



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL
Facultad de Ciencias Agrarias
Maestría en Cultivos Intensivos



EFEECTO DE AUXINAS EN EL ENRAIZAMIENTO DE ESTAQUILLAS DE
***BUXUS SEMPERVIRENS* L. EN DISTINTAS ÉPOCAS DEL AÑO**

Tesis sometida a consideración por la Facultad de Ciencias Agrarias,
Universidad Nacional del Litoral como requisito parcial para optar por el grado de:
Magister Scientiae en Cultivos Intensivos

Tesista:

Patricia Paula Langé

Director:

Ing. Agr. M.Sc. Jonicélia Cristina Araújo

Vieira de Souza

Dasonomía – FCA – UNL

Codirector:

Ing. Agr. M.Sc. Marcela Buyatti

Cultivos Intensivos – FCA – UNL

Esperanza, julio de 2013

DEDICATORIA

A mis hijos.

AGRADECIMIENTOS

A todos aquellos que de una u otra forma me ayudaron y motivaron para seguir adelante.

A mi familia.

A mi marido.

A mi abuelo (q.e.p.d)

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|----|
| 1. Introducción..... | 7 |
| 1.1. Descripción de la especie..... | 7 |
| 1.1.1. Descripción botánica..... | 7 |
| 1.1.2. Centro de origen | 8 |
| 1.1.3. Usos..... | 8 |
| 1.1.4. Requerimiento de cultivo..... | 9 |
| 1.1.5. Propagación de <i>Buxus sempervirens</i> | 10 |
| 1.2. Factores que afectan el enraizamiento..... | 11 |
| 1.2.1. Condiciones de la planta madre..... | 11 |
| 1.2.1.1 Estado general y nutricional..... | 11 |
| 1.2.1.2 Tipo de rama y características del propágalo..... | 12 |
| 1.2.1.3 Grado de maduración..... | 12 |
| 1.2.2. Fitorreguladores..... | 13 |
| 1.2.3. Época del año..... | 16 |
| 1.2.4. Condiciones de cría | 17 |
| 1.2.5. Aspectos anatómicos | 18 |
| 2. Hipótesis..... | 19 |
| 3. Objetivos..... | 20 |
| 3.1. Objetivo General..... | 20 |
| 3.2. Objetivos Específicos..... | 20 |
| 4. Materiales y Métodos..... | 21 |
| 4.1 Condiciones ambientales locales..... | 21 |
| 4.2 Plantas madres..... | 21 |
| 4.3 Obtención de estaquillas..... | 22 |
| 4.4 Tratamientos..... | 23 |

| | |
|--|----|
| 4.5 Plantación de estaquillas y condiciones de enraizamiento..... | 25 |
| 4.6 Diseño experimental y variables a evaluar..... | 25 |
| 4.7. Aspectos anatómicos | 26 |
| 5. Resultados y Discusión..... | 27 |
| 5.1 Porcentaje de estaquillas enraizadas..... | 27 |
| 5.1.1 Resultados a los 30 días después de instalado el ensayo..... | 27 |
| 5.1.2 Resultados a los 60 días después de instalado el ensayo..... | 27 |
| 5.1.3 Resultados a los 90 días después de instalado el ensayo..... | 29 |
| 5.2 Porcentaje de estaquillas muertas..... | 33 |
| 5.3 Número de raíces por estaquilla..... | 35 |
| 5.3.1 Resultados a los 60 días después de instalado el ensayo..... | 35 |
| 5.3.2 Resultados a los 90 días después de instalado el ensayo..... | 36 |
| 5.4 Longitud de raíz..... | 39 |
| 5.4.1 Resultados a los 60 días después de instalado el ensayo..... | 39 |
| 5.4.2 Resultados a los 90 días después de instalado el ensayo..... | 40 |
| 5.5. Aspectos anatómicos | 46 |
| 6. Conclusiones..... | 49 |
| 7. Bibliografía..... | 50 |

INDICE DE FIGURAS Y CUADROS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Plantas en condiciones de cultivo en vivero..... | 9 |
| Figura 2. Plantas madres en contenedor..... | 21 |
| Figura 3. Detalle de ramas y hojas de <i>Buxus sempervirens</i> | 22 |
| Figura 4. Detalle de estaquillas..... | 23 |
| Cuadro 1. – Tratamientos evaluados en cada época del año..... | 24 |
| Figura 5.- Porcentaje de enraizamiento en función de los tratamientos realizados después de 60 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año..... | 29 |
| Figura 6.- Porcentaje de estaquillas enraizadas en función a distintas concentraciones de ANA e IBA después de 60 días de instalado el ensayo en primavera..... | 30 |
| Figura 7.- Porcentaje de enraizamiento en función de los tratamientos realizados después de 90 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año..... | 31 |
| Figura 8.- Porcentaje de estaquillas enraizadas en función a distintas concentraciones de ANA después de 90 días de instalado el ensayo en distintas épocas del año..... | 32 |
| Figura 9.- Porcentaje de estaquillas muertas en función de los tratamientos realizados al finalizar el ensayo en las distintas épocas del año..... | 35 |
| Figura 10.- Número de raíces por estaquilla en función de los tratamientos realizados después de 60 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año..... | 36 |
| Figura 11.- Número de raíces por estaquilla en función a distintas concentraciones de ANA después de 60 días de instalado el ensayo en primavera..... | 37 |
| Figura 12.- Número de raíces por estaquilla en función de los tratamientos realizados después de 90 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año..... | 38 |
| Figura 13.- Número de raíces por estaquilla en función a distintas concentraciones de ANA después de 90 días de instalado el ensayo en otoño, invierno, primavera..... | 39 |
| Figura 14.- Longitud total de raíz en función de los tratamientos realizados después de | 40 |

| | |
|---|----|
| 60 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año..... | |
| Figura 15.- Longitud total de raíz en función a distintas concentraciones de ANA e IBA después de 60 días de instalado el ensayo en primavera..... | 41 |
| Figura 16.- Longitud total de raíz en función de los tratamientos realizados después de 90 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año..... | 42 |
| Figura 17.- Longitud total de raíz en función a distintas concentraciones de ANA e IBA después de 90 días de instalado el ensayo en otoño e invierno..... | 43 |
| Figura 18.- Cortes transversales de estaquillas de <i>Buxus sempervirens</i> en el momento del estaqueado (previo a la inducción al enraizamiento). | 48 |
| Figura 19.- Cortes transversales de estaquillas de <i>Buxus sempervirens</i> 50 días posteriores al estaqueado. | 48 |
| Figura 20.- Cortes transversales de estaquillas de <i>Buxus sempervirens</i> , en siete distintos tiempos de enraizamiento. | 49 |

RESUMEN

El Boj (*Buxus sempervirens*) es una importante planta de uso ornamental, muy utilizada para plazas y jardines. En condiciones de cultivo es multiplicada por estacas, pero el enraizamiento es lento y muy desparejo llevando entre seis a ocho meses. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de auxinas en el enraizamiento de estaquillas en distintas épocas del año determinando la necesidad del uso de reguladores de crecimiento; mejor tipo de auxina y su concentración óptima, la respuesta a los tratamientos utilizados en las diferentes estaciones del año y analizar la anatomía de las estaquillas y su relación con el enraizamiento. El diseño utilizado en los ensayos de otoño, invierno, primavera y verano fue completamente aleatorizado con 8 tratamientos de auxinas en diferentes tipos y/o formulaciones y concentraciones; 5 repeticiones por tratamiento y 5 estaquillas por unidad experimental. Las concentraciones de ácido indol-butírico (IBA) y ácido naftalen-acético (ANA) fueron: cero (control), 1500 mg L⁻¹, 2500 mg L⁻¹, 3500 mg L⁻¹ y 4000 mg L⁻¹ (ésta última en forma de producto comercial listo para aplicación; sólo en el caso de ANA). A los 30, 60 y 90 días de establecido el ensayo se realizaron las evaluaciones de 1) número de raíces por estaquilla; 2) longitud total de raíces (cm); 3) número de estaquillas con raíz (porcentaje de enraizamiento). Al finalizar el ensayo se realizó el recuento de estaquillas muertas. Los datos fueron sometidos a un análisis conjunto de experimentos, se realizó un análisis de varianza con prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) y regresión. Para las condiciones en que este ensayo fue realizado se concluye que no existen barreras estructurales que impidan el enraizamiento y que la época más propicia para multiplicar *Buxus sempervirens* por medio de estaquillas es la primavera. El uso del ANA presentó mejores tasas de enraizamiento que el uso del IBA en las concentraciones utilizadas siendo la concentración de 3500 mg L⁻¹ de ANA la que presentó mayores porcentajes de estaquillas enraizadas, con mayor número de raíces por estaquilla y mayor longitud total de las mismas, acelerando la producción de plantines en vivero.

Palabras claves: Propagación vegetativa, ANA, IBA.

SUMMARY

The Boxwood (*Buxus sempervirens*) is an important ornamental plant, widely used for squares and gardens. In culture conditions is multiplied by cuttings, but rooting is slow and very uneven carrying six to eight months. This work aimed to evaluate the effect of auxin on the rooting of cuttings in different seasons determining the need for the use of growth regulators, better type of auxin and its optimum concentration, the response to the treatments used in the different seasons year and analyzing the anatomy of cuttings and their relationship to rooting. The design used in trials of fall, winter, spring and summer was completely randomized with 8 treatments of auxin in different types and / or formulations and concentrations, 5 replicates per treatment, and 5 cuttings per experimental unit. The concentrations of indole butyric acid (IBA) and naphthalene acetic acid (NAA) were: zero (control) , 1500 mg L⁻¹ , 2500 mg L⁻¹ , 3500 mg L⁻¹ and 4000 mg L⁻¹ (this shaped final product ready for commercial application, only if ANA) . At 30, 60 and 90 days of the test set evaluations: Total root length (cm), number of rooted cuttings (rooting percentage), number of roots per cuttings were made. At the end of the trial the count of dead cuttings was performed. The data was subjected to an analysis set of experiments, analysis of variance with Tukey test ($p \leq 0.05$) and regression. For the conditions under which this test was performed is concluded that there are no structural barriers to rooting and the most propitious time to multiply *Buxus sempervirens* by cuttings is spring. Use of ANA showed better rooting rates using the IBA concentrations used in the concentration of 3500 mg L⁻¹ of ANA which showed higher percentages of rooted cuttings, with the highest number of roots per cuttings and greater total length the same, accelerating production of seedlings in nursery.

Keywords : Vegetative propagation , NAA , IBA .

1. INTRODUCCIÓN

El *Buxus sempervirens* L. (Boj) es un arbusto perennifolio. Muy cultivado y difundido en el país como planta ornamental para su uso en maceta o para formar setos ya que soporta muy bien las podas (Brickell, 1992; Guillot *et al.*, 2008).

Se reproduce fundamentalmente de forma vegetativa para acelerar el crecimiento y desarrollo de la planta, ya que, las plantas producidas a través de semillas generan plántulas que se desarrollan con lentitud. En condiciones de producción, el enraizamiento de esta especie es muy desparejo a lo largo de un período relativamente prolongado, de seis a ocho meses (Hartmann & Kester, 1987).

Son muchos los factores que pueden afectar el enraizamiento de estaquillas, tales como la condición fisiológica y edad de la planta madre, condición fisiológica de las estaquillas, época del año, condiciones ambientales durante el enraizamiento y sustrato a ser utilizado (Westwood, 1982; Hartmann & Kester, 1987; Norberto *et al.*, 2001; Paes *et al.*, 2006; Almeida *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2009). Dentro de estos, para la iniciación de raíces adventicias es fundamental la acción hormonal de las auxinas (Sívori *et al.*, 1986, Hartmann & Kester, 1987; Salisbury & Ross, 1994), de las cuales la más encontrada en las plantas (en forma natural) es el ácido indol acético (Weaver, 1976; Bortolini *et al.*, 2008 a). La aplicación de auxinas en especies de difícil enraizamiento, es una práctica viable y decisiva para la formación de raíces debido a que permite no sólo promover la rizogénesis sino también adelantar el proceso, incrementar el número y la calidad de las raíces, y proporcionar mayor uniformidad de enraizamiento (Hartmann & Kester, 1987; Cuisance, 1988).

1.1 Descripción de la especie

1.1.1. Descripción Botánica

B. sempervirens, comúnmente conocido como Boj, pertenece a la familia de las Buxáceas. Dentro de la familia se hallan descritos 5 géneros con 30 a 60 especies sin representantes

nativos en la Argentina (Cabral de Ferber, 2009; Guillot *et al.*, 2008). Fernández Nava (1994) reconoce seis géneros y alrededor de 100 especies.

Es un arbusto monoico perennifolio, que supera los cinco metros de altura. De porte grande, erecto o extendido, frondoso y muy ramificado (Mottet & Hamm, 1970; Wu *et al.*, 2008). Presenta tallos densamente ramificados, glabros o pubescentes, con numerosas ramas rígidas de corteza pardo-clara, por lo general agrietada profundamente. Las hojas opuestas, subsésiles o cortamente pecioladas, enteras, coriáceas (Brickell, 1992; Fernández Nava, 1994).

De floración primaveral, sus flores son pequeñas, blanquecinas, dispuestas en pequeñas inflorescencias axilares de varias flores masculinas y una femenina. Las flores masculinas usualmente pediceladas, con 4 lóbulos del cáliz, estambres 4 a 6, opuestos a los sépalos; las flores femeninas, sésiles, con 4 a 6 lóbulos del cáliz; ovario trilobular con 2 óvulos por lóculo, estilos 3. El fruto es una cápsula, con tres cuernos apicales provenientes de los estilos persistentes; semillas oblongas, triquetras, negras, con un pequeño estrofiolo, endospermo algo carnoso, cotiledones ligeramente más anchos que la radícula (Mottet & Hamm, 1970; Brickell, 1992; Fernández Nava, 1994; Wu *et al.*, 2008).

1.1.2. Centro de origen

B. sempervirens es una especie cuyo centro de origen es Europa, norte de África y oeste de Asia. Se lo encuentra creciendo en forma espontánea en el centro y sur de Europa, África, Cáucaso y Asia menor (Fernández Nava, 1994).

1.1.3. Usos

La especie posee importancia económica como planta ornamental. Se usa en jardinería por su aspecto y cualidades del follaje, para formar borduras y macizos en jardines. Ya que acepta muy bien las podas de formación es muy utilizado para bonsai y otras formas y arreglos ornamentales en macetas y jardines. Puede adoptar muchas y variadas formas: postradas, globosas, semierectas, ascendentes, columnares y piramidales (Mottet & Hamm, 1970; Brickell, 1992; Guillot *et al.*, 2008)

Su madera, color amarillo limón es muy buscada en ebanistería por su estructura homogénea y no fibrosa, para trabajos de torneado y pequeños utensilios caseros como cucharas y paletas (Mottet & Hamm, 1970; Esteban, 2004).

1.1.4. Requerimientos de cultivo

Es una especie que, si bien es extremadamente rústica y plástica es de crecimiento lento. Apta para cultivo en terrenos arcillosos, suelos calcáreos, secos, de regiones montañosas y hasta próximas al mar. La especie es plenamente resistente a las heladas. Requiere exposición a pleno sol o bien a semisombra y sobre cualquier tipo de suelo, a condición de que esté bien drenado. Puede cultivarse en suelo, jardineras y macetas de mayor tamaño (Mottet & Hamm, 1970; Brickell, 1992).



Figura 1.- Plantas en condiciones de cultivo en vivero.

A pesar de su rusticidad se han reportado algunas enfermedades y plagas de importancia, no así el caso de malezas. Loureiro Ruibal *et al* (2004) encontraron que los hongos que atacan con mayor frecuencia al *B. sempervirens* son aquellos que producen daños en hojas como *Puccinia buxi* y *Macrophoma candollei*; o en hojas y ramillos como *Fusarium* spp., *Phomopsis* sp., *Gliocladium* sp., *Phoma* sp. Los síntomas en hojas se observan mediante cambios de coloración, presencia de puntos oscuros, pústulas rojizas-marrones, defoliaciones. *Cylindrocladium buxicola* es otro hongo identificado en el cultivo. Los principales síntomas se

observan en almácigos; con lesiones en raíz y tallo, marchitamiento, lesiones en hojas y cancro en los tallos (Henricot & Culham, 2002). Tanto en cultivo como en condiciones naturales es atacado por el insecto *Monarthropalpus buxi*, que vive en la epidermis de las hojas provocando a la planta importantes daños (Mottet & Hamm, 1970).

1.1.5. Propagación de *Buxus sempervirens* L.

Tradicionalmente en los viveros donde se comercializa esta especie se la multiplica a través de estaquillas, ya que sus semillas son de baja viabilidad o los plantines producidos a través de estas semillas presentan lentitud de desarrollo (Hartmann & Kester, 1987).

La reproducción asexual es aquella en la cual se utilizan partes vegetativas de la planta. Este tipo de propagación es posible gracias a que cada célula de la planta contiene la información genética necesaria para generar la planta entera (Hartmann & Kester, 1987; Wendling & Xavier, 2003; Alcantara *et al.*, 2008). Las mayores ventajas de este tipo de propagación en relación a la propagación por semillas es que permite perpetuar las características específicas de la planta madre, permite multiplicar especies que no producen semillas o que éstas no son viables, acortar períodos juveniles y controlar las formas de crecimiento. Además, hay razones económicas que se justifican por la superioridad y uniformidad de los clones obtenidos en relación a los obtenidos de semillas (Hartmann & Kester, 1987; Rocha *et al.*, 2004).

En plantas leñosas perennes, las estaquillas de tallo son el medio más importante de propagación; de unas cuantas plantas madres es posible iniciar nuevas plantas en un espacio limitado, en forma rápida y simple (Hartmann & Kester, 1987; Sívori *et al.*, 1986).

Dentro de las técnicas de propagación asexual, la de las estaquillas es una técnica sencilla y económica. La estaquilla es una porción separada de la planta, provista de yemas caulinares e inducida a emitir raíces; las estaquillas tanto con hojas como en reposo, son capaces de enraizar en condiciones y con tratamientos químicos adecuados (Westwood, 1982).

La propagación vegetativa en *B. sempervirens* se justificaría principalmente por el acortamiento del tiempo necesario para obtener una planta de tamaño adecuado comercialmente,

además de por la superioridad y uniformidad de los clones obtenidos (Hartmann & Kester, 1987).

Al ser el Boj una planta de hojas perennes, se recomienda su multiplicación por medio de estaquillas de tallo con hojas con más de 2 nudos, de aproximadamente 5 cm. Las estaquillas pueden ser de madera suave en primavera verano o madera semidura en otoño. A las estaquillas se les quitan las hojas de por lo menos la mitad inferior, para limitar la transpiración y evitar el riesgo de desecación y muerte (Hartmann & Kester, 1987; Cuisance, 1988).

1.2. Factores que afectan el enraizamiento

Varios factores influyen en la potencialidad de enraizamiento de las estaquillas, tanto intrínsecos como extrínsecos: factores fisiológicos, anatómicos, climáticos, nutricionales y sanitarios. La especie y variedad, condición fisiológica y edad de la planta madre, condición fisiológica de las estaquillas, época del año, tipo y concentración de fitorreguladores, condiciones ambientales durante el enraizamiento y sustrato a ser utilizado son algunos de los factores que condicionan el proceso (Westwood, 1982; Hartmann & Kester, 1987; Norberto *et al.*, 2001; Paes *et al.*, 2006; Almeida *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2009).

1.2.1 Condiciones de la planta madre

1.2.1.1. Estado general y nutricional

El estado general y nutricional (principalmente en lo que se refiere a relación C/N), además de la constitución genética de la planta madre tienen una influencia directa, no solo en la producción de estaquillas sino que también en la emisión de raíces. Un factor importante además es el contenido de agua de la planta; el material vegetal debe estar turgente ya que se reduce el enraizamiento en estaquillas que sufren carencia de agua (Hartmann & Kester, 1987; Almeida *et al.*, 2007; Souza, 2007).

1.2.1.2. Tipo de rama y características del propágulo.

El tipo de rama utilizada para realizar las estaquillas puede ser un condicionante del enraizamiento principalmente en especies donde es dificultoso este proceso. La capacidad de emitir raíces disminuye de la base a la punta de la rama (los carbohidratos generalmente se acumulan en la base de las ramas, mientras que las sustancias endógenas promotoras de crecimiento se encuentran hacia el ápice); como así también en ramas que se encuentren en floración ya que la promoción de la floración es un proceso antagónico al enraizamiento (Rivero Maldonado, 2005).

Para que tengan la máxima capacidad de regeneración, las plantas madres deben estar en crecimiento vegetativo y no haber entrado en floración (Hartmann & Kester, 1987; Barcelo Coll *et al.*, 1992; Azcón Bieto & Talón, 2000; Wendling & Xavier, 2005)

1.2.1.3. Grado de maduración.

El término maduración está estrechamente relacionado a la edad ontogénica de las plantas, haciendo referencia a las distintas etapas del crecimiento de las mismas. Los factores que podrían estar ligados a los mecanismos de maduración serían determinados por el ambiente, la nutrición y factores propios de la planta. El estrés, principalmente nutricional e hídrico estarían ligados también afectando la maduración de la planta, actuando directamente en la reducción de la tasa de enraizamiento (Higashi & Silveira, 2000).

En la fase juvenil y adulta las características anatómicas, fisiológicas y bioquímicas son distintas. De esta forma, una de las características más importantes del envejecimiento de las plantas es la pérdida de su capacidad rizogénica (Azcón Bieto & Talón, 2000; Higashi & Silveira, 2000; Almeida, 2006).

Hartmann & Kester (1987) sugieren que la edad del material a multiplicar, principalmente en especies de difícil enraizamiento, puede ser un condicionante del proceso; probablemente debido al incremento en la formación de inhibidores del enraizamiento a medida que la planta crece. Según Abedini (2005), la reducción del potencial de enraizamiento se debería a una disminución del contenido de compuestos fenólicos, los que actuarían como co-factores o

sinergistas de las auxinas. Almeida *et al* (2007) sugiere que el potencial rizogénico varía con el balance hormonal y la presencia de inhibidores que son afectados por el grado de maduración de los propágulos.

Higashi & Silveira (2000) sugieren que la edad del material a ser propagado tiene un gran efecto sobre la capacidad de propagación de las plantas y que por ello las técnicas para mantener o inducir la juvenilidad, son claves dentro de cualquier proceso de propagación vegetativa (Goulart *et al.*, 2008).

La reversión de la fase adulta a la juvenil se denomina rejuvenecimiento. Algunas de las prácticas más comunes son la poda y la micropropagación (Higashi & Silveira, 2000; Wendling & Xavier, 2005; Almeida, 2006; Ferriani *et al.*, 2006) y actualmente para propagación de forestales la aplicación de la técnica de miniestacas (Souza, 2007).

Alcantara *et al.* (2007) encontraron en ensayos con *Pinus taeda* que la edad de las plantas influye significativamente en la capacidad de enraizamiento; siendo ésta mayor al ser menor la edad de las plantas. Abedini (2005) considera que la edad de la planta o más concretamente su grado de madurez es un factor limitante del proceso de enraizamiento.

1.2.2. Fitorreguladores

La formación de raíces en la base de las estaquillas es una manifestación de crecimiento por morfogénesis (rizogénesis), regulada fundamentalmente por sustancias de tipo hormonal. La capacidad natural del enraizamiento de algunas plantas se correlaciona con un aumento de factores endógenos promotores y con una disminución progresiva del contenido de inhibidores hacia la primavera (Sivori *et al.*, 1986; Nicoloso *et al.*, 1999; Azcón – Bieto & Talón, 2000; Almeida *et al.*, 2007; Bortolini *et al.*, 2008 a; Goulart *et al.*, 2008).

Para la iniciación de raíces adventicias es favorable la acción hormonal de compuestos presentes naturalmente en las plantas. De estos, las auxinas son las hormonas que tienen mayor efecto sobre la formación de raíces en estaquillas (Sivori *et al.*, 1986, Hartmann &-Kester, 1987; Salisbury & Ross, 1994).

Las auxinas son hormonas; compuestos orgánicos producidos por cualquier tejido en activo crecimiento de las plantas y que en muy bajas concentraciones regulan procesos vegetales e inducen efectos fisiológicos definidos (Sívori *et al.*, 1986; Hartmann & Kester, 1987; Salisbury & Ross, 1994). La auxina más encontrada en las plantas es el ácido indol acético (su contenido es muy variable según la etapa de desarrollo de la planta), el que es degradado rápidamente por los tejidos vegetales (Weaver, 1976; Bortolini *et al.*, 2008 a).

El movimiento de las auxinas en las plantas es lento, preferentemente basípeto (hacia la base) aunque en las raíces es más común el movimiento hacia los ápices (Barceló Coll *et al.*, 1992; Salisbury & Ross, 1994; Azcón Bieto & Talón, 2000; Althaus *et al.*, 2007).

El enraizamiento depende además de la presencia de un cierto número de cofactores que en combinación con las auxinas permiten el enraizamiento. Estos cofactores pueden ser compuestos fenólicos y materiales nitrogenados y azúcares producidos en las hojas y de aquí la importancia de éstas en el enraizamiento (Weaver, 1976; Fochesato *et al.*, 2006; Almeida *et al.*, 2007; Althaus *et al.*, 2007; Bortolini *et al.*, 2008 a).

Según Norberto *et al.* (2001) es necesario un balance entre las sustancias promotoras e inhibitoras del proceso de rizogénesis para que éste se produzca. Una manera de promover este balance es con la aplicación externa de reguladores de crecimiento. Los reguladores de crecimiento son aquellos compuestos de síntesis que modifican procesos fisiológicos de las plantas, regulando el crecimiento imitando la acción de las hormonas; son capaces de estimular o acelerar la formación de raíces (Cuisance, 1988; Sívori *et al.*, 1986; Hartmann & Kester, 1987).

La aplicación de reguladores de crecimiento del tipo auxinas es una práctica viable y decisiva para la formación de raíces, debido a que promueve la iniciación de raíces, permite adelantar la iniciación radical, incrementar el número y la calidad de raíces, aumenta la uniformidad y reduce el tiempo para el proceso de enraizamiento (Vargas *et al.*, 1999; Ramírez Villalobos *et al.*, 2004; Oliva *et al.*, 2005b).

Para promover el enraizamiento, en forma comercial las auxinas sintéticas más utilizadas son el ácido indolbutírico (IBA) y el ácido naftalen acético (ANA) en forma de polvo fino

mezclado con talco inerte o en forma de solución diluida (Cuisance, 1988; Vargas *et al*, 1999; Azcón Bieto & Talón, 2000; Bortoloni *et al*, 2008 a).

El IBA posee poca movilidad, por lo que permite ser utilizado en una amplia gama de concentraciones sin que produzca fitotoxicidad. Se desplaza muy poco y las enzimas destructoras de auxinas lo degradan con lentitud, por lo que tiene alta persistencia una vez aplicado a las estaquillas (Weaver, 1976; Hartmann & Kester, 1987).

Doll *et al.* (2003) encontraron que tratamientos a Matico (*Buddleja globosa*) con 1000 y 2000 mg.L⁻¹ de IBA produjeron aumento del largo de las raíces. Boschini & Rodríguez (2002) encontraron que en estaquillas de mora (*Morus sp*) la aplicación de IBA incrementó en un 15% la velocidad del enraizamiento y brotación de ramas. Titon *et al.* (2003) obtuvieron los mejores índices de enraizamiento de *Eucaliptus grandis* con 1000 a 2000 mg L⁻¹ de IBA. Da Cunha *et al.* (2004) en ensayos con *Sapium glandulatum* encontraron 52% de estacas enraizadas utilizando 6000 mg L⁻¹, de IBA. Oliva *et al.* (2005a) encontraron en estaquillas tratadas con IBA mejores resultados que aquellas sin hormona (testigos).

El ANA es una auxina más móvil, por lo que su uso requiere ciertas precauciones (Sivori *et al.*, 1986). Bortolini *et al.* (2008 a) encontraron en ensayos con *Ficus benjamina* que las estacas que no recibieron tratamiento con hormonas de enraizamiento fueron las que presentaron mayores índices de mortalidad. Bitencourt , 2004, citado por Bortolini *et al.*, 2008 a) obtuvo entre 78,8% y 96,3% de enraizamiento en estaquillas de *Duranta repens* con 500 y 1000 mg.L⁻¹ de ANA, respectivamente, y 62,50% de mortalidad de estaquillas sin tratar con esta hormona. Colodi *et al.* (2008) en ensayos con *Mikania glomerata* no obtuvieron diferencias en porcentaje de enraizamiento con distintas concentraciones de ANA pero sí mayor número de raíces.

La aplicación de las auxinas se realiza en forma de solución diluida previamente en hidróxido de potasio (KOH) o alcohol, ya que difícilmente se diluyen en agua (Hill, 1977; Hartmann & Kester, 1987) o en forma de polvo mojando el extremo de las estaquillas (Cuisance, 1988).

La inmersión de las estaquillas se realiza en forma rápida (5 a 10 segundos), si se trata de soluciones con alta concentración (más de 500 mg.L⁻¹), o en forma prolongada (24 -48 horas) si se trata de soluciones con baja concentración (Weaver, 1976; Castrillón *et al.*, 2008).

1.2.3. Época del año

La estación del año en que se realizan las estaquillas puede tener una enorme influencia para obtener un buen enraizamiento. Las estaquillas presentan sistemáticas variaciones estacionales en evidente relación con los cambios del cuadro hormonal y nutricional de las ramas. Esto tiene también relación con la duración del período de luz, y es variable según la especie (Nicoloso *et al.*, 1999; Alcantara *et al.*, 2008; Bortolini *et al.*, 2008 b).

Sin embargo, Hartmann & Kester (1987) afirman que la variación en la longitud del día (que varía según la época del año), no parece explicar la variabilidad estacional del enraizamiento. A pesar de esto, afirman que las plantas de hojas perennes tienen durante el año varios períodos de crecimiento por lo que pueden obtenerse estaquillas en distintos momentos del año (Alcantara *et al.*, 2007; Bortolini *et al.*, 2008 b).

La época del año en que se realizan las estaquillas está estrechamente relacionada con la consistencia de las mismas. Para algunos autores, la influencia de la época del año en que se realizan las estaquillas puede ser atribuida a las condiciones climáticas, especialmente temperatura y disponibilidad de agua (Pinto *et al.*, 2003).

Ferriani *et al.*, (2006) sugieren que las estaciones del año influyen probablemente por el nivel endógeno de auxinas, carbohidratos y proteínas de las estacas. Duarte *et al.*, (1992) encontraron que la época del año influye significativamente en el porcentaje de estacas enraizadas de *Goiabeira serrana*. Mientras que Doll *et al.* (2003) en ensayos con Matico (*Buddleja globosa*) encontraron que la época del año no influyó en el número final de estaquillas enraizadas, aunque épocas más cálidas parecen haber acelerado el proceso teniendo una influencia directa en el porcentaje de sobrevivencia de las estaquillas.

En el trabajo de Souza *et al.* (2009) se observó que miniestacas obtenidas de una misma matriz y sometidas a los mismos tratamientos en diferentes épocas del año responden de manera

diferente en relación a la tasa de enraizamiento. Probablemente, cuando mayor es el nivel de reservas y relación carbono/nitrógeno mayor será la tasa de enraizamiento observado en las miniestacas. Según Nicoloso *et al.* (1999) estacas cosechadas en período vegetativo de intenso crecimiento (primavera y verano) poseen pocas reservas de hidratos de carbono y consistencia más herbácea, mientras que las cosechadas en otoño invierno son más lignificadas y con más reservas. Las primeras tendrían además más concentración de auxinas y menos de inhibidores mientras que las de otoño invierno serían menos susceptibles a la desecación. A su vez, la consistencia más herbácea estaría también facilitando el proceso de enraizamiento (Pivetta *et al.*, 2012).

Según Zuffellato-Ribas & Domingos Rodrigues (2001) el mejor porcentaje de enraizamiento en estacas de *Eucalyptus grandis*, en los ensayos realizados en São Paulo, Brasil, fue en invierno, donde obtuvieron un 64% de enraizamiento; mientras que en primavera fue 42% y en verano 6%.

Valmorbida *et al.* (2008) en ensayos con *Trichilla catigua* encontraron que la mejor época es la primavera, con 41,67 % de estacas enraizadas. Ferriani *et al.* (2007) en ensayos con *Mikania micrantha* encontraron en primavera, verano y otoño los mejores porcentajes de enraizamiento (superiores al 86%) que en invierno.

1.2.4. Condiciones de cría

Si bien la presencia de hojas es un fuerte estímulo para la iniciación de raíces, la pérdida de agua por transpiración puede reducir el contenido de la misma en la estaquilla, provocando su desecamiento y, en condiciones extremas, su muerte. Es por ello que para asegurar el proceso debe mantenerse la turgencia de las estaquillas y su potencial agua elevado (Hartmann & Kester, 1987; Nicoloso *et al.*, 1999).

Para la mayoría de las especies se consideran temperaturas apropiadas para el enraizamiento aquellas que se mantienen en rangos de 18°C (diurnas) y 15°C para las nocturnas. Temperaturas no adecuadas pueden provocar o estimular el desarrollo de las yemas antes que de las raíces, y de esta forma favorecer la transpiración (Cuisance, 1988).

Si bien no se conocen los requerimientos específicos del *B. sempervirens*, en cuanto a intensidad de luz para enraizamiento, Hartmann & Kester (1987) sugieren que al tratarse de especies de difícil enraizamiento las estaquillas se coloquen con niveles bajos de irradiancia (mediante el uso de media sombra). Si la intensidad de luz no es apropiada, las hojas se dañan, se retarda el enraizamiento y disminuye el crecimiento de las raíces.

Sumando a lo anteriormente expuesto, el sustrato a utilizar debe aportar a las estaquillas sostén, agua y aire según sus necesidades, además de ser lo suficientemente suelto para permitir la penetración de las raíces (Ansorena Miner, 1994; Boschini & Rodríguez, 2002; Lima *et al.*, 2006, 2008).

1.2.5. Aspectos Anatómicos

En la propagación de especies leñosas el desarrollo de raíces adventicias es un factor clave para el éxito de la propagación (Davies Junior *et al.*, 1982; Hartmann *et al.*, 2002). En los procesos de enraizamiento de estacas es necesario conocer si existen barreras mecánicas que puedan influenciar la capacidad de formar raíces. Muchas especies presentan, lindante con las capas más internas del cortex, una capa completa o discontinua de células de esclerénquima, formando un anillo (Esau, 1977; Mauseth, 1988; Evert, 2006).

Según algunos autores, el grado de esclerificación de esta capa está negativamente correlacionado con la capacidad de formar raíces (Beakbane, 1961; Esau, 1977; Davies Junior y Hartmann & Kester, 1987; Caro *et al.*, 2002). En *Camellia sinensis* L. el anillo de esclerénquima por fuera del floema no dificulta el desarrollo ni el pasaje del primordio radical adventicio en crecimiento (Koyuncu & Balta, 2004). En *Prosopis chilensis* Caro *et al.* (2002) determinaron que el enraizamiento logrado se relaciona con discontinuidades en el anillo de esclerénquima ubicado internamente al cortex radical. Souza *et al.*, (2013) y Tivano *et al.*, (2012) relacionan el enraizamiento con el grado de lignificación de miniestacas de *Prosopis alba*.

2. **HIPÓTESIS**

El uso de auxinas en distintas concentraciones, tipo de auxina y la época del año en que se realizan las estaquillas influyen en el enraizamiento de *B. sempervirens*.

3. **OBJETIVOS**

3.1. Objetivo General

- Evaluar el efecto de auxinas en el enraizamiento de estaquillas de *B. sempervirens* en distintas épocas del año.

3.2. Objetivos Específicos

- Determinar el efecto del uso de reguladores de crecimiento (auxinas) para el enraizamiento de estaquillas de *B. sempervirens*.
- Determinar el tipo y/o formulación de auxina a utilizar en la propagación vegetativa de *B. sempervirens*.
- Determinar concentraciones más apropiadas de auxinas para el enraizamiento de estaquillas de *B. sempervirens*.
- Determinar la capacidad de enraizamiento de las estaquillas de *B. sempervirens* en diferentes estaciones del año.
- Analizar la anatomía de estaquillas de *B. sempervirens* y su relación con el enraizamiento.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Condiciones ambientales locales

El ensayo se realizó en la Provincia de Corrientes; en las instalaciones de la Agencia de Extensión Rural del INTA (S 27° 29,421'; W 58° 45,627'). La zona posee clima subtropical con temperaturas medias de 21°C en verano y de 10°C en invierno; la precipitación media anual es de 1206 mm y la humedad promedio de 38, 2% (Mestres *et al.*, 2008).

4.2. Plantas madres

Para obtener las estaquillas se dispuso de un jardín clonal compuesto por diez (10) plantas madres que se mantuvieron bajo un riguroso control de cultivo con el fin de asegurar la provisión permanente de estaquillas.

Las plantas madres utilizadas provenían del campo de un productor. Tenían dos ramas principales y altura promedio de 89 cm. El cultivo de las plantas se inició tres (3) años antes de comenzar el presente ensayo con estaquillas enraizadas en perlita, que luego fueron trasplantados a macetas de 12 cm y finalmente a macetas de 3 litros para la venta (sustrato a base de cama de caballo (20%), cáscara de arroz (20%), perlita (10%) y tierra negra (40%).



Figura 2. – Plantas madres en contenedor.

Las plantas se fertilizaron semanalmente mediante la técnica de fertirriego con solución completa de 1-1-1 de NPK compuesta por urea, sulfato de potasio y fosfato monoamónico; a fin de asegurar una adecuada nutrición y por ende calidad del material para obtención de estaquillas. Se realizaron pulverizaciones quincenales con fungicida (Cercobin, Cercobin® de Basf, 100 gr./100 lts) e insecticida (Cipermetrina, Glextrin ® de Gleba, 15 a 30 cc/100 lts) ya que tanto el estado nutricional como la sanidad de la matriz influyen en el enraizamiento (Souza *et al.*, 2009).

4.3. Obtención de estaquillas

Las estaquillas se obtuvieron de las ramas de las plantas madre, realizados los cortes con tijera de podar (desinfectada con hipoclorito de sodio al 0,5%). Los cortes se realizaron a bisel en la parte inferior y superior (por encima y debajo de una yema) dejándoles una longitud aproximada de 5 cm y un diámetro promedio de 0,25 cm, usando el tercio medio del brote. A cada estaquilla se le dejaron 2 a 3 hojas y más de 2 nudos.



Figura 3. – Detalle de ramas y hojas de *B. sempervirens*.



Figura 4. – Detalle de estaquillas.

4.4. Tratamientos

Se probaron dos auxinas, IBA y ANA, en distintas concentraciones resultando en 8 (ocho) tratamientos (Cuadro 1). Cada uno de estos 8 tratamientos fueron probados en cuatro épocas del año (otoño, invierno, primavera y verano).

En el caso del IBA (Dalton®) se utilizaron 4 (cuatro) concentraciones: cero (control), 1500 mg.L⁻¹, 2500 mg.L⁻¹ y 3500 mg.L⁻¹. En el caso del ANA (Dalton®) además de estas mismas concentraciones se utilizó una hormona comercial en polvo (Nafusaku® de S.Ando & Cia. S.A.) con concentración de 4000 mg.L⁻¹.

Cuadro 1. – *Tratamientos evaluados en cada época del año.*

| Tratamiento |
|--------------------|
| Control |
| ANA 1500 |
| ANA 2500 |
| ANA 3500 |
| ANA 4000 |
| IBA 1500 |
| IBA 2500 |
| IBA 3500 |

Para preparar las soluciones de IBA y ANA se utilizó hidróxido de potasio (KOH 1 mol L⁻¹). Se disolvieron 3500 mg de auxina en 5 cc de KOH (0.5 N), luego se agregó agua destilada

hasta volumen final de 1000 cc (un litro). Para obtener las demás concentraciones se diluyeron alícuotas de ésta.

La porción basal de las estaquillas se colocó sumergida en los reguladores de crecimiento según tratamiento correspondiente, durante 10 segundos.

4.5. *Plantación de las estaquillas y condiciones de enraizamiento*

Para llevar adelante el experimento, se instaló una cámara de enraizamiento cubierta con polietileno LDT de 100 micrones y malla media sombra de 50% y a través de un sistema de nebulización intermitente (riego por microaspersión) se mantuvo la humedad relativa (HR) mayor al 80% para disminuir la transpiración de las estaquillas y promover el enraizamiento.

Para la plantación se cortaron las hojas de la base de la estaquilla, dejándoles entre 3 - 4 hojas de la parte superior. Una vez realizado el tratamiento con reguladores de crecimiento, se utilizaron macetas (de polietileno, capacidad de 200 cc) con perlita comercial (Perlome ® de Perfiltra) como sustrato. Posteriormente, se mantuvieron en la cámara con temperatura y humedad controladas.

Para proteger a los esquejes de la aparición de enfermedades se realizaron pulverizaciones con fungicida (Mancozeb; Bozal ® de Gleba, 200 gr/100 ltrs) periódicamente (cada 15 días). El control de plagas (principalmente insectos) se realizó con insecticida (Cipermetrina, Glextrin ® de Gleba, 15 a 30 cc/100 lts) también cada quince días.

4.6. *Diseño Experimental y variables a evaluar*

Los ensayos en las cuatro épocas del año se realizaron bajo un diseño completo al azar con 8 tratamientos de auxinas. Cada uno de los tratamientos fue repetido 5 (cinco) veces; cada parcela experimental tuvo 5 (cinco) plantines (estaquillas) por unidad experimental.

Las evaluaciones se realizaron a los 30, 60 y 90 días de establecido el ensayo. Se extrajeron al azar dos estaquillas por unidad experimental. En ese momento se evaluaron:

- número de raíces por estaquilla, determinado por recuento de raíces visibles mayores a 2 mm;
- longitud de raíz (cm), por medición directa con calibre de la longitud de la raíz más larga de cada estaquilla;
- número de estaquillas con raíces, calculada en base al número de plantas con raíz superior a 2 mm. Con este valor se calculó el porcentaje de enraizamiento.

Además, al finalizar el ensayo se realizó el recuento del número de estaquillas muertas; con este valor se calculó el porcentaje de estaquillas muertas por tratamiento en las distintas épocas.

Los datos fueron sometidos a un análisis conjunto de experimentos. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para comprobar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos y luego test de Tukey ($p \leq 0.05$) de comparaciones múltiples – para comparación de medias (Steel & Torrie, 1988). Para ello se empleó el Statistics Analysis Software (SAS Institute, 2004) y el programa estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al*, 2010).

Se realizó análisis de regresión, para lo cual los datos fueron transformados con $\sqrt{x + 0,5}$.

El modelo utilizado para los análisis de los datos, según Cruz & Regazzi (1994) y Ramalho *et al* (2005), fue:

$$Y_{ijk} = \mu + D_i + E_j + DE_{ij} + B/E_{jk} + \varepsilon_{ijk}$$

En que: Y_{ijk} : valor observado en la $i^{\text{ésima}}$ dosis de la $j^{\text{ésima}}$ época en la $k^{\text{ésima}}$ repetición;

μ : media general observada;

D_i : efecto de la $i^{\text{ésima}}$ dosis (efecto fijo);

E_j : efecto de la $j^{\text{ésima}}$ época (efecto fijo);

DE_{ij} : efecto de la interacción de la $i^{\text{ésima}}$ dosis con la $j^{\text{ésima}}$ época (efecto fijo);

B/E_{jk} : efecto de la $k^{\text{ésima}}$ repetición dentro de la $j^{\text{ésima}}$ época (efecto aleatorio);

ε_{ijk} : error aleatorio.

4.7. Aspectos Anatómicos

Fueron tomadas muestras de estaquillas para los estudios anatómicos previo a la inducción del enraizamiento (momento del estaqueado) y a los 15, 22, 29, 36, 43 y 50 días después de acondicionadas en cámara de enraizamiento (posteriores al estaqueado). Se tomaron muestras de 0,5 cm de la porción basal de las estaquillas. Las muestras fueron fijadas en F.A.A. (formol, alcohol etílico 96°, ácido acético en una proporción de 100, 500, 50 ml L⁻¹, respectivamente).

Las muestras fijadas en F.A.A. fueron deshidratadas en una serie creciente de graduaciones de alcohol etílico, clarificadas con xilol e incluidas en parafina-cera (Johansen, 1940; Ruzin, 1999). Luego, mediante un micrótopo rotativo se realizaron cortes transversales seriados de 12-15 µm de espesor, los que fueron coloreados con safraninafast-green y montados en bálsamo de Canadá (D'Ambrogio de Argüeso, 1986). Los cortes fueron observados y digitalizados en Microscopio óptico y de fluorescencia Leica®.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Porcentaje de estaquillas enraizadas

5.1.1. Resultados a los 30 días después de instalado el ensayo

En la primera evaluación realizada de los tratamientos (30 días después de instalado el ensayo) no se observan estaquillas con raíz, en ninguna de las épocas en que se realizaron los ensayos y con ninguno de los tratamientos evaluados, lo que demuestra que 30 días es un tiempo insuficiente para la emisión de raíces en esta especie y en estas condiciones de enraizamiento.

La ausencia de estaquillas enraizadas a los 30 días, posiblemente se deba, a la lentitud en el establecimiento de los plantines de *B. sempervirens* (Hartmann & Kester, 1987). Coincidiendo con Endres *et al.* (2007) y Althaus *et al.* (2007), los altos índices de sobrevivencia y bajos de enraizamiento en los tratamientos podrían sugerir que las estaquillas deben permanecer más tiempo para inducir el enraizamiento.

5.1.2. Resultados a los 60 días después de instalado el ensayo

En la segunda evaluación realizada (60 días después de instalado el ensayo) el mayor porcentaje de enraizamiento corresponde al tratamiento ANA 3500 – P (24%). Si bien no presentó diferencias significativas respecto a los tratamientos ANA 4000 – P (20%), ANA 4000 – V (16%), ANA 2500 – P (12%), IBA 3500 – V (8%), IBA 2500 – V (8%) y CONTROL – P (8%). Los tratamientos ANA 1500 – P, ANA 1500 – V, ANA 2500 – V, ANA 3500 – V e IBA 1500 – V presentaron un 4% de enraizamiento, sin diferenciarse significativamente de los tratamientos con 0%: ANA 1500 – I, ANA 2500 – I, ANA 3500 – I, ANA 4000 – I, CONTROL – I, IBA 1500 – I, IBA 2500 – I, IBA 3500 – I, ANA 1500 – O, ANA 2500 – O, ANA 3500 – O, ANA 4000 – O, CONTROL – O, IBA 1500 – O, IBA 2500 – O, IBA 3500 – O, IBA 1500 – P, IBA 2500 – P, IBA 3500 – P y CONTROL – V (Figura 5)

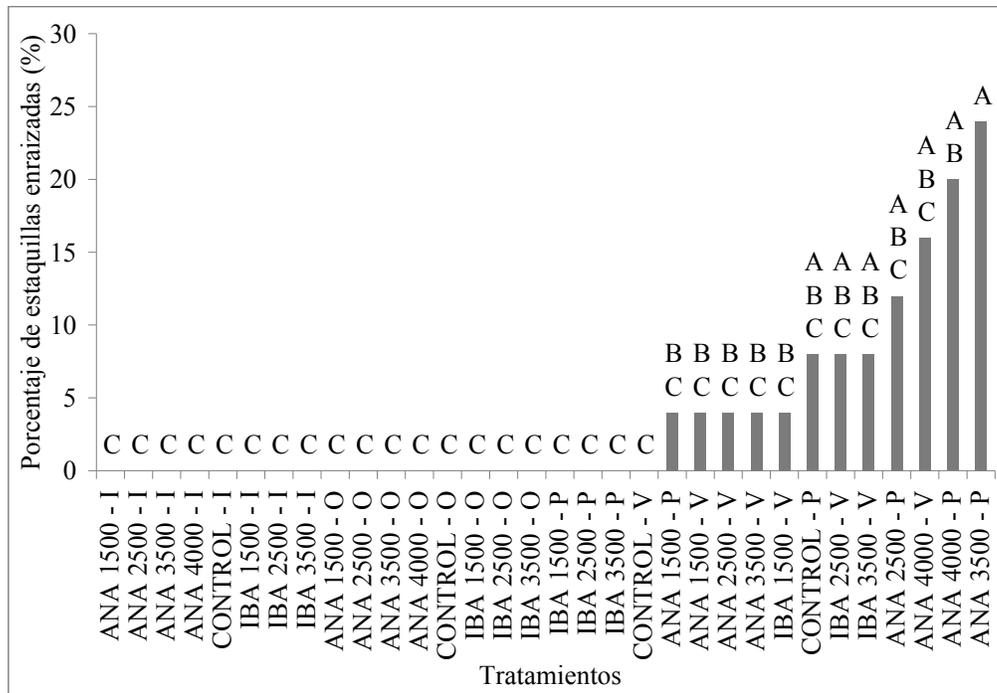


Figura 5.- Porcentaje de enraizamiento en función de los tratamientos realizados después de 60 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año (*)

(*) Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos mediante la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Ninguno de los tratamientos realizados en otoño e invierno presentan estaquillas con raíz a los 60 días. En primavera, todos los tratamientos con ANA y el control presentan raíces, no así los realizados con IBA en esta época. En verano, todos los tratamientos realizados con ANA e IBA presentan raíces excepto el control.

El modelo de regresión resultó significativo para los tratamientos realizados en primavera con ANA e IBA. Con ellos se observó un aumento en el porcentaje de enraizamiento al aumentar la concentración de hormonas (Figura 6).

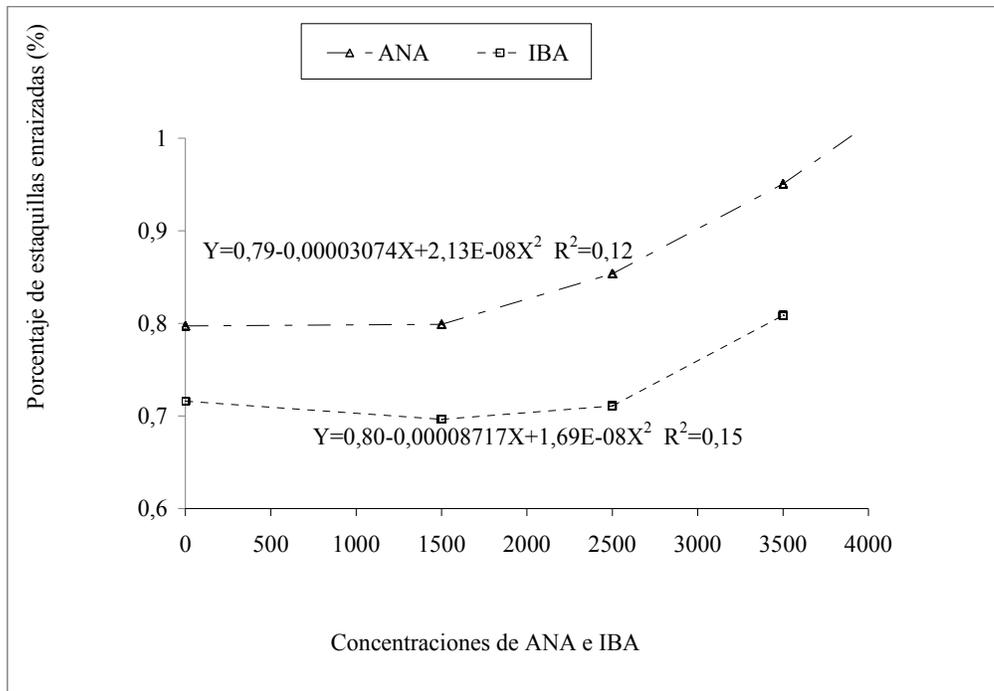


Figura 6.- Porcentaje de estaquillas enraizadas a distintas concentraciones de ANA e IBA después de 60 días de instalado el ensayo en primavera (R^2 : coeficiente de determinación)

5.1.3. Resultados a los 90 días después de instalado el ensayo

En la tercera evaluación realizada (90 días después de instalado el ensayo), los mayores porcentajes de enraizamiento corresponden a los tratamientos ANA 1500 – P y ANA 3500 – P (40%), si bien no se diferenciaron estadísticamente de los tratamientos ANA 3500 – V (16%), ANA 4000 – V (16%), IBA 3500 – V (16%), ANA 4000 – P (20%), IBA 1500 – P (20%), IBA 2500 – V (20%), IBA 2500 – P (24%), ANA 3500 – I (28%), IBA 3500 – P (28%), ANA 4000 – O (32%), CONTROL – P (32%), ANA 2500 – P (36%) (Figura 3). Los tratamientos sin estacas enraizadas ANA 1500 – I, CONTROL – I, ANA 2500 – O, CONTROL – O, IBA 1500 – O y IBA 2500 – O no se diferenciaron significativamente de los tratamientos con porcentajes de enraizamiento igual a 4% (IBA 1500 – I, IBA 2500 – I, ANA 1500 – O, ANA 1500 – V), a 8% (ANA 2500 – I, ANA 4000 – I, IBA 3500 – I, ANA 3500 – O, IBA 3500 – O, CONTROL – V, IBA 1500 – V), a 12% (ANA 2500 – V), a 16% (ANA 3500 – V, ANA 4000 – V, IBA 3500 – V), a 20% (ANA 4000 – P, IBA 1500 – P, IBA 2500 – V) ni a tratamiento IBA 2500 – P con 24% (Figura 7).

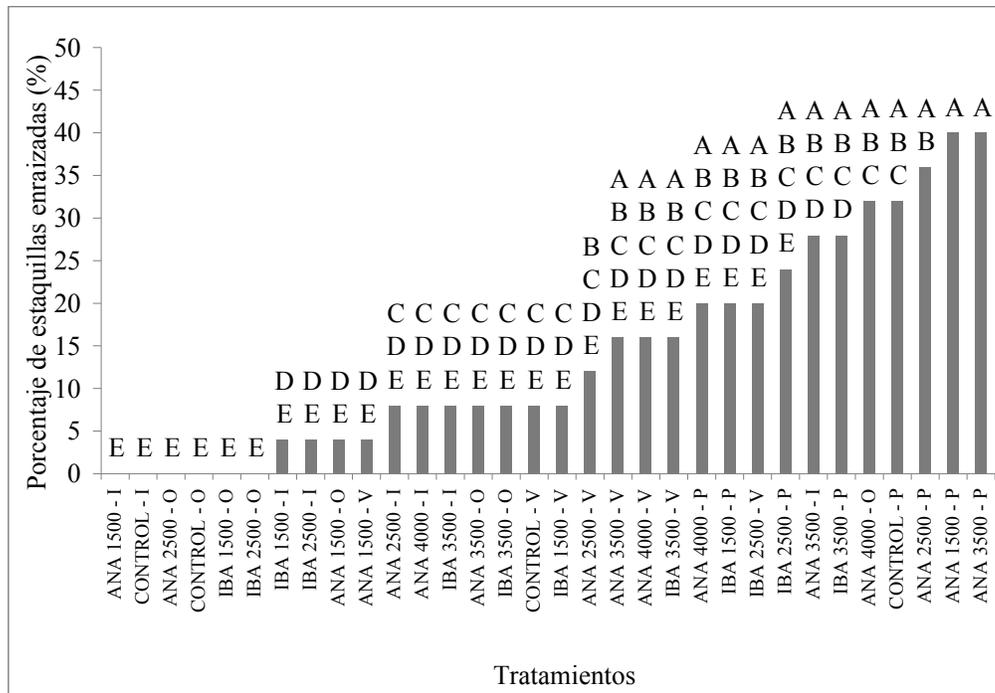


Figura 7.- Porcentaje de enraizamiento en función de los tratamientos realizados después de 90 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año (*)

(*) Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos mediante la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En otoño e invierno el tratamiento control en ambas épocas no presenta estaquillas con raíces; si bien los porcentajes de enraizamiento observados son muy bajos se destacan los tratamientos ANA 3500 – I y ANA 4000 – O con 28 y 32% de enraizamiento respectivamente.

Ninguno de los tratamientos realizados en otoño e invierno presentó estaquillas con raíces a los 60 días pero presentan raíces a los 90 días, siendo el enraizamiento más lento en estos períodos.

En primavera, todos los tratamientos realizados presentan estaquillas con raíces, si bien no presentan diferencias significativas entre ellos se destacan los tratamientos ANA 3500 y ANA 1500 con el 40% de las estaquillas enraizadas (respecto del total inicial). En verano todos los tratamientos presentan estaquillas con raíces si bien los porcentajes son mucho más bajos que en relación a primavera no superando el 20% de estaquillas enraizadas (Figura 8).

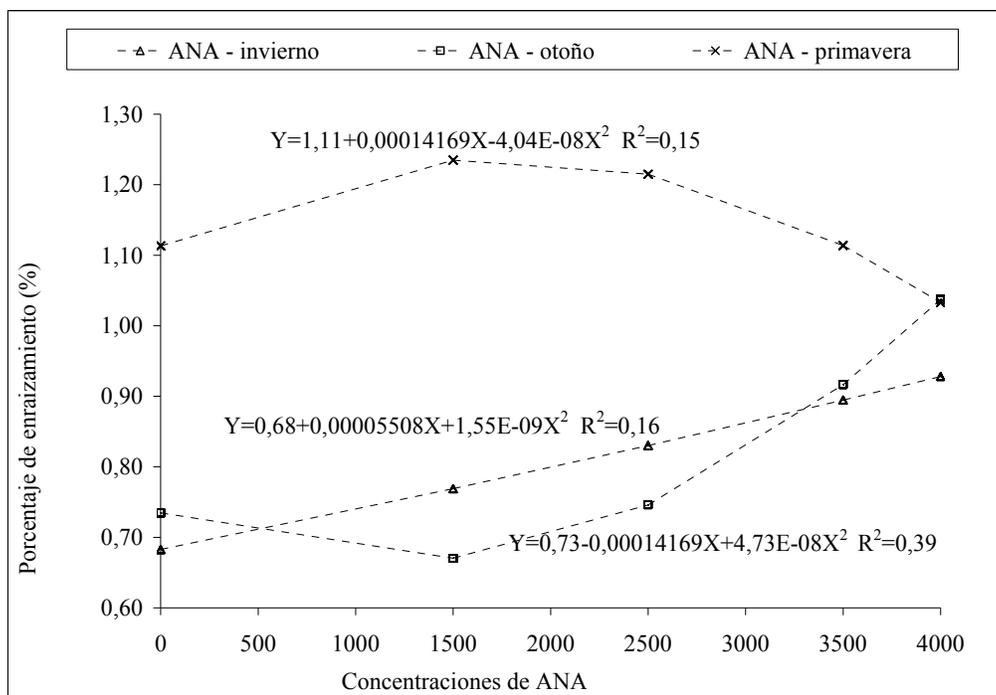


Figura 8.- Porcentaje de estaquillas enraizadas a distintas concentraciones de ANA después de 90 días de instalado el ensayo en distintas épocas del año (R^2 : coeficiente de determinación).

Se observa que los tratamientos realizados con ANA en las distintas épocas superan ampliamente a los realizados con IBA en cuanto a porcentaje de enraizamiento.

Esto es concordante con lo encontrado por Alcantara *et al.* (2010) en ensayos con *Syzygium cumini*, donde el uso de ANA provocó porcentajes de enraizamiento superiores a los encontrados por el uso de IBA.

Los resultados encontrados sugieren que la época en que se realizan las estaquillas influyen significativamente; coincidiendo con Soto *et al.* (2006) en ensayos con *Ficus benjamina*. Primavera es la época más propicia para multiplicar *B. sempervirens*; independientemente del tratamiento, esta época fue la que presentó valores óptimos de las variables evaluadas a los 30, 60 y 90 días.

Según Ferriani *et al.* (2007) en ensayos con *Mikania micrantha*, evaluando las cuatro épocas del año, en invierno obtuvo los menores porcentajes de enraizamiento mientras que en primavera los mayores (superiores al 90%). Estos datos son similares a los resultados logrados por Molina Meletti *et al.* (2007) donde en estaquillas realizadas en primavera lograron mayores

porcentajes de enraizamiento en comparación con las de verano y otoño en *Passiflora alata*. Similares resultados obtuvieron Pivetta *et al.* (2012), evaluando el comportamiento de *Nerium oleander* en verano e invierno; obtuvieron porcentajes superiores al 97% en verano mientras que en invierno no superaron el 48 y 61% según variedad.

Ferriani *et al.* (2006) afirman que las distintas estaciones del año en que se realizan las estacas influyen en el porcentaje de enraizamiento, lo que estaría relacionado al nivel endógeno de auxinas, carbohidratos y proteínas. Pacheco Pla (2007) establece que existe una relación directa entre el porcentaje de enraizamiento y el nivel de azúcares; lo que coincide con lo expresado por Souza *et al.* (2009) quienes afirman que cuanto mayores son los niveles de reservas y la relación C/N, mayores son los porcentajes de enraizamiento. Bortolini *et al.* (2008 b) sugieren que los mayores porcentajes de enraizamiento podrían deberse a que en épocas como primavera y verano la planta se encuentra en pleno crecimiento vegetativo, con emisión de hojas jóvenes que actúan como fuentes de auxinas endógenas y co-factores, favoreciendo la inducción del enraizamiento. El mayor número de estaquillas enraizadas en primavera y verano se debe a que las estaquillas son previamente expuestas a un período vegetativo de reposo (durante otoño e invierno) durante el cual se acumulan carbohidratos que favorecen la formación de raíces (Alcantara *et al.*, 2008 b). Los carbohidratos almacenados en otoño invierno se tornan disponibles en primavera y verano favoreciendo la emisión de raíces (Bortolini *et al.*, 2008b; Alcantara *et al.*, 2007); de esta forma, las estaciones con menores porcentajes de enraizamiento son las que presentan mayor contenido de azúcares totales (Bortolini *et al.*, 2008b).

Según Ferriani *et al.* (2006) el grado de lignificación, superior en otoño - invierno que en primavera - verano, interfiere en la capacidad de emisión de raíces. El contenido de carbohidratos está relacionado con la consistencia de las estaquillas, siendo mayor en primavera y verano, cuando las estaquillas son más herbáceas (Norberto *et al.*, 2001)

Soto *et al.* (2006) en ensayos con *Ficus benjamina* encontraron que si bien el contenido de azúcares solubles no tuvo mayor variación en las épocas del año, fue mayor en primavera, donde también fue mayor el porcentaje de enraizamiento. Resultados similares obtuvo Pacheco

Plá (2007) trabajando con *Olea europea* quien afirma que la propagación fue más exitosa cuando mayor era la disponibilidad de asimilados.

5.2. Porcentaje de estaquillas muertas

Los tratamientos CONTROL – I y ANA 2500 – I (Invierno) son los que presentan mayor porcentaje de estaquillas muertas (46%) al finalizar el ensayo, si bien no se diferencian significativamente de los tratamientos IBA 3500 – I (44%), ANA 1500 – I (42%), ANA 4000 – I (42%), IBA 2500 – I (42%) y ANA 3500 – I e IBA 1500 – I con 40% de estaquillas muertas. Los tratamientos que no presentaron estaquillas muertas (ANA 2500 – V, ANA 3500 – V, ANA 4000 – V, CONTROL – P, CONTROL – V, IBA 1500 – V, IBA 2500 – V, IBA 3500 – P, IBA 3500 – V) no se diferenciaron significativamente de aquellos que presentaron estaquillas muertas en bajos porcentajes: 2% (IBA 1500 – P), 4% (ANA 1500 – P, ANA 1500 – V, ANA 2500 – P, ANA 3500 – P), 10% (ANA 4000 – P, IBA 2500 – P). Los tratamientos ANA 1500 – O, ANA 2500 – O, ANA 3500 – O, ANA 4000 – O, CONTROL – O, IBA 1500 – O, IBA 2500 – O, IBA 3500 – O presentaron un 20% de estaquillas muertas (Figura 9).

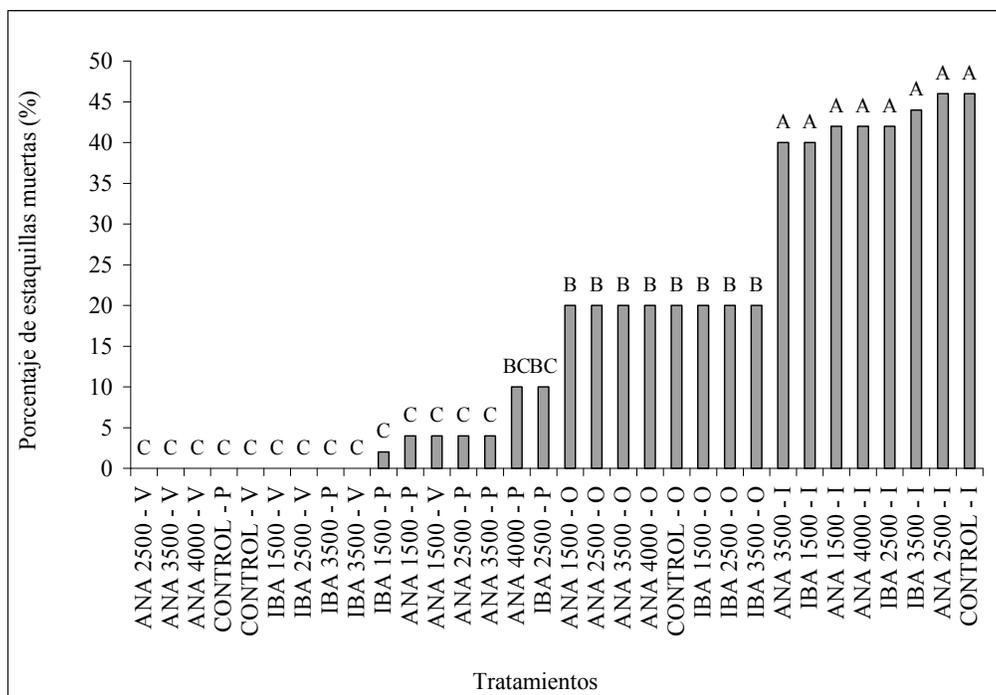


Figura 9.- Porcentaje de estaquillas muertas en función de los tratamientos realizados al finalizar el ensayo en las distintas épocas del año (*)

(*) Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos mediante la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

El recuento total de estaquillas muertas al finalizar el ensayo revela que en invierno todos los tratamientos presentaron estaquillas muertas en porcentajes de entre 40 y 46%. Esto mismo se observa en otoño pero con porcentajes de 20%. En primavera, prácticamente todos los tratamientos presentaron estaquillas muertas, pero en porcentajes considerablemente menores, del orden de 0 a 10%. Lo que es un porcentaje bajo y aceptable en la producción comercial de plantines. En verano sólo el tratamiento ANA 1500 presentó un 4% de estaquillas muertas.

Esto se asemeja a lo encontrado por Pinto *et al.* (2003) que con *Rollinia rugulosa* obtuvieron porcentajes de estacas muertas en invierno superiores al 80%. Tanto Carvalho *et al.* (2002) como Althaus *et al.* (2007) en ensayos con Azalea y Jazmín amarillo respectivamente informan una tendencia al aumento de las mortalidad de las estacas al aumentar la concentración de ANA.

Los análisis de regresión realizados, no se presentan ya que los modelos no resultaron ser significativos.

5.3. Número de raíces por estaquilla

5.3.1. Resultados a los 60 días después de instalado el ensayo

En la segunda evaluación, los tratamientos realizados en primavera son los que presentan mayor número de raíces por estaquilla, demostrando un enraizamiento más acelerado en esta época del año. Se observó el mayor número de raíces por estaquilla en el tratamiento ANA 3500 - P (3,8). El resto de los tratamientos presentó entre 0 y 1,6 raíces por estaquilla, sin diferenciarse significativamente entre sí pero sí con respecto al ANA 3500 - P. (Figura 10).

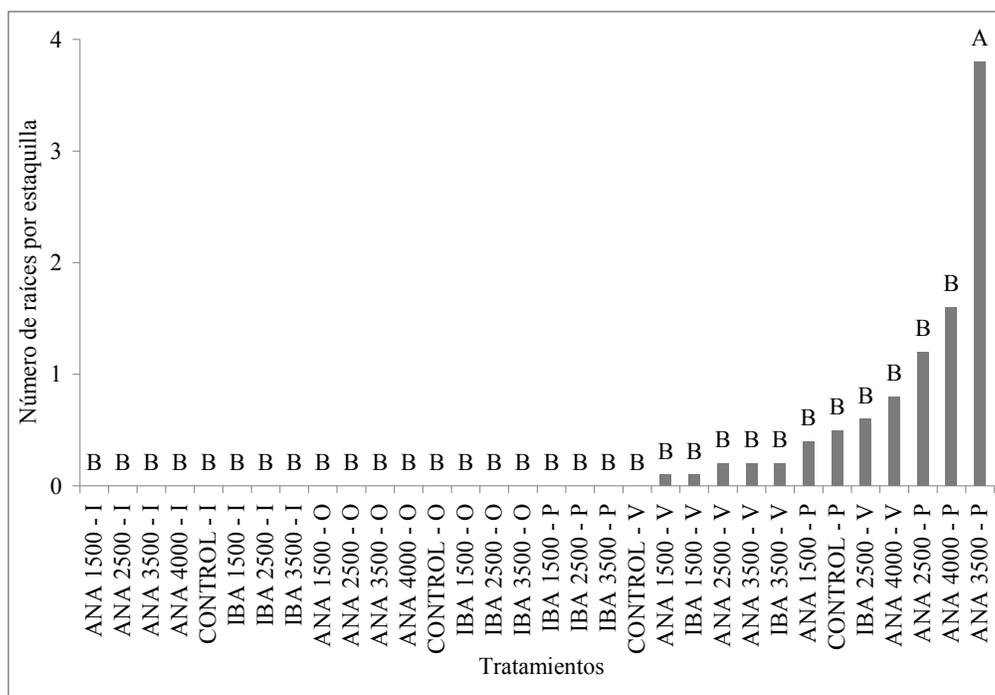


Figura 10.- Número de raíces por estaquilla en función de los tratamientos realizados después de 60 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año (*)

(*) Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos mediante la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

El modelo de regresión resultó significativo para el tratamiento realizado en primavera con ANA, si bien el R^2 fue bajo: 0,16. Se observa un aumento del número de raíces por estaca al aumentar las concentraciones de hormona de enraizamiento (Figura 11).

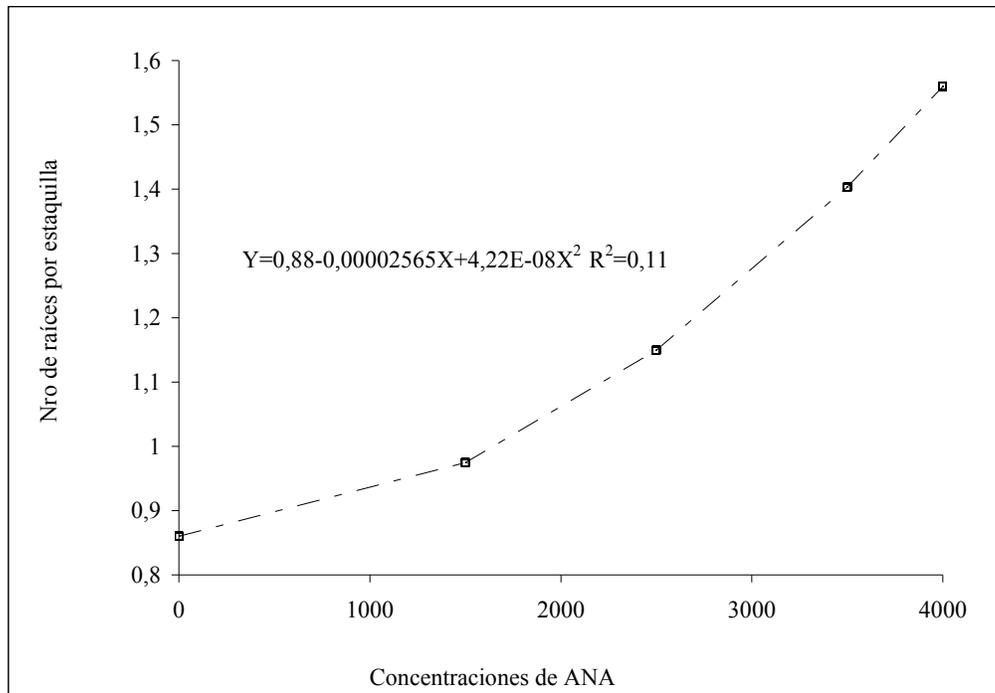


Figura 11.- Número de raíces por estacilla en función a distintas concentraciones de ANA después de 60 días de instalado el ensayo en primavera (R^2 : coeficiente de determinación).

5.3.2. Resultados a los 90 días después de instalado el ensayo

En la tercera evaluación realizada el tratamiento con mayor número de raíces por estacilla fue ANA 2500 – P, si bien no presentó diferencias significativas con los tratamientos ANA 4000 – O (4,6), ANA 1500 – P (4,2), ANA 3500 – P (4,2), ANA 3500 – I (2,9), IBA 3500 – P (2,5) ni CONTROL – P (2,3) (Figura 12).

En otoño se destaca el tratamiento ANA 4000 – O con 4,6 raíces por estacilla. En invierno los tratamientos con ANA son los que presentan mayor número de raíces por estacilla destacándose el tratamiento ANA 3500 con 2,9 raíces por estacilla. En primavera son los tratamientos con ANA los que presentan mayor número de raíces por estacilla destacándose el tratamiento ANA 2500 con 5 raíces por estacilla. En verano el número de raíces por estacilla es muy bajo en todos los tratamientos, si bien se destacan con 0,9 raíces por estacilla los tratamientos IBA 2500 e IBA 3500.

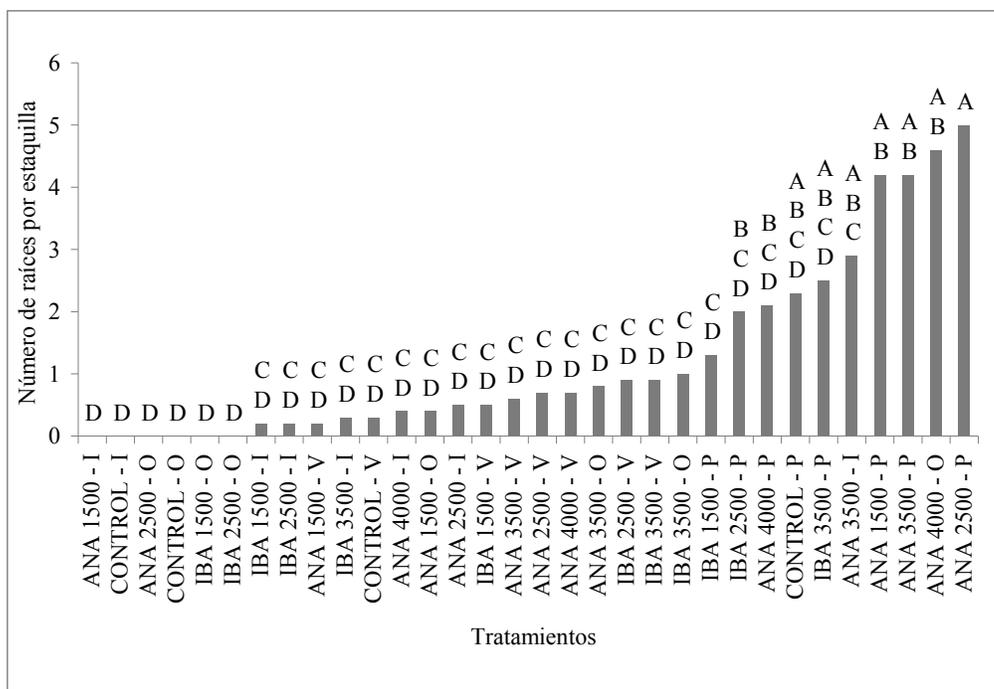


Figura 12.- Número de raíces por estaquilla en función de los tratamientos realizados después de 90 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año (*)

(*) Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos mediante la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

El mayor número de raíces por estaquilla se observa en los tratamientos realizados en primavera. Esto coincide con lo reportado por Molina Meletti *et al.* (2007) en ensayos con *Passiflora alata* y Soto *et al.* (2006) trabajando con *Ficus benjamina*. Dutra *et al.* (2002) en ensayos con *Prunus persica* también obtuvieron mayor número de raíces por estacas en primavera y verano que en invierno. Pivetta *et al.* (2012) comparando las épocas de invierno y verano, obtuvieron mayor número de raíces por estacas en verano.

Los tratamientos con ANA realizados en las distintas épocas son los que presentan mayor número de raíces en relación a los realizados con IBA.

Similar a estos resultados es lo reportado por Alcantara *et al.* (2010) en ensayos con *Syzygium cumini* quienes con concentraciones superiores a 1500 mg.L^{-1} de ANA, lograron incrementos en el número de raíces por estaca. Sin embargo, Althaus *et al.* (2007) trabajando en

Jasminum mesnyi, no encontraron diferencias significativas por el uso de ANA en concentraciones de 0 a 5000 para la variable número de raíces por estaca.

Se observó que en las épocas más frías (otoño e invierno), tanto con ANA como con IBA bajas concentraciones de auxinas no resultan en elevados número de raíces por estaquillas. En el caso de ANA utilizado en primavera aporta los mayores números hasta que el aumento en la concentración de la hormona (superior a 2500 mg.L⁻¹) es desfavorable para el aumento en el número de raíces (Figura 13).

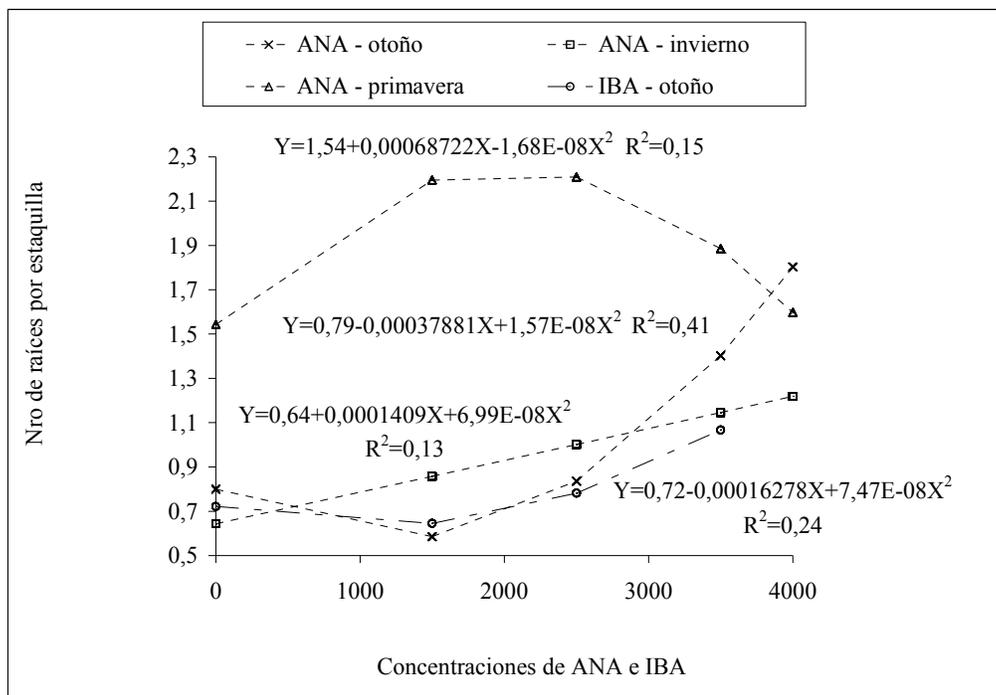


Figura 13.- Número de raíces por estaquilla a distintas concentraciones de ANA después de 90 días de instalado el ensayo en otoño, invierno, primavera (R^2 : coeficiente de determinación).

El modelo de regresión resultó significativo para los tratamientos con ANA en otoño, invierno y primavera e IBA en otoño. En ANA – primavera se observa un aumento del número de raíces por estaquilla al aumentar la concentración de ANA hasta que concentraciones superiores a 2500 resultan en una disminución en el número de raíces, eso probablemente se debe a mayores concentraciones endógenas de auxinas en primavera. En los casos de IBA –

otoño y ANA – otoño e invierno se observa un aumento en el número de raíces por estaca al aumentar la concentración de la auxina.

5.4. Longitud de raíz

5.4.1. Resultados a los 60 días después de instalado el ensayo

En la segunda evaluación realizada (60 días), la mayor longitud de raíces se encontró en el tratamiento realizado con ANA 3500 – P (2,32 cm); que no se diferenció significativamente de los tratamientos ANA 4000 – P (1,59 cm) y ANA 2500 – P (1,16 cm). El resto de los tratamientos presentan entre 0 cm y 1,59 sin diferenciarse significativamente entre sí (Figura 14).

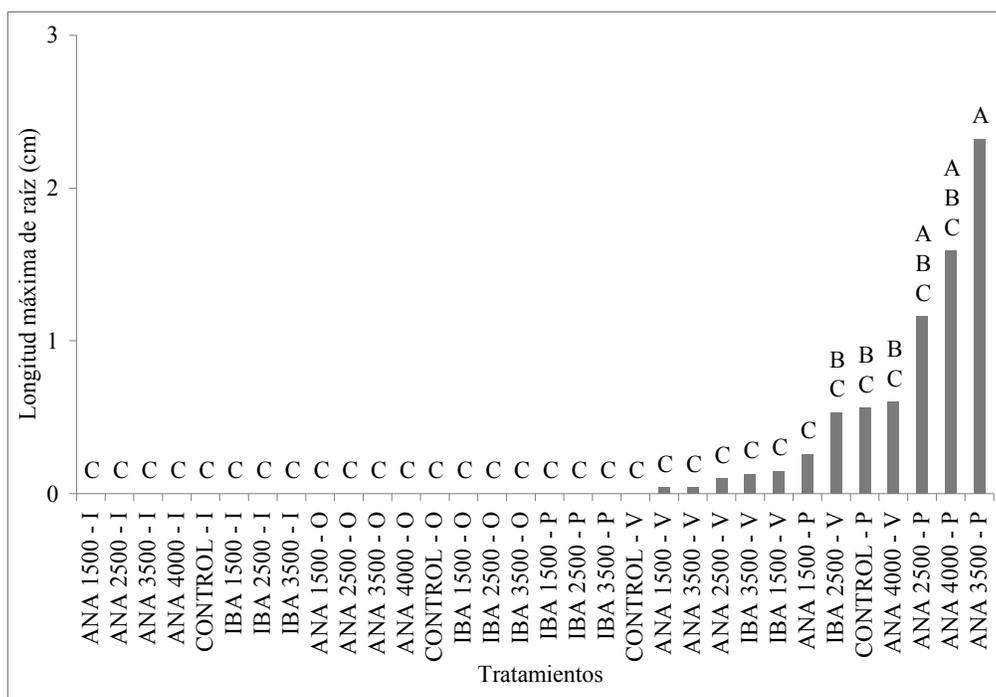


Figura 14.- Longitud de raíz en función de los tratamientos realizados después de 60 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año (*)

(*) Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos mediante la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

Se observó que en primavera el uso de ANA resulta en un aumento en el largo de raíces, al contrario de lo que pasa con el uso de IBA (Figura 15).

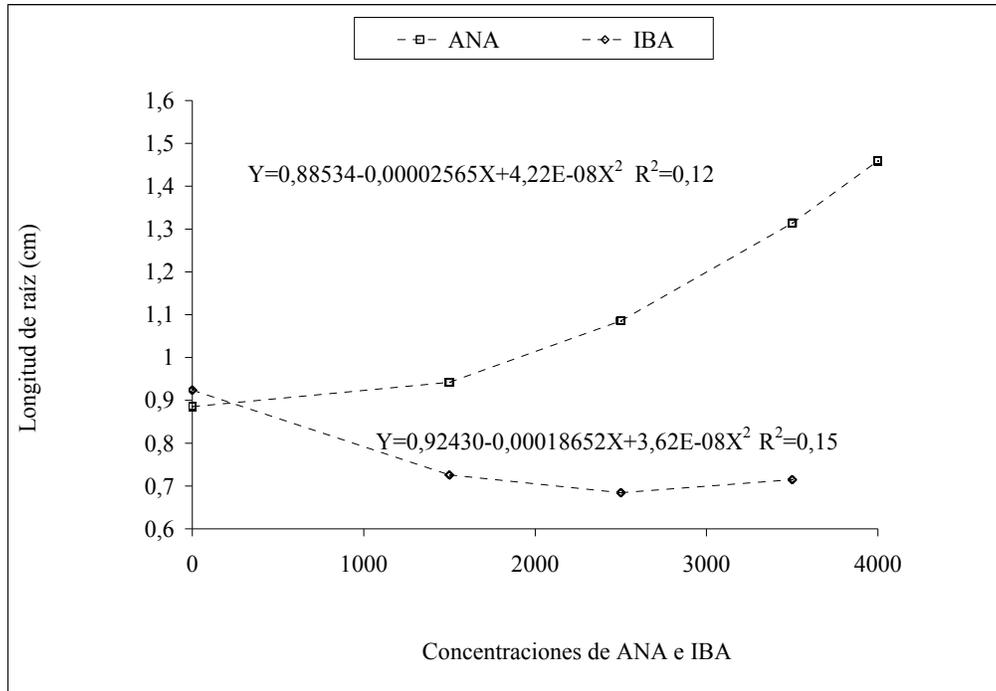


Figura 15.- Longitud de raíz en función a distintas concentraciones de ANA e IBA después de 60 días de instalado el ensayo en primavera (R^2 : coeficiente de determinación).

5.4.2. Resultados a los 90 días después de instalado el ensayo

En la tercera evaluación (90 días) el tratamiento ANA 3500 – P es el que presenta la mayor longitud de raíces con 7,47 cm; aunque sin presentar diferencias significativas con los tratamientos ANA 2500 – P (5,21 cm) y ANA 1500 – P (5,4 cm). Los tratamientos con 0 a 2,32 cm (ANA 1500 – I, CONTROL – I, ANA 2500 – O, CONTROL – O, IBA 1500 – O, IBA 2500 – O, IBA 1500 – I, ANA 1500 – V, IBA 3500 – O, CONTROL – V, IBA 2500 – I, ANA 4000 – I, IBA 1500 – V, IBA 3500 – I, ANA 3500 – O, ANA 4000 – V, ANA 1500 – O, ANA 2500 – V, IBA 3500 – V, ANA 3500 – V, ANA 2500 – I, ANA 4000 – O, IBA 1500 – P, ANA 3500 – I, IBA 2500 – P, IBA 2500 – V) no se diferencian significativamente entre sí (Figura 16).

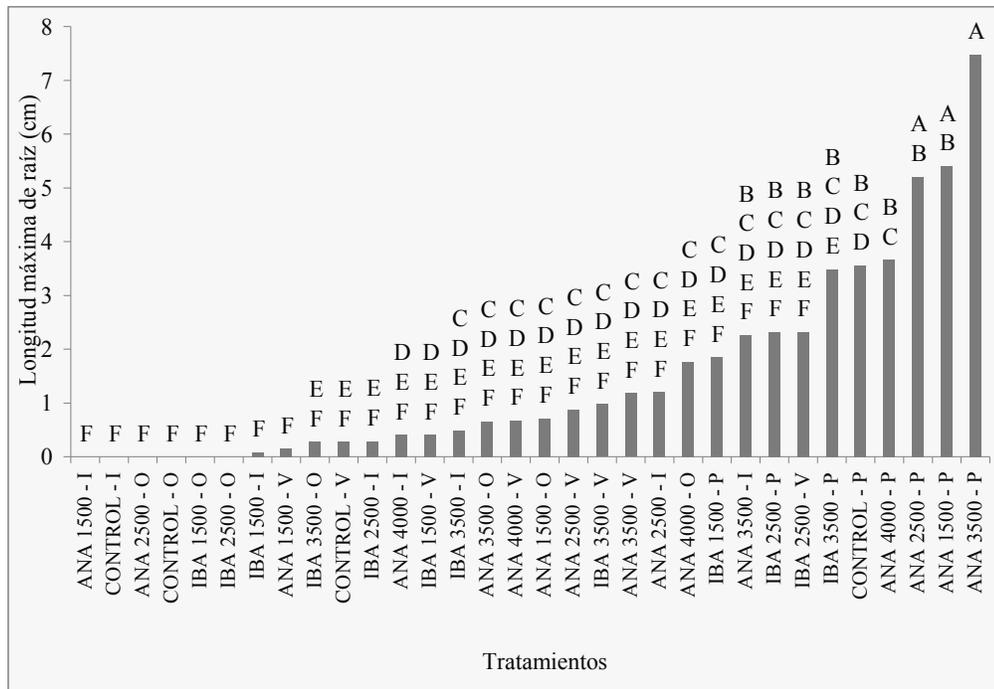


Figura 16.- Longitud de raíz en función de los tratamientos realizados después de 90 días de instalado el ensayo en las distintas épocas del año (*)

(*) Letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos mediante la Prueba de Tukey ($p \leq 0,05$).

En otoño e invierno la longitud de raíces es baja, destacándose los tratamientos ANA 3500 con 2,26 cm y ANA 4000 con 1,77 cm, respectivamente. En verano el largo de raíz también es muy bajo aunque se destacan los tratamientos ANA 3500 con 1,18 cm e IBA 2500 con 2,32 cm. En primavera el largo de raíces supera ampliamente a las otras épocas; con ANA se destaca el tratamiento con 3500 mg.L^{-1} (7,47 cm) y con IBA el tratamiento con 3500 mg.L^{-1} (3,49 cm).

El uso de ANA e IBA en otoño e invierno resulta en un aumento gradual en el la longitud de raíces al aumentar la concentración de hormonas (Figura 17).

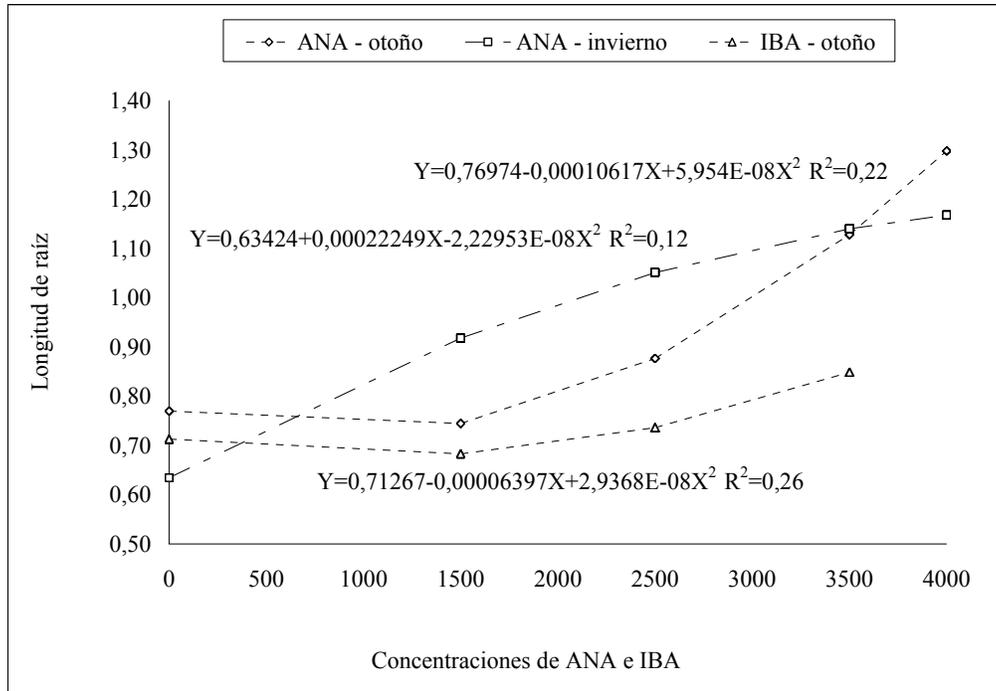


Figura 17.- Longitud de raíz en función a distintas concentraciones de ANA e IBA después de 90 días de instalado el ensayo en otoño e invierno (R^2 : coeficiente de determinación).

Se observan la mayor longitud de raíz en los tratamientos realizados en primavera. Esto es similar a lo encontrado por Molina Meletti *et al.* (2007) en *Passiflora alata*. Pivetta *et al.* (2012) encontraron que en verano –comparado con invierno – el largo de raíz es significativamente superior.

Según Bortolini *et al.* (2008 a) el uso de ANA en concentraciones de 500 a 1000 mg.L^{-1} aumenta la longitud de raíz en estacas de *Ficus benjamina*, si bien dicha concentración no tuvo efecto sobre el número de raíces y la cantidad de estacas muertas.

Algunos autores informan falta de respuesta al uso de auxinas por parte de algunas especies como *Maytenus* que no responde a la aplicación de ANA e IBA (Lima *et al.*, 2008) o el caso de *Abelia x grandiflora* que es una especie de fácil enraizamiento y no requiere del uso de reguladores (Paes *et al.*, 2006). Por otro lado, Alcantara *et al.* (2010) en *Syzygium cumini*, encontraron que con el uso de concentraciones superiores a 1000 mg.L^{-1} de ANA e IBA provocaron disminución en el porcentaje de enraizamiento. Valmorbidia *et al.* (2008) en ensayos

con *Trichilia catigua* afirman que tanto ANA como IBA no influyen en largo y número de raíces por estaca.

Sin embargo, Endres *et al.* (2007) encontraron los mayores porcentajes de enraizamiento de *Caesalpinia echinata* con el uso de IBA y ANA en concentraciones de 2500 mg.L⁻¹. Cuando las estaquillas de *Myrciaria dubia*, carecen de tratamiento hormonal, la formación de raíces es significativamente menor (Oliva, 2005a). Ruiz Solsol & Mesén (2010) lograron porcentajes de enraizamiento de *Plukenetia volubilis* superiores al 90% con concentraciones de IBA de entre 1000 y 2000 mg.L⁻¹. Pérez *et al.* (2011) recomiendan concentraciones de entre 1000 y 2000 mg.L⁻¹ de ANA para *Callistemon speciosus*.

El uso de IBA no parece tener un efecto significativo en ninguno de los parámetros evaluados. Esto es similar a lo registrado por Salas *et al.* (2012) quienes no encontraron diferencias significativas en el uso de concentraciones de entre 0 y 20.000 mg.L⁻¹. Banko *et al.* (1986) utilizando concentraciones de 4000 mg.L⁻¹ no registraron diferencias significativas en su uso sobre largo y número de raíces, aunque sí en porcentaje de enraizamiento al cabo de 28 semanas (87,2%). Almeida *et al.* (2008) y Carvalho *et al.* (2002) en *Syzygium malacense* y *Rhododendron x simsii* respectivamente tampoco encontraron diferencias en cuanto a porcentaje de enraizamiento, número y longitud de raíces y sobrevivencia con el uso de IBA. Por otro lado, diversos autores no encontraron efecto del IBA sobre el largo de raíces (Santelices & Cabello, 2006; Bona *et al.*, 2010).

Alcantara *et al.* (2008 b) en ensayos con *Pinus taeda L.*, observaron que el uso de IBA en cualquier época del año reduce el porcentaje de enraizamiento, tal como se registrara en esta experiencia, pero con una especie arbustiva. Similares resultados observaron Mindello Neto *et al.* (2004) quienes registraron que con el aumento de la concentración de IBA, se produjo una disminución del porcentaje de enraizamiento de estacas de *Prunus persica*. Esto también coincide con lo encontrado por Soto *et al.* (2006) en trabajos con *Ficus benjamina*, quienes además observaron una disminución del número de raíces por estaquilla. Al aumentar la concentración de IBA aumentaría la mortalidad de las estaquillas (Alcantara *et al.*, 2008; Martins *et al.*, 2001). Estos últimos autores en ensayos con *Syzygium malacensis* encontraron

que el uso de IBA influyó negativamente ya que al aumentar la concentración disminuyó la sobrevivencia de las estacas. También han sido documentados efectos por fitotoxicidad por concentraciones altas de IBA en *Syzygium cumini* (Alcantara *et al.*, 2010) y en *Eucalyptus grandis x Eucalyptus urophylla* con concentraciones superiores a 2000 mg.L⁻¹ (Goulart *et al.*, 2008).

Sin embargo, en ensayos con *Nothofagus glauca* el uso de IBA influyó positivamente sobre el porcentaje de enraizamiento y cantidad de raíces (Santelices & Cabello, 2001). Estos mismos resultados fueron obtenidos por Dutra *et al.* (2002) con *Prunus persica* y Bona *et al.* (2010) con *Lavándula dentata*. Autores como Doll *et al.* (2003) encontraron que con la aplicación de hormona de enraizamiento (IBA) se logró aumentar el éxito de enraizamiento, obteniéndose los mejores resultados con aplicaciones de 1000 y 2000 mg.L⁻¹ de IBA.

Ramos Gavilanez *et al.* (2006) obtuvieron con la combinación de 1000 mg.L⁻¹ de IBA + 1000 mg.L⁻¹ de ANA los mejores resultados para la mayor longitud de raíces, número de brotes, mayor longitud de brotes, y supervivencia. Resultados similares obtuvieron Vinaykumar *et al.* (2008) con *Thunbergia grandiflora* y concentraciones de 2000 mg.L⁻¹ de ANA e IBA combinados.

De lo expuesto anteriormente se destacan como mejor época para multiplicar *B. sempervirens* la primavera. El uso de ANA, comparado con IBA, en esta época aporta los mejores resultados en el enraizamiento. Se observa un aumento del porcentaje de enraizamiento, número y longitud de raíces al aumentar la concentración de ANA hasta un punto a partir del cual un aumento en la concentración de la hormona tiene efectos negativos en las variables evaluadas.

La concentración de 3500 mg.L⁻¹ fue la óptima en todas las variables analizadas; con esta concentración se obtuvo mayor porcentaje de estaquillas enraizadas, mayor longitud y número de raíces, además se aceleró y uniformizó el enraizamiento.

Con el tratamiento ANA con 3500 mg.L⁻¹ realizado en esta época se obtuvo tanto a los 60 como a los 90 días los mayores porcentajes de enraizamiento (24 y 40% respectivamente); esto acompañado de los mayores valores de longitud de raíz tanto a los 60 días (2,32 cm) como a los

90 días (7,47 cm) y el mayor número de raíces por estaquilla a los 60 días (3,8 raíces por estaquilla).

A los 90 días presentaron un alto número de raíces por estaquilla (4,2 raíces por estaquilla), que si bien no es el mayor valor no se diferencia estadísticamente del tratamiento que lo precede (ANA 2500 – P con 5 raíces por estaquilla).

En cuanto a porcentaje de estaquillas muertas, se observa un 4% de estaquillas muertas; valor que se considera totalmente aceptable y que no se diferencia significativamente de los tratamientos que no presentan estaquillas muertas.

Con los datos obtenidos en este trabajo la utilización de auxina ANA en la fórmula de producto concentrado en la concentración de 3500 mg.L^{-1} en primavera se obtendría un alto porcentaje de estaquillas enraizadas y mayor número y longitudes de raíces a los 60 días (menor tiempo) para la producción de plantas de Boj. Esto difiere de lo informado por Hartmann & Kester (1987) quienes afirman que el enraizamiento de esta especie es muy desperejo a lo largo de un período prolongado que va de los seis a ocho meses y lo reportado por Banko et al (1986) quienes obtuvieron buenos resultados con la utilización de IBA.

Con el tratamiento ANA 3500 realizado en primavera no sólo se acelera el enraizamiento sino que este es más uniforme. Esto permitiría en condiciones de producción adelantar la salida de las estaquillas del vivero y entrada a producción. Esto podría verse reflejado en una reducción de costos de producción por disminuir el tiempo de permanencia de las estaquillas en vivero con todos los cuidados que requieren.

En base a los datos obtenidos se sugiere que se deben evaluar concentraciones más elevadas de auxinas para propagaciones a realizarse en otoño, invierno y verano; así como mayores concentraciones de IBA en primavera. Se propone también que se evalúe la técnica de miniestacas para la propagación de Boj, sometiendo las plantas madres a un manejo que promueva el rejuvenecimiento y etiolación del material a ser propagado; además comparar los datos con los obtenidos en este trabajo para evaluar cuál sería la mejor técnica a aplicar para la propagación de esta especie para la región.

En este trabajo se logró un tiempo de enraizamiento menor al citado en bibliografías anteriores (Hartmann & Kester, 1987). Se obtuvieron enraizamiento en 2 e 3 meses cuando en otros trabajos como de Hartmann & Kester (1987) citan de 6 a 8 meses. Eso posiblemente fue obtenido debido a la edad de las plantas madres (plantas propagadas a través de estaqueado convencional con 2 años en el momento de ensayo – técnica de rejuvenecimiento) y debido a las condiciones de poda (técnica de rejuvenecimiento) de esta planta que permitían una producción de brotes en la base de la planta que posee una mayor gradiente de juvenilidad (Alfenas *et al.*, 2009).

5.5 Aspectos anatómicos

En los cortes transversales de estaquillas de *B. sempervirens* se observó una epidermis uniestratificada de gruesa cutícula, grupos de células de colénquima subepidérmico, clorénquima cortical, floema secundario, cambium vascular, xilema secundario, xilema primario y médula.

En las costillas típicas del tallo además de colénquima se presentó un grupo de esclereidas por costilla. Las células del parénquima radial del floema secundario presentaban drusas de oxalato de calcio.

Al analizar la secuencia de cortes transversales de estaquillas previas al enraizamiento (Figura 18) y a los 15, 22, 29, 36, 43 y 50 días posteriores al estaqueado (Figura 19 y 20) no se observan cambios asociados a una mayor lignificación de los tejidos. Tampoco se observa un anillo de esclerénquima por fuera del floema secundario que pudiera estar dificultando el avance de las raíces adventicias como se observan en otras especies leñosas (Metcalfé, 1957; Caro *et al.*, 2002; Evert, 2006; Tivano *et al.*, 2011). Por fuera del floema secundario se observa una capa de 2-3 hileras de células de menor tamaño que el parénquima cortical, de paredes algo más engrosadas pero no lignificadas.

Subepidérmicamente, separadas de la epidermis por 2-3 capas de células de parénquima cortical se observan células que están experimentando divisiones periclinales para convertirse

en el felógeno generados de la peridermis, típico de especies leñosas de Dicotiledóneas (Metcalfe, 1957; Esau, 1977; Evert, 2006).

No se observan modificaciones asociadas al inicio de raíces adventicias ni primordios de raíces en los cortes de las estaquillas analizadas.

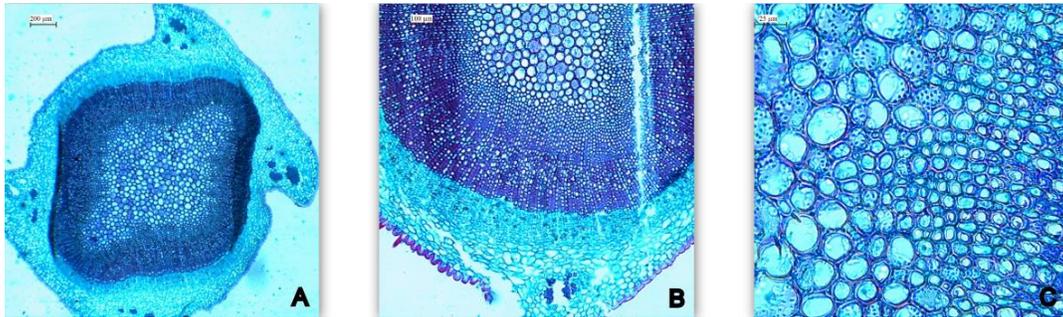


Figura 18.- Cortes transversales de estaquillas de *B. sempervirens* en el momento del estaqueado - previo a la inducción al enraizamiento (Aumentos 4X, 10X y 40X respectivamente)

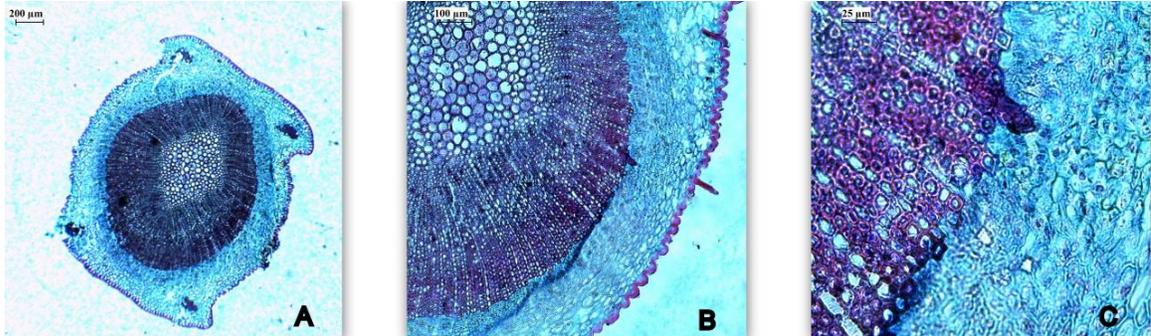


Figura 19.- Cortes transversales de estaquillas de *B. sempervirens* 50 días posteriores al estaqueado.(Aumentos 4X, 10X y 40X respectivamente)

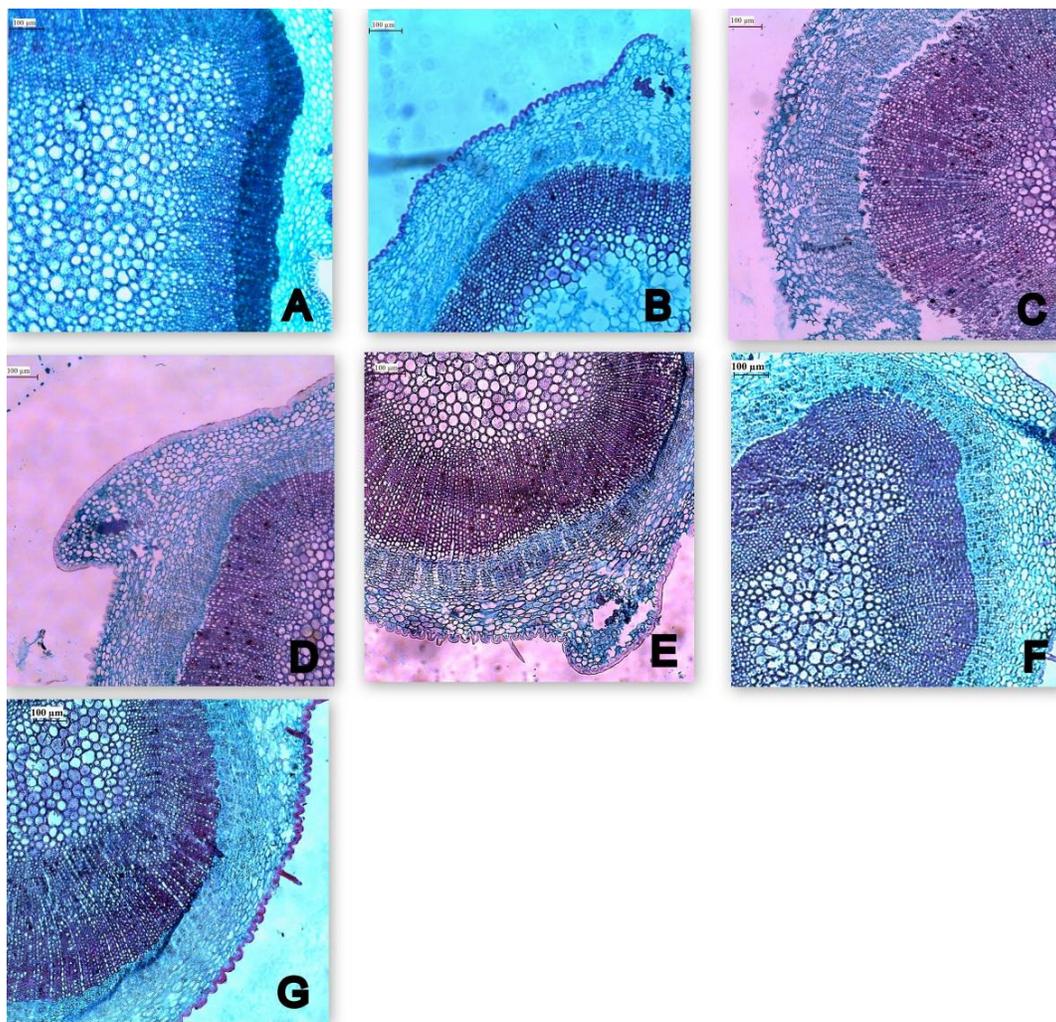


Figura 20.- Cortes transversales de estaquillas de *B. sempervirens*, en siete distintos tiempos de enraizamiento. A: Momento del estaqueado. B: 15 días posteriores al estaqueado. C: 22 días posteriores al estaqueado. D: 29 días posteriores al estaqueado. E: 36 días posteriores al estaqueado. F: 43 días posteriores al estaqueado. G: 50 días posteriores al estaqueado.

(Aumentos 10X)

6. CONCLUSIONES

Para las condiciones en que este ensayo fue realizado la época más propicia para multiplicar *B. sempervirens* por medio de estaquillas es la primavera.

El uso de IBA en las concentraciones utilizadas no tiene efectos significativos en el enraizamiento de esta especie en ninguna de las épocas en que fue probado.

La concentración de 3500 mg.L⁻¹ de ANA es la más adecuada para obtener mayores porcentajes de estaquillas enraizadas, mayor número de raíces por estaquilla y mayor longitud total de las mismas, permitiendo adelantar la obtención de estaquillas enraizadas en menor tiempo en el vivero.

La utilización de ANA en la concentración de 3500 mg.L⁻¹ acelera el desarrollo y mejora la uniformidad de los plantines en el enraizamiento.

A través de la técnica y condiciones utilizadas en este trabajo se logró un tiempo de enraizamiento menor al citado para enraizamiento de esta especie.

Para trabajos futuros se recomienda evaluar enraizamiento de *B. sempervirens* a través de la técnica de miniestacas, utilizando plantas madres acondicionadas según metodología descrita por Souza *et. Al* (2009). Esto permitiría obtener mejores tasas y velocidad de enraizamiento en las distintas épocas.

Sería de interés a su vez la evaluación de enzimas peroxidadas para determinar cuando se da la inducción del enraizamiento y a partir de esto tener mayor información sobre la rizogénesis.

7. **BIBLIOGRAFÍA**

- Abedini, W. 2005. Propagación vegetativa de *Parkinsonia aculeata* L. por estaquillado. Revista de Ciencias Forestales Quebracho, 12: 23 – 33.
- Alcantara, G.; Oliveira, Y; Lima, M., L.; Pinto, F.; Biasi, L. 2010. Efeito dos ácidos naftaleno acético e indolbutírico no enraizamento de estacas de jambolão (*Syzygium cumini*). Rev. Bras. Pl. med., 12: 317-321.
- Alcantara, G.; Ribas, L.; Higa, A.; Zuffellato Ribas, K.; Koehler, H. 2007. Efeito da idade da muda e da estação do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. Rev. Árv., Viçosa-MG, 3: 399 – 404.
- Alcantara, G.; Ribas, L.; Higa, A.; Zuffellato Ribas, K.; Koehler, H. 2008. Efeitos do ácido indolilbutírico (AIB) e da coleta de brotações em diferentes estações do ano no enraizamento de miniestacas de *Pinus taeda* L. Sci. For., Piracicaba, 78: 151-156.
- Almeida, E.; Scalopi, E.; Jesus, N.; Martins, A. 2008. Propagação de jambeiro vermelho (*Syzygium malaccense* L.) por estaquia de ramos herbáceos. Biosci. J., Uberlândia, 1: 39-45.
- Almeida, F. 2006. Propagação vegetativa de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. por estaquia e miniestaquia. Rev. Árv., 3: 445 – 453.
- Almeida, F.; Xavier, A.; Moreira Dias, J.; Nogueira Paiva, H. 2007. Eficiência das auxinas (AIB e ANA) no enraizamento de miniestaquillas de clones de *Eucalyptus cloeziana* F. Muell. Rev. Árv., 3: 455 – 463.
- Althaus, M.; Leal, L.; Silveira, F.; Zuffellato-Ribas, K.; Fortes Ribas, L. 2007. Influência do ácido naftaleno acético e dois tipos de substrato no enraizamento de estacas de jasmim-amarelo. Rev. Ciên. Agron., 3: 322-326.
- Ansorena Miner, J. 1994. Sustratos: Propiedades y caracterización. Editorial Mundi Prensa, España. Pp 172.
- Azcón Bieto, J.& Talón, M. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal. Editorial Mcgraw – Hill, España. Pp. 651.

- Banko, T.; Stefani, M. J. 1986. Effects of Wounding, IBA and Basal Trimming on Rooting of Boxwood Cuttings. *Journal of Environmental Horticulture* ; 4(3):72-73.
- Barcelo Coll, J.; Rodrigo, G.; Sabater García, B.; Sánchez Tamés, R. 1992. Fisiología vegetal. Ed. Pirámide, España. Pp. 823.
- Beakbane, A. B. 1961. Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. *Nature*, v. 192, p. 954-955.
- Bona, C.; Biasi, L.; Lipski, B.; Masetto, M.; Deschamps, C. 2010. Adventitious rooting of auxin treated *Lavándula dentata* cuttings. *Ciência Rural*, 40: 1210-1213.
- Borges, S. R.; Xavier, A.; Oliveira, L. S. de; Melo, L. A. de; Rosado, A. M., 2011. Enraizamento de miniestacas de clones híbridos de *Eucalyptus globulus*. *Revista Árvore*, v. 35, n. 3, p. 425-434.
- Bortolini, M.; Lima, D.; Alcantara, G.; Fanti, G.; Biasi, L.; Quoirin, M.; Koehler, H.; Zuffellato-Ribas, K.C. 2008 a. Enraizamento de estacas de *Ficus benjamina* L. *Scientia Agraria*, Curitiba, 4: 539-543.
- Bortolini, M.; Zuffellato-Ribas, K.; Koehler, H.; Carpanezi, A.; Deschamps, C.; Oliveira, M.; Bona, C.; Mayer, J. 2008 b. *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn.: Enraizamento, anatomia e análises bioquímicas nas quatro estações do ano. *Ciência Florestal*, Santa Maria, 2: 159-171.
- Boschini, C.& Rodríguez, A. 2002. Inducción del crecimiento en estaquillas de morera (*Morus alba*), con ácido indol butírico (AIB). Facultad de Agronomía. Universidad de Costa Rica. *Agronomía mesoamericana*, 13: 19-24.
- Brickell, C. 1992. Enciclopedia de Plantas y Flores. Editorial Grijalbo, España. Pp. 608.
- Cabral de Ferber, E. (2009) Guía de Consultas Botánica II. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE) [online] Disponible en <http://www.biologia.edu.ar/>. Acceso 10 de marzo 2009.

- Caro, L. A.; Polci, P. A.; Lindström, L. I.; Echenique, C. V.; Hernández, L. F. 2002. Micropropagation of *Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz from young and mature plants. *Biocell*, v. 26, p. 25-33.
- Carvalho, D.; Silva, L.; Zuffellato-Ribas, K. 2002. Indução de raízes em estacas semilenhosas de Azaléia através da aplicação de ácido naftaleno-acético em solução. *Scientia Agraria*, 3: 97-101.
- Castrillón, J.; Carvajal, E.; Ligarreto, G.; Magnitskiy, S. 2008. El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estaquillas de agraz (*Vaccinium meridionale Swartz*) en diferentes sustratos. *Agronomía Colombiana*, 1: 16 – 22.
- Colodi, F.G.; Ramos, N.; Zuffellato-Ribas, K.; Ribas, L.; Koehler, H. 2008. Propagação vegetativa de Guaco com adição de ácido naftalenoacético. *Scientia*, 1: 95-98.
- Cuisance, P. 1988. La multiplicación de las plantas y el vivero. Editorial Mundi Prensa. Pp. 165.
- D'Ambrogio de Argüeso, A. 1986. Manual de técnicas en histología vegetal. Facultad de Agronomía. U.B.A. Ed. Hemisferio Sur. 83 p.
- Da Cunha, A.C.; Wendling, I.; Souza Júnior, L. 2004. Influência da Concentração do Regulador de Crescimento para Enraizamento AIB na Formação de Mudas de *Sapium glandulatum* (Vell.) Pax por Estaquia. *Bol. Pesq. Fl., Colombo*, 49: 17- 29.
- Davies Junior, F. T.; Hartmann, H. T. 1988. The physiological basis of adventitious root formation. *Acta Horticulturae*, v. 227, p. 113-120.
- Di Rienzo, J.A., F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Cuadro, Robledo, C.W. 2010. InfoStat. Release 2010. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Doll, U.; Vogel, H.; Jeldres, P.; Muñoz, M. 2003. Estudios de propagación vegetativa en Matico (*Buddleja globosa*). Universidad de Talca, Chile. *Revista Ciencia e Investigación Agraria*, 30: 211 – 216.
- Duarte, O.; Fachinello, J.; dos Santos Filho, B. 1992. Multiplicação da *Goiabeira serrana* através de estacas semilenhosas. *Pesq. Agropec. Bras., Brasília*, 27: 513-516.

- Dutra, L.; Kersten, E.; Fachinello, J. 2002. Época de coleta, ácido indolbutírico e triptofano no enraizamento de estacas de pessegueiro. *Scientia agrícola*, 59: 327-333.
- Endres, L.; Guimarães Marroquim, P.; Moura dos Santos, C.; Ferreira de Souza, N. 2007. Enraizamento de estacas de Pau-Brasil (*Caesalpinia echinata Lam.*) tratadas com ácido indol butírico e ácido naftaleno acético. *Cienc. Rural*, 37: 886 – 889.
- Esau, K. 1977. *Anatomy of seed plants*. 2nd. ed. New York: John Wiley & Sons. 576 p.
- Esteban, L. 2004. *La madera y su anatomía: Anomalías y defectos, estructura microscópica de coníferas y frondosas, identificación de maderas, descripción de especies y pared celular*. Editorial Mundi-Prensa. Pp. 327.
- Evert, R. F. 2006. *Esau's Plant Anatomy*. Wiley-Interscience. New Jersey. 601 p.
- Fernández Nava, R. 1994. *Flora del bajío y de regiones adyacentes Fascículo 27*. 1994. México, D.F. Pp 6.
- Ferriani, A.; Bortolini, M.; Zuffellato-Ribas, K.C.; Koehler, H. 2006. Propagação vegetativa de estaquia de Azaléia arbórea (*Rhododendron Thomsonii HOOK. f.*). *Semina: Ciências Agrárias*, 1: 35-42.
- Ferriani, A.P.; Borges, M.V.; Zuffellato-Ribas, K.C.; Carpanezi, A.A.; Koehler, H.S. 2007. Influência da época do ano e das diferentes formas de aplicação de ácido naftaleno acético (ANA) no enraizamento de *Mikania micrantha Kunth*. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, 2: 102-107.
- Fochesato, M. L.; Martins, F. T.; Souza, P. V. D.; Schwarz, S. F. ; Barros, I. B. I. 2006. Propagação de Louro (*Laurus nobilis L.*) por estacas semilenhosas com diferentes quantidades de folhas e tratadas com ácido indolbutírico. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, 3: 72-77.
- Goulart, P.; Xavier, A.; Cardoso, N. 2008. Efeito dos reguladores de crescimento AIB e ANA no enraizamento de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis X Eucalyptus urophylla*. *Rev. Árv.*, Viçosa-MG, 6: 1051-1058.
- Guillot, D.; Mateo Sanz, G.; Rosselló Picornell, J. 2008. Claves para los taxones

cultivados del género *Buxus L.* en la provincia de Valencia. *Bouteloua*, 5: 22-26.

- Hartmann, H. T.; Kester, D. E.; Davies Junior, F. T.; Geneve, R. L. 202. *Plant propagation: principles and practices*. 7th. ed. New Jersey: Prentice Hall, 880 p.
- Hartmann, H.& Kester, D. 1987. *Propagación de plantas: principios y prácticas*. Editorial Continental, México. Pp. 760.
- Henricot, B.& Culham, A. 2002. *Cylindrocladium buxicola*, a new species affecting *Buxus spp.*, and its phylogenetic status. *Mycologia*, 6: 980–997.
- Higashi, E.& Silveira, R. 2000. *Propagação vegetativa de Eucalyptus: princípios básicos e a sua evolução no Brasil*. Circular técnica IPEF; n. 192, pp. 11
- Hill, T.A. 1977. *Hormonas reguladoras del crecimiento vegetal*. Editorial Omega, España. Pp. 74.
- Johansen, D. A. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Co., New York.. 511 p.
- Koyuncu, F.; Balta, F. 2004. Adventitious root formation in leaf bud cuttings of tea (*Camellia sinensis L.*). *Pakistan Journal of Botany*, v. 36, n. 4, p. 763-768.
- Lima, D. M. de; Bomfim De Alcantara, G.; Bortolini, M.; Fanti, F.; Biasi, L.; Quoirin, M.; Koehler, H.; Zuffellato-Ribas, K. 2006. Substratos e concentrações de ácido naftaleno acético no enraizamento de estacas semilenhosas de *Calliandra selloi* e *Calliandra tweediei*. *Scientia Agraria*, 7: 105-111.
- Lima, D. M. de; Silva, C. da; Ritter, M.; Biasi, L.; Zanette, F.; Zuffellato-Ribas, K. C. 2008. Substratos e auxinas no enraizamento de estacas caulinares de Espinheira-santa. *Scientia Agrária*, 1: 85-89.
- Loureiro Ruibal, B.; Gonzalez Penalta, B.; Pintos Varela, C.; Mansilla Vázquez, J.P. 2004. Identificación de las principales patologías fúngicas del Boj (*Buxus sempervirens*) en Galicia. Diputación Provincial de Pontevedra Servicio Agrario Estación Fitopatológica “Do Areiro”. Pp 4
- Martins, A.; Graciano, F.; Cruz Silva, A. 2001. Clonagem do jambeiro – rosa (*Syzygium*

malacensis) por estaquia de ramos enfolhados. Rev. Bras. Frutic. Jaboticabal – SP, 23: 365 – 368.

- Mauseth, J.D. Plant anatomy. 1988. The Benjamin / Cummings Publishing Company, 560 p.
- Mestres, L.; Rojas, R.; Benítez Vietto, C.; Casals, M.; Ligier, D.; Kurtz, D.; Navarro, M. 2008. Ordenamiento Territorial de los Bosques Nativos de la Provincia de Corrientes – Ley Nacional N° 26.331. Pp. 72.
- Metcalfe, C.R.; Chalk, L. 1957. Anatomy of the dicotyledons. Oxford, Clarendon Press, 2. 1500 p.
- Mindello Neto, U.; Balbinot, A.; Hirano, E. 2004. Efeito do ácido indolbutírico no enraizamento de estacas herbáceas de dois porta-enxertos de pessegueiro. Rev. Bras. Agrociencia., 10: 433-437.
- Molina Meleti, L.; Barbosa, W., Pio, R.; Costa, A.; Pires, N. 2007. Influencia de la estación, la presencia de hojas y del ácido indol butírico en el enraizamiento de maracuyá dulce (*Pasiflora alata curtis*). Revista UDO Agrícola, 7: 68-73.
- Mottet, S.& Hamm, J. 1970. Árboles y arbustos ornamentales. Editorial Mundi Prensa. Madrid, España. Pp. 300.
- Nicoloso, F.; Lazzari, M.; Fortunato, R. 1999. Propagação vegetativa de *Platanus acerifolia* ait.: (i) efeito de tipos fisiológicos das estacas e épocas de coleta no enraizamento de estaquillas. Cienc. Rural, 29: 479 – 485.
- Norberto, P. M.; Chalfun, N. N. J.; Pasqual, M.; Veiga, R. D.; Pereira, G. E.; Mota, J. H. 2001. Efeito da época de estaquia e do AIB no enraizamento de estacas de figueira (*Ficus carica L.*). Ciência e Agrotecnologia, Lavras, 3: 533-541.
- Oliva C. 2005 a. Efecto de fitorreguladores enraizantes y la temperatura en el enraizamiento de estaquillas de *Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh, camu camu arbustivo, en Ucayali - Perú. Folia Amazonica, 2: 19 – 25.
- Oliva, C. 2005 b. Efecto de los ácidos naftalenacético e indolbutírico en el

enraizamiento de estaquillas de *Myrciaria dubia* (HBK) Mc Vaugh, camu camu. Folia Amazonica, 2: 27 – 32.

- Pacheco Pla, S. 2007. Optimización en la técnica de propagación de *Olea europea L.* en variedades de difícil enraizamiento cv. Empeltre, Santa Catarina y Picual. Quillota. Pp. 62.
- Paes, E.; Höger Filho, G.; Zuffellato-Ribas, K.C.; Brito, F. 2006. Estaquia de *Abelia x grandiflora* Hort. ex L. H. Bailey. Cultura agronômica, Ilha Solteira, 1: 26-36.
- Pérez, D.; Hernández, N.; Him, Y.; Díaz, J.; Rodríguez, Z. 2011. Efecto de auxinas sobre el estaquillado y acodado de Cepillo Rojo (*Callistemon speciosus*). Rev. Fac. Agron. (LUZ), 28: 311-321.
- Pinto, L.; Zuffellato-Ribas, K.; Carpanezi, A.; Tavares, F.; Koehler, H. 2003. Indução do enraizamento de estacas de araticum-de-porco pela aplicação de fitorreguladores. Scientia Agrária, 4: 41-45.
- Pivetta, K.; Pedrinho, D.; Fávero, S.; Batista, G.; Mazzini, R. 2012. Época de coleta e ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de espirradeira (*Nerium oleander L.*). Rev. Árv., Viçosa-MG, 36: 17-23.
- Ramírez-Villalobos, M.; Urdaneta-Fernández, A.; Vargas-Simón, G. 2004. Tratamientos con ácido indolbutírico y lesionado sobre el enraizamiento de estaquillas de icaco (*Chrysobalanus icaco L.*). Agronomía Tropical, 54: 203 – 218.
- Ramos Gavilanez, L.; Cruz Rosero, N.; Centeno, O. 2006. Propagación vegetativa de *Chlorophora tinctoria (L) gaud* (moral fino) con el uso de las hormonas ANA y AIB estimuladoras del enraizamiento. Foresta Veracruzana; 8:9-12.
- Ribero Maldonado, G.; Guerrero, M.; Ramírez, R. 2005. Enraizamiento de estacas de semeruco (*Malpighia glabra L.*). Revista Facultad Agronomia (LUZ); 22: 33-40.
- Rocha, S.; Quisen, R.; Queiroz, J.; Zuffellato-Ribas, K. 2004. Propagação vegetativa de espirradeira pela técnica da estaquia. Scientia Agraria, 5: 73-77.
- Ruiz-Solsol, H. & Mesén, F. 2010. Efecto del ácido indolbutírico y tipo de estaquilla en

el enraizamiento de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Agronomía Costarricense*, 34: 259-267.

- Ruzin, S.E. 1999. *Plant microtechnique and microscopy*. New York: Oxford University Press. 322 p.
- Salaš, P.; Sasková, H.; Mokričková, J.; Litschmann T. 2012. Evaluation of different types of rooting stimulators. *Acta universitatis agriculturae et silviculturae mendelianae brunensis*.
- Salisbury, F. & Ross, C.W. 1994. *Fisiología vegetal*. Editorial Iberoamericana, México. Pp. 759.
- Santelices, R.; Cabello, A. 2006. Efecto del ácido indolbutírico, del tipo de cama de arraigamiento, del sustrato y del árbol madre en la capacidad de arraigamiento de estacas de *Nothofagus glauca*. *Revista Chilena de Historia Natural*, 79: 55- 61.
- Sivori, E.M.; Montaldi, E.R.; Caso, O.H. 1986. *Fisiología vegetal*. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires. Pp. 117.
- Soto, L.; Jasso Mata, J.; Vargas Hernández, J.; Gonzalez Rosas, H.; Cetina, V. 2006. Efecto de diferentes concentraciones de AIB sobre el enraizamiento de *Ficus benjamina* en diferentes épocas del año. *Ra ximbai*, 12: 795-814.
- Souza, J. A.; Bender, A. G.; Tivano, J.C.; Barroso, D. G.; Mroginski, L. A., Vegetti, A. C.; Felker, P. 2013. Efecto de la etiolación en la propagación vegetativa de *Prosopis alba* (Fabaceae) y su relación con la anatomía de los propágulos. Congreso Forestal Argentino y Latinoamericano, Puerto Iguazú, Misiones, Argentina, 23 al 27 de Septiembre de 2013.
- Souza, J. C. A. V. de; Barroso, D. G.; Carneiro, J. G. A.; Teixeira, S. L.; Balbinot, E. 2009. Propagação vegetativa de cedro-australiano (*Toona ciliata* M. Roemer) por miniestaquia. *Rev. Árv.*, 33: 205-213.
- Souza, L. 2007. Tipo de minijardim clonal e efeito do ácido indolbutírico na miniestaquia de *Grevillea robusta* A. Cunn. (proteaceae). Pp. 66

- Steel, R. & Torrie, J. 1988. Bioestadística: Principios y procedimientos. Editorial McGraw Hill, Colombia. Pp. 622.
- Titon, M.; Xavier, A.; Campos Otoni, W.; dos Reis, G. 2003. Efeito do AIB no enraizamento de miniestacas e microestacas de clones de *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden. Rev. Árv., Viçosa-MG, 1: 1-7.
- Tivano, J. C.; Souza, J. A.; Vegetti, A. C. 2011. Desarrollo y estructura del anillo de esclerénquima en miniestacas y plantines clonales de *Prosopis alba* (Fabaceae). XXXIII Jornadas Argentinas de Botánica. Posadas (Misiones), Argentina.
- Tivano, J.C.; Souza, J. C. A. V. de; Vegetti, A. Desarrollo y estructura del anillo de esclerénquima en miniestacas y plantines clonales de *Prosopis alba* (Fabaceae). In: Resúmenes del XXXIII Jornadas Argentinas de Botánica, Posadas, Misiones, 7 al 10 de octubre de 2011.
- Valmorbidia, J.; Fernandes Boaro, C.; Lessa, A.; Salerno, A. 2008. Enraizamento de estacas de *Trichilia catigua* A. Juss (catigua) em diferentes estações do ano. Rev. Árv., 3: 435 – 442.
- Vargas, G.; Arellano Ostoa, G.; Soto Hernández, R. 1999. Enraizamiento de estaquillas de Icacó (*Chrysobalanus icaco* L.) sometidas a aplicaciones de auxinas. Bioagro, 11: 103 – 108.
- Vinaykumar, J.; Shirol, A.; Kulkarni, B.; Krishnamurthy, G.; Reddy, B. 2008. Effect of growth regulators on rooting of *Thunbergia grandiflora*. Karnataka J. Agric. Sci., 21: 322-323.
- Weaver, R. 1976. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. Editorial Trillas, México. Pp. 622.
- Wendling, I.& Xavier, A. 2003. Miniestaquia seriada no rejuvenescimento de clones de *Eucalyptus*. Pesq. Agrop. Brás.; Brasília, 4: 475 – 480.
- Wendling, I.& Xavier, A. 2005. Influência do ácido indolbutírico e da miniestaquia seriada no enraizamento e vigor de miniestacas de clones de *Eucalyptus grandis*. Rev.

Árv., Viçosa-MG, 6: 921-930.

- Westwood, M. N. 1982. Fruticultura de zonas templadas. Edic. Mundi Prensa, Madrid, España. Pp. 461.
- Wu, Z.; Raven, P.; Hong, D. 2008. Flora of china. Volumen 11. Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Zuffellato-Ribas, K.C. & Domingos Rodrigues, J. 2001. Relações entre épocas do ano e diferentes concentrações de ácido indol butírico no enraizamento de estacas de *Eucalyptus grandis*. Bol. Pesq. Fl., Colombo, 42: 71-80.