

Efecto de reguladores de crecimiento para la propagación vegetativa de guayusa (*Ilex guayusa* L.)

Effect of growth regulators on vegetative propagation of guayusa (*Ilex guayusa* L.)

Carmen Emelia Muñoz López¹, Lisseth Mishel García García², Reina Concepción Medina Litardo³, Leticia Vivas Vivas⁴

¹MSc, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Agrarias, Ecuador.

²Ing. Agr. Asesor Técnico Independiente, Quinindé, Esmeraldas, Ecuador

³MSc, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Agrarias.

⁴MSc, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Agrarias.

Autor para correspondencia: carmen.munozl@ug.edu.ec

Recibido: 12 agosto 2022

Aprobado: 24 noviembre 2022

Publicado: 12 diciembre 2022

Resumen

El estudio se realizó en la provincia Esmeraldas, cantón Quinindé en el recinto el Limón, se evaluó el efecto de reguladores de crecimiento para la propagación vegetativa de guayusa (*Ilex guayusa* L.). Se estudiaron 3 tratamientos (Auxinas): tratamiento 1: ANA ácido naftanelacético (2,75 mg/l), tratamiento 2: ANA ácido naftanelacético (5,50 mg/l) y tratamiento 3: AIB ácido indolbutírico (10,00 mg/ha) generando 7 repeticiones, se utilizó el diseño completamente al azar, con 5% de probabilidad de la prueba de Duncan. De acuerdo con los resultados obtenidos en la presente investigación se concluye lo siguiente: T1: ANA-ácido naftalenacético en dosis de (2,75 mg/l) y T2: ANA Ácido Naftanelacético en dosis (5,50 mg/l) presentaron un promedio de 85% ambas con raíces, T3: AIB-Ácido Indolbutírico dosis (10,00 mg/l) con 72%; T1: ANA- ácido naftalenacético en dosis de (2,75 mg/l) reportó el mayor volumen de raíz y longitud con un promedio de (4,2 mg/l) y (7,76 mm) respectivamente.

Palabras claves: Reguladores, crecimientos, acodos aéreos, ácido naftanelacético, ácido indolbutírico.

Abstract

The study was carried out in the province of Esmeraldas, Canton Quinindé in the El Limón enclosure, the effect of growth regulators for the vegetative propagation of guayusa (*Ilex guayusa*) was evaluated. We studied 3 treatments (Auxins): ANA (2.75 and 5.50mg/l) and AIB (10.00 mg/ha) generating 3 treatments with 7 repetitions, the design was used completely randomly, with 5% of probability of the

Duncan test (Analysis of variance).). According to the results obtained in the present research, the following is concluded: Naphthaleneacetic acid at doses of 2.75 mg / l and 5.50% presented an average of 85% both, Indolbutyric acid with 72%; Naphthaleneacetic acid at doses of 2.75 mg/l reported the highest root volume and length with an average of 4.2 mg/l and 7.76 mm respectively.

Key words: Regulators, growth, air layering, naphthaleneacetic acid, indolebutyric acid

Introducción

Ecuador es considerado es un país diverso donde se encuentra varias especies forestales alrededor de 600 que tienen una buena diversidad morfológica que incluyen arbustos, arboles perennifolios y árboles deciduos de gran importancia económica que son altamente aprovechadas, lo cual podría ser de gran valor para poder engrandecer los mercados, que permitan conocer sus propiedades que favorecerán a los consumidores (Crespo, 2018). Según Radice & Vidari (2007), la amazonia ecuatoriana presenta una de las áreas con mayor biodiversidad del planeta y por su enorme variedad de plantas se convierte en una fuente de investigación de interés permanente, especialmente para el desarrollo de materias primas del mercado.

La guayusa (*Ilex guayusa* L.) de la familia Aquifoliaceae es considerada una planta nativa de la amazonia ecuatoriana consumida por comunidades indígenas desde hace 1000 años, se la encuentra en las provincias de Morona Santiago, Pastaza, Napo, Sucumbíos, Zamora Chinchipe (Radice & Vidari,

2007). El árbol de guayusa se la utilizó hace muchos años en muchas generaciones, debido a que los indígenas practicaban rituales, aprovechando sus propiedades medicinales que los ayudaban a mantener un nivel de energía, huesos fuertes, mejoramiento de problemas de gastritis, fertilidad en las mujeres, antioxidantes; pero, al consumir en exceso estas bebidas energéticas pueden ser perjudiciales para la salud, contiene estimulantes y poderoso energizante que ayudan a disminuir el cansancio, presión arterial y fatiga, por eso, la necesidad de investigar esta planta, sus usos y expendio en el mercado que además genera fuentes de empleo local. En la provincia de Morona Santiago es identificada por el nombre de shuar wais, en la actualidad, los shuars amazónicos son pueblos que aún siguen con el uso de esta planta, pero ahora han perdido el interés de seguir las tradiciones debido a que solo las comunidades más cercanas a la selva son los que aprovechan la guayusa para continuar con sus rituales como lo han realizado sus generaciones pasadas (Crespo, 2018).

Para la multiplicación asexual de plantas de guayusa, se realizan acodos aéreos, que consiste, que de la rama del arbusto broten nuevas raíces, En las propiedades fitoquímicas la parte importante del cultivo son las hojas, ya que son utilizadas para la elaboración de bebidas con propiedades estimulantes. Arias y Gualli (2013), mencionan que la guayusa contiene alcaloides, flavonoides, fenoles-taninos, saponinas y ciertos aminoácidos como teobromina, L-teanina, esenciales para el ser humano y una alta actividad antioxidante (Crespo, 2018), compuestos esenciales para el consumo humano por su alta actividad antioxidante.

Al ser un cultivo de guayusa nuevo entre los productores, todavía existe incertidumbre sobre el manejo en lo que se refiere a la clonación masiva de plantas, por lo que se necesita continuar en procesos de capacitación y buscando alternativas con tecnologías de avanzada y solventar esta falencia ya que hoy se cuenta con técnicas como el uso de fitohormonas para clonar plantas a partir de acodos aéreos, pero existe la necesidad de conocer un protocolo para que estos explantes se elonguen caular y radicularmente y luego sean separados de la planta madre y colocar en fundas con un sustrato adecuado, los bosques están sufriendo un proceso de disminución de sus poblaciones debido a factores antropogénicos como tala y quema, así como la extracción de minerales, alterando su hábitat natural (Ramírez et al., 2020).

La comercialización de I. guayusa se ha incrementado en la región amazónica de Ecuador. La Fundación RUNA es una de las principales empresas dedicadas al procesamiento de la hoja para diversos usos (té y bebidas energizantes) desde el 2009. Las comunidades que cultivan guayusa están aprendiendo a valorar esta especie como una fuente de ingresos económicos y por lo tanto ampliando el área de cultivo. Se han realizado varios estudios que han reportado propiedades fitoquímicas en las hojas, como la presencia de metilxantinas, entre otros. Ante este panorama, y debido a las limitaciones que tiene el cultivo tradicional de I. guayusa., es importante encontrar formas alternativas de propagación de esta especie. Al tener restricciones con la germinación de semillas, la siembra depende exclusivamente de formas de propagación vegetativa, lo cual eventualmente podría conducir a una reducción de su diversidad genética y llevarla a una condición de vulnerabilidad. Desde el punto de vista ecológico, el cultivo y mantenimiento in vitro de guayusa podría constituir una forma de conservación ex situ de esta especie. Por estas razones, este estudio representa un primer acercamiento para establecer protocolos de cultivo in vitro de guayusa por medio de la propagación de segmentos nodales (reproducción de partes vegetales.). Por lo antes expuesto la investigación tuvo como objetivo, determinar el efecto de reguladores de crecimiento para la propagación vegetativa de guayusa mediante acodos aéreos.

Materiales y métodos

El trabajo experimental se llevó acabo, en el recinto el Limón, parroquia la Unión del Cantón Quinindé, provincia de Esmeraldas, Ecuador; con una altitud de 131 a 141 msnm, una temperatura media anual 24 a 26°C, humedad relativa de 85% y precipitación media anual de 905 mm.

Según la clasificación de Holdridge, el lote experimental pertenece al tipo de Trópico Seco, este terreno presenta topografía plana y regular, posee una textura limo-arcilloso y pedregosos con rocas a menos de 20 cm, con un pH > 7 (Bernal, 2019).

Tratamientos:

T1= Concentración 2,75 mg/l de Ácido Naftaneálcetico.

T2= Concentración 5,50 mg/l de Ácido Naftaneálcetico.

T3= Concentración 10.00 mg/l de Ácido Indolbutírico.

Se utilizó un diseño completamente al azar, con siete repeticiones; la comparación de medias de los tratamientos se estableció mediante la prueba de

Duncan al 5% de probabilidad estadística, para el análisis de los datos se utilizó el cálculo de coeficiente y se expresó en porcentaje.

Manejo del experimento

Propagación vegetativa por acodos aéreos. Primero se seleccionaron las ramas que estuvieron en buen estado vegetativo guayusa para realizarse a cabo este método de estudio. Se escogieron ramas jóvenes menores de un año, color verdosas de diámetro de 1 a 2 cm.

Acodadura aérea en plantas seleccionadas

Para realizar este experimento, se hicieron 21 acodaduras, en 3 árboles de guayusa, donde se utilizó el bisturí esterilizado longitud de la hoja 42 mm, usando guantes de cirugía y realizando un corte circular aproximadamente 2 cm de ancho en ramas seleccionadas para el acodo. Este proceso se llevó a cabo en ramas fuertes de tamaño de 1 a 2 cm de diámetro, donde se procedió a retirar la corteza (epidermis) sin lastimar su xilema, haciendo esto en todas las ramas seleccionadas, usando previamente alcohol como desinfectante.

Preparación de hormonas

En el laboratorio se procedió a diluir las fitohormonas para enraizamiento ANA-Ácido naftaleneácetico y AIB- Ácido indolbutírico cada uno en concentraciones de 200 ppm; 500 ppm; 1000 ppm 2,75; 5,5; 10 ppm, con alcohol etílico al 75% diluido en dosis de 5 ml para completarlo al 100% la dilución, se añadió 40% de agua destilada estéril y obtener una interacción de 1 a 1. Estas dosis fueron aplicadas en cada acodo aéreo con sus respectivos tratamientos y donde se evaluó su formación de callos y desarrollo de raíces.

Incisión para realizar el acodo

Se retiró con el bisturí esterilizado la epidermis o corteza donde se realizó la acodadura, luego se procedió a colocar el papel absorbente humedecido con las dosis ya determinadas de cada una de las auxinas, ANA Y AIB; y, una vez que se concentren en la xilema, aparecerá una capa de parénquimas (callos) y por ultimo las células vasculares y floema.

Preparación del sustrato

El sustrato utilizado fue humus de lombriz, mantillo de huerta, tamo de arroz, tierra y hojas. Previamente esterilizado. Se lo mezcló y se regó con agua hasta que quede con la humedad deseada para los acodos aéreos. Luego se cubrió la incisión con el sustrato preparado con una cantidad pequeña de 111 g de sustrato. Para que los acodos queden firmes, se los cubrió con una cinta pegante adecuada para que la incisión y el sustrato queden compactos y cumplan su función.

Se lo realizó con una jeringuilla de 60 ml donde se le aplicaron por cada acodo aéreo una o dos jeringuillas del volumen ya descrito, la cantidad precisa para

mantener húmedo el sustrato que esté en su capacidad de campo. El riego se hizo 1 a 2 veces por semana dependiendo del tipo de clima.

Variables evaluadas

Número de raíces a los (60 días). El conteo de esta variable se hizo entre los dos meses, mientras duró el experimento.

Longitud de las raíces a los 90 días. Estas variables se evaluaron a los 90 días ya establecidos los tratamientos, las medidas se la tomaron en centímetros y se utilizó una regla milimétrica o calibrador vernier electrónico.

Volumen de raíces a los 90 días. En esta variable se utilizó una probeta para sacar el volumen, es decir, la diferencia entre volumen de raíces.

Porcentaje de acodos enraizados. Esta variable se realizó a los 60 días, donde se contabilizó el número de acodos enraizados en cada parcela experimental para luego ser transformado en porcentaje.

Resultados y discusión

Número de raíces

De acuerdo al análisis de varianza, el promedio general es de 24 raíces con un coeficiente de variación de 20,83%.

El tratamiento 2 (Ácido Naftalenacético en dosis de 5,50 mg/l), presentó el mayor número de raíz con un promedio de 36 raíces, igual estadísticamente al tratamiento 1 (Ácido Naftalenacético en dosis de 2,75 mg/l) con un promedio de 28 raíces, difieren estadísticamente del tratamiento 3 (Ácido Indolbutírico en dosis de 10,00 mg/l) quien reportó el menor número de raíces con un promedio de 9 raíces (Tabla 1). Resultado que concuerda con Hartmann y Kester (2017), quienes expresan que la hormona ANA presenta un efecto sobre el número de raíz en dosis de 5,00 mg/l.

Tabla 1. Promedios de número de raíz mediante la aplicación de reguladores de crecimiento para la propagación vegetativa de guayusa

Nº	Tratamientos	Promedios Número de raíz
1	Ácido Naftalenacético (2,75 mg/l)	28a** ¹
2	Ácido Naftalenacético (5,50 mg/l)	36 ^a
3	Ácido Indolbutírico (10,00 mg/l)	9b
	Promedio	24
	C.V.(%)	20,83

¹Valor(es) señalado(s) con la(s) misma(s) letra(s) no difieren estadísticamente entre sí(Duncan α 0,05); N.S. No Significativo.** Significancia al 5%.

Longitud de raíz

El coeficiente de variación es de 25,58% y un promedio general de 6,16 mm (Tabla 2).

El tratamiento 1 (Ácido Naftalenacético en dosis de 2,75 mg/l) alcanzó el mayor promedio de longitud de la raíz con 7,76 mm, igual estadísticamente al tratamiento 2 (Ácido Naftalenacético en dosis de 5,50 mg/l) con un promedio de 6,31 mm difiere estadísticamente del tratamiento 3 (Ácido Indolbutírico en dosis de 10,00 mg/l) con un promedio de 4,41 mm (Tabla 2). Resultados similares con lo expresado por Ramírez et al. (2020), quien en su experimento mediante la aplicación de diferentes dosis de ANA y AIB, siendo la dosis de 2,5 la más rentable de los tratamientos con un valor de 7,2 a dosis 6,00 mg/l.

Tabla 2. Promedios de longitud de raíz mediante la aplicación de reguladores de crecimiento para la propagación vegetativa de guayusa

Nº	Tratamientos	Promedios Longitud de raíz (mm)
1	Ácido Naftalenacético (2,75 mg/l)	7,76 a**1
2	Ácido Naftalenacético (5,50 mg/l)	6,31 a
3	Ácido Indolbutírico (10,00 mg/l)	4,41 b
	Promedio	6,16
	C.V.(%)	25,58

¹Valor(es) señalado(s) con la(s) misma(s) letra(s) no difieren estadísticamente entre sí (Duncan α 0,05); N.S. No Significativo.** Significancia al 5%.

Volumen de raíz

El coeficiente de variación fue de 22,25% y el promedio general de 3,12 mg/l (Tabla 3).

El tratamiento 1 (Ácido Naftalenacético en dosis de 2,75 mg/l) reportó el mayor volumen de raíz con un promedio de 4,2 mg/l, igual estadísticamente al tratamiento 2 (Ácido Naftalenacético en dosis de 5,50 mg/l) con un promedio de 3,02 mg/l, difieren estadísticamente del tratamiento 3 (Ácido Indolbutírico en dosis de 10,00 mg/l) con un promedio de 2,15 mg/l. Resultado que coincide con Huber & Oliveira (2010), quienes menciona que el ANA ayuda a incrementar el volumen de las raíces a baja dosis (2,75 mg/l).

Tabla 3. Promedios de volumen de raíz mediante la aplicación de reguladores de crecimiento para la propagación vegetativa de guayusa

Nº	Tratamientos	Promedios Volumen de raíz
1	Ácido Naftalenacético (2,75 mg/l)	4,20 a**1
2	Ácido Naftalenacético (5,50 mg/l)	3,02 a
3	Ácido Indolbutírico (10,00 mg/l)	2,15 b
	Promedio	3,12
	C.V.(%)	22,25

¹Valor(es) señalado(s) con la(s) misma(s) letra(s) no difieren estadísticamente entre sí (Duncan α 0,05); N.S. No Significativo.** Significancia al 5%.

Porcentaje de acodos enraizados

De acuerdo al análisis de varianza los tratamientos no presentaron significancias estadísticas, esta variable alcanzó un promedio general de 81% de acodos enraizados con un coeficiente de variación de 29,94% (Tabla 4).

El tratamiento 1 (Ácido Naftalenacético en dosis de 2,75 mg/l) y 2 (Ácido Naftalenacético en dosis de 5,50 mg/l) alcanzaron los mayores promedios de enraizamiento con 85% cada uno, el tratamiento 3 (Ácido Indolbutírico en dosis de 10,00 mg/l) alcanzó el menor promedio con 72% (Tabla 4). Resultado que coinciden con (Nilca et al., 2018) quien, en su investigación, propagación asexual mediante la técnica de acodo aéreo, probando ANA AIB, siendo la dosis de ANA (2,75 y 5,50 mg/l) que reportó los mejores porcentajes con 87% en relación con AIB (10,00 mg/l) un promedio de 75%.

Tabla 4. Promedios de porcentaje de acodos enraizados mediante la aplicación de reguladores de crecimiento para la propagación vegetativa de guayusa

Nº	Tratamientos	Promedios Porcentaje de acodos enraizados
1	Ácido Naftalenacético (2,75 mg/l)	85 NS
2	Ácido Naftalenacético (5,50 mg/l)	85
3	Ácido Indolbutírico (10,00 mg/l)	72
	Promedio	81
	C.V.(%)	29,94

¹Valor(es) señalado(s) con la(s) misma(s) letra(s) no difieren estadísticamente entre sí (Duncan α 0,05); N.S. No Significativo. ** Significancia al 5%.

Conclusiones

En términos generales se observó que la aplicación de Ácido Naftalenacético en dosis de 2,75 mg/L y 5,50% se obtuvo mayor promedio de 85% en los dos tratamientos mientras que con el Ácido Indolbutírico se logró un 72%.

El Ácido Naftalenacético en dosis de 2,75 mg/l reportó el mayor volumen de raíz y longitud con un promedio de 4,2 mg/l y 7,76 mm respectivamente.

Referencias Bibliográficas

- Bernal, B., & Ramos, L. (2019). *Determinación del mapa de zonas de vida por metodología Holdridge mediante técnicas de sensoramiento remoto y geoestadística en la vertiente del Pacífico del Perú*. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/11551>
- Crespo, C. (2018). *Determinación indirecta del contenido de cafeína en el cultivo de guayusa (Ilex guayusa), mediante el ndvl*. Quito. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/14258>
- Flores, M. (2019). *Evaluación de enraizadores en estacas de cacao (Theobroma cacao L.) con tres diferentes cortes de hoja tolerantes a la monillia en la Estación Experimental Sapecho Alto Beni*. <http://repositorio.umsa.bo/xmlui/handle/123456789/20630>
- Josué, V. (2020). *Conservación in situ de plantas nativas herbáceas, medicinales o bioplaguicidas, como reservorio de Diversidad genética y cultural, Mariscal Sucre Guayas. Universidad Agraria del Ecuador*. <https://cia.uagraria.edu.ec>
- Martine, G. Salinas, B., & Valdivieso, V. (2013). *Proyecto asociativo entre la Fundación Runa y la empresa kallari, productoras del cacao y de la planta de guayusa para la producción y comercialización de un fitofármaco que eleve el rendimiento mental aplicado a los estudiantes universitarios de la ciudad*. Quito. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/5812>
- Quispe, M. (2013). *Propagación vegetativa de esquejes de queñua (Polylepis besseri Hieron) en base a la aplicación de dos enraizadores naturales y tres tipos de sustratos en el vivero de la comunidad de Huancané. [Tesis de grado, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia]*. <https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/4136/T-1887.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Radice, V. (2007). *Caracterización fitoquímica de la especie Ilex guayusa Loes. y elaboración de un prototipo de fitofármaco de interés comercial*. La Granja, 6 (2). 1-9. <https://lagranja.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/6.2007.01>
- Ramírez-Villalobos, M., & Urdaneta-Fernández, A. (2004). *Efecto del ácido naftalenacético y de diferentes sustratos sobre el enraizamiento de acodos aéreos del guayabo (Psidium guajava L.)*. Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín, 21(1), 28-34. https://www.revfacagronluz.org.ve/pdf/suplemento2004/ramirez_y_urdaneta.pdf
- Torres, C. (2022). *Efecto del ácido indol butírico y ácido &-naftalenacético en el enraizamiento de estacas de Smallanthus glabratus (DC.) H. Rob. "Shita negra", en invernadero*. <https://repositorio.unc.edu.pe/handle/20.500.14074/4917>