

Estimulación del enraizamiento de estacas con extractos de *Salix fragilis*, *Plantago lanceolata* y *Aloe vera*

Tesina



Intensificando: Pascolini, Alejandra Paola

Directora: Cecilia Sobrero, Profesora Botánica sistemática, morfológica y Aromáticas y medicinales

Consultora: Ing. Agr. Martha Riat, Profesora Fertilidad de los suelos
Carrera: Tecnicatura en producción vegetal orgánica

Sede andina subsede El Bolsón
Universidad Nacional de Río Negro
2013

Agradecimientos

A mi compañero de vida y a mi hija por seguirme en este aprendizaje.

A Cecilia Sobrero por el apoyo y compañía en el desarrollo de esta Tesina.

A Martha Riat y Eduardo Martinez por el acompañamiento en el trabajo

A los profesores de la carrera

A los amigos y compañeros que estuvieron de forma incondicional.

Índice

Resumen.....	4
Introducción	5
2 Objetivos	12
3 Materiales y métodos.....	12
3.1 Materiales, reactivos y equipamiento utilizado	12
3.2 Ubicación geográfica y período del ensayo	13
3.3 Obtención y acondicionamiento de estacas	13
3.4 Preparación de extractos acuosos y sustrato de enraizamiento	13
3.5 Diseño experimental y análisis estadístico	15
5 Resultados	18
6 Discusión	25
7 Conclusiones	27
Bibliografía	28

Resumen

El presente trabajo pretende evaluar el efecto de enraizamiento de los extractos acuosos de sauce (*Salix fragilis* L), plantago (*Plantago lanceolata* L), aloe (*Aloe vera* L) y la combinación de extractos de *P. lanceolata* y *S. fragilis* sobre estacas de romero, (*Rosmarinus officinalis* L). Se compara la capacidad enraizante de los extractos naturales con la del producto comercial ANA (ácido naftalen acético). El ensayo se realizó a la intemperie en sustrato artificial con registro periódico de la temperatura y pluviometría. La estimulación del enraizamiento se midió a los cuatro meses de la implantación, evaluando calidad, cantidad de raíces, número de callos por estacas y peso fresco de ramas, expresando los efectos enraizantes en porcentaje. Se plantea como hipótesis de este trabajo que los extractos de *S. fragilis*, *A. vera* y *P. lanceolata* promueven significativamente el enraizamiento de estacas y que la exposición a los extractos combinados posee efectos sinérgicos en la calidad de raíces desarrolladas y en el porcentaje de enraizamiento. Los resultados indican que el enraizamiento con el extracto de *P. lanceolata* fue similar al del control con agua destilada, siendo menores los efectos enraizantes en el tratamiento con el ANA y con el extracto de *A. vera*. Se observaron efectos inhibitorios por exposición al extracto de *S. fragilis* y a su combinación con extractos de *P. lanceolata*, debidos posiblemente al uso del extracto de sauce en una alta concentración. Se recomienda la verificación de estos resultados evaluando en estudios futuros, diferentes concentraciones de enraizante y métodos de extracción.

1 Introducción

A lo largo de los 10.000 años transcurridos desde el desarrollo de la agricultura, se ha descubierto el valor alimenticio de las plantas y animales, desarrollándose diferentes técnicas para optimizar los rendimientos de los cultivos. Se llega de esta manera al período denominado agricultura científica en donde la experimentación y el error en el cultivo de plantas condujeron a la mejora de cosechas. (Martínez, 2010)

Nuevos descubrimientos como la síntesis de fertilizantes nitrogenados, la creación del DDT, síntesis de otros productos fitosanitarios, insecticidas, herbicidas, nuevos genotipos de vegetales, etc. colaboraron al modelo productivo de agricultura de esa época, que se vio cada vez más dependiente de estos productos. Poco a poco se fueron desarrollando paquetes tecnológicos ideados para el monocultivo cuya aplicación fue produciendo desequilibrio en el ecosistema. De esta manera la agricultura comenzó a hacerse dependiente de insumos para optimizar rendimientos y se dejaron de lado los procesos naturales que necesitan tanto el suelo como las plantas y todo el ecosistema (Gliessman, 2002). Por otro lado, este modelo de producción trae aparejado serios problemas ambientales. El uso continuo e indiscriminado de fertilizantes y de productos sintéticos destinados a controlar plagas y enfermedades en los vegetales, no sólo ha causado enfermedades y muertes por envenenamiento a corto y largo plazo, sino también ha afectado al medio ambiente, acumulándose por bioconcentración en los distintos eslabones de la cadena alimenticia, en el suelo y en el agua (Baird, 2001).

En este contexto surgieron movimientos que, preocupados por los impactos de este modelo, propusieron nuevos sistemas de producción que priorizan los procesos biológicos, naciendo la agricultura orgánica con sus diferentes métodos de producción. Esta comenzó a hacer auge en Europa, con una demanda cada vez mayor de la producción que era realizada bajo estos conceptos. Surgieron asociaciones entre

productores creándose en 1972 el IFOAM (Federación Internacional de Movimientos de Agricultura Orgánica). En la década del 80 fue necesaria a nivel mundial, la existencia de normas para garantizar este tipo de producción, exigidas por los estados.

En Argentina la agricultura orgánica se encuentra reglamentada a través de la Resolución 423/92 del SENASA. En dicha resolución no se acepta la utilización de productos de síntesis química, como pueden ser hormonas o reguladores de crecimiento como promotores del enraizamiento.

Los agricultores y jardineros han observado cómo se propagan las plantas desde hace mucho tiempo y con el pasar de los años estas observaciones crearon técnicas de multiplicación para incrementar los cultivos (Toogood, 2000). Uno de los medios más importantes para la propagación de plantas de diferentes especies es mediante la producción de estacas o esquejes. Este es un tipo de reproducción asexual. En muchas especies vegetales este tipo de reproducción se da de manera natural. El éxito de la multiplicación por estacas depende de varios factores, como ser la especie vegetal considerada, el método utilizado, la forma de manejo, tipo de sustrato, época del año, estado fisiológico, tratamientos previos sobre la planta madre, etc. El hombre ha intervenido en estas multiplicaciones y en algunos casos ha podido optimizar el rendimiento en la reproducción. Este tipo de multiplicación posee varias ventajas, es económica, rápida y simple, además de mantener las características favorables de los diferentes cultivos. Es utilizada sobre todo en la propagación de material difícil de multiplicar por semillas o cuando se requiere asegurar cierta característica de la planta madre, ya que este tipo de propagación genera clones a partir de un individuo. Un clon se puede definir como material genéticamente

uniforme derivado de un solo individuo y que se propaga de modo exclusivo por medios vegetativo como estacas, divisiones o injertos (Hartmann, Kester, 2001).

El enraizamiento de estacas, como otras formas de reproducción asexual, es posible porque algunas células vegetales, en determinadas condiciones y por el estímulo de diversos factores, tienen la capacidad de dediferenciación, las células maduras vuelvan a una condición meristemática y así desarrollan un punto de crecimiento nuevo. Otra capacidad que tienen las células vegetales y por ello también es posible la reproducción asexual, es su totipotencialidad, es decir que cada célula viviente contiene la información genética necesaria para reconstituir una parte de la planta y sus funciones (Hartmann, Kester, 2001).

Las plantas producen una gran diversidad de sustancias conocidas como metabolitos secundarios o productos naturales. Muchos de ellos, entre los que se encuentran terpenos, alcaloides, polifenoles, glicósido, etc., si bien no poseen una función directa en el crecimiento y desarrollo de las plantas, forman parte de muchas de sus estrategias defensivas y pueden tener diferentes efectos biológicos sobre otros organismos, animales o vegetales (Leicach, 2006). Entre la diversidad de compuestos obtenidos a partir de extractos vegetales es posible encontrar metabolitos con diferente actividad biológica.

En 1935 el descubrimiento del efecto estimulante de las hormonas sobre el enraizamiento en estaca hizo posibles nuevas técnicas de propagación. Se encontró que el ácido indol-butírico (AIB) y el ácido indol acético (AIA) producidos naturalmente por las plantas estimulan la emisión de raíces (Giraldo *et al.*, 2009).

Para la iniciación de raíces adventicias actúan hormonas vegetales que se generan naturalmente en distintas concentraciones, siendo algunas de estas

acciones de las hormonas más favorables que otras. Las auxinas estimulan el enraizamiento de estacas tanto en aquellas especies con raíces preformadas como en las que no la tienen. También producen efectos en el alargamiento de las células, incremento de la longitud del tallo y producción de raíces adventicias (Salisbury, Ross, 1994; Hartmann, Kester, 2001).

Existen inductores químicos artificiales, elaborados con ácido-naftalenacético (ANA) como ingrediente activo, que son reguladores fisiológicos que actúan sobre los puntos de crecimiento activo de las raíces de las plantas y afectan las divisiones celulares promoviendo el enraizamiento (Giraldo *et al.*, 2009). Este tipo de producto con actividad auxínica es el que es usado comercialmente en la reproducción de especies por medio de estacas (Toogood, 2000).

En el año 1941 van Overbeek, descubrió que el líquido del coco (*Cocos nucifera*) promovía el crecimiento, la división celular y la supervivencia de tejidos vegetales. Por otra parte, diez años más tarde, F. Skoog y C. Millar obtuvieron resultados parecidos sobre el cultivo del tabaco. Estas investigaciones derivaron con el tiempo en el descubrimiento y la identificación de la primera citoquinina, denominada Kinetina (Nabors 2007). Las citoquininas son hormonas que promueven la citocinesis o división celular. Skoog y sus colaboradores encontraron que una relación alta de citoquinina/auxina, origina células meristemáticas en el callo, estas células se dividen y producen otras que se desarrollan formando yemas, tallos y hojas. Si se reduce dicha relación, se favorece la formación de raíces. Por otra parte se le atribuye a las citoquininas un retardo en la senescencia (Salisbury, Ross, 1994). Comercialmente se las utiliza para retrasar la senescencia de productos hortícola en su mayoría, romper la dominancia apical, e inducir la formación de ramificaciones laterales y morfogénesis en cultivos *in Vitro* (Taiz, Zeiger, 2002).

En la actualidad existe un gran interés por el uso de productos de origen natural en la agricultura por lo que resulta relevante evaluar la capacidad estimuladora del enraizamiento de extractos de diferentes especies vegetales para la producción de plantas en el marco de la agricultura orgánica (González, Hecheverría Sosa, 2004)

Se cita en el trabajo realizado por González y Hecheverría Sosa (2004) una posible actividad auxínica del aloe (*Aloe vera* L) y del sauce (*Salix Humboldtiana* Wild) y una actividad citoquinínica en el plantago (*Plantago lanceolata* L) en medios de cultivo. De allí nace la inquietud de este trabajo que intenta demostrar si existen efectos estimulantes de enraizamiento de extractos acuosos de dichas especies, comparando su capacidad enraizante con la del producto sintético ANA. El uso combinado de reguladores de crecimiento, en diferentes etapas del proceso de multiplicación permitiría, no solo ampliar la escala productiva, sino además ser utilizados ampliamente sin el peligro de la contaminación ambiental.

Por otro lado existe como práctica casera muy difundida en la producción de plantas a partir de esquejes o estacas, el uso del sauce como enraizante natural, ya sea a partir de decocciones suaves o de macerados de la corteza. Esta supuesta capacidad fue estudiada por Kasawe en el año 1970, quien realizó un estudio con diferentes métodos de extracción de la corteza de *Salix alba* encontrando una fuerte actividad en el enraizamiento. Trabajos recientes utilizando extractos vegetales de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.), madre selva (*Lonicera caprifolium* L.) y sauce criollo (*Salix humboldtiana* Willd.) indican los efectos estimulantes de los mismos en el enraizamiento de estaca y desarrollo de las raíces (Parada, 2011; Hostench, 2012)

Existe además otro trabajo de González y Hecheverría Sosa (2006) que recomienda el uso del gel de *A. vera* como medio sólido para medios de cultivo. En

el mismo asegura que el *A. vera* es una fuente rica en aminoácidos (ácido glutámico y arginina en particular) lactatos y ácidos orgánicos, componentes reconocidos como hidrofílicos, que incrementan la hidratación de los tejidos con un marcado efecto alelopático.

El romero (*Rosmarinus officinalis* L) es una planta originaria del mediterráneo, que crece de manera silvestre en las zonas montañosas y semiáridas de España y Portugal. En nuestro país su cultivo es posible en las zonas semiáridas montañosas de Salta hasta Chubut y también en Mendoza, Córdoba y San Luís (Arizio, Curioni, 2006). Su reproducción en vivero se realiza con hormonas de enraizamiento (Jorge Andreassi, comunicación personal)

Esta planta pertenece a las familias de las Labiadas, crece en forma de arbusto, es perenne, siempre verde y alcanza una altura entre 50 cm a 120 cm. El *R. officinalis* es una especie de clima templado y templado- cálido que soporta bien los inviernos muy fríos, pero debido a su tallo débil y frondosa vegetación no soporta los vientos fuertes, ya que produce vuelcos y a veces el desarraigo de las plantas. La altitud más adecuada para su desarrollo se encuentra entre los 500 y 1000 msnm. Resiste bien las sequías, pero para lograr un buen desarrollo vegetativo son necesarios 400 y 600 mm anuales (Arizio, Curioni, 2006).

Si bien es una especie que en la Comarca Andina del paralelo 42° se desarrolla de manera favorable, en la actualidad no existen productores que desarrollen el cultivo a gran escala. El romero se reproduce por semillas, pero para asegurar las características de una planta madre se recurre a la multiplicación de clones mediante estacas. De esta manera se puede aprovechar de una sola planta individual un genotipo único realizando así una estandarización del producto. El mayor porcentaje de enraizamiento de estacas de romero se obtiene comercialmente con el método de

humedecimiento rápido y con la aplicación de ANA en dosis de 5000 ppm ó indol acético en dosis de 2000 ppm (Curioni, Arizio, 2006). Sería conveniente realizar un estudio de mercado sobre los productos del romero ya que es un cultivo con mucho potencial para la zona.

Uno de los usos de las hojas secas del *Rosmarinus officinalis* es culinario. También se utilizan en perfumería para la fabricación de agua de colonia, perfumar jabones y la preparación de lociones para el cabello. El aceite esencial es utilizado en medicina por su acción tónica y estimulante que ejerce sobre la circulación, el corazón y el sistema nervioso por vía oral. De forma externa se lo utiliza para desórdenes cardíacos funcionales, reumatismo, neuralgias, etc. (Arizio, Curioni, 2006). Además es una especie que es apreciada por apicultores por su producción de flores tempranas.

El presente trabajo se realiza sobre estacas de romero (*Rosmarinus. officinalis*), evaluando los efectos enraizantes de las especies *Aloe vera*, *Salix fragilis* y *Plantago lanceolata* mediante un ensayo a la intemperie y con sustrato artificial. La estimulación del enraizamiento se evaluó para cada tratamiento en el porcentaje de estacas enraizadas, en la calidad y cantidad de raíces producidas, número de callos por estacas y peso fresco de ramas a los cuatro meses de la implantación.

Se plantea como hipótesis de este trabajo que los extractos de *S. fragilis*, *A. vera* y *P. lanceolata* promueven significativamente el enraizamiento de estacas y que existe un efecto sinérgico en el enraizamiento cuando se exponen las estacas a extractos combinados de *S fragilis* y *P. lanceolata*.

2 Objetivos

1. Evaluar comparativamente en estacas de romero, los efectos estimulantes del enraizamiento de extractos acuosos de las especies *S. fragilis*, *Aloe vera* y *P. lanceolata*
2. Evaluar el efecto sinérgico de extractos acuosos de *S. fragilis* y *P. lanceolata* en la estimulación del enraizamiento de estacas de romero
3. Medir posible efecto citoquinínico de *P. lanceolata* mediante producción de callos por estacas.

3 Materiales y métodos

3.1 Materiales, reactivos y equipamiento utilizado

- Estacas de romero (*Rosmarinus officinalis*)
- Extracto de sauce (*Salix fragilis*), extracto de aloe (*Aloe vera*), extracto de llantén (*Plantago lanceolata*)
- Hormona en polvo Ácido Naftalen Acético (ANA) 0,3 g/ 100 g Marca INTER
- Agua destilada
- Hipoclorito de sodio al 5%
- Termómetro máxima y mínima, elementos de laboratorio
- Balanza
- Macetas de 240 cm³
- Sustrato 2:1:1(V/V/V) (arena volcánica, lombricompuesto, perlita)
- Mesas elevadas del suelo, Cajones

3.2 Ubicación geográfica y período del ensayo

El ensayo se realizó en la localidad de Lago Puelo, esta zona forma parte de la Comarca Andina del paralelo 42°, de clima templado-frío. La temperatura media anual es de 9,8°C, siendo Enero el mes más cálido con una media de 16,2°C. La precipitación anual es de 920 mm, concentrándose el 50 % en los meses de Mayo, Junio, Julio, Agosto (resumen climático 1941-1978 del Servicio Meteorológico Nacional). Durante el período de ensayo, comprendido entre el 1 de Septiembre de 2012 y el 13 de Enero del año 2013 se llevó a cabo el registro periódico de temperatura. Además se solicitaron los datos de pluviometría los cuales se adjuntan en resultados.

3.3 Obtención y acondicionamiento de estacas

Las estacas se cortaron en el mes de Agosto (Curioni, Arizio, 2006) y se prepararon con anterioridad al inicio del ensayo. Se eligieron ramas de *R. officinalis* con crecimiento vegetativo del año anterior, cortando la parte apical y sacando las hojas de la mitad inferior de las estacas, así como los pimpollos de las flores que se encontraban en las mismas. Se dejaron del largo de 10-12 cm contando en este largo con varios nudos (Arizio, Curioni, 2006). Las estacas se conservaron a 4° C durante una semana y totalmente cubiertas con papel húmedo para evitar la desecación, hasta el momento de realizar el ensayo.

3.4 Preparación de extractos acuosos y sustrato de enraizamiento

Se realizó un extracto acuoso de la corteza de *S. fragilis*, obtenida a fines de invierno (Bandoni 2002), a partir de ramas de un año de crecimiento. El material previamente lavado se secó en horno a 100°C hasta peso constante procediendo

luego a cortarlas, obteniendo astillas de no más de 0,5 cm de largo. Una vez obtenido las astillas por cada 30 g de *S. fragilis* se diluyó en 300 cm³ de agua destilada, se cocinó a fuego bajo y antes de que rompa hervor se retiró del fuego(exa.unne.edu.ar/biologia/diversidadv/.../Rosideas/.../11-Salicaceae.pdf).

El extracto acuoso de *P. lanceolata* se preparó a partir de las raíces y hojas recolectadas a fines de invierno (Bandoni 2002). El material se secó en horno a 100°C hasta pesada constante, procediendo luego a la molienda. El extracto se preparó de igual manera a lo mencionado para el extracto de sauce, utilizando 30 g de material seco en 300 cm³ de agua destilada.

El extracto de *A. vera* se realizó a partir de la "pulpa" de las hojas, eliminando la epidermis y tejidos subepidérmicos de las mismas. El mismo se realiza a partir del material fresco, manteniendo las mismas relaciones de peso y volumen utilizadas para el sauce y plantago, considerando la pulpa de aloe con más de un 90 % de humedad (Vega *et al*, 2005).

Los extractos fueron utilizados el mismo día de su preparación.

El sustrato elegido estuvo compuesto por 2 partes de arena volcánica, 1 parte de lombricompost y 1 parte de perlita para favorecer la aireación y de esta manera la emisión de raíces. El lombricompost fue desinfectado sometándolo a vapor constante durante treinta minutos (Riat, comunicación personal).

Las macetas se colocaron a la intemperie distribuyendo los diferentes tratamientos al azar, en lugares levantados del suelo, y con control local de la temperatura y riego periódico, manteniendo siempre el sustrato húmedo (Fig. 2).

Las macetas se ubicaron a media sombra, debajo de un árbol, variando la intensidad lumínica durante el día dando como resultado una plena exposición al sol en las primeras horas de la mañana, disminuyendo la misma a partir del mediodía.

3.5 Diseño experimental y análisis estadístico

Se evaluó el efecto enraizante por la exposición a los extractos acuosos de *A. vera*, *S. fragilis* y *P. lanceolata* y a la combinación del extracto de *S. fragilis* y *P. lanceolata* (1:1). (V/V)

Se realizó un tratamiento con ANA, en el cual se realizó un orificio en el lugar donde iba a ser colocada la estaca, se colocó el extremo de dicha estaca en la hormona en polvo y se procedió a introducirla en el orificio anteriormente mencionado.

Se realizó un tratamiento testigo con agua destilada, sumando así 6 tratamientos con 42 repeticiones cada uno de ellos.

Previo a la exposición a los enraizantes y en el control con agua destilada, se desinfectaron todas las estacas en solución de hipoclorito de sodio al 5 % durante 2 minutos y posterior enjuague con agua destilada.

Luego de la desinfección, se sumergieron las estacas en los diferentes extractos durante 12 h realizando al azar la selección de las estacas para cada tratamiento. Inmediatamente se procedió a pesar cada estaca, identificarla y plantarla en una maceta individual con capacidad para 240 cm³ de sustrato (Fig. 1).

Cada 10 días se rotaron los cajones para obtener mayor homogeneidad en las condiciones del ensayo.



Fig. 1 Estacas en macetas durante el periodo de ensayo. Se observa el desarrollo de nuevos brotes (Noviembre 2012).



Fig. 2: Ubicación de los cajones a campo.

Luego de cuatro meses se procedió a retirar las estacas del sustrato. Para ello se retiró la estaca, se enjuagó el sustrato, se secó con papel absorbente (Fig. 3) y se procedió a medir los siguientes parámetros sobre las estacas enraizadas: número de raíces, largo de raíces, número de callos y peso fresco de ramas.



Fig. 3: Procedimiento utilizado para secar las estacas luego de haber sido enjuagadas.

Para el análisis estadístico se utilizó el programa InfoStat (Di Rienzo et al. 2010). Como parámetros finales se analizó el porcentaje de enraizamiento de cada tratamiento, el largo de raíces, el número de raíces, número de callos, peso fresco de rama.

Los resultados de los efectos de los tratamientos en el enraizamiento se analizaron mediante ANOVA simple comparándose las medias mediante el método de LSD Fisher (Least Significant Difference Test) Previo al ANOVA se verificó la normalidad y la homoscedasticidad de los datos, aplicándose transformaciones a los mismos cuando alguna de estas condiciones no se verifica. Para los efectos en el porcentaje de enraizamiento se trabajó con transformación angular y para número de raíces producidas la transformación de raíz cuadrada.

Se analizó porcentaje de enraizamiento de cada tratamiento, largo de raíces, número de raíces, peso ramas y número de callos.

5 Resultados

Los datos de pluviometría obtenidos durante el período de ensayo muestran una pluviometría total de 461 mm, la cual se suplementó con riego manual en los momentos necesarios para mantener el sustrato húmedo. La Fig. 4 muestra los registros pluviométricos del periodo de ensayo.

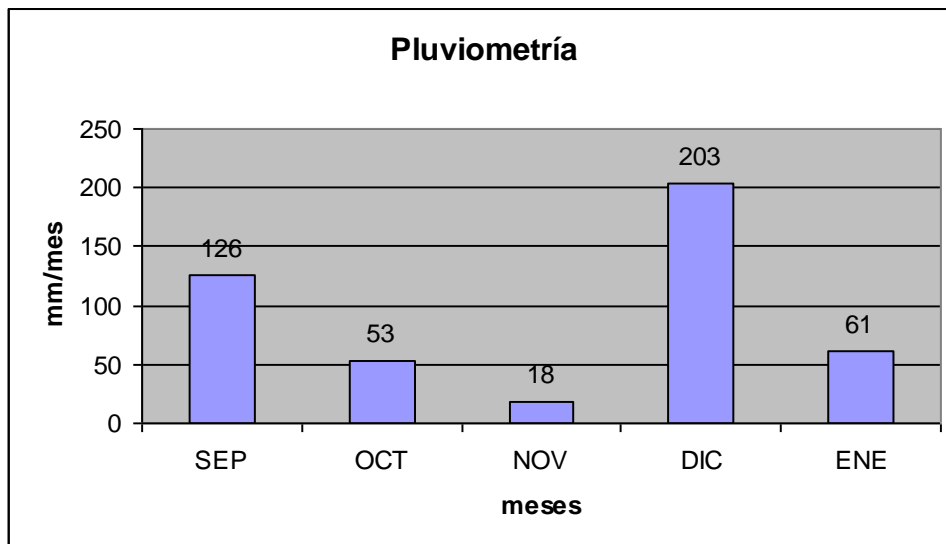


Fig.4: Pluviometría Septiembre, Octubre, Noviembre, Diciembre (2012), Enero (2013).

Los valores medios de la temperatura máxima y mínima registrada durante los meses del ensayo, se indican en la Fig. 5.

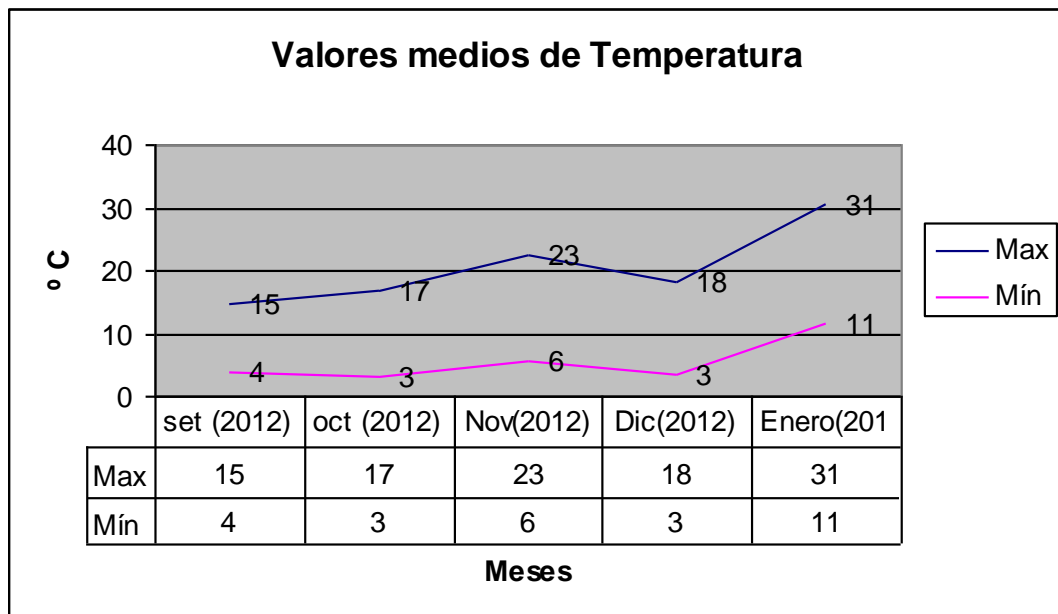


Fig.5: Valores medios de la temperatura máxima y mínima, registradas durante Septiembre, Octubre, Noviembre, Diciembre (2012) y Enero (2013)

Los resultados del ANOVA realizado en los parámetros presencia de raíz, número de raíces, longitud de raíces, número de callos por tratamiento y peso fresco de ramas se indican en la Tabla 1.

Los resultados obtenidos indican que hay un efecto significativo ($p \leq 0,05$) en el enraizamiento de estacas, número de raíces producidas, número de callos y peso de ramas asociado a los diferentes tratamientos enraizantes realizados. No se observan variaciones en la longitud de raíces (Tabla 1).

Tabla I: ANOVA simple de las variables presencia de raíz, número de raíces longitud de raíces, peso de ramas y nudos por estacas para los diferentes tratamientos, finalizado el período de ensayo.

Fuente de variación	GL	F	p
Presencia de raíz			
Tratamiento	4	4,67	0,006
Error	25		
Número de raíces			
Tratamiento	4	3,42	0,011
Error	126		
Longitud de raíz			
Tratamiento	4	0,27	0,898
Error	116		
Número de callos			
Tratamiento	4	3,42	0,011
Error	126		
Peso de rama			
Tratamiento	4	1,97	0,041
Error	126		

GL: grados de libertad; F: razón de los cuadrados medios, *p*: probabilidad

Valor $p \leq 0,05$ indican diferencias significativas.

En las siguientes imágenes (Fig. 6) se observan el desarrollo de raíces al finalizar el período de ensayo en algunas de las estacas enraizadas. Esta variabilidad de desarrollo de raíces se observó en todos los tratamientos.



Fig. 6: Estacas enraizadas en la toma de datos.

La Fig. 7 muestra el porcentaje de enraizamiento para cada tratamiento aplicado. Los mayores efectos en la estimulación del enraizamiento se observan en el tratamiento realizado con *P. lanceolata* con un 83% de estacas enraizadas, se evidenció un menor porcentaje (74%) en el agua destilada y luego el *A. vera* con un 60%. En el tratamiento realizado con la hormona ANA el efecto fue menor, obteniendo un 52% de estacas enraizadas. Es de destacar que, de manera contraria a lo propuesto en las hipótesis del trabajo, el enraizamiento en las estacas de romero se vio totalmente inhibido cuando se aplicó el extracto de *S. fragilis* (2 %). Los resultados de la exposición a extractos combinados de *P. lanceolata* y *S. fragilis*

mostraron un 43% de enraizamiento, observándose un efecto antagónico dado por la inhibición generada por el sauce.

Debido a que en todas las estacas tratadas con extracto de *S. fragilis* no se evidenció desarrollo de raíces, no se incluye este tratamiento en el análisis estadístico de los efectos en el número de raíces, longitud de raíces, peso de ramas y número de callos

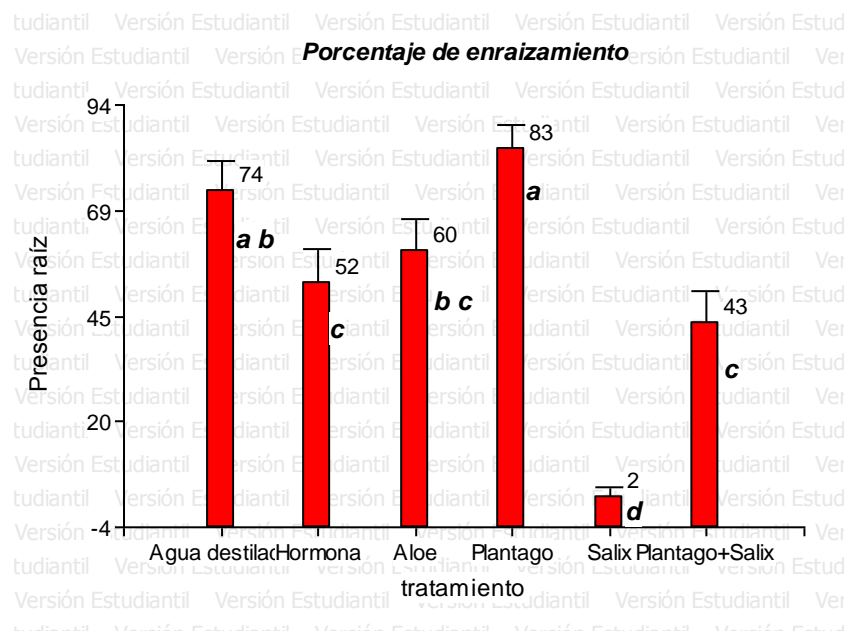


Fig. 7: Porcentaje de enraizamiento observado en estacas de romero por efecto de los diferentes extractos vegetales, ANA y control negativo con agua. Las letras distintas indican diferencias significativas $p \leq 0,05$. Las barras indican el error estándar.

En la Fig. 8 se observa que entre tratamientos no existe una diferencia significativa en la longitud de raíces.

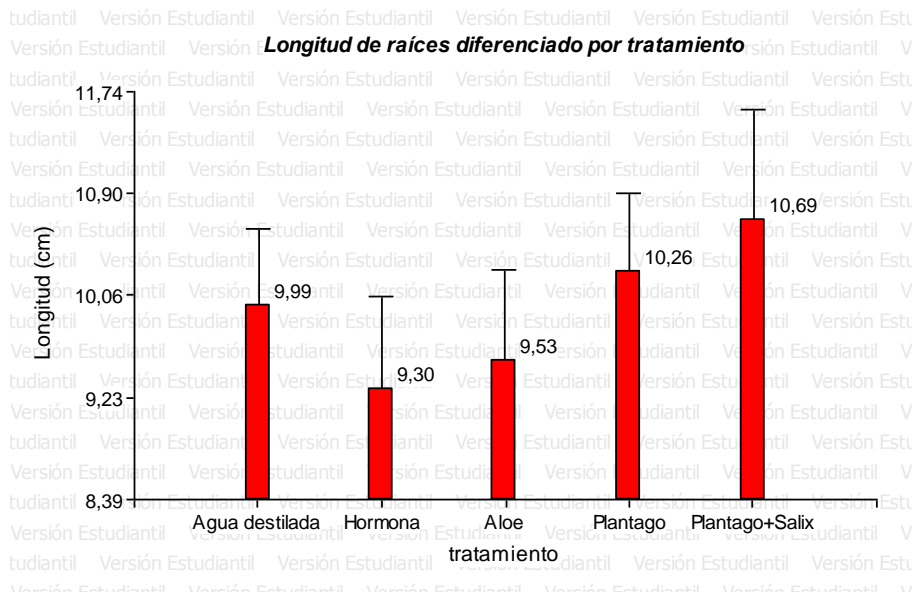


Fig. 8: Longitud de raíces diferenciado por tratamiento. Las barras indican el error estándar.

En la Fig. 9 se puede observar que el mayor número de raíces corresponde al tratamiento realizado con *P. lanceolata* aunque no difieren significativamente del control. Un menor número de raíces se observó en el tratamiento con *S. fragilis* y *P. lanceolata*, siendo el tratamiento realizado con *A. vera* el de menos cantidad de raíces desarrolladas por estacas.

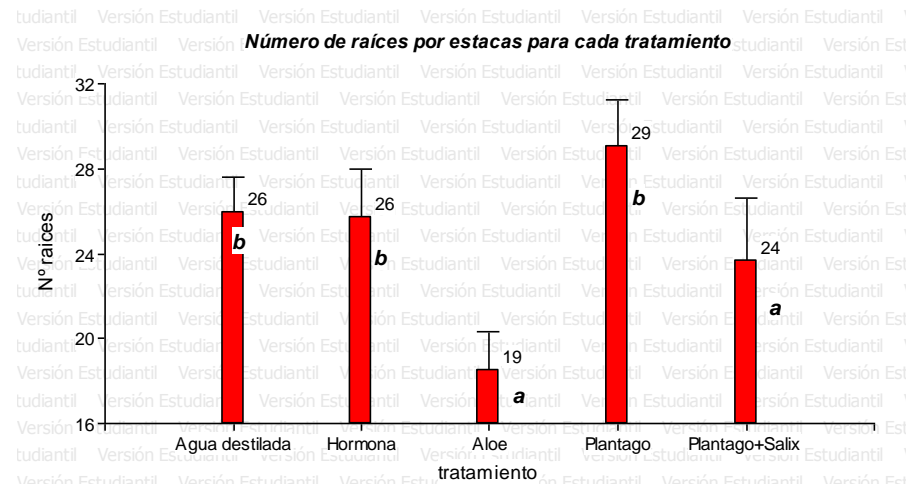


Fig. 9: Número de raíces por tratamiento. Las letras distintas indican diferencias significativas $p \leq 0,05$. Las barras indican el error estándar.

En la Fig. 10 se graficó el peso fresco de ramas diferenciado por tratamientos. Se evidenció un mayor desarrollo en la parte aérea en el control negativo así como en el tratamiento con la hormona y el extracto combinado de *Plantago*+*Salix*. Se observa que en las estacas tratadas con extractos de *A.vera* y de *P.lanceolata*, el peso de ramas desarrolladas fue significativamente menor (Tabla 1, Fig. 10).

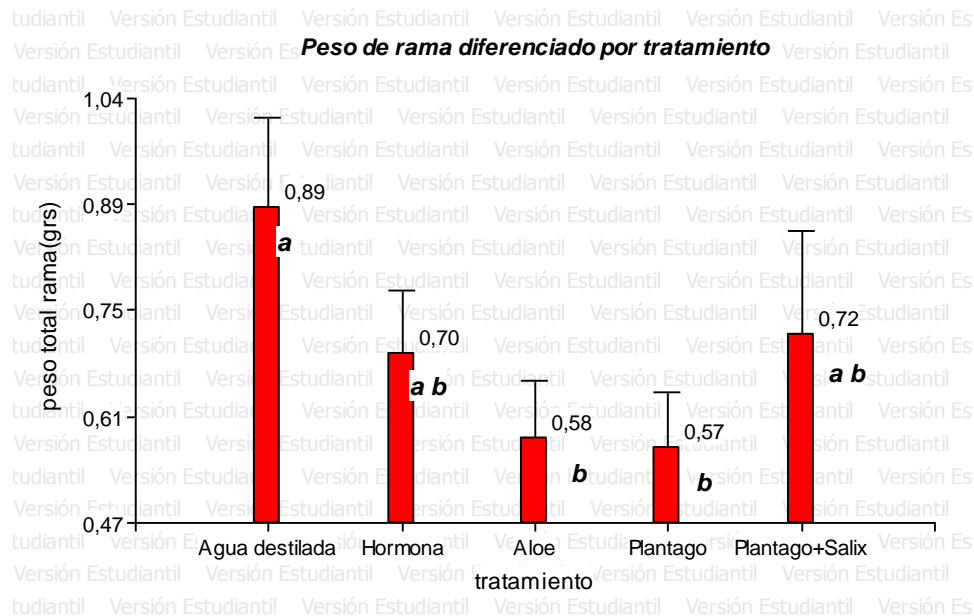


Fig 10: peso de ramas diferenciado por tratamientos. Las letras distintas indican diferencias significativas $p \leq 0,05$. Las barras indican el error estándar

En la Fig. 11 se comparó el número de callos producidos por estacas en los diferentes tratamientos, asociando la aparición de los mismos a una posible actividad citoquinínica. En los resultados se puede observar que se generó un mayor desarrollo de callos en los tratamientos con *A. vera* y *P. lanceolata* (Tabla 1, Fig11.)

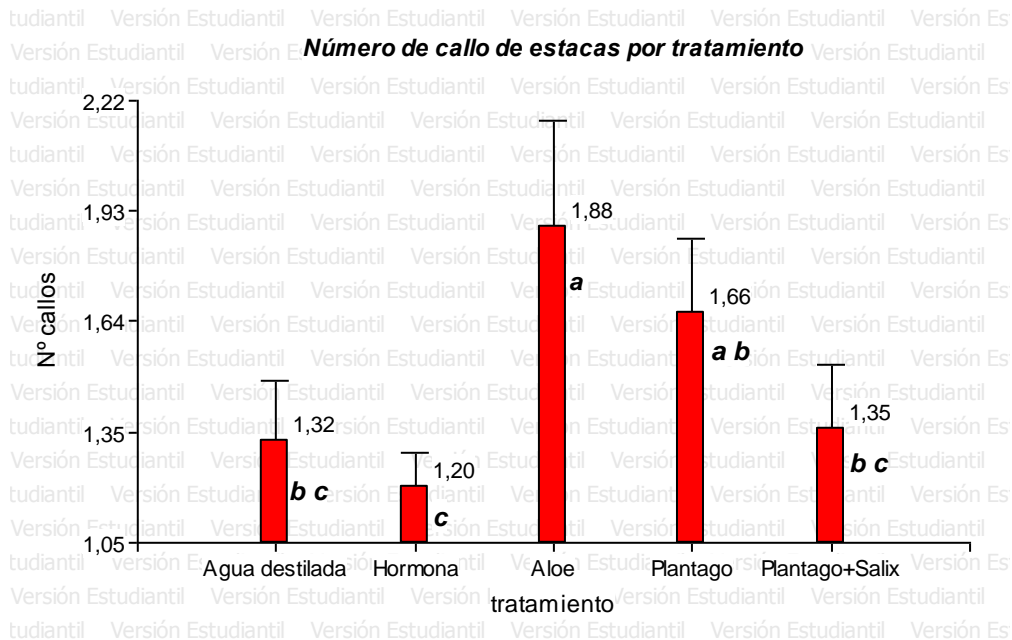


Fig 11 Número de callos por estacas por tratamiento. Las letras distintas indican diferencias significativas $p \leq 0,05$. Las barras indican el error estándar

6 Discusión

Los efectos inhibitorios observados en el enraizamiento de estacas de romero expuestas a extractos de *S. fragilis* podrían deberse a la existencia en los mismos de compuestos con efecto tóxico e inhibitorio del crecimiento celular. Por otro lado es sabido que la exposición a altas concentraciones de auxinas, en el orden de los micromoles, inhibe el desarrollo de raíces (Salisbury, Ross, 1994), por lo que los resultados observados en las estacas de romero podrían deberse a altas concentraciones de hormona en el extracto de sauce. Guevara (1987) asegura que concentraciones de auxinas mayores a 10×10^{-9} g/ml producen efectos inhibitorios en elongación de raíces. Futuros estudios, ajustando la exposición de estacas a

diferentes diluciones del extracto de sauce y distintos modos de extracción, podrían aportar datos que verifiquen y sustenten los resultados obtenidos.

Estos efectos inhibitorios se manifiestan también en la exposición combinada de *S. fragilis* y *P. lanceolata* donde los resultados indicaron antagonismo en el enraizamiento, ya que se observa menor porcentaje de enraizamiento respecto de la exposición al extracto solo de *P. lanceolata*. . No obstante esto, en aquellas estacas expuestas a esta combinación de extractos que sí enraizaron, no se evidenció este antagonismo, observándose respuesta similar en los otros parámetros evaluados a lo registrado para la exposición al extracto solo de *P. lanceolata*.

Los resultados obtenidos demuestran que el extracto de *P. lanceolata* podría ser una opción para estimular enraizamiento en estacas ya que en los resultados se evidenció un mayor porcentaje de enraizamiento. Debido a los resultados obtenidos con el número de callos por estacas diferenciado por tratamientos se podría decir que el *A. vera* y *P. lanceolata* podrían promover una actividad citoquinínica en las estacas (Salisbury, Ross, 1994).

Si bien se recomienda el uso de ANA para el enraizamiento de estacas en general (Hartmann, Kester, 2001), y particularmente en la propagación del romero (Arizio, Curioni, 2006), el porcentaje de enraizamiento obtenido en este trabajo con este producto comercial fue sólo del 50%, siendo la respuesta en los demás parámetros evaluados, similar o incluso inferior a lo observado para el control negativo o con los extractos de *A. vera* o *P. lanceolata*. En ensayos realizados por Parada (2011) se obtuvieron resultados similares con el uso de este enraizante en estacas de orégano, obteniéndose mejores resultados mediante el uso de extractos naturales y en el testigo.

A partir del trabajo realizado se aportan datos preliminares necesarios para el conocimiento del uso de extractos vegetales como enraizantes naturales de gran utilidad en la implementación de procedimientos ó técnicas de propagación agámica bajo normas de la agricultura orgánica.

Para poder comprobar los efectos estimulantes en el enraizamiento de estacas de los extractos de *P. lanceolata* y comprobar si el efecto inhibitorio de *S. fragilis* se debió a una alta concentración de auxinas en el extracto, además de comprobar sus efectos combinados, se considera necesaria la realización de nuevos estudios futuros ajustando la concentración de los extractos y diferentes épocas de realización.

7 Conclusiones

1. De los tratamientos utilizados el de mayor porcentaje de enraizamiento fue el realizado con *Plantago lanceolata*.
2. Es posible la reproducción de plantas sin el uso de hormona sintética ANA y con la utilización de extractos vegetales siendo el más recomendable el de *P lanceolata*.
3. Con el tratamiento de extracto de *Salix fragilis* no se obtuvieron los resultados esperados y se cree que fue debido a la alta concentración de auxinas presentes en el mismo.
4. En el tratamiento con extracto combinado de *Salix fragilis* y *Plantago lanceolata* se observó antagonismo, con una posible inhibición debida al extracto de *S. fragilis* ya que disminuyó el porcentaje de enraizamiento con respecto al tratamiento realizado con extracto de *P. lanceolata*.
5. El *A. vera* y *P. lanceolata* promueven la producción de callos en estacas, posiblemente debido a la acción combinada de auxinas y citoquininas .

Bibliografía

- Arizio O & Curioni A. 2006. Plantas Aromáticas y Medicinales –Labiadas-. Editorial Sur S. A. Buenos Aires. 194 pp.
- Bandoni A (Ed.). 2002. Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica, su Aprovechamiento Industrial para la Producción de Aromas y Sabores. CYTED Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Subprograma IV. 417 pp.
- Baird C. 2001. Química Ambiental. Reverté, Barcelona. 622 pp.
- Boutin C, Freemark KE & Keddy CJ., 1993. Proposed Guidelines for Registration of Chemical Pesticides: Nontarget Palm Testing and Evaluation Technical Report Series N° 145. Canadian Wildlife Service (Headquarters), Environmental Canada, Ottawa. 180 pp.
- Di Rienzo J A, Casanoves F, Balzarini M G, Gonzalez L, Tablada M & Robledo C W, InfoStat versión 2010. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Familias salicáceas. exa.unne.edu.ar/biologia/diversidadv/.../Rosideas/.../11-Salicaceae.pdf consultado el 28 de Mayo del 2013
- Fernández Pola J. 2001. Cultivo de Plantas Medicinales, Aromáticas y Condimenticias, Ediciones Omega, Barcelona 301 pp.
- Giraldo C, Ríos H, & Polanco M. 2009. Efecto de dos enraizadores en tres especies forestales promisorias para la recuperación del suelo. www.unad.edu.co/riaa/images/documentos/vol_0_num1_2009/Giraldo_etal_enraizadores.pdf consultado el 22 de Marzo del 2012
- González H & Hecheverría Sosa I. 2004. Efectos estimulantes del crecimiento de extractos acuosos de plantas medicinales y gel de *Aloe vera* (L.)N. L. Burm. bvs.sld.cu/revista/pla/vol_9_2_04/pla06204.html consultado el 20 de marzo del 2012

González H & Hecheverría Sosa I. 2006 Gel de *Aloe vera* (L) N.L Burm. y harina de sagú como soporte sólido de medio de cultivo para plantas medicinales.

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962006000100007

consultado el 4 de abril de 2013

Gliessman S. 2002 Agroecología: Procesos Ecológicos en Agricultura Sostenible, CATIE, Costa Rica 359 pp.

Guevara E. 1987. Generalidades, I., & Definición, A. Reguladores de Crecimiento. II Curso de Cultivo de Tejidos. Turrialba, Costa Rica, 58-79.

Hartmann H & Kester D 2001. Propagación de Plantas Principios y Prácticas, VIII edición. Compañía Editorial Continental. . México 760 pp.

Hostench J. 2012. Alternativas tecnológicas orgánicas para la propagación vegetativa de *Rosmarinus officinalis* (romero). Tesis presentada para optar por el título de Técnico en producción vegetal orgánica. Facultad de agronomía, Universidad de Buenos Aires. Directora Ing. Agr. Dra. Marta Divo de Sesar. 50 pp.

IASCAV, 1992. Resolución 423/92. Anexo B. Productos permitidos para el control de plagas y enfermedades.

<http://www.senasa.gov.ar/contenido.php?to=n&in=1000&io=6371> consultado 20 de noviembre 2012

Kawase M. 1970 Root- Promotion Substance in *Salix alba*. Physiologia Plantarum, 23: 1, 159-170.

Leicach S. 2006. Alelopatía Interacciones Químicas en la Comunicación y Defensa de las Plantas. Editorial Universitaria de Buenos Aires. Buenos Aires 207 pp.

Martinez E. 2010. Orígenes e historia de la agricultura orgánica. Apuntes clase Sistemas Productivos Orgánicos.

- Nabors M. 2007 Introducción a la Botánica, Editorial Pearson Addison Wesley. Madrid. 712 pp
- Parada J. 2011 Efecto del uso de preparados naturales en el enraizamiento de estaquillas de orégano (*Origanum vulgare L*) como alternativa al uso de hormonas de síntesis química. Tesis presentada para optar por el título de Técnico en producción vegetal orgánica. Facultad de agronomía, Universidad de Buenos Aires. Director Ing. Agr. Prof. C. Boschi. 21 pp.
- Salgado H. Datos pluviométricos 2001-2013.
- Salisbury FB & Ross CW, 1994. Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica, México. 759 pp.
- Taiz L. & Zeiger E., 2002. Plant Physiology. Sinauer Associates Sunderland, 690 pp.
- Toogood A. (2000) Enciclopedia De La Propagación De Plantas. Editorial Blume. Singapur, Tomo I 47 pp.
- Vega A G, Nevenka Ampuero Diaz N, Lemus R. 2005. El *aloe vera* (*Aloe barbadensis miller*) como componente de alimentos funcionales. Rev Chil. Nutr. 32: 3 p.208-214.