénico se pueden distinguir al menos dos fases: una fase de inducción, en la que no se observan cambios histológicos; y una fase de iniciación, en la que comienza la formación del primordio radical (Gaspar et al, 1983 cit por Ballester, 1985; Barcello, 1980). Durante la primera fase se produciría un aumento en la actividad de las enzimas peroxidasas y una disminución del nivel de auxina endógena; en la segunda fase los cambios serían opuestos, es decir, decae la actividad peroxidásica y aumenta el nivel de auxina. En esta segunda fase, aunque la actividad peroxidásica total decae, la actividad de las enzimas ácidas continúa en aumento.

Esta teoría explica por qué algunos compuestos fenólicos, como los ácidos ferúlico y clorogénico, los cuales reducen la velocidad de oxidación del AIA por las enzimas peroxidasas, inhiben el enraizamiento si son aplicados durante la fase de inducción y lo estimulan durante la fase de iniciación (Ballester, 1985).

Bansal y Nanda (1981) analizando la actividad de enzimas AIA-oxidasas, determinaron que esta es mayor en especies que enraizan con facilidad (*Salix tetrasperma*, *Populus robusta*), algo menor en especies que enraizan débilmente, e insignificante en aquellas que no enraizan (*Eucalyptus citriodora*).

De lo anterior se desprende que es teóricamente posible estimar la capacidad rizogénica de un individuo a partir de un análisis de la actividad peroxidásica. Esta prueba exhibiría algunas importantes ventajas en relación a los tradicionales ensayos de enraizamiento, por cuanto la evaluación tomaría menos tiempo, ocuparía menos

espacio, no requeriría de invernadero y permitiría evaluar simultáneamente un mayor número de individuos.

Aún cuando concretamente se ha propuesto una prueba de este tipo, para seleccionar en espárragos, a los individuos, o segmentos de individuos, más apropiados para el estaquillado, las actuales limitaciones del conocimiento del proceso global, así como la complejidad del mismo, no permite el uso de pruebas de este tipo, que sean de carácter general, y por lo tanto útiles, en la práctica habitual de la propagación por estaca.

Efecto de los Carbohidratos en el 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).

Los hidratos de carbono y los compuestos nitrogenados están de alguna forma involucrados en el proceso de enraizamiento, pudiendo modificar, e incluso controlar, la formación de raíces (Hartmann y Kester, 1990; Barcello et al, 1980; Rauter, 1983). 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.

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 (Cameron y Rook, 1974, cit por Rauter, 1983). Indudablemente los carbohidratos trasladados desde las hojas contribuyen a la formación de las raíces adventicias, aunque Hartmann y Kester (1990) postulan que su efecto puede deberse a factores más directos, especialmente si se considera que las hojas y yemas son grandes productoras de auxina.

Muchos investigadores han correlacionado positivamente los niveles de carbohidratos en las estacas con su capacidad para iniciar primordios radicales, reconociendo que una adecuada reserva de hidratos de carbono, en combinación con una relación C:N alta, favorecen el enraizamiento.

Rauter (1983) señala que las estacas deben tener reservas suficientes de nutrientes para sobrevivir al período de enraizamiento, y este se puede mejorar en forma sustancial al agregar hidratos de carbono en forma exógena (Nanda y Jain, 1972). Efectivamente, se ha constatado que estacas de *Populus nigra* que no enraizan al ser

tratadas con una solución de auxina sola, si son capaces de hacerlo al agregar a la solución un 0,5% de ribosa, glucosa y sacarosa.

El almidón también ayuda a inducir el enraizamiento. Este polímero es hidrolizado por enzimas que lo dividen en segmentos, o unidades de azúcares más simples, siendo la auxina la que incrementa la actividad de las enzimas hidrolíticas (op cit). Las relaciones entre el desarrollo del primordio radical y el metabolismo de reducción de azúcares también han sido sugeridas por Haissig (1982, cit por Rauter, 1983), pero aún así, la relación entre el metabolismo de los carbohidratos, el desarrollo de los primordios y la actividad enzimática, no es aún bien conocida (Pardos, 1985).

Efecto de los Fenoles y Otras Sustancias en el Enraizamiento.

Como se ha sugerido en un punto anterior, los compuestos fenólicos regulan el crecimiento inducido por la auxina, a través del sistema indolacético-oxidasa, inhibiendo (ácido clorogénico, caféico, ferúlico) o promoviendo (ácido hidroxibenzoico, cumárico, vanílico) la oxidación del AIA por las enzimas peroxidasa (Celestino, 1985; Ballester, 1985; Margara, 1988).

En general, los compuestos fenólicos desempeñan papeles importantes en diferentes procesos, entre ellos la regulación de procesos morfogénicos. A pesar de esto, la función fisiológica de la mayoría de estos compuestos no es aún clara, y las experiencias existentes al respecto aluden principalmente al efecto de aplicaciones exógenas, que bien pueden diferir con respecto a las condiciones in vivo.

Los compuestos fenólicos pueden actuar como moduladores de la actividad de las enzimas oxidativas del AIA, o a través de la regulación de su síntesis. El aumento de la actividad del sistema polifenol-oxidasa, antes y durante la diferenciación del primordio radical, puede ser significativo en la determinación del proceso como mecanismo de disponibilidad de compuestos fenólicos.

La actividad inhibitoria de los procesos organogénicos que muestran determinados fenoles, parece estar asociada con su acumulación durante el periodo de dormición y durante la transición desde la condición juvenil a la adulta (Celestino, 1986). En estacas de especies que enraizan con dificultad se han encontrado fenoles inhibidores de la rizogénesis, lo que ha llevado a postular que las diferencias existentes en cuanto a la capacidad rizogénica, así como la pérdida de esta capacidad, al aumentar la edad del ortet, radica en la presencia de determinados fenoles y de sus niveles en los tejidos (Celestino, 1985). El mismo autor (op cit) señala que en una especie de *Salix*, los fenoles extraídos desde yemas en reposo son capaces de inhibir la respuesta rizogénica en estacas del mismo árbol durante el periodo de crecimiento.

De lo anterior se desprende que la capacidad rizogénica de las estaquillas puede depender, al menos parcialmente, de las diferencias en el contenido fenólico, ya que en



muchas especies difíciles de enraizar, la presencia de auxina no parece suficiente para que la rizogénesis se produzca.

Es un hecho generalizado en las especies forestales que la respuesta rizogénica sea dependiente del clon y que dicha respuesta se mantenga en los rametos, lo cual corrobora que la capacidad de enraizamiento se encuentra bajo control genético. En este sentido, Celestino (1986) afirma que el contenido de determinados fenoles podría servir como marcador de la capacidad rizogénica del clon, aunque esto no es tan claro pues el papel que desempeñan los compuestos fenólicos en la iniciación de raíces adventicias es aún motivo de controversia.

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

Consistentemente con lo anterior, compuestos como el ácido giberélico que ha demostrado ser un poderoso inhibidor de la síntesis de antocianina, tiene también un efecto inhibidor del enraizamiento.

Hartney (1980) señala que se ha propuesto un esquema que involucra a un compuesto derivado de un determinado ácido orgánico (3,4,5-trihidroxi-1-ciclohexeno-1-ácido carboxílico), el cual interactuaría con la auxina para provocar la iniciación de raíces y también conducir a la formación de antocianinas y otros compuestos flavonoides.

Las leucoantocianinas también tienen cierta relación con la respuesta rizogénica. Ellas están asociadas a áreas de crecimiento activo en los eucaliptos, presentando una alta concentración en las hojas jóvenes durante el crecimiento primaveral, así como en el tejido cambial en división activa. Posteriormente las antocianinas y leucoantocianinas declinan en concentración y parecen ser transportadas fuera de la hoja cuando esta madura y adquiere su pigmentación clorofílica definitiva.

INFLUENCIA DEL ESTADO DE MADUREZ EN EL ENRAIZAMIENTO

El estado de madurez juega un importante papel dentro del mejoramiento genético. Desde el punto de vista de la reproducción sexual, especialmente en lo que respecta a la floración y producción de semillas, se pueden conseguir grandes ventajas al acortar la fase juvenil; en este caso la aceleración del envejecimiento (ontogénico) resulta beneficiosa, permitiendo llevar a cabo más ciclos de mejora en un tiempo determinado. Por el contrario, en lo que respecta a la propagación asexual, los procesos de maduración y envejecimiento generan una serie de dificultades (Roulund y Olesen, 1992; Toribio, 1985).

En el caso particular de la propagación por estacas, los principales problemas asociados al envejecimiento tienen relación con la dificultad para enraizar material proveniente de árboles adultos, así como también con los fenómenos de variación dentro del clon.

Aspectos Teóricos de la Maduración y el Envejecimiento

En las plantas, como en todos los organismos vivos, se presenta durante el crecimiento y desarrollo una serie de cambios morfológicos y fisiológicos que conducen a la muerte del individuo. El proceso que determina estos cambios se denomina envejecimiento.

A diferencia de los animales, en las plantas no hay un reemplazo continuo de células, sino que las células nuevas se van acumulando sobre las muertas y más antiguas. Esto explica la paradoja de que los primeros tejidos en formarse en la planta, y cronológicamente mayores, son en realidad los más juveniles. Por el contrario, los tejidos periféricos recientemente formados, son ontogénicamente los más maduros.

Según Chaperon (1979) el envejecimiento es un fenómeno complejo que obedece a un origen doble.

Por una parte se manifiesta ontogénicamente, como un proceso relacionado con la diferenciación celular, específicamente con la pérdida de capacidad regenerativa de los meristemos, los que durante su fase juvenil son totipotentes. En las primeras etapas de desarrollo de la planta, partiendo desde el cigoto, hay una concentración de toda la información genética necesaria para realizar las funciones vitales, en cambio al aumentar la complejidad de la estructura, se forman órganos especializados, los que van reteniendo parte específica de la información genética, dependiendo unos de otros para vivir.

El segundo origen es de naturaleza fisiológica, y corresponde a una modificación del funcionamiento de los meristemos por efecto nutricional. Este es consecuencia del desequilibrio que se produce entre las crecientes demandas de agua, metabolitos y sustancias de crecimiento en la parte aérea del vegetal y los aportes restringidos que puede hacer de ellos el sistema radicular, debido a las limitaciones que le impone el suelo para su expansión.

De acuerdo con Fortanier y Jonkers (cit. por Toribio, 1985) existen tres tipos de envejecimiento, coincidiendo en alguna medida los dos últimos, con los indicados por Chaperon (1979):

- Envejecimiento Cronológico: Definido como el tiempo que ha transcurrido desde la germinación de la semilla que originó al individuo.

- **Envejecimiento Ontogénico:** También llamado **maduración**, es la transición gradual entre los distintos estados de desarrollo, desde las formas juveniles a formas maduras o adultas. Este proceso se encuentra bajo control genético, tiene lugar en los meristemas y se puede apreciar exteriormente como cambios morfológicos (Aparición de órganos reproductivos, cambio de hábito, cambio en forma o tamaño de hojas, pérdida de espinas, etc.).
- **Envejecimiento Fisiológico:** Es el proceso asociado al deterioro de los ritmos de crecimiento y a la pérdida de vigor del árbol, comúnmente se asocia con un incremento en la complejidad de la estructura y la pérdida de la capacidad morfogénica.

Durante el desarrollo del árbol se distinguen tres fases; juvenilidad, madurez y senescencia. El paso desde un estado de desarrollo a otro se denomina cambio de fase, y según Wareing (1959, cit por Olesen, 1978) se distinguen dos tipos; maduración y envejecimiento.

El paso del estado juvenil al maduro, denominado maduración, se asocia al envejecimiento ontogénico. Es un cambio genéticamente programado, acelerado por las mejores condiciones de crecimiento y difícilmente reversible. Por su parte, el paso desde la fase de madurez a la de senescencia, denominado envejecimiento, se asocia con el envejecimiento fisiológico, y normalmente comprende una serie de procesos degenerativos como pérdida de clorofila, degradación de proteínas y otros, los que invariablemente conducen a la muerte de los tejidos y del individuo. Se tratan estos últimos de cambios reversibles y que corresponden a efectos fenotípicos (Olesen, 1978; Toribio, 1985).

Normalmente se señala a la floración como el evento que determina el paso desde la fase juvenil a la adulta, pero esto obedece más a un criterio práctico, derivado de la claridad con que este fenómeno puede ser percibido, y no significa que el cambio de fase sea un proceso repentino, homogéneo y simultáneo para todas las características.

Efectivamente, existen observaciones que señalan que la velocidad del cambio y la duración de la fase de transición entre el estado juvenil y el maduro son diferentes para cada una de las características que varían con el tiempo. Por ejemplo, en muchas especies arbóreas la floración tarda años en manifestarse, sin embargo la capacidad de enraizar de sus estacas se pierde mucho antes (Franclet, 1983; Toribio, 1985).

El envejecimiento tampoco se manifieste uniformemente en todo el árbol. La zona basal, y en general el área más próxima a las raíces permanece joven, mientras que las demás son más maduras. De la misma forma, las ramas más internas son más jóvenes que las externas (Chaperon, 1979; Bonga, 1982; Franclet, 1983; Kleinschmit, 1977; Rauter, 1983; Roulund y Olesen, 1992; Toribio, 1985).

Está claramente demostrado que las estacas provenientes de las partes más bajas del árbol enraizan mejor y exhiben un patrón de crecimiento más adecuado que aquellas

obtenidas desde las ramas superiores; en forma similar, las **púas de injerto** colectadas desde la porción superior de la copa florecen antes que las obtenidas desde las ramas inferiores. Ambas observaciones confirman las ideas del envejecimiento zonal del árbol.

El proceso de maduración es aparentemente independiente de la edad del árbol, aunque esta influye de alguna forma que afecta al proceso. Muchos autores sostienen que la maduración se correlaciona o depende más del crecimiento de la planta que de su edad, siendo el crecimiento, o tal vez el número de divisiones celulares del meristemo apical lo que regula el proceso de maduración (Olesen, 1978).

La idea anterior ha llevado a la formulación de la teoría de la maduración ligada a los meristemas. Ella afirma que el proceso de maduración está inequívocamente ligado a los meristemas apicales del árbol y que se encuentra correlacionado positivamente con el crecimiento total detrás de cada uno de ellos, en base al número de sus divisiones mitóticas.

Esta teoría se fundamenta básicamente en investigaciones realizadas con plantas de **Betula verrucosa**, especie que normalmente florece entre los 5 y 10 años de edad, cuando alcanza una altura cercana a los 2 metros. Artificialmente se hizo crecer a las plantas bajo condiciones de iluminación continua, con temperatura y humedad relativa óptimas, de modo que ellas alcanzaron los dos metros de altura en menos de un año, verificándose en ese momento la floración.

La maduración forzada que se indujo en las plantas de abedul fue permanente y se transmitió a los propágulos vegetativos obtenidos desde esas plantas, los cuales también florecieron en la estación siguiente. Esto permitió concluir que el cambio de fase depende de alcanzar un determinado tamaño, aún cuando persiste el desconocimiento en cuanto a la forma en que este factor opera (Olesen, 1978), pareciendo más probable que sea el número de divisiones celulares que han sufrido los meristemas, y no el tamaño, lo que determina los distintos grados de madurez (Olesen, 1978; Toribio, 1985).

Esta teoría también puede explicar por que los árboles manejados como setos permanecen en estado juvenil por mucho más tiempo, pues sólo las partes más internas y bajas de las ramas permanecen en el árbol. Dichas ramas provienen de meristemas juveniles, cuya formación ha sido precedida por un crecimiento moderado o un número relativamente bajo de divisiones celulares.

En términos estrictos, si esta teoría fuese suficiente, ninguna parte de la planta que se encuentre dentro de una determinada distancia de la base del árbol podría pasar a la fase adulta, pero esto no es así. La posible explicación dice relación con las correlaciones que se establecen dentro del árbol, entre los factores que determinan el envejecimiento fisiológico.

Otras observaciones sugieren que el cambio de fase puede estar influenciado por la relación raíz-tallo. Es así como plantas que crecen en macetas pequeñas o han sufrido severas podas radicales, exhiben una floración temprana. Por otra parte el anillado de la corteza también puede conducir a la floración cuando la planta tiene un tamaño pequeño. Ambas observaciones se relacionan con el envejecimiento fisiológico, y aunque también conducen a la floración, lo hacen por una vía distinta al de la maduración o envejecimiento ontogénico.

Por último, la fertilización al aumentar el crecimiento y la división celular también suele acortar la fase juvenil.

Problemas Asociados al Envejecimiento en Propagación Vegetativa

El principal obstáculo que ha debido enfrentar la propagación vegetativa, principalmente a través de enraizamiento de estacas, ha sido la dificultad para manipular adecuadamente el grado de maduración de los árboles adultos. El material que presenta un avanzado estado de maduración normalmente no enraiza o lo hace en baja proporción.

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, exhiben comportamientos más heterogéneos (ciclófisis y topófisis), 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).

Para poder aplicar con éxito las técnicas de estaquillado, se debe disponer de la capacidad para inducir rejuvenecimiento en el material considerado, de lo contrario, la selección de los árboles a incorporar en el programa de enraizamiento deberá contemplar solamente individuos juveniles, aceptando por consiguiente los riesgos asociados a la selección temprana.

La selección temprana, si bien puede ser apropiada para aquellas características que no manifiestan gran variación en su expresión durante el desarrollo del árbol, resulta totalmente ineficiente para aquellas que exhiben cambios importantes. Entre estas últimas se encuentran características fundamentales, como la tasa de crecimiento, propiedades mecánicas de la madera y algunas variables morfológicas, las cuales se expresan en distinta forma cuando el individuo pasa de la etapa juvenil a la fase adulta.

Francllet (1983) resume los problemas de aplicar propagación vegetativa en árboles adultos de la siguiente manera:

- Heterogeneidad en cuanto a la calidad y vigor vegetativo de las estacas tomadas desde la copa de un árbol adulto.

- Reducción de la homogeneidad y capacidad regenerativa de órganos, así como también una reducción en la capacidad para recuperar el vigor vegetativo, aún cuando las estacas se tomen de la zona más adecuada y la técnica de propagación sea la más sofisticada.
- Transmisión y memorización de la heterogeneidad en las sucesivas generaciones de estacas enraizadas.

La pérdida de la capacidad morfogénica es el principal problema asociado al envejecimiento que afecta a las técnicas de estaquillado y cultivo in vitro.

Por otra parte, el fenómeno de variación dentro del clon, es decir los distintos comportamientos exhibidos por rametos provenientes del mismo ortet, también se relacionan con los procesos de envejecimiento y maduración. Esta variación es consecuencia de la memorización de funciones mencionada por Franclet (1983), y aunque se manifiesta en distintas características, resulta más evidente en la forma o hábito de crecimiento de los rametos propagados por estacas o injertación.

Efectivamente, 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 esta al tomar el propágulo (ciclófisis) (Franclet, 1983; Zobel y Talbert, 1984). 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).

Técnicas de Rejuvenecimiento

Las dificultades asociadas a la propagación de árboles adultos hace 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. Básicamente estos métodos de rejuvenecimiento corresponden a tres enfoques distintos; la formación de setos, la propagación sucesiva (en serie o en cascada) y el cultivo in vitro (Thompson, 1983). La inducción de brotes epicórmicos basales también es útil para estos fines (Rauter, 1983), pero puede considerarse como un caso especial de formación de setos.

En el caso de los eucaliptos, 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 eucaliptos 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*.

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. Hartney (1980) indica que setos derivados de estacas enraizadas de *Eucalyptus grandis* han proporcionado material para nuevas estacas por más de siete años, sin que decline la capacidad de enraizar.

A pesar de lo anterior, los métodos de corta y poda drástica no se consideran como verdadero o total rejuvenecimiento, pero son lo suficientemente apropiados para estabiliar la madurez a un nivel compatible con la clonación económica (Franclet, 1983)

La propagación sucesiva 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 2 o 3 meses, los clones de *Eucalyptus camaldulensis* de 83 años, recuperaron las características juveniles y exhibieron un hábito de crecimiento igual al de plántulas de semilla, pudiendo ser propagados posteriormente por estacas.

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, lográndose los mejores resultados cuando se selecciona cuidadosamente en cada generación el árbol madre de mejor calidad.

Lo anterior se puede ilustrar con los trabajos de Franclet (1983), donde trabajando en propagación por estacas, provenientes de retoños 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%

El cultivo sucesivo in vitro tiene el mismo efecto que la propagación sucesiva para rejuvenecer. Esto se debe a que al usar porciones más pequeñas del tejido a rejuvenecer, se eliminan los posibles factores o sustancias que promueven la maduración. Por otra parte la reiteración de los tratamientos permite el suministro continuo de sustancias de juvenilidad, entre las cuales las citoquininas desempeñarían un papel importante (Toribio, 1985)

Las técnicas de micropropagación se usan 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).

CONCLUSIONES

Se reconoce que la juvenilidad del material a propagar es una característica fundamental para conseguir un enraizamiento exitoso. Lo anterior, junto a un depurado manejo nutricional de las plantas madres y el acucioso control de las condiciones ambientales de enraizamiento, ha permitido la implementación de importantes programas operativos de producción de plantas a través de estaquillado.

Particularmente en el caso de *Eucalyptus globulus*, empresas como ENCE, SOPORCEL y CELBI son capaces de producir millones de plantas con esta técnica y han establecido extensas superficies con plantaciones clonales.

A pesar de lo anterior, la fisiología del proceso rizogénico sigue reconociéndose como un tema complejo, que hasta la fecha no ha sido comprendido cabalmente. Esta falta de conocimiento ha impedido que los propagadores puedan manipular y controlar realmente la inducción de raíces adventicias en las estacas, y se han visto obligados a multiplicar solo a aquella pequeña proporción de individuos que presentan una aptitud rizogénica favorable.

Esta última situación queda claramente reflejada en los programas operacionales de propagación de las empresas antes mencionadas, los cuales a pesar de presentar importantes diferencias entre sí, coinciden en haberse generado después de haber evaluado la capacidad de enraizamiento de entre 2.000 y 3.000 árboles superiores, para posteriormente identificar a sólo 15 a 30 que son propagados operativamente.

La productividad de las plantaciones establecidas con plantas propagadas vegetativamente a partir de individuos superiores está fuera de discusión. Aún así, no se debe olvidar que en la actualidad los árboles de mayor interés no son necesariamente propagables. Por lo mismo, los esfuerzos orientados a esclarecer el funcionamiento del proceso de enraizamiento, hasta permitir la eficiente propagación de cualquier individuo, permitirá aumentar considerablemente los ya altos rendimientos generados por la silvicultura clonal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ballester, A., 1985. Aspectos Bioquímicos de Cuestiones Relacionadas con la Propagación Vegetativa. En: Propagación Vegetativa de Especies Leñosas de Interés Forestal. Curso monográfico. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Monte. Madrid, Junio de 1985. Pp 56 - 65.

Bansal, M. y Nanda, K., 1981. IAA Oxidasa Activity in Relation to Adventitious Root Formation on Stem Cutting of Some Forest Tree Species. *Experientia* 37(12):1273.

- Bonga, J., 1973.** Vegetative Propagation: Tissue and Organ Culture as an Alternative to Rooting Cutting. *N.Z. Jour. For. Sci.* 4(2):253 - 260.
- Bonga, J., 1982.** Vegetative Propagation in Relation to Juvenility, Maturity and Rejuvenation. En: Bonga, J. y Durzan, D. ed. *Tissue Culture in Forestry*. Boston, London. Nijhoff, M. y Junk, W. publisher. Pp 387 - 412.
- Celestino, C., 1985.** Aspectos Fisiológicos del Enraizamiento: Su Control Hormonal. En: *Propagación Vegetativa de Especies Leñosas de Interés Forestal*. Curso monográfico. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Monte. Madrid, Junio de 1985. Pp 21 - 30.
- Celestino, C., 1986.** Papel de los Compuestos Fenólicos en la Mejora Forestal. En: *Primer Congreso Forestal Nacional*. Fundacao Calouste Gulbenkian. Lisboa, Portugal. 2 al 6 Dezembro de 1986. Pp 107 - 109.
- Chaperon, H., 1979.** Maturation et Bouturage des Arbres Forestiers. *AFOCEL. Etudes et Recherches* N° 12(6): 19 - 31.
- Chaperon, H., 1983.** Clonal Propagation of Eucalypt by Cutting in France. En: *Proceeding of a Workshop on Eucalyptus in California*. Sacramento, California. June, 14 - 16. Pp 108 - 114.
- Dickman, D., 1991.** Role of Physiology on Forest Tree Improvement. *Silva Fenica* Vol. 25 N° 4.
- Durand-Creswell, R.; Boulay, M. y Franclet, A., 1982.** Vegetative Propagation of Eucalypt. En: Bonga, J. y Durzan, D. ed. *Tissue Culture in Forestry*. Boston, London. Nijhoff, M. y Junk, W. publisher. Pp 150 - 181.
- Franclet, A. 1979.** Rejuvenissement des Arbres Adultes en vue de leur Propagation Vegetative. *AFOCEL. Etudes et Recherches* N° 12 (6): 1 - 18.
- Franclet, A., 1983.** Rejuvenation: Theory and Practical Experiences in Clonal Silviculture. En: *Proceeding of the 19° Meeting of the Canadian Tree Improvement Association*. Part 2: Symposium on Clonal Forestry. Its Impact on the Improvement and our Future Forest. Toronto, Ontario. August, 22-26, 1983. Pp 96 - 134.
- Geary, T. y Harding, W., 1984.** The Effects of Leaf Quantity and Trimming on Rooting Succes with *Eucalyptus camaldulensis* Cuttings. *Comm. For. Rev.* N° 63: 225 - 230.
- Gomes, F. y Coucelo, F., 1992.** Micropropagation of *Eucalyptus globulus*. En: *Workshop Eucalyptus for Biomass Production*. J.S. Pereira y H. Pereira Editores. Lisboa, 10 -13 de febrero de 1992. Pp 171 - 173.
- Haggman, H., 1991.** Application of Biotechnology to Forest Tree Breeding. *Silva Fenica* Vol 25 N° 4.
- Hartmann, H. y Kester, D., 1990.** Propagación de Plantas. Principios y Prácticas. Compañía editorial Continental. México. 760 p.
- Hartney, V. 1980.** Vegetative Propagation of eucalypts. *Aust. For. Res.* 10(3): 191 - 211.
- Heth, D.; Fanger-Vexler, L. y Reuveni, O., 1986.** Mass Production of Cutting of *Eucalyptus camaldulensis*. *Comm. For. Rev.* 65(3): 215 - 225.

- Kleinschmit, J., 1977.** Problems of Vegetative Propagation. Third World Consultation on Forest Tree Breeding. Canberra, Australia. 21 - 26 march 1977. 13 p.
- Margara, J., 1988.** Multiplicación Vegetativa y Cultivo In Vitro. Los Meristemos y la Organogénesis. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España. 232 p.
- Nanda, K y Jain, M., 1972.** Utilization of Sugars and Starch as Carbon Sources in the Rooting of Etiolated Stem Segments of *Populus Nigra*. *New Phytologist* 71(5):825 - 828.
- Olesen, P., 1978.** On Cyclophysis and Topophysis. *Silvae Genetica* 27(5): 173 - 178.
- Pardos, J., 1985.** Fisiología de la Producción de Raíces. En: Propagación Vegetativa de Especies Leñosas de Interés Forestal. Curso monográfico. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Monte. Madrid, Junio de 1985. Pp 13 - 20.
- Puri, S. y Khara, A., 1992.** Influence of Maturity and Physiological Status of Woody Cutting: Limits and Promises to Ensure Successful Cloning. *Indian Forester*. Agosto, 1992.
- Rauter, R., 1983.** Current Status of Macropropagation. En: Proceeding of the 19^o Meeting of the Canadian Tree Improvement Association. Part 2: Symposium on Clonal Forestry. Its Impact on the Improvement and our Future Forest. Toronto, Ontario. August, 22- 26, 1983. Pp 58 - 74.
- Roulund, H. y Olesen, K., 1992.** Mass Propagation of Improved Material. Lecture Note D-7. Danida Forest Seed Centre. Denmark. 13 p.
- Thompson, D., 1983.** Clonal Reforestation: Forest of the Future? En: Seedling Physiology and Reforestation Success. Proceedings of the Physiology Working Group Technical Session. Edited by Duryea, M. y Brown, G. Soc. of American Foresters National Convention. Portland, Oregon, USA. October 16 - 20, 1983. Pp 3 - 28.
- Toribio, M., 1985.** Problemas Derivados de los Estados de Juvenilidad y Madurez en la Propagación Vegetativa. En: Propagación Vegetativa de Especies Leñosas de Interés Forestal. Curso monográfico. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Monte. Madrid, Junio de 1985. Pp 75 - 84.
- Zobel, B. y Talbert, J., 1984.** Applied Forest Tree Improvement. Ed. John Wiley & sons. New York, USA. 505 p.