

11° Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos

Propagación vegetativa: Una herramienta para la domesticación participativa y la conservación de frutales nativos de la selva paranaense

Niella, F. ¹; Rocha, P. ¹; Bustamante, K. ¹; Thalmayr, P. ¹

¹Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Facultad de Ciencias Forestales (FCF), LAPROVECO, Eldorado, Misiones, Argentina 

Resumen

La cosecha de frutos y semillas de *Feijoa sellowiana* y *Eugenia involucrata* en el nordeste de Argentina se basa en una selección fenotípica de árboles naturales y urbanos, lo que subutiliza su potencial genético. Esta práctica, inicialmente efectiva, ahora es insuficiente para satisfacer la creciente demanda. Ambas especies, valiosas tanto por sus frutos como por su rol ecológico, requieren estrategias integradas de conservación debido a la fragmentación de su hábitat. El artículo describe el desarrollo de técnicas biotecnológicas *in vitro* y *ex vitro* para la propagación de estas especies, mejorando la disponibilidad y la calidad de los frutos. Las técnicas incluyen la multiplicación vía axilar y la organogénesis directa a partir de explantos de plántulas germinadas *in vitro*, así como la propagación *ex vitro* mediante minicepas y miniestacas. Estos métodos han mostrado alta eficiencia en la producción de plantas con un alto porcentaje de enraizamiento y sobrevivencia en invernáculo. La integración de estas técnicas permite conservar la diversidad genética y producir plantas elite, facilitando la domesticación y conservación sostenible de estos recursos fitogenéticos. La colaboración entre instituciones y productores es clave para el éxito de este enfoque, asegurando la sostenibilidad a largo plazo.

Editor

Maximiliano Dini 
Instituto Nacional de
Investigación Agropecuaria
(INIA), Canelones, Uruguay

Gabriela Speroni 
Universidad de la República,
Montevideo, Uruguay

Received 08 Aug 2024

Accepted 16 May 2025

Published 15 Oct 2025

Correspondence

Fernando Niella
fernando.niella@fcf.unam.edu.ar

Palabras clave: *Feijoa sellowiana*, *Eugenia involucrata*, *in vitro*, *ex vitro*, minicepas



Vegetative propagation: A tool for the participatory domestication and conservation of native fruit trees in the Paranaense forest

Abstract

The harvest of fruits and seeds of *Feijoa sellowiana* and *Eugenia involucrata* in northeastern Argentina is based on a phenotypic selection of natural and urban trees, which underutilizes their genetic potential. This practice, initially effective, is now insufficient to meet the growing demand. Both species, valuable for their fruits and ecological role, require integrated conservation strategies due to habitat fragmentation. The article describes the development of *in vitro* and *ex vitro* biotechnological techniques for the propagation of these species, improving the availability and quality of fruits. Techniques include axillary shoot multiplication and direct organogenesis from *in vitro*-germinated seedling explants, as well as *ex vitro* propagation through minicepas and mini-stakes. These methods have shown high efficiency in plant production with a high rooting and survival rate in greenhouses. The integration of these techniques allows for the conservation of genetic diversity and the production of elite plants, facilitating the domestication and sustainable conservation of these phylogenetic resources. Collaboration between institutions and producers is key to the success of this approach, ensuring long-term sustainability.

Palabras clave: *Feijoa sellowiana*, *Eugenia involucrata*, *in vitro*, *ex vitro*, minicepas

Propagação vegetativa: Uma ferramenta para a domesticação participativa e conservação de frutíferas nativas da floresta paranaense

Resumo

A colheita de frutos e sementes de *Feijoa sellowiana* e *Eugenia involucrata* no nordeste da Argentina baseia-se em uma seleção fenotípica de árvores naturais e urbanas, o que subutiliza seu potencial genético. Esta prática, inicialmente eficaz, agora é insuficiente para atender à crescente demanda. Ambas as espécies, valiosas tanto pelos seus frutos quanto pelo seu papel ecológico, requerem estratégias integradas de conservação devido à fragmentação do seu habitat. O artigo descreve o desenvolvimento de técnicas biotecnológicas *in vitro* e *ex vitro* para a propagação dessas espécies, melhorando a disponibilidade e qualidade dos frutos. As técnicas incluem a multiplicação de brotos axilares e a organogênese direta a partir de explantes de plântulas germinadas *in vitro*, bem como a propagação *ex vitro* através de minicepas e miniestacas. Esses métodos demonstraram alta eficiência na produção de plantas com uma alta taxa de enraizamento e sobrevivência em estufas. A integração dessas técnicas permite conservar a diversidade genética e produzir plantas de elite, facilitando a domesticação e conservação sustentável desses recursos fitogenéticos. A colaboração entre instituições e produtores é fundamental para o sucesso desta abordagem, garantindo a sustentabilidade a longo prazo.

Palavras-chave: *Feijoa sellowiana*, *Eugenia involucrata*, *in vitro*, *ex vitro*, minicepas

1. Introducción

En la actualidad, la cosecha de frutos para consumo y/o semillas para plantación de especies frutales nativas en la selva paranaense en el nordeste de Argentina, como *Eugenia involucrata* DC. (cerella o cerezo nativo) y *Feijoa sellowiana* (O. Berg) O. Berg (guayabo nativo o brasileiro), se realiza en general a partir de una selección meramente fenotípica en bosques naturales y/o árboles plantados en áreas urbanas sin ningún grado de domesticación, con la consiguiente subutilización de su potencial genético. En el corto plazo, la obtención de frutos de poblaciones naturales y/o árboles plantados en áreas urbanas fue una solución para abastecer la demanda, pero, en la actualidad, la cosecha es cada vez más escasa y variable y no es suficiente para atender la necesidad de un creciente número de productores que lo utilizan para la producción de dulces, vinos, licores y/o venta para su consumo como fruta fresca. Dicho de otra forma, el uso actual de los frutales

nativos, y como la mayor parte de los recursos fitogenéticos de la selva paranaense, es fundamentalmente extractivo y en un estado incipiente de domesticación, con escasa atención a su conservación. Por esta razón, los recursos genéticos remanentes de estas especies, que se encuentran en estado de vulnerabilidad por la fragmentación y disminución creciente de su hábitat natural, requieren estrategias integradas de conservación (*in situ* y *ex situ*).

El desarrollo de herramientas biotecnológicas que faciliten y aceleren la implementación de un programa de domesticación y aumento de la disponibilidad en cantidad y calidad de frutos para estas especies en particular es una necesidad si queremos diversificar la matriz de productos alimenticios. También es una acción que significa una apuesta a la conservación del recurso, en el sentido de que si se logra una utilización y producción sostenida a partir de las especies en consideración, también aseguramos su presencia en el ecosistema en largo plazo. Una modalidad cada vez más utilizada y con mucho éxito, en especies leñosas de importancia económica para la industria papelera y del aserrío, como el género *Pinus* sp y *Eucalyptus* sp, es la metodología que integra las técnicas de propagación vegetativa *in vitro* y *ex vitro* con programas de mejoramiento genético, permitiendo aumentar la producción de material genético elite mejorado⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾. Sin embargo, esta es una modalidad poco explorada en especies frutales leñosas nativas. El desarrollo de técnicas de propagación vegetativa, con distinto grado de complejidad (*in vitro/ex vitro*), facilita su uso y alcance en su adopción a un mayor número de productores y viveristas, lo que permite no solo propagar en forma clonal el material genético selecto, sino también conservar una colección en su vivero de material genético de distintas procedencias, contribuyendo así a asegurar la conservación de la diversidad genética intraespecífica. La propagación vegetativa *ex vitro*, por minicepas y miniestacas, y su integración con las técnicas *in vitro* permiten capturar los beneficios de la heterosis mediante la clonación de material genético sobresaliente e híbridos para plantaciones o huertos⁽⁶⁾ y la formación de rodales homogéneos para las características de interés⁽⁷⁾. Esta técnica puede contribuir a la recuperación y la conservación de los recursos genéticos de las especies, así como a la producción masiva de plantas en un corto período de tiempo⁽⁸⁾. La inducción de enraizamiento adventicio en invernáculo en condiciones semicontroladas y el manejo adecuado de la planta donante de brotes constituyen los pasos esenciales en este proceso de producción de plantas.

Eugenia involucrata y *Feijoa sellowiana* pertenecen a la familia de las mirtáceas, distribuidas naturalmente en el caso de *E. involucrata* en la Mata Atlántica (sureste de Brasil), noreste de Argentina y este de Paraguay (selva paranaense) y norte de Uruguay⁽⁹⁾, y en el caso de *F. sellowiana*, en el sureste de Brasil, norte de Uruguay y una presencia casi en el límite de su distribución natural al sur de la provincia de Misiones. Son especies de porte arbustivo, que han llamado la atención en los últimos años como un valioso recurso fitogenético por sus frutos carnosos y comestibles aptos para su consumo fresco, preparación de dulces, licores, vinagres, aportando así a una necesaria diversificación productiva y nuevas fuentes de alimentos de alta calidad nutricional⁽¹⁰⁾. También son de valor en el ecosistema como especies que son dispersadas por animales, polinizadas por insectos, facilitando y aumentando la presencia de polinizadores en el monte y contribuyendo en forma natural en la recuperación de áreas degradadas⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾.

Ambas especies han sido abordadas en el desarrollo de protocolos de cultivo *in vitro* y *ex vitro* con distinto grado de éxito⁽¹⁰⁾⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾⁽²³⁾⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾. En general, la proliferación de brotes axilares *in vitro* en especies leñosas latifoliadas tropicales y subtropicales ha sido posible con explantos provenientes de segmentos nodales y/o axilares a partir de material madre juvenil a maduro. Las técnicas de propagación *in vitro* como la multiplicación vía axilar, organogénesis o la embriogénesis somática ofrecen un gran potencial no solo para la multiplicación rápida del stock existente de especies de plantas, sino también como estrategia de conservación *ex situ*⁽²⁶⁾ en la conformación de bancos de germoplasma. En particular, la técnica de organogénesis directa ha demostrado ser un método eficiente no solo como fuente de explantos para encapsulación y crioconservación, sino también para la propagación masiva de plantas en una estrategia que considere la remultiplicación *ex vitro* con técnicas como la miniestaca. La organogénesis puede ser directa con la forma-

ción de brotes a partir del explanto utilizado, sin la intervención de la etapa de callo, o indirecta, en los que se observa la formación previa de callos en el explanto (desdiferenciación del tejido) y generación de brotes a partir de la diferenciación del tejido calloso⁽²⁶⁾. Su éxito depende, entre otros factores, del tipo de explante y medios de cultivo que contengan una combinación óptima de reguladores de crecimiento vegetal (RCV), y ha sido reportado con éxito en diferentes especies de plantas leñosas⁽⁵⁾⁽²⁷⁾⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾⁽³⁰⁾⁽³¹⁾⁽³²⁾.

Sin embargo, la propuesta de integración de ambas técnicas *in vitro/ex vitro* es aún un terreno inexplorado en estas especies. La fortaleza de esta estrategia yace en el abordaje colaborativo, donde las técnicas más complejas (propagación *in vitro*) son realizadas por instituciones como las universidades, y las técnicas más accesibles y de menor complejidad (propagación *ex vitro*) son extendidas a los viveristas y pequeños productores, generando de esta forma un esquema de trabajo participativo. En este artículo, delineamos los procedimientos y resultados desarrollados en el Laboratorio de Propagación Vegetativa, Conservación y Domesticación de Recursos Fitogenéticos-FCF-UNaM (LAPROVECO), para la integración de la propagación vegetativa *in vitro-ex vitro* en las especies *F. sellowiana* y *E. involucrata*.

2. Materiales y métodos

En la presente sección, se describen los protocolos de propagación *in vitro* y *ex vitro* para las especies *Feijoa sellowiana* y *Eugenia involucrata*, basados en diversos ensayos realizados en nuestro laboratorio y publicados⁽³²⁾⁽³³⁾⁽³⁴⁾⁽³⁵⁾⁽³⁶⁾⁽³⁷⁾⁽³⁸⁾⁽³⁹⁾, que se proponen como técnicas a ser integradas para conformar un sistema de producción de plantas.

2.1 Propagación *in vitro*

Los explantes utilizados en la multiplicación vía axilar y organogénesis directa se obtuvieron de plántulas germinadas *in vitro* según las metodologías descriptas en publicaciones previas de autores del presente trabajo⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁴⁾. Las semillas se obtuvieron de una mezcla compuesta de frutos cosechados aleatoriamente (manteniendo una distancia mínima de 150 m entre arboles semilleros). En el caso de *Feijoa sellowiana*, la cosecha de frutos se realizó en poblaciones identificadas en el sur de la provincia de Misiones, en los departamentos de San Ignacio, Oberá, L. N. Alem y Candelaria⁽⁴⁰⁾; mientras que en *Eugenia involucrata*, la cosecha se realizó en plantas ubicadas en la ciudad de Eldorado, Misiones-Argentina. Los frutos fueron trasladados al LAPROVECO (Laboratorio de Propagación Vegetativa, Domesticación y Conservación de Recursos Fitogenéticos-Facultad de Ciencias Forestales-Universidad Nacional de Misiones), donde se separaron las semillas en forma manual, se lavaron y se dejaron secar en papel absorbente hasta su utilización. En líneas generales, las semillas fueron desinfectadas en dos etapas: un primer tratamiento que contempló una desinfección fuera de la cámara de cultivo, de inmersión en solución de 30 g/l del bactericida Agrigen Plus® y fungicida Chemispor®, seguido de un segundo tratamiento de desinfección, en condiciones de asepsia en cámara de cultivo, con inmersión en solución de etanol al 70% y posteriormente en hipoclorito de sodio (NaClO) al 2% seguido de enjuagues con agua destilada estéril. Una vez desinfectadas, las semillas de *F. sellowiana* fueron puestas a germinar en cubetes Magenta GA 7-3®, conteniendo 50 ml de medio y cubiertos con tapas Magenta GA-7; conteniendo un volumen aproximado de 20 ml de medio de cultivo básico Murashige y Skoog⁽⁴¹⁾ a razón de 9 semillas por cubete. Mientras que las semillas esterilizadas de *E. involucrata* fueron cultivadas, individualmente, en tubos de vidrio de base plana que contenían 15 ml de medio de cultivo MS ½ (con la mitad de la concentración de macro y micronutrientes de MS⁽⁴¹⁾). Los medios de cultivo para ambas especies fueron enriquecidos con 25 g L⁻¹ de sacarosa. El pH se ajustó a 5,8 con NaOH o HCl 0,1 N y se agregó 1,5 g L⁻¹ del gelificante Phytigel (SIGMA®). El medio fue esterilizado en autoclave a 1 atm y 120 °C por 20 minutos. Las semillas sembradas se colocaron en una sala de cultivo, permaneciendo bajo un fotoperiodo de 16 horas (120 μmol.m⁻². s⁻¹), a 24±2 °C.

2.1.1 Multiplicación vía axilar y organogénesis directa

Para la multiplicación vía axilar de *Feijoa sellowiana* se utilizaron como explantes segmentos (0,5 cm) uninodales (SN) y apicales (AP), obtenidos de plántulas de 60 días germinadas *in vitro*, se cultivaron en el medio Woody Plant Medium⁽⁴²⁾, conteniendo 25 g L⁻¹ de sacarosa y 0,1 mg L⁻¹ de 6-benzylaminopurina (BAP). El pH se ajustó a 5,8 con NaOH o HCl 0,1 N y se agregó 1,5 g L⁻¹ del gelificante Phytigel (SIGMA®). El medio fue esterilizado en autoclave a 1 atm y 120 °C por 20 minutos. Los explantos cultivados en cubetes Magenta GA 7-3®, conteniendo 50 ml de medio y cubiertos con tapas Magenta GA-7, se colocaron en una sala de cultivo, permaneciendo bajo un fotoperiodo de 16 horas (120 µmol.m⁻². s⁻¹), a 24±2 °C. Luego de 60 días de cultivo, los explantos fueron subcultivados a medio libre de hormona, por 30 días. Se evaluó el número de brotes/explanto, longitud del brote principal y enraizamiento de los explantos.

Para la organogénesis directa de *Eugenia involucrata*, se utilizaron como explantes segmentos (0,5 cm) nodales (SN), obtenidos de plántulas de 45 días germinadas *in vitro*, se cultivaron en medio MS ½ conteniendo 25 g L⁻¹ de sacarosa y 2,25 mg L⁻¹ de BAP combinado con 0,93 mg L⁻¹ de ANA. El pH se ajustó a 5,8 con NaOH o HCl 0,1 N y se agregó 1,5 g L⁻¹ del gelificante Phytigel (SIGMA®). El medio fue esterilizado en autoclave a 1 atm y 120 °C por 20 minutos. Los explantes fueron cultivados en frascos de vidrio (220 cm³) conteniendo 50 ml de medio y cubiertos con una doble capa de filme adherente; se colocaron en una sala de cultivo, permaneciendo los primeros 30 días en oscuridad y luego bajo un fotoperiodo de 16 horas (30 µmol m⁻² s⁻¹), a 24±2 °C, durante 60 días. Luego de 90 días de cultivo, se evaluó el número de explantes con callo y los brotes y número de brotes/explanto.

2.1.2 Formación de plántulas

A los 90 días de cultivo en medio inductivo o diferenciación, las porciones apicales de los brotes formados por multiplicación vía axilar y organogénesis directa se subcultivaron en medio MS ½ que contenía 25 g L⁻¹ de sacarosa, y 1,5 g L⁻¹ de Phytigel (SIGMA®) y pH 5,8, sin reguladores de crecimiento. Los cultivos, en frascos de vidrio (220 cm³) que contenían 50 ml de medio y cubiertos con una doble capa de película adherente, se mantuvieron en una sala de cultivo, bajo un fotoperiodo de 16 horas (120 µmol m⁻² s⁻¹), a 24±2 °C. A los 90 días se evaluó la frecuencia de brotes sobrevivientes y enraizados. Los brotes enraizados *in vitro* se extrajeron de los frascos de cultivo, sus raíces se lavaron con agua tibia y se trasplantaron a macetas de 1 litro que contenían tres partes de sustrato de corteza de pino compostado esterilizado en autoclave y una parte de perlita, con 3 g L⁻¹ de fertilizante de liberación lenta Plantacote Plus®. Las plántulas se criaron en invernáculo con riego por microaspersión hasta la evaluación de sobrevivencia a los 6 meses.

2.2 Propagación ex vitro

2.2.1 Manejo de minicepas

Para la formación de las minicepas se utilizaron plantines de 8-12 meses, con un diámetro al cuello de 3-4 mm y una altura mayor a 15 cm. Estos plantines fueron trasplantados a macetas sopladas de tamaño N.º 12 o 14 (1 a 3 L), conteniendo sustrato de corteza de pino compostada y fertilizante de liberación lenta, 3 g L⁻¹ de fertilizante de liberación lenta Plantacote Plus®. A los 15 días del trasplante, se procedió a la decapitación de los plantines (fines de agosto-setiembre), procurando dejar una porción de 4-8 cm desde el cuello de la planta para incentivar el rebrote. Posteriormente se efectuó la aplicación con espray de una solución de fungicida (Etilenbis-Ditiocarbamato de Zinc) de 3 g L⁻¹, para prevenir infecciones. Las minicepas así formadas fueron cultivadas en invernáculo de polietileno, con una media-sombra del 30% y riego por goteo.

2.2.2 Cosecha de brotes, manejo y enraizamiento de las miniestacas

A los 45-60 días de la decapitación y ya formada la minicepa, se cosecharon los brotes con tijera cortapapeles o de podar, previamente desinfectada en alcohol etílico al 70%. Inmediatamente de cortados, los brotes se colocaron en un recipiente con agua, de forma que las bases permanecieran constantemente hidratadas. Los brotes fueron divididos en miniestacas primarias (que contienen el ápice), secundarias (la miniestaca de segundo orden) y/o terciarias (de tercer orden). Las miniestacas utilizadas tenían, en promedio, 5 cm de longitud, entre 3-4 mm de diámetro y dos nudos o yemas, definidas así como “miniestacas útiles”. Se procedió a cortar las hojas a la mitad, de manera de evitar el exceso de transpiración, pero que quede suficiente superficie de hoja para que pueda continuar fotosintetizando y generando carbohidratos necesarios para el enraizamiento. A medida que se procesaron las miniestacas, se colocaron las bases de estas en agua para evitar la desecación, que impediría el posterior enraizamiento. Una vez procesadas las miniestacas, se sumergieron en una solución de fungicida Etilenbis-Ditiocarbamato de Zinc en una concentración de 20 gL⁻¹, por 20 minutos, como tratamiento preventivo para evitar la pudrición de las miniestacas en el proceso de enraizamiento. La fecha apropiada para la cosecha y el enraizamiento de las miniestacas fue de octubre a diciembre, para obtener el idiotipo de plantín adecuado para su establecimiento a campo en los meses de mayo-junio.

Una vez transcurridos los 20 minutos del pretratamiento con la solución de fungicida, las miniestacas fueron cultivadas en bandejas con 40 cavidades de 90 cm³, rellenas con un sustrato compuesto de tres partes de corteza de pino compostada y una parte de perlita. Las bandejas cultivadas con las miniestacas se colocaron en invernáculo bajo riego por microaspersión, con una humedad recomendable de un 70-90% y media sombra de 30-50%. Después de los 45-60 días se evaluó la frecuencia de brotes sobrevivientes y enraizados.

2.3 Diseño y análisis de los experimentos

Los procedimientos arriba descriptos se basaron en ensayos experimentales en los que se estudiaron los factores que afectan la propagación *in vitro*, vía multiplicación axilar y organogénesis directa, tales como tipo de explanto, medio de cultivo, tipo, concentración y combinación de reguladores de crecimientos; así como en la propagación *ex vitro* se ajustaron las condiciones de manejo de las minicepas y enraizamiento de estacas (tipo de riego, sustrato, tratamientos preventivos e inductivos, condiciones lumínicas y de humedad, fertilización, época de cosecha de miniestacas y morfología de las miniestacas). Para esto se utilizaron diseños completamente aleatorizados con distribución factorial de los tratamientos y un promedio de 20-40 repeticiones por tratamiento, siendo la unidad experimental y observacional el explanto, la planta y/o la estaca. Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA), empleando un modelo lineal, utilizando el software de análisis de datos Infostat versión profesional⁽⁴³⁾. Se utilizó la prueba de Duncan's para comparar las medias de los tratamientos con una diferencia crítica (P) de $\leq 0,05$. Los resultados se presentan en tablas como media $\pm$ error estándar.

3. Resultados

3.1 Propagación *in vitro*

En *Feijoa sellowiana*, los segmentos apicales cultivados en WPM enriquecidos con 0,1 mg L⁻¹ de BAP, por multiplicación vía axilar, generaron una frecuencia de formación y elongación de brotes del 80 $\pm$ 5% y un promedio de 3 $\pm$ 1,13 nuevos brotes/explanto en un período de 60 días. Los segmentos nodales de *Eugenia involucrata*, cultivados en medio suplementado con 2,25 mg L⁻¹ de BAP combinado con 0,93 mg L⁻¹ de ANA, presentaron una frecuencia de inducción de brotes adventicios de 83 $\pm$ 8% y un promedio de 7,00 $\pm$ 0,19 brotes/explanto a los 90-120 días de su establecimiento. En ambas especies, el 70-80% de los ápices de los brotes adventicios obtenidos por multiplicación vía axilar u organogénesis directa, al ser cultivados en medio

MS ½ libre de reguladores de crecimiento, elongaron y produjeron raíces espontáneamente, en un período de 60-90 días, generando plantines que fueron aclimatizados, con una sobrevivencia promedio del 80% a los 6 meses de su transferencia a invernáculo.

Cada semilla germinada *in vitro* genera 2 explantos para la etapa de multiplicación vía axilar u organogénesis directa, por lo que nuestros resultados indican que, en función de la frecuencia de formación de brotes, el número promedio de brotes por explante, la frecuencia de enraizamiento de estos brotes y la sobrevivencia en invernáculo se pueden obtener, en *F. sellowiana*, 20 ± 3 nuevas plantas/explanto; y en *E. involucrata*, 30 ± 6 nuevas plantas/explanto en un período de 12 meses.

3.2 Propagación *ex vitro*

De los estudios realizados, se pudo observar, en ambas especies, una sobrevivencia promedio de las minicepas del $98 \pm 0,02\%$, con una producción promedio de $3,73 \pm 0,27$ brotes/minicepa y $6,3 \pm 1,13$ miniestacas/minicepa. La capacidad de enraizamiento promedio observada fue del $80 \pm 6\%$; generando así una producción promedio de 4,8 plantas enraizadas/minicepa. Considerando 2 cosechas por año, se obtendrían de 9-10 plantas enraizadas/minicepa.

La producción promedio/superficie de invernáculo es de 300 miniestacas útiles/m² (50 macetas de 1L por m²) por cosecha, considerando 2 cosechas anuales, se puede estimar un promedio de 600 miniestacas útiles/m²/año y un promedio de 480 plantas enraizadas/m² de minicepas/año.

3.3 Integración de las técnicas de propagación *in vitro* y *ex vitro*

De acuerdo con los resultados a la fecha, la integración de las técnicas de propagación *in vitro/ex vitro* tiene el potencial de producir un promedio de 200-300 minicepas a partir de una sola semilla en un período de 2 años. La conformación de un sistema integrado de producción de plantas (Figura 1) facilita el proceso de conservación de la diversidad genética para programas de producción de plantas elite para la instalación de huertos de producción de alto rendimiento en programas de domesticación.

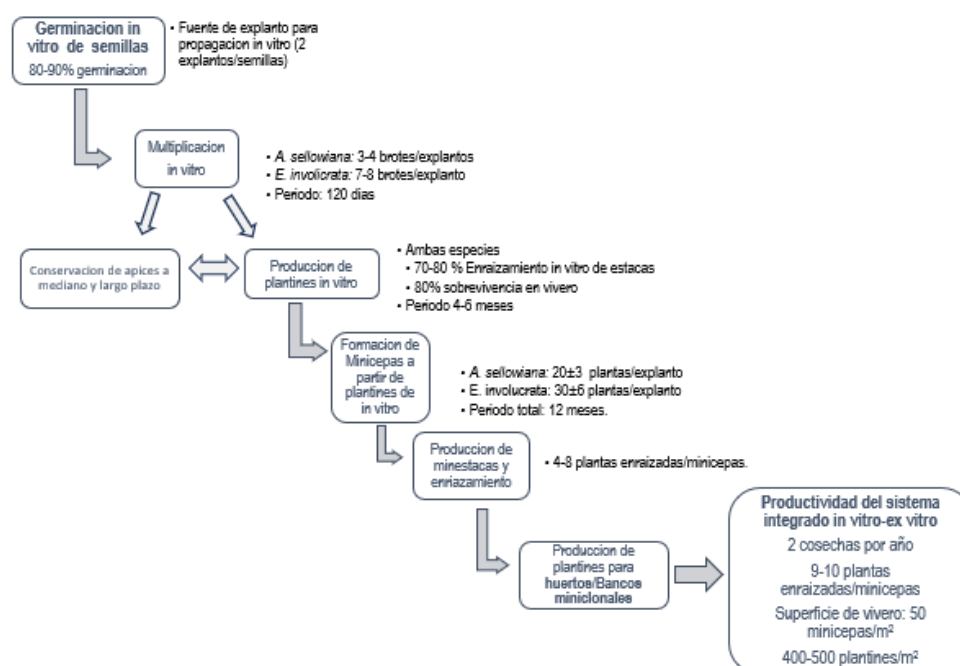


Figura 1. Productividad del sistema integrado de propagación *in vitro-ex vitro* en *Eugenia involucrata* DC. (cerella o cerezo nativo) y *Feijoa sellowiana* (O. Berg) O. Berg (guayabo nativo o brasilero)

4. Discusión

Las técnicas de propagación vegetativa y sus alternativas (*in vitro* y *ex vitro*) con distinto grado de complejidad han demostrado su eficacia para acelerar los procesos de domesticación en un número importante de especies leñosas de ciclos reproductivos extensos, y su utilización, además, como método de producción de plantas para programas de conservación y/o restauración. El presente trabajo demuestra que *Feijoa sellowiana* y *Eugenia involucrata* no son una excepción. *F. sellowiana* fue descrita inicialmente como una especie con capacidad de respuesta a la embriogénesis somática y recalcitrante a los métodos más convencionales de propagación clonal⁽¹⁵⁾; sin embargo, trabajos posteriores demostraron la capacidad de esta especie a la propagación *in vitro* más convencional como la multiplicación vía axilar, como fue descrito en el presente trabajo⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾⁽³³⁾⁽³⁵⁾⁽⁴⁴⁾. En *E. involucrata*, diversos estudios describen su propagación *in vitro*⁽¹⁹⁾⁽²⁰⁾⁽²¹⁾⁽²²⁾⁽²³⁾⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾. En particular, la técnica de organogénesis directa⁽³²⁾ a partir de explantes de segmentos nodales ha sido el primer trabajo, en *E. involucrata*, que ha reportado la producción de brotes adventicios y posterior formación de plantas y aclimatización.

Las publicaciones referentes a la propagación *ex vitro* de *F. sellowiana* y *E. involucrata* son escasas, en la mayoría atendiendo el enraizamiento de estacas obtenidas a partir de ejemplares adultos, con el objetivo principal de propagar clonalmente material genético elite, con bajos porcentajes de enraizamiento⁽⁴⁵⁾⁽⁴⁶⁾. Los resultados del presente artículo indican que el uso de plantines juveniles (minicepas) como fuente de miniestacas para la propagación vegetativa de *F. sellowiana* y *E. involucrata*, en condiciones semicontroladas de invernáculo, ha demostrado de manera sostenida un porcentaje de enraizamiento en forma consistente superior al 80% y una tasa de 9 a 10 brotes útiles/minicepa/año. Estos datos nos demuestran la potencialidad de un método de propagación, comparativo en sus resultados a los sistemas de propagación clonal utilizados en especies foresto-industriales.

La integración de técnicas *in vitro* y *ex vitro* ha tenido un desarrollo sostenido en especies foresto-industriales como *Pinus* sp. y *Eucalyptus* sp., que han sido, además, en su mayoría, incluidas en programas de mejoramiento genético a escala global. En estos casos, las técnicas de propagación clonal se concentran en multiplicación vegetativa de material genético elite con el objetivo de masificar y avanzar a la forestación clonal a escala operativa en plantaciones comerciales de miles de hectáreas para atender la demanda de la industria papelera y del aserrío (mayormente empresas forestales medianas a grandes). En el caso de *F. sellowiana* y *E. involucrata* la situación local en el nordeste de Argentina es muy distinta, ambas especies se encuentran aún en estado silvestre y su situación es muy vulnerable por la fragmentación de su hábitat, cuyo aporte se centra en atender una demanda creciente pero no masiva, en su mayoría de pequeños productores y/o viveristas. Debemos tener en cuenta que las especies arbóreas como *F. sellowiana* y *E. involucrata* son consideradas de polinización cruzada, de forma que la regeneración a partir de progenitores con alto grado de parentesco incrementa la posibilidad de fenómenos de endogamia en la progenie futura con riesgos de progresiva baja germinación y viabilidad, entre otros síntomas. De esta forma, el sistema de propagación propuesto facilitará la construcción de una población base y selecta a partir de la cual se espera generar, en el mediano y largo plazo, cultivares selectos para huertos frutales y la construcción de un banco clonal de minicepas con material proveniente de árboles madre abarcando una amplia región de su distribución natural. Es este además un aspecto fundamental para aquellos viveristas que se sumen a un programa de restauración con necesidad de aportar diversidad intraespecífica.

5. Conclusión

Los resultados descriptos en el presente artículo, como la frecuencia de formación de brotes, el número de brotes/explanto, la frecuencia de enraizamiento y la sobrevivencia de plántulas en invernáculo, indican la po-

tencialidad de las técnicas de multiplicación vía axilar y organogénesis directa para la producción de plantas y su posterior reconversión a minicepas para la producción de miniestacas en la propagación *ex vitro* de *Feijoa sellowiana* y *Eugenia involucrata*. La integración de tecnologías de propagación facilitará la captura del germoplasma selecto a utilizar en los huertos de producción, de un recurso que en la actualidad es escaso y vulnerable y con dificultades de ser incorporado en forma sostenible como recurso alimentario.

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, Cooperación Internacional PICT 2018 Proyecto CABBIO PNUD N.º ARG 15/G53; Proyectos de Tecnologías para la Inclusión Social (PNTIS-MINCyT) y Facultad de Ciencias Forestales (FCF) de la Universidad Nacional de Misiones (UNaM), Misiones, Argentina

Transparencia de datos

El conjunto de datos que apoya los resultados de este estudio no se encuentra disponible.

Contribución de autores

	Niella F	RochaP	Bustamante K	Thalmayr P
Conceptualization				
Formal analysis				
Funding acquisition				
Investigation				
Methodology				
Project administration				
Supervision				
Validation				
Writing – original draft				
Writing – review and editing				

Referencias

- (1) Kuppusamy S, Ramanathan S, Sengodagounder S, Senniappan C, Brindhadevi K, Kaliannan T. Minicutting: a powerful tool for the clonal propagation of the selected species of the Eucalyptus hybrid clones based on their pulpwood studies. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2019;22:101357. Doi: 10.1016/j.bcab.2019.101357.
- (2) Miranda NA, Xavier A, Otoni WC. Applicability of in vitro clonal hedge in the vegetative propagation of Eucalyptus urophylla. *New Forests*. 2023;54:963-74. Doi: 10.1007/s11056-022-09954-6.
- (3) Goulart PB, Xavier A. Efeito do tempo de armazenamento de minestacas no enraizamento de clones de Eucalyptus grandis x E. urophylla. *Rev Arvore*. 2008;32:671-7. Doi: 10.1590/S0100-67622008000400008.

- (4) Xavier A, Wendling I, Silva RL. Silvicultura clonal: princípios e técnicas. 2nd ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2013. 279p.
- (5) Rocha P, Niella F. Research and development of vegetative propagation techniques for *Pinus* Sp. In: 26th Southern Forest Tree Improvement Conference [Internet]. [place unknown]: RNGR; 2001 [cited 2025 May 29]. Available from: <https://rngr.net/publications/tree-improvement-proceedings/southern/2001/research-and-development-of-vegetative-propagation-techniques-for-pinus-sp>
- (6) Jannat M, Hossain MK, Alam MS, Hossain MA, Kamruzzaman M. Vegetative propagation of Tali (*Palaquium polyanthum* Engl.) for commercial harvest and landscape conservation. *Rhizosphere*. 2017;3:9-12. Doi: 10.1016/j.rhisph.2016.11.003.
- (7) Gibson EL, de Oliveira Gonçalves E, dos Santos AR, Araújo EF, Wendling I, Alexandre RS, Caldeira MVW. Responsiveness of *Melanoxylon brauna* to mini-cuttings technique. *Rhizosphere*. 2021;17:100303. Doi: 10.1016/j.rhisph.2020.100303.
- (8) Baul TK, Mezbahuddin M, Hossain MM, Mohiuddin M. Vegetative propagation of *Holarrhena pubescens*, a wild tropical medicinal plant: effect of indole-3-butyric acid (IBA) on stem cuttings. *For Stud China*. 2010;12:228-35. Doi: 10.1007/s11632-010-0409-3.
- (9) Lorenzi H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 7th ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2016. 384p.
- (10) Oliveira MAD Jr. Cultivo in vitro de cerejeira-do-Rio-Grande (*Eugenia involucrata* DC.) e de cambucizeiro (*Campomanesia phaea* (O. Berg) Landrum) [master's thesis]. Piracaiba (BR): Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz; 2021. Doi: 10.11606/D.11.2021.tde-14092021-144425.
- (11) Lorenzi H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002. 384p.
- (12) Carvalho PE. Espécies arbóreas brasileiras. Vol. 3. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica; 2008. 593p.
- (13) Reiniger LRS, Golle DP, Serrote CML, Costa LS, Bevilacqua CB, Stefanel CM. Genetic structure and gene flow of *Eugenia involucrata* DC. Populations and Collections from Rio Grande do Sul, Brazil. *BioBrasil*. 2022;12(2):1-13. Doi: 10.37002/biodiversidadebrasileira.v12i2.2012.
- (14) Guerra MP, Cangahuala-Inocente GC, Vesco LL, Pescador R, Caprestano CA. Micropropagation systems of Feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret). *Methods Mol Biol*. 2013;11013:45-62. Doi: 10.1007/978-1-62703-074-8_4.
- (15) Cangahuala-Inocente GC, Dal Vesco LL, Steinmacher D, Torres AC, Guerra MP. Improvements in somatic embryogenesis protocol in Feijoa (*Acca sellowiana* (Berg) Burret): induction, conversion and synthetic seeds. *Sci Hortic*. 2007;111(3):228-34. Doi: 10.1016/j.scienta.2006.10.030.
- (16) Ross S, Grasso R. In vitro propagation of 'Guayabo del país' (*Acca sellowiana* (Berg.) Burret). *Fruit Veg Cereal Sci Biotech*. 2010;4(S11):83-7.
- (17) Ross S, Pechi E, Speroni G, Vignale B, Speranza P, Castillo A, Cabrera D. In vitro rooting of *Acca sellowiana* microshoots. *Acta Hortic*. 2017;(1155):537-41. Doi: 10.17660/ActaHortic.2017.1155.79.
- (18) Oltramari AC, Dal Vesco LL, Pedrotti EL, Ducroquet JPHP, Nodari RO, Guerra MP. Protocolo de micropropagação da Goiabeira Serrana (*Acca sellowiana* (Berg) Burret). *Cienc Rural*. 2000;30(1):61-8. Doi: 10.1590/S0103-84782000000100010.
- (19) Thalmayr PN, Rocha SP, Niella FO. Propagación in vitro y ex vitro de *Eugenia involucrata*. In: Acta de Conferencias y Resúmenes. XVII Jornadas Técnicas Forestales y Ambientales [Internet]. [place unknown: publisher unknown]; 2016 [cited 2025 May 29]. p. 318-20. Available from: https://www.fcf.unam.edu.ar/modules/uploads/2017/03/Acta_de_Resumenes_XVII_Jotefa_2016.pdf
- (20) Golle DP, Reiniger LRS. Fitorreguladores e posição de explantes foliares na indução à calogênese em cerejeira-do-mato. *Cienc Rural*. 2013;43(10):1759-63. Doi: 10.1590/S0103-84782013001000005.
- (21) Kubiszen MD. Cultivo in vitro de *Eugenia involucrata* DC en medios sólidos y líquidos [bachelor's thesis]. Eldorado (AR): Universidad Nacional de Misiones, Facultad de Ciencias Forestales; 2019. 35p.

- (22) Stefanel CM, Reiniger LRS, da Silva LD, dos Santos Rabaiolli SM, da Silva KB. Diodos emisores de luz (LEDs) no cultivo in vitro de *Eugenia involucrata*. *Pesq Flor Bras.* 2020;40. Doi: 10.4336/2020.pfb.40e201901930.
- (23) Stefanel CM, Reiniger LR, Rabaiolli SM, Silva KB, Andreolla TL. Antioxidante e giberelina no cultivo in vitro de *Eugenia involucrata* DC. *Rev Ciênc Agrár.* 2021;44(1):41-50. Doi: 10.19084/rca.23704.
- (24) Golle DP, Reiniger LRS, Curti AR, Benitez Leon EA. Estabelecimento e desenvolvimento in vitro de *Eugenia involucrata* Dc.: influência do tipo de explante e do meio nutritivo. *Ciênc Florest.* 2012;22(1):207-14. Doi: 10.5902/198050985092.
- (25) Golle DP, Reiniger LRS, Stefanel CM, Serrote CML. Fitorreguladores na calogênese e rizogênese em *Eugenia involucrata*. *Pesq Flor Bras.* 2020;40. Doi: 10.4336/2020.pfb.40e201901908.
- (26) George EF, Debergh PC. Micropropagation: uses and methods. In: George EF, Hall MA, Klerk GJD, editors. *Plant propagation by tissue culture*. 3rd ed. Vol 1, The Background. Dordrecht: Springer; 2008. p. 29-64. Doi: 10.1007/978-1-4020-5005-3.
- (27) Canhoto J, Gruz GS. Micropropagation of pineapple guava through organogenesis and axillary shoot proliferation. *Acta Hortic.* 2000;(520):109-18. Doi: 10.17660/ActaHortic.2000.520.11.
- (28) Malá J, Gaudinová A, Dobrev P, Eder J, Cvikrová M. Role of phytohormones in organogenic ability of elm multiplied shoots. *Biol Plant.* 2006;50:8-14. Doi: 10.1007/s10535-005-0068-8.
- (29) Sahai A, Shahzad A, Anis M. High frequency plant production via shoot organogenesis and somatic embryogenesis from callus in *Tylophora indica*, an endangered plant species. *Turk J Bot.* 2010;34(1):11-20. Doi: 10.3906/bot-0809-3.
- (30) Pérez-Jiménez M, Cantero-Navarro E, Pérez-Alfocea F, Le-Disquet I, Guivarc'h A, Cos-Terrer J. Relationship between endogenous hormonal content and somatic organogenesis in callus of peach (*Prunus persica* L. Batsch) cultivars and *Prunus persica* × *Prunus dulcis* rootstocks. *J Plant Physiol.* 2014;171(8):619-24. Doi: 10.1016/j.jplph.2014.01.006.
- (31) Gentile A, Urbinati G, Caboni E. Adventitious shoot regeneration from leaves of peach cultivars growing in vitro: the effect of cytokinins. *Acta Hortic.* 2021;(1307):285-90. Doi: 10.17660/ActaHortic.2021.1307.44.
- (32) Bustamante K, Rocha P, Sharry SE, Guerra M, Niella F. Organogénesis directa e indirecta a partir de segmentos nodales, hojas y raíces de *Eugenia involucrata* DC. *Rev Fac Agron La Plata.* 2022;121. Doi: 10.24215/16699513e102.
- (33) Ayala LPE, Niella FO. Propagación in vitro de *Acca sellowiana* (Berg) Burret a partir de segmentos nodales y apicales [bachelor's thesis]. Eldorado (AR): Universidad Nacional de Misiones, Facultad de Ciencias Forestales; 2014. 42p.
- (34) Niella F, Rocha P, Eibl B, Bohren A, Ayala L, Conti P, Franco M, Martínez M. Desarrollo de técnicas de propagación clonal para la utilización sostenible de especies forestales nativas multipropósitos y/o fijadoras de nitrógeno y productos forestales no madereros. In: *Investigación forestal 2011-2015: los proyectos de investigación aplicada* [Internet]. Buenos Aires: Ministerio de Agroindustria; 2016 [cited 2025 May 29]. p. 386-9. Available from: https://redforestal.conicet.gov.ar/download/proyecto/PIAS20BAJA_con20tapas.pdf
- (35) Ayala L, Rocha P, Niella F. Propagación in vitro de *Acca sellowiana* (Berg) Burret a partir de segmentos nodales y apicales. Artículo Breve. In: *Acta de Conferencias y Resúmenes. XVII Jornadas Técnicas Forestales y Ambientales* [Internet]. [place unknown: publisher unknown]; 2016 [cited 2025 May 29]. p. 315-7. Available from: https://www.fcf.unam.edu.ar/modules/uploads/2017/03/Acta_de_Resumenes_XVII_Jotefa_2016.pdf
- (36) Niella F, Rocha P, Eibl B, Schoffen C, Martínez M, Conti P, Marcelo F, Lilian A. Propagación clonal de *Peltophorum dubium* (Caña fistola), *Myrocarpus frondosus* (Incienso) y *Cordia trichotoma* (Peteribi) para su conservación y domesticación. *Yvyrareta.* 2014;21:43-50.
- (37) Niella FO, Rocha P, Thalmayr P, Duarte E. Vegetative propagation of two native fruit trees of interest for farmers of Misiones, Argentina. *Cadernos de Agroecología* [Internet]. 2019 [cited 2025 May 29];14(1). Available from: <https://cadernos.aba-agroecologia.org.br/cadernos/article/view/2547>

- (38) Rocha P, Duarte ER, Gortari F, Morales V, Niella FO. Protocolo para la propagación por minicepas y miniestacas de yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). *Innov Desarro Tecnol Soc.* 2019;1(1):61-72. Doi: 10.24215/26838559e005.
- (39) Thalmayr PN, Niella FO, Rocha P. Propagación in vitro y ex vitro de *Eugenia involucrata* DC [bachelor's thesis]. Eldorado (AR): Universidad Nacional de Misiones, Facultad de Ciencias Forestales; 2016. 40p.
- (40) Keller HA, Tressens SG. Presencia en Argentina de dos especies de uso múltiple: *Acca sellowiana* (Myrtaceae) y *Casearia lasiophylla* (Flacourtiaceae). *Darwiniana.* 2007;45(2):204-12. Doi: 10.14522/darwiniana.2014.452.93.
- (41) Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant.* 1962;15(3). Doi: 10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x.
- (42) Lloyd G, McCown B. Commercially feasible micropropagation of Mountain Laurel by use of shoot tip culture. *Com Proc Int Plant Prop Soc.* 1981;30:421-7.
- (43) Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. InfoStat [Internet]. Versión 2020. Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba; 2020 [cited 2025 May 29]. Available form: <https://www.infostat.com.ar/>
- (44) Lattuada DS. Micropropagação e miniestaquia de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). 2010 [cited 2025 May 29]. Available from: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/24513>
- (45) Franzon R, Raseira M, Antunes L. Efeito do AIB e de diferentes tipos de estaca na propagação vegetativa da goiabeira-serrana (*Acca sellowiana* Berg). *R Bras Agrociência.* 2004;10(4):515-8.
- (46) Santoro MB, Brogio BDA, Forte MJ, Soares MRR, Collusso GT, Jacomino AP, Silva SRD. Vegetative multiplication of the Atlantic Rainforest species *Eugenia involucrata*. *Pesq Agropec Bras.* 2022;57:e02921. Doi: 10.1590/S1678-3921.pab2022.v57.02921.