

INDUCCIÓN DE RIZOGÉNESIS Y CRECIMIENTO FOLIAR EN ESTACAS DE NACEDERO (*Trichanthera gigantea*)¹

Mary García Mora², José Jiménez Castro³, Andrés Alpízar Naranjo⁴,
Esteban Jiménez Alfaro⁵, Laura Chaverri Esquivel⁶, María Isabel Camacho Cascante⁷

RESUMEN

Inducción de rizogénesis y crecimiento foliar en estacas de nacedero (*Trichanthera gigantea*). El estudio se llevó a cabo en la Finca Experimental Santa Lucía de la Universidad Nacional de Costa Rica, en Barva de Heredia. Se extrajo semilla vegetativa de una plantación de nacedero establecida hace ocho años y con 575 días de rebrote. Las ramas se dividieron en tres secciones: basal, medial y apical, y de cada sección se extrajeron estacas de 40 cm de largo, con al menos tres nudos. Posteriormente, se trataron con cuatro concentraciones de ácido indol butírico (AIB) (0, 2500, 5000, 7500 ppm). Las estacas extraídas de la parte basal de la rama mostraron un 20,4 % más de brote total (rizogénesis y crecimiento vegetativo) en comparación con las estacas provenientes de la sección medial, y un 32,6 % más que las ubicadas en la parte apical. La estimulación con AIB sobre la brotación total de yemas y raíces mostró que la dosis aplicada con 2500 ppm, fue 10 % mayor en comparación con las estacas no tratadas con AIB en la generación de brotes tanto foliares como radiculares.

Palabras clave: Ácido indol butírico, brotación, reproducción asexual.

- 1 Resultados obtenidos por el primer autor en su Práctica Profesional Supervisada (PPS) para optar por el grado de Bachiller en Agronomía.
- 2 Estudiante. Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Costa Rica, UNA. Costa Rica. maryyou17@gmail.com. Sede Central de la UNA, Heredia.
- 3 Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Costa Rica, UNA. Costa Rica. jose.jimenez.castro@una.cr. Sede Central de la UNA, Heredia.
- 4 Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Costa Rica, UNA. Costa Rica. okandrescr@gmail.com. Sede Central de la UNA, Heredia.
- 5 Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Costa Rica, UNA. Costa Rica. estbjal@gmail.com. Sede Central de la UNA, Heredia.
- 6 Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Costa Rica, UNA. Costa Rica. laurachaverri@yahoo.com. Sede Central de la UNA, Heredia.
- 7 Escuela de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Costa Rica, UNA. Costa Rica. mcamacho517@yahoo.es. Sede Central de la UNA, Heredia.

INTRODUCCIÓN

El nacedero pertenece a la familia Acanthaceae y tiene alrededor de 200 géneros y más de 2000 especies (Gómez *et al.* 2002). El género *Trichanthera* se encuentra ampliamente distribuido en los países de América Latina y ha sido frecuentemente utilizado para suplementación alimenticia del ganado bovino y en rumiantes menores (Ospina 2002). Las ventajas que otorga el nacedero como fuente de forraje son su adaptabilidad a varias regiones ganaderas, su digestibilidad aceptable, el elevado contenido de proteína y la buena aceptación por parte de bovinos, caprinos, ovinos, porcinos y aves de producción familiar campesina (Bernal 1994).

La germinación por semilla sexual es de aproximadamente 2 % (Parent 1989), por lo que la forma más común de propagación es de forma asexual, donde se utiliza material vegetativo de 20 cm de longitud, entre 2,2 a 2,8 cm de diámetro y con al menos tres nudos (Gómez *et al.* 2002). La gran capacidad que muestra el nacedero para regenerar tejidos a partir de estacas, compensa la baja capacidad de propagación a partir de semilla sexual, lo cual se observa usualmente al formarse plantas nuevas cuando los tallos maduros alcanzan el suelo.

Las plántulas pueden ser producidas en vivero sembrando las estacas en bolsas con al menos 1 kg de tierra o sustrato, lo que permite un mejor desarrollo de las raíces. El medio ideal para

la propagación asexual debe mantener condiciones de humedad y aireación para el desarrollo radicular, además de servir de anclaje firme una vez que la plántula crece. Para el llenado de las bolsas se puede utilizar una mezcla de arena, tierra y abono orgánico en relación 3:3:1 (Gómez *et al.* 2002).

A pesar de que muchas especies vegetales presentan naturalmente mecanismos de reproducción vegetativa, es posible que mediante intervención humana se hagan más eficientes y se generen nuevos tipos de multiplicación. Además, el éxito de la propagación vegetativa depende de factores como el tipo de especie que se quiere reproducir, el método de reproducción vegetativa que se emplee, las características fisiológicas del material a multiplicar, el genotipo y la metodología de manejo utilizada durante el proceso de propagación (Rodríguez *et al.* 2002). En la práctica del estacado, se pueden utilizar sustancias como el ácido indol butírico (AIB) para estimular el proceso de enraizado, lo que favorece la formación de raíces adventicias.

Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue conocer el efecto de la sección de la estaca usada como fuente de semilla asexual, así como la concentración del AIB como estimulante en la capacidad de rizogénesis y crecimiento foliar de las mismas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en la Finca Experimental Santa Lucía de la Universidad Nacional de Costa Rica, ubicada en Santa Lucía de Barva de Heredia. La finca se encuentra a una altura de 1266 msnm, con latitud 10° 01' N, longitud 84°06' O y con una precipitación promedio anual de 2394,7 mm. Las temperaturas máximas y mínimas son 25,2 y 15,2 °C

respectivamente. Presenta una humedad relativa media del 79 % y un promedio de brillo solar anual de 6,1 h/día (IMN 2014).

Para la extracción de la semilla vegetativa, se seleccionó una plantación de 558 m², con alrededor de ocho años de establecida y 575 días de rebrote desde la última corta. Se podaron todas las plantas

del lote, seleccionando ramas con similar apariencia, vigor y largo. Se extrajeron estacas de tres posiciones de la rama (basal, medial y apical), con al menos tres yemas vegetativas con un promedio de 40 cm de largo cada estaca. Las hojas se desprendieron de la rama protegiendo las yemas.

Para la siembra, se prepararon 900 kg de tierra con la adición de cascarilla de arroz y aserrín. Una vez mezclados, se aplicó fungicida en polvo humectable con Carboxín como ingrediente activo por medio de aspersión con bomba de espalda y realizando volteos para cubrir la totalidad del material y así, evitar propagación de algún tipo de agente patógeno. Se llenaron 900 bolsas para almacigo de 6 x 8" con un kilogramo de tierra cada una aproximadamente. El grosor de cada tipo de estacas se homogenizó para evitar tamaños distintos siendo de la misma sección de la rama (Figura 1).



Figura 1. Aplicación de AIB en yema basal. Heredia, Costa Rica. 2014.

Posterior a la siembra, las estacas se colocaron bajo techo y se les proporcionó riego por aspersión diariamente durante los primeros 15 días. Los días restantes se regó cada día de por medio, para evitar crear un ambiente con exceso de humedad.

La siembra se efectuó siguiendo un diseño irrestricto al azar con dos factores. Los dos factores estudiados fueron: ubicaciones de la estaca en la rama: basal, medial y apical; y concentraciones de AIB: 0, 2500, 5000 y 7500 ppm; disuelto en una solución de 50 % de alcohol etílico y 50 % de agua. A la yema de la parte basal de cada estaca, se le aplicó la solución AIB correspondientemente. Cada tratamiento estuvo formado por tres repeticiones de cada sección de la rama con 25 estacas cada una. Se emplearon un total de 900 estacas.

En la unidad de observación se evaluó el número de estacas con brotes radiculares y foliares. Se tomó como brote radicular aquella protuberancia basal de al menos 0,5 cm de largo. En el caso del brote foliar se designó como aquella yema desarrollada de al menos 1 cm de largo. Con base en ello, se clasificó en cuatro categorías: estacas que mostraron únicamente brote radicular, estacas con presencia únicamente de brotes foliares, estacas con brotes radicales y foliares simultáneamente; por último, estacas sin brotes radicales ni foliares. Las observaciones recolectadas fueron analizadas con el paquete estadístico IBM SPSS Statistics v22, de acuerdo a la siguiente ecuación estadística:

$$y_{ijk} = \mu + P_i + C_j + (PC)_{ij} + e_{ijk}$$

Donde:

- y_{ijk} = variable de respuesta
- μ = media general
- P_i = nivel de factor P
(ubicación de la estaca) $i=1, 2, 3$
- C_j = nivel de factor C
(concentración de AIB) $j=1, 2, 3, 4$
- $(PC)_{ij}$ = interacción
- e_{ijk} = error experimental

El análisis entre tratamientos se realizó utilizando la Comparación de Proporciones Múltiples (Chi-Cuadrado) con una significancia de $\alpha=0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de la sección de la estaca utilizada sobre la rizogénesis y crecimiento vegetativo

El prendimiento máximo se observó a los 41 días possiembra y la evaluación final se realizó a los 53 días posteriores a la siembra. Al cabo de 21 días de la siembra, se observaron los primeros brotes foliares, lo que concuerda con estudios realizados por Gómez *et al.* (2002). Por otro lado, este mismo autor reporta a los 48 días possiembra, un porcentaje de supervivencia del 86 %. Contrariamente, en el presente estudio se obtuvo un 47,5 % de supervivencia, lo que representa

la mitad del material en observación. Aspectos relacionados a la humedad, incidencia de luz y/o presencia de bacterias patógenas podrían haber influenciado las pérdidas de las estacas. Giraldo y Polanco (2009), reportaron problemas de pudrición por efecto de exceso de humedad en estacas de nacedero, cuadro similar al que se observó en este ensayo.

En el Cuadro 1, se presentan los porcentajes de brotes radiculares y foliares de las estacas con diferente origen en la rama de nacedero y a diferentes concentraciones de AIB.

Cuadro 1. Efecto de factores independientes (tipo de estaca y concentración de AIB) en la brotación foliar y radicular de las estacas de nacedero (*T. gigantea*). Finca Experimental Santa Lucía. Heredia, Costa Rica. 2014.

Ubicación en la rama	Solo brote foliar (%)	Solo brote radicular (%)	Brote foliar y radicular (%)	Sin ningún brote (%)	Brote total (%)
Apical	1,3 a	14,6 a	16,6 a	67,5 a	32,5
Medial	1,3 a	6,0 b	37,3 b	55,3 b	44,7
Basal	0,7 a	5,0 b	59,4 c	34,9 c	65,1
Dosis de AIB (ppm)					
0	2,2 a	8,0 a	38,2 ab	51,6 a	48,4
2500	0,4 a	11,9 a	46,5 b	41,2 b	58,8
5000	0,9 a	7,6 a	35,9 a	55,6 ac	44,4
7500	0,9 a	6,6 a	30,1 a	62,4 c	37,6

a, b, c: marca diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos (filas).

De acuerdo con los resultados, se infiere que la brotación respondió favorablemente en aquellas estacas extraídas de la parte basal de la rama, donde se observaron mayor porcentaje de brotes foliares y radiculares simultáneamente ($p \leq 0,05$). De acuerdo con Hartmann y Kester (2001), la posición dentro de la planta de donde se obtiene la estaca, bien sea apical o basal, ocasiona variación en la producción de raíces, ya que en muchos casos, el mayor porcentaje de enraizamiento se logra con estacas procedentes de la porción basal de la rama. En los tallos leñosos, los carbohidratos se acumulan en la base de las ramas y promueven

la aparición de algunos brotes, influenciadas por sustancias promotoras de las yemas y hojas.

Resultados similares determinaron Boschini y Rodríguez (2002), en un cultivo de morera (*Morus alba*) donde utilizaron de la misma manera, estacas extraídas de las tres partes de la rama con mejores rendimientos de germinación en la parte basal. Por su parte, Ruiz y Mesén (2010), mostraron la superioridad de las estaquillas basales en cuanto a número de raíces y emisión de rebrotes en estacas de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.).

Al observar los factores de manera independiente los porcentajes más altos de estacas sin ningún brote se dan en la sección apical de la rama con un 67,5 % ($p \leq 0,05$). Este comportamiento se ajusta a un modelo típico de enraizamiento en estaquillas suculentas, el cual supone al menos dos fases en el proceso de enraizamiento las cuales son la iniciación y el crecimiento. Al parecer, los requerimientos asociados con la fase de iniciación no son los mismos que los asociados con el crecimiento de las raíces. De acuerdo con investigaciones realizadas por Ruiz y Mesén (2010), la iniciación de primordios radiculares es controlada hormonalmente, y no se ve influenciada grandemente por excesos o deficiencias de nutrientes. Así mismo, en este ensayo las estaquillas apicales, presentaron el mayor porcentaje de mortalidad frente a las demás, debido a la mayor suculencia de esta ubicación de la rama y a una mayor tendencia a la marchitez (Ruiz y Mesén 2010).

Sin embargo, en las estacas que contaban únicamente con brote radicular, se evidenció que

aunque el número de individuos con esta característica no fue muy amplio, la sección apical obtuvo significativamente mayor brote solamente radicular (14,6 %) ($p \leq 0,05$) en comparación con la sección medial y basal. En ocasiones, las estacas que producen un mejor enraizamiento provienen de material joven o nuevo de la periferia de la planta donde se produce mayor contenido de auxina en tejidos y por lo tanto, mayor síntesis de ácido indol acético (AIA) (Hernández y Almeida 2010). En este sitio de la planta, se encuentran las enzimas necesarias para la conversión del triptófano en AIA (Azcón-Bieto y Talón 2013, Salisbury y Ross 2000).

En cuanto al porcentaje de brotes foliares, no se encontraron diferencias significativas entre la ubicación de la rama. En términos generales, la mayor germinación total (tanto foliar, radicular y ambos) ocurrió en estacas de la porción basal, con un 65,1 %, mientras que las brotaciones en las estacas apicales y mediales fueron de 32,5 y 44,7 % respectivamente (Figura 2).



Figura 2. Brote foliar en estaca de nacedero. Heredia, Costa Rica. 2014.

Evaluación del efecto de la concentración de AIB sobre la rizogénesis y crecimiento vegetativo

La aplicación de AIB como hormona de crecimiento para estimular la rizogénesis, aplicado en una concentración de 2500 ppm a las distintas secciones de la rama, disminuyó significativamente ($p \leq 0,05$) las estacas sin ningún brote, en comparación con las demás concentraciones y el control (0 ppm). La mayor habilidad del enraizamiento en los tallos tratados con AIB está relacionada con el incremento de la actividad cambial y del aumento del tejido parenquimático de mayor actividad metabólica en el tallo, circunstancia que pudo incidir favorablemente en la disponibilidad de carbohidratos solubles durante el proceso de enraizamiento (Laskowski y Bautista 1999).

De las cuatro dosis utilizadas en el presente estudio, se obtuvo el mayor porcentaje de brotes radiculares y foliares a una concentración de 2500 ppm, en comparación de las demás dosis aplicadas, sin embargo, no se observaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) con el control. Las dosis de AIB no presentaron diferencias significativas en la brotación foliar ni en el radicular. No obstante, las diferencias observadas pueden ser atribuibles a que una acumulación excesiva de auxinas que inhiben la rizogénesis, por efecto tóxico para la estaca (Oberschelp y Marcó 2010).

En un estudio realizado por Sánchez *et al.* (2009), se encontró que estacas de guayabo (*Psidium guajava* L.) presentaron una disminución de rizogénesis y cantidad de brotes vegetativos, en la medida que se incrementó la concentración del regulador de crecimiento AIB. Los resultados obtenidos por Hernández y Almeida (2010), en magnolia (*Magnolia grandiflora* L.) permiten recomendar que para la propagación de este material vegetativo, se deben realizar acodos aéreos, con la aplicación de AIB, a una concentración de 200 ppm y no a concentraciones mayores. A pesar de lo anterior, la concentración de AIB a 2500 ppm disminuyó significativamente ($p \leq 0,05$) el porcentaje de pérdida, en comparación con las demás concentraciones.

Evaluación del efecto de la interacción entre la sección de la estaca y concentración de AIB sobre la capacidad de rizogénesis y crecimiento foliar

De acuerdo con los resultados, no existe interacción entre la porción apical con las diferentes dosis de AIB, sobre el brote foliar, radicular y la presencia de ambos brotes simultáneamente. Las interacciones entre tratamientos se observan en el Cuadro 2.

Las estacas de la parte medial no presentaron diferencias significativas ($p \geq 0,05$) sobre la cantidad de brotes foliares con respecto a las diferentes concentraciones de AIB. Sobre el brote radicular no se encontraron diferencias significativas entre las concentraciones de AIB y el grupo control. La cantidad de brotes foliares y radiculares de las estacas mediales tratadas con 2500 ppm de AIB, fue significativamente mayor ($p \leq 0,05$) a las tratadas con 5000 y 7500 ppm; sin embargo, no mostró diferencias significativas ($p \leq 0,05$) al control. Además, las estacas mediales tratadas con 2500 ppm disminuyeron significativamente la proporción de estacas que no brotaron con relación con las tratadas con 5000 y 7500 ppm.

Respecto a las estacas de la porción basal, no se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) en el brote foliar y el brote radicular sometidas a las diferentes concentraciones de AIB. Así mismo, las diferentes concentraciones de AIB no ejercieron un efecto significativo ($p \leq 0,05$) sobre las estacas que no brotaron en comparación al control. No se encontraron diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las concentraciones de 2500 y 5000 ppm sobre ambas brotaciones (foliar y radicular) en comparación al control; mientras que las tratadas con 7500 ppm fueron significativamente menores al control.

Los resultados del presente estudio, mostraron que la sección basal de estacas de nacedero responde mejor a la generación de ambos brotes (foliar y radicular), y puede aumentarse tras la aplicación de AIB a una concentración de 2500 ppm.

Cuadro 2. Efecto del tipo de estaca de nacedero (*T. gigantea*) y la concentración de AIB sobre la brotación foliar y radicular. Finca Experimental Santa Lucía, Universidad Nacional. Heredia, Costa Rica. 2014.

Ubicación de la rama en la estaca	Brotación (%)	Concentración AIB			
		0	2500	5000	7500
Apical	Solo brote foliar	1,3 a	0,0 a	2,7 a	1,3 a
	Solo brote radicular	12,8 a	17,3 a	16,2 a	12,0 a
	Brote foliar y radicular	14,1 a	22,7 a	14,9 a	14,7 a
	Sin ningún brote	71,8 a	60,0 a	66,2 a	72,0 a
	Brote total	28,2	40,0	33,8	28,0
Medial	Solo brote foliar	4,1 a	1,3 a	0,0 a	0,0 a
	Solo brote radicular	4,1 ab	13,0 b	2,7 a	4,0 a
	Brote foliar y radicular	47,3 a	46,8 a	27,0 b	28,0 b
	Sin ningún brote	44,6 a	39,0 a	70,3 b	68,0 b
	Brote total	55,4	61,0	29,7	32,0
Basal	Solo brote foliar	1,4 a	0,0 a	0,0 a	1,3 a
	Solo brote radicular	6,8 a	5,4 a	4,0 a	3,9 a
	Brote foliar y radicular	54,8 b	70,3 b	65,3 b	47,4 a
	Sin ningún brote	37,0 ab	24,3 b	30,7 b	47,4 a
	Brote total	63,0	75,7	69,3	52,6

a, b, c: marca diferencias estadísticas ($p < 0,05$) entre tratamientos (columnas).

AGRADECIMIENTO

Agradecemos profundamente al Programa Producción Sostenible de Rumiantes Menores de la Escuela de Ciencias Agrarias de la Universidad

Nacional por aportar los insumos requeridos en la presente investigación.

BIBLIOGRAFÍA

Azcón-Bieto, J; Talón, M. 2013. Fundamentos de fisiología vegetal. 2 ed. España, Editorial McGraw-Hill/Interamericana. 669 p.

Bernal, J. 1994. Pastos y forrajes tropicales: Producción y manejo. 3 ed. Colombia, Editorial Banco Ganadero. 545 p.

Boschini, C; Rodríguez, A. 2002. Inducción del crecimiento en estacas de Morera (*Morus alba*), con ácido indol butírico (AIB). Agronomía Mesoamericana. 13(1):19-24.

Giraldo, L; Ríos, H; Polanco, M. 2009. Efecto de dos enraizadores en tres especies forestales promisorias para la recuperación de suelos. Investigación Agraria y Ambiental. 41:47.

Gómez, M; Ríos, C; Murgueitio, E. 2002. Nacedero *Trichanthera gigantea* (H. et B.) Nees. In: Gómez, M; Rodríguez, L; Murgueitio, E; Ríos, C; Méndez, M; Molina, C; Molina, C; Molina, E; Molina, J. Árboles y arbustos forrajeros utilizados en alimentación animal como fuente proteica. 3 ed. Colombia, CIPAV. 147 p.

- Hartmann, H; Kester, D. 2001. Propagación de Plantas. Principios y Prácticas. 8 ed. México, Editorial Continental. 760 p.
- Hernández, R; Almeida, J. 2010. Ensayo para el enraizamiento de acodos aéreos de *Magnolia grandiflora* L. Pittieria. 34:129-131.
- IMN (Instituto Meteorológico Nacional, CR). 2014. Datos Climáticos. Estación Experimental Finca Santa Lucía de Barva. Universidad Nacional. Período 2013-2014.
- Laskowski, L; Bautista, D. 1999. Características anatómicas de raíces adventicias en estacas de semeruco (*Malpighia emarginata* DC) tratadas con ácido indol-butírico. Bioagro. 11(3):88-96.
- Oberschelp, G; Marcó, M. 2010. Effect of Indole 3-Butyric Acid on adventitious rooting and height of cuttings of *Prosopis alba* (Grisebach). Quebracho. 18(1,2):112-119.
- Ospina, S. 2002. Establecimiento de la colección nacional de procedencias de *Trichanthera gigantea* (H. & B.) Nees en siete predios institucionales y/o campesinos del suroccidente colombiano. In: Ospina, S; Murgueitio, E. eds. Tres especies vegetales promisorias: nacedero *Trichanthera gigantea* (H. & B.) Nees, botón de oro *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray y bore *Alocasia macrorrhiza* (Linneo.) Schott. Cali, Colombia, CIPAV. p. 115-127.
- Parent, G. 1989. Guía de reforestación. Colombia, Editorial Sena Bucaramanga. 80 p.
- Rodríguez, J; Nieto, V. 2002. Aplicación de los métodos de estacas e injertos para la propagación vegetativa de *Cordia alliodora* (Ruiz Pavón) Oken y *Tabebuia rosea* (Bertol). Bogotá, Colombia, CONIF. 61 p.
- Ruiz, H; Mesén, F. 2010. Efecto del ácido indolbutírico y tipo de estaquilla en el enraizamiento de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L). Agronomía Costarricense. 34(2):259-267.
- Salisbury, F; Ross, C. 2000. Fisiología de las plantas. España. Editorial Paraninfo Thomson Learning. 988 p.
- Sánchez, A; Suárez, E; González, M; Amaya, Y; Colmenares, C; Ortega, J. 2009. Efecto del ácido indolbutírico sobre el enraizamiento de acodos aéreos de guayabo (*Psidium guajava* L.) en el municipio Baralt, Venezuela. Evaluación preliminar. UDO Agrícola. 9(1):113-120.