

Nota técnica

PROPAGACIÓN DE *Erato polymnioides*, EN COMBINACIONES DE SUSTRATOS, REGULADORES DE CRECIMIENTO Y AGRUPACIÓN DE PLÁNTULAS*

Alexandra Morales-Herrera^{1/**}, Máximo Moreira-Palacios²

Palabras clave: Propagación; *Erato polymnioides*; sustratos; plantas hiperacumuladoras de metales pesados; agrupación.

Keywords: Propagation; *Erato polymnioides*; substrates; heavy metal accumulators; grouping.

Recibido: 21/03/19

Aceptado: 20/05/19

RESUMEN

Erato polymnioides es una especie hiperacumuladora de metales pesados que puede utilizarse en proyectos de biorremediación en zonas mineras. A pesar de su importancia, no se conocen procesos de propagación de esta especie, por lo que se planteó identificar condiciones óptimas para su propagación en condiciones de invernadero. Se realizaron varios ensayos; los primeros fueron basados en 4 clases de sustratos y 2 concentraciones de reguladores de crecimiento aplicados en estacas; para el segundo grupo, se usaron 2 clases de sustratos y plántulas, germinadas de alrededor de 2 meses, que se colocaron de manera agrupadas y sin agrupar. Del ensayo con estacas se observó mayor formación y crecimiento de raíces, brotes y hojas en suelo del sitio en el que se desarrolla la especie, con y sin paclobutrazol, mientras que la agrupación de 3 plántulas germinadas y sembradas en


ABSTRACT

Propagation of *Erato polymnioides*, in combination of substrates, growth regulators and plantule groupings. *Erato polymnioides* is a hyperaccumulating species of heavy metals which can be used in bioremediation projects in mining areas. Despite its importance, no propagation processes for this species are known, thus it was proposed to identify optimal conditions for its propagation under greenhouse conditions. Some trials were performed; the first ones were based on 4 classes of substrates and 2 concentrations of growth regulators applied to cuttings. For the other trials, 2 kinds of substrates and seedlings, germinated for about two months were used, the seedlings were grouped or ungrouped. The cuttings trial showed greater root formation and growth, shoots and leaves in soil of the site in which the species develops, with and without paclobutrazol, while the group of 3 seedlings


* Este trabajo forma parte de la tesis de licenciatura de la primera autora. Escuela de Biología, Área Biológica y Biomédica, Universidad Técnica Particular de Loja.

** Autora para correspondencia. Correo electrónico: aemorales1@utpl.edu.ec

1 Universidad Técnica Particular de Loja, Escuela de Biología, Área Biológica y Biomédica, Ecuador.

 0000-0003-3183-4203.

2 Universidad Técnica Particular de Loja, Departamento de Ciencias Biológicas, Sección de Biología y Genética, Loja, Ecuador.

 0000-0002-1833-2674.

abono/turba presentaron las mejores respuestas de prendimiento. Los resultados muestran que la especie se desarrolla mejor en sustratos preparados cuando está en etapas iniciales, mientras que cuando es propagada por estacas se adapta mejor al sustrato del sitio de donde provienen, el cual se caracteriza por alto contenido de arcilla y, posiblemente, microorganismos que tengan una relación simbiótica con la especie.

germinated and sown in organic fertilizer/peat presented the best performance responses. The results show that this species develops better on prepared substrates when it is in early stages, whereas when it is propagated by cuttings it adapts better to the substrate from the site they come from, which is characterized by high clay content and possibly microorganisms which have a symbiotic relationship with the species.

INTRODUCCIÓN

Erato polymnioides es un arbusto de la familia Asteraceae que llega hasta 1,50 m de altura. De tallos hexagonales con savia lechosa, pubescentes, entrenudos ubicados entre 4-16 cm. Presenta hojas con muchas vellosidades, base ovada y ápices agudamente acuminados. El peciolo puede ser de 2-25 cm; inflorescencia terminal, con corola amarilla. La semilla es un aquenio café de 1,2-1,5 mm con vilanos en panícula de color blanco (Moran y Funk 2006). Se distribuye desde el sur de Colombia hasta el norte de Bolivia (Kim *et al.* 2003, Moran y Funk 2006), y se localiza en un rango altitudinal de 360 a 3050 msnm (Moran y Funk 2006). A menudo está presente en bosques húmedos, pastizales, a lo largo de carreteras y crece generalmente en suelos arcillosos (Bodner *et al.* 2012). A pesar de su amplia distribución, no se han encontrado reportes sobre sus procesos de propagación.

Existen diversas técnicas de propagación sexual y asexual, las cuales podrían ser aplicadas en *E. polymnioides* (Ayaviri-Quispe 2010). La sexual es muy importante, porque ayuda a mantener la diversidad de las especies (López *et al.* 2008, Amador-Alfárez *et al.* 2013, Borbor-Villalta 2017). Además, las semillas pueden permanecer viables hasta encontrar las condiciones óptimas para su germinación (Conde 2016), esta viabilidad es muy variable según la especie. Por otro lado, la propagación asexual se convierte en

una alternativa (Silva *et al.* 2010), debido a que usa fragmentos de una planta madre (Ayaviri-Quispe 2010, Calle-Peralta 2012, Freire-Villalva 2013, Sarmiento 2015), lo que le permite seleccionar características agronómicas de interés, para obtener poblaciones uniformes (Ayaviri-Quispe 2010, Huanca 2010, Sarmiento 2015).

Es aconsejable que la propagación asexual se realice en condiciones controladas de invernadero (Quezada 2017) y que se usen estacas juveniles (Gárate-Díaz 2010, Borbor-Villalta 2017). Las estacas juveniles presentan poco tejido diferenciado y ausencia de inhibidores de raíces, por ello se facilita la formación de nuevas raíces (López *et al.* 2008, Sarmiento 2015, Conde 2016, Borbor-Villalta 2017). Además, el enraizamiento de las estacas depende del uso de reguladores de crecimiento, al ser las auxinas las más utilizadas (Quezada 2017). Un tipo de auxina aplicada ampliamente es el ácido naftalen acético que está en productos comerciales (Conde 2016). También existen otros reguladores de crecimiento como el paclobutrazol, que se encuentra dentro de la familia de los triazoles, del cual se han reportado sus efectos positivos sobre el enraizamiento (Porlingis y Koukourikou-Petridou 1996). Otro factor determinante en la propagación de estacas son los sustratos que se usan, ya que de ellos depende el mantenimiento de la humedad, aireación, soporte de las estacas, arquitectura radical y disponibilidad de nutrientes (Solís y Jiménez 2015).

De un estudio realizado en 3 especies que crecen en suelos contaminados por explotación aurífera (*Erato polymnioides*, *Axonopus compressus* y *Miconia zamorensis*), se determinó que *E. Polymnioides*, en asociación con micorrizas, es la especie que acumula mayor cantidad de mercurio y por su alto nivel de acumulación se considera como hiperacumuladora de metales pesados (Chamba *et al.* 2017), al usarse en programas de fitorremediación (Wenzel 2009, Riesco 2012). Las técnicas de fitorremediación permiten eliminar, retener o disminuir la toxicidad del suelo, y además, son muy importantes, ya que no utilizan reactivos químicos (Carpena y Bernal 2007, Chamba *et al.* 2016). Estas técnicas bien podrían ser aplicadas en las zonas en que se distribuye esta especie y que están contaminadas por la explotación aurífera como lo está la provincia de Zamora Chinchipe (Paladines 2014, Bayancela 2016, Cuenca 2016, Armijos 2017).

Esta región se caracteriza por tener alta contaminación de metales pesados en suelo, agua y aire (Chamba *et al.* 2016, Chamba *et al.* 2017), lo cual la convierte en una zona “peligrosa” para los habitantes y organismos que ahí se desarrollan. Sin embargo, al no conocer formas de reproducir *E. Polymnioides*, es necesario evaluar mecanismos de propagación tanto sexual como asexual, con diferentes sustratos y reguladores de crecimiento, que faciliten su desarrollo y manejo en condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Las estacas de *E. polymnioides* se colectaron de 2 localidades ubicadas en la provincia de Zamora Chinchipe-Ecuador: San Francisco y Chinapintza. El sector San Francisco está ubicado en el Km 30 de la vía Loja - Zamora (712875.12 E – 9560739.85 S). El sitio presenta una vegetación de bosque siempre verde montano, precipitación anual de 2500 mm, temperatura de 16°C y elevación de 1954 msnm (Factos-Palacio y Montero-Cueva 2009). El otro

sitio, Chinapintza, está ubicado en el cantón Paquisha (766865.01 E – 9552946.04 S). Este presenta una vegetación de bosque húmedo subtropical, precipitación anual de 2000 a 3000 mm, temperatura de 17°C y elevación de 1382 msnm (Paladines 2014). Todo el material recolectado en las 2 localidades fue trasladado al invernadero del Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad Técnica Particular de Loja.

Preparación de sustratos

Para determinar el efecto del sustrato se utilizó suelo del sitio y otros suelos preparados. El suelo del sitio, que es aquel donde se desarrolla la especie, se recolectó con la finalidad de aprovechar los nutrientes y posibles organismos que guardan relación simbiótica con la especie en estudio. Este suelo se caracteriza por ser arcilloso, con contenidos medios de materia orgánica y nitrógeno, pH de 4,5 a 6,5 y alto contenido de óxido de aluminio y Fe (Jiménez *et al.* 2008). La colecta de suelo del sitio se hizo en Chinapintza, dado que San Francisco presenta una formación rocosa y no se pudo coleccionar. El suelo del sitio fue transportado en sacos de plástico.

Los otros suelos fueron preparados con combinaciones de abono, turba y arena. El abono utilizado fue bioabor, que es un abono orgánico el cual nutre, acondiciona y mejora la estructura del suelo. Aporta gran cantidad de materia orgánica y microorganismos (biofertilizante), además, de minerales orgánicos, ácidos húmicos y fúlvicos (AGRIPAC 2009). Se identificó un pH 5,5 a 6,2, fertilizada moderadamente que contenía 15% de perlita de 1-6 mm que mejora la estructura del suelo, además, absorbe agua y oxígeno para liberarlo lentamente en sus raíces. Se utilizó arena de río, que es un material fino que ayuda a mejorar el drenaje y presenta nivel medio de retención del agua (Acosta *et al.* 2014).

La siembra de estacas se hizo en diferentes combinaciones de sustratos. En un primer ensayo se seleccionaron 2 tipos de sustratos que consistieron en 1) abono orgánico y turba 1/1, y 2) suelo del sitio al 100%. Dado que en suelo del sitio se observó encharcamiento del agua se consideró que esto podría ser la causa de

mortandad, por ello se prepararon 2 sustratos para el segundo ensayo con suelo del sitio más arena, para aumentar la permeabilidad, por lo que quedó de la siguiente manera: 3) tierra del sitio, arena y abono orgánico 1/1/1 y 4) tierra del sitio con arena 3/1. Para el diseño de agrupación de plántulas, se utilizaron los mismos sustratos del primer ensayo (1 y 2). Todos los sustratos fueron homogeneizados y esterilizados con agua hirviendo.

Ensayo 1: propagación de estacas

Se colectaron estacas de 10 a 20 cm de largo con 2 a 3 yemas y 10 a 12 mm de diámetro. Se consideró que la yema inferior tuviera una separación de 1,5 a 3,0 cm desde el corte; luego se eliminaron sus hojas y se pusieron en papel periódico humedecido para evitar la desecación.

Desinfección de estacas y aplicación de reguladores de crecimiento

La desinfección de estacas se hizo con benomil al 2% manteniéndolas sumergidas y en

agitación por 10 minutos. Luego, para estimular su enraizamiento, se utilizaron 2 reguladores de crecimiento por separado: el Paclobutrazol, PZB ((2RS, 3RS)-1-(4-clorofenil)-4,4-dimetil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-3-pentanol) con una dosis de 4 mg.L⁻¹ aplicado por 10 minutos (Wiesman y Riov 1994), y (Ácido 1-Naftalen acético o ANA) con una dosis de 2,5 g.l⁻¹ aplicado por 6 horas (Quezada 2017). En ambos casos, los reguladores de crecimiento se diluyeron en agua destilada. En cada tipo de regulador se sumergieron 2,5 cm de las estacas.

De ambos reguladores de crecimiento se aplicó una sola concentración, por lo que se formularon los tratamientos con y sin el regulador de crecimiento. El PZB se usó en las estacas sembradas en los 2 sustratos del primer ensayo (1 y 2), que presentaron escaso enraizamiento. Además, se cambió al Hm en las estacas sembradas en los 2 sustratos del segundo ensayo (3 y 4), es decir, se realizaron 8 tratamientos en total (Tabla 1).

Tabla 1. Formación y crecimiento de raíces en estacas expuestas a tratamientos con Paclobutrazol y ANA (ácido naftalen acético) en 4 tipos de sustratos. Observación a los 90 días después de su siembra en macetas.

Tratamientos	Individuos con raíz	Nº total de raíces formadas				Longitud de raíces (mm)			
Abono/turba	4	72	±	1,01	ab	29,4	±	3,58	b
Abono/turba con PZB	2	21	±	0,52	b	23,3	±	3,90	b
Suelo sitio	16	187	±	1,01	a	238,1	±	13,07	a
Suelo sitio con PZB	15	206	±	1,38	a	211,4	±	12,61	a
SSitio/arena/abono	1	20	±	0,50	b	19,0	±	4,74	b
SSitio/arena/abono con Hm	2	10	±	0,23	b	29,3	±	5,22	b
SSitio/arena	8	55	±	0,47	b	43,4	±	4,07	b
SSitio/arena con Hm	6	82	±	0,94	ab	56,5	±	6,28	b

La primera columna muestra los 8 tratamientos utilizados: relación abono/turba 1/1; suelo sitio 100%; relación sitio/arena/abono 1/1/1; relación suelo sitio/arena 3/1; PZB= paclobutrazol; Hm= ANA 1.

Los datos del total de raíces y su longitud son medias, seguida del error estándar. Las letras simbolizan la agrupación realizada por el análisis Tukey ($p < 0,05$).

Todos los datos corresponden a 40 repeticiones de cada tratamiento.

Siembra de estacas

Se utilizaron macetas redondas de 10 cm de altura por 10 cm de diámetro. Para cada tratamiento se sembraron 40 estacas, colocadas una por maceta, con una profundidad de entre 1,5 a 2,5 cm. Cada estaca que correspondió a una repetición, fueron colocadas en bloques aleatorizados en un invernadero con temperatura promedio de 20°C y 80% de humedad. El riego se realizó cada 2 días.

Ensayo 2: crecimiento de plántulas

Obtención de plántulas

La recolección de semillas se hizo en fundas plásticas en el sector Chinapintza. Sin tratamientos previos; las semillas fueron esparcidas en una bandeja que contenía abono y turba 1/1. A los 15 días inició la germinación y las plántulas fueron mantenidas por 2 meses, regadas diariamente por aspersión. A esas plántulas se les midió su crecimiento con respecto a otras plántulas de la misma especie u otras aisladas. El acercamiento entre unas u otras permitiría conocer la relación alelopática intraespecífica positiva (Blanco 2006).

Siembra de plántulas

Para evaluar el crecimiento de las plántulas se sembraron solas y agrupadas. Solas consistió en trasplantar una plántula aislada en una maceta y agrupadas al sembrar 3 plántulas juntas en una maceta. Se utilizaron macetas de 10 cm de altura por 10 cm de diámetro. De cada tratamiento (1 plántula o 3 plántulas) se realizaron 15 repeticiones, es decir, 15 individuos cuando no hay agrupación y 45 individuos cuando están agrupados. Cada una de las plántulas fue sembrada a una profundidad de 1 cm y repartidas en bloques aleatorizados. El riego se lo realizó cada 2 días.

Análisis de datos

Propagación de estacas

Para evaluar la brotación se consideró el número de brotes y número total de hojas formadas a los 90 días. Mientras que para el enraizamiento se registró el número de raíces formadas y su largo en mm; estos datos se tomaron al finalizar el ensayo (90 días).

Crecimiento de plántulas

Los datos considerados en este ensayo fueron el largo del tallo en mm y sobrevivencia durante 60 días. Los datos se tomaron cada 7 días.

Para evaluar las variables se utilizó un análisis de varianza ANOVA (Omokhua *et al.* 2015) seguido de la prueba Tukey ($p < 0,05$) para establecer las diferencias entre tratamientos e identificar el que presentó mejor respuesta (Solís y Jiménez 2015). Todos los análisis se hicieron mediante el programa estadístico R v 3.3.0.

RESULTADOS

Formación de raíces y brotes en estacas

En el primer ensayo con el sustrato suelo del sitio, con y sin PZB, se obtuvo la mayor sobrevivencia con un promedio de 53,5% frente al abono turba, con y sin PZB, de 40,3%. Es decir, que el cambio de sustrato que se utilizó para el ensayo con suelo del sitio y arena, presentó una disminución de la sobrevivencia en un promedio de 27%. Estos datos evidencian que las estacas toleran el encharcamiento producido en el suelo arcilloso y que la permeabilidad generada por la arena es negativa para la estaca. Aunque el cambio realizado se basó en la localidad de San Francisco, sitio en el cual se desarrolla la especie con un suelo bastante arenoso e incluso rocoso, no se consideró que se encuentra en zonas de quebradas o ríos, en donde abunda el agua, lo que explicaría los resultados.

El mayor número de raíces formadas como su crecimiento en longitud se generó en los tratamientos con suelo del sitio de Chinapintza, con y sin paclobutrazol (Tabla 1). Se puede observar que los tratamientos, con suelo del sitio mezclado con arena, presentaron buenos resultados respecto a formación y alargamiento de raíces. Los tratamientos con suelo del sitio, arena y abono con y sin ácido naftalen acético, presentaron la menor cantidad de estacas enraizadas, lo cual puede estar relacionado con una mortalidad superior al 80% observada al ser los únicos con presencia de los hongos *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp. La contaminación pudo presentarse debido a la alta humedad que se produjo dentro del invernadero, y por ello se hizo necesaria la aplicación de fungicidas y bactericidas sistémicos de alto espectro.

En la Tabla 1, se observa que la longitud de las raíces, luego del tratamiento suelo del sitio con y sin paclobutrazol, no presentaron diferencias significativas respecto a los demás tratamientos, es decir, una vez que forman sus raíces el crecimiento fue similar.

La mejor brotación y formación de hojas se presentó en el tratamiento con suelo del sitio y sin reguladores de crecimiento, seguido del tratamiento con el mismo sustrato, pero con paclobutrazol (Tabla 2). Cabe mencionar que los tratamientos con suelo del sitio, arena y abono presentaron los más bajos resultados, posiblemente, por su alta contaminación de hongos antes descrita. Se observó cierta similitud en los resultados de brotes y hojas formados por las estacas cuando están en tratamientos con abono más turba y suelo del sitio más arena.

Tabla 2. Brotación y formación de hojas en estacas expuestas a tratamientos con Paclobutrazol (PZB) y ANA (ácido naftalen acético) en 4 tipos de sustratos. Observación a los 90 días después de su siembra en macetas.

Tratamientos	Individuos con brotes	N° total de brotes formados				N° total de hojas formadas			
Abono/turba	15	24	±	0,13	abc	92	±	0,56	bc
Abono/turba con PZB	20	34	±	0,15	abc	128	±	0,64	bc
Suelo sitio	20	42	±	0,20	a	246	±	1,26	a
Suelo sitio con PZB	22	36	±	0,17	ab	188	±	0,83	ab
SSitio/arena/abono	4	8	±	0,11	c	26	±	0,56	c
SSitio/arena/abono con Hm	2	9	±	0,10	bc	20	±	0,36	c
SSitio/arena	19	35	±	0,16	abc	114	±	0,92	bc
SSitio/arena con Hm	12	26	±	0,16	abc	86	±	0,62	bc

La primera columna muestra los 8 tratamientos utilizados: relación abono/turba 1/1; suelo sitio 100%; relación sitio/arena/abono 1/1/1; relación suelo sitio/arena 3/1; PZB= paclobutrazol; Hm= ANA 1.

Los datos del total de raíces y su longitud son medias, seguida del error estándar. Las letras simbolizan la agrupación realizada por el análisis Tukey ($p < 0,05$).

Todos los datos corresponden a 40 repeticiones de cada tratamiento.

Agrupación de plántulas

El mayor crecimiento de tallos de las plántulas ocurrió en el sustrato con abono/turba cuando las plantas estaban agrupadas (Tabla 3). Asimismo, ese fue el tratamiento con mayor sobrevivencia de plantas. También se observó que

las plántulas agrupadas se mantuvieron de igual tamaño, morfología y no se evidenció competencia entre ellas. Por el contrario, el tratamiento con suelos del sitio y sin agrupación mostró los valores más bajos, tanto para crecimiento del tallo como para la sobrevivencia.

Tabla 3. Crecimiento de plántulas con y sin agrupación en 2 tipos de sustratos. Observación a los 60 días de sembradas en macetas.

Tratamientos	Longitud de tallo (mm)				Sobrevivencia %
Abono/ turba sin agrupación	29,5	±	17,17	a	67
Abono/ turba con agrupación	101,3	±	4,99	a	78
Suelo sitio sin agrupación	7,9	±	5,38	b	53
Suelo sitio con agrupación	28,0	±	2,32	b	60

La primera columna muestra los 4 tratamientos utilizados: relación abono/turba 1/1; suelo sitio 100%. Sin agrupación es una plántula sola en una maceta. Con agrupación 3 plántulas en una maceta.

En la longitud del tallo se colocó la media, seguido del error estándar, las letras simbolizan la agrupación realizada por el análisis Tukey ($p < 0,05$).

La sobrevivencia representa el porcentaje de individuos vivos de cada tratamiento. Se hicieron 15 repeticiones de cada tratamiento.

DISCUSIÓN

La formación y crecimiento longitudinal de raíces en estacas de *E. polymnioides* fue mayor al sembrarlas en suelo del sitio con o sin aplicación de paclobutrazol. El suelo del sitio donde se desarrolló la especie, es arcilloso y no tiende a secarse muy rápido (Moran y Funk 2006). Este suelo se caracteriza por retener agua y ser rico en hierro y mantener buenas reservas de nutrientes (Rucks *et al.* 2004, Quezada 2017). Se presume que el principal reto de la planta fue formar raíces, ya que el alargamiento se presentó en todos los tratamientos de manera similar.

E. polymnioides tiene alta tolerancia a la humedad, y explica, por qué la mayor sobrevivencia se dio en las estacas sembradas en suelo del sitio, el cual presentó alto encharcamiento; mientras que al sembrarlas en suelo del sitio con arena, se redujo drásticamente su sobrevivencia

con el cambio a suelo arcillo-arenoso. Sin embargo, en condiciones naturales se observan plantas en suelos arenosos, pero de fuentes de agua que proporcionan humedad (Moran y Funk 2006). El éxito de propagarse en sitios arenosos puede deberse a que la arena permite mayor crecimiento longitudinal de las raíces (López *et al.* 2008, Solís y Jiménez 2015).

Los sustratos que fueron preparados con abono y arena provocaron pudrición desde la base de la estaca hacia arriba y contaminación por hongos. Similares resultados de pudrición se encontraron en estacas de *Cinchona officinalis* en sustrato semejante (Conde 2016). Sin embargo, algunas personas autoras mencionan que al utilizar tierra agrícola y turba se mejora la sobrevivencia y desarrollo de estacas de muchas especies (Maldonado *et al.* 2017). Para la Asteraceae *Stevia rebaudiana*, se concluyó que el

mejor sustrato es una combinación entre arena, tierra vegetal (originaria de la descomposición de materia verde rica en nutrientes y minerales), arcilla y piedra pómez (Quezada 2017). Esos datos podrían contraponerse con lo mencionado por Gárate-Díaz (2010), que indica que las estacas de algunas especies enraízan con facilidad en diferentes clases de sustratos.

Otro factor importante en el desarrollo de las estacas son los reguladores de crecimiento que se aplicaron. Estos aceleran los procesos de crecimiento en las plántulas formando raíces y brotes por lo que permite su crecimiento longitudinal y ensanchamiento (Ayaviri-Quispe 2010). Se observó mayor formación de raíces con paclobutrazol, (PZB) aplicado en estacas sembradas en suelo del sitio, aspecto que coincide con varias investigaciones que indican que el PZB, en bajas concentraciones como 5 mg.L⁻¹, puede aumentar significativamente el número de raíces en estacas (Davis *et al.* 1985, Wiesman y Riov 1994). Sin embargo, el PZB no tiene un efecto significativo en la longitud de raíces (Davis *et al.* 1985), lo cual se evidenció en este ensayo al ser el tratamiento con mejor crecimiento en longitud de raíces, en suelo del sitio, sin reguladores de crecimiento.

No se observó influencia del ácido naftalen acético sobre el enraizamiento de las estacas de *E. polynioides*, a pesar de que la hormona es conocida como un estimulante del enraizamiento que estimula el número y longitud de raíces (Conde 2016). Por ejemplo, en *Stevia* (Asteraceae) 10 ppm de ácido naftalen acético generaron mayor longitud de raíces (Quezada 2017).

En cuanto al número total de brotes y de hojas formadas, se observó que el tratamiento con mejores resultados fue el suelo del sitio sin reguladores de crecimiento. Al respecto, Davis *et al.* (1985) menciona que una de las desventajas del PZB es que reduce la longitud del brote, mientras que en el caso del ácido naftalen acético solamente dosis muy bajas, (10 ppm) aumentan la longitud de brotes y el número de hojas (Quezada 2017).

Parece ser que el abono, turba y arena solas o mezcladas con suelo del sitio antes que ser favorables para el desarrollo de *E. polynioides* constituyen un factor de estrés. Asimismo, los reguladores de crecimiento no generaron respuestas muy favorables de enraizamiento y tampoco en formación de hojas y brotes, aspecto que no permitió observar patrones claros de su efecto sobre la especie en combinación con los sustratos.

El efecto de agrupación de plántulas de *E. polynioides*, a diferencia de lo observado en el prendimiento de estacas, fue el sustrato preparado con abono y turba. Este resultado podría deberse a la alta concentración de nutrientes que contenía el abono, lo cual también ha sido reportado por Quesada-Roldan y Mendez-Soto (2005) en un trabajo con plántulas de hortalizas en etapa inicial, donde indica que los tallos se desarrollan y engrosan mejor en presencia de sustratos que contengan abono. Otro resultado similar fue en *Montanoa quadrangularis*, una Asteraceae en la cual se evidenció que una mezcla del suelo local y abono mejoraban la longitud del tallo (Tamayo-Rincón *et al.* 2010). Asimismo, en un trabajo realizado en maíz, se estableció que si hay buena disponibilidad de recursos, la alta densidad de plantas no se vería afectada y que se disminuiría la competencia intraespecífica (Cerliani *et al.* 2018). Aplicando estos resultados en el ensayo de agrupación de plántulas podríamos considerar que el crecimiento en grupo no les afecta, porque hay suficientes recursos y que, además, la proximidad en las plantas, en este caso ayuda a mantener alta humedad.

Se encontró una relación favorable de la agrupación de 3 plántulas frente a plántulas individuales, al observarse mayor crecimiento y sobrevivencia cuando estaban agrupadas. El mayor crecimiento y sobrevivencia podría deberse a efectos alelopáticos, y aunque no se han identificado reportes que lo confirmen en *E. polynioides*, en el campo se ha podido observar que forman grandes agrupaciones y que debajo de ellas no crece ninguna otra especie. Según Blanco (2006), existen relaciones alelopáticas

positivas entre individuos de la misma especie en donde los compuestos químicos liberados por una planta son incorporados por la planta receptora, que le provoca un efecto beneficioso sobre su desarrollo o crecimiento. Sin embargo, reportes de asteráceas, exponen de relaciones alelopáticas negativas; por ejemplo, en *Achillea biebersteinii*, se mencionan los efectos aleloquímicos que al someter semillas de *Capsicum annuum* a las diferentes concentraciones de lixiviados de esta Asteraceae, se inhibe su germinación (Abu-Romman 2011). Asimismo, otras especies de asteráceas como *Chomoleana odorata*, *Helianthus annuus* y *Tithonia diversifolia* han mostrado que inhiben la germinación y crecimiento de *Vigna unguiculata*, debido a sus compuestos aleloquímicos (Ilori *et al.* 2010). La alelopatía es un fenómeno potencialmente importante, ya que no solo inhibe la germinación de otras especies, sino que también altera el pH del suelo (Inderjit y Dakshini 1994); sin embargo, los cambios de pH del suelo podrían estar favoreciendo la absorción de nutrientes de individuos de una misma especie.

AGRADECIMIENTOS

Al proyecto “Diseño de estrategias de biorremediación basadas en consorcio planta-microorganismos para la recuperación de suelos contaminados por actividad minera en la provincia de Zamora Chinchipe”, por el apoyo prestado para el desarrollo de esta investigación.

LITERATURA CITADA

- Abu-Romman, S. 2011. Allelopathic potential of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *World Applied Sciences Journal* 15(7):947-952.
- Acosta, J; Tenjo, R; Fischer, G; Lasprilla, D. 2014. Propagación de Uchuva (*Physalis peruviana* L.) Mediante diferentes tipos de esquejes y sustratos (en línea). *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 61(1):4347-4357. Disponible en <http://www.redalyc.org/pdf/1799/179914077011.pdf>
- AGRIPAC, 2009. Revistas divulgativas (en línea). Consultado 02 dic. 2009. Disponible en www.agripac.com.ec
- Amador-Alfárez, KA; Díaz- González, J; Loza- Cornejo, S; Bivián- Castro, EY. 2013. Efecto de diferentes reguladores de crecimiento vegetal sobre la germinación de semillas y desarrollo de plántulas de dos especies de *Ferocactus* (Cactaceae) (en línea). *Polibotánica* 23(35):109-131. Consultado 3 feb. 2018. Disponible en <http://www.scielo.org.mx/pdf/polib/n35/n35a7>
- Armijos, M. 2017. Evaluación de los procesos productivos en la minería artesanal, sector La Pangui, distrito minero Chinapintza. Tesis Ing. Geología y minas. Loja, Ecuador, Universidad Técnica Particular de Loja. 100 p.
- Ayaviri-Quispe, J. 2010. Efecto de la aplicación de diferentes enraizadores en el desarrollo de esquejes subterminales, intermedios y basales de estevia (*Stevia rebaudiana* B.) en Taipiplaya, Caranavi. Tesis Ing. Agronómica. La Paz, Bolivia, Universidad Mayor de San Andrés. 102 p.
- Bayancela, S. 2016. Factores determinantes en el desplazamiento de la actividad agrícola en el área de influencia del distrito minero Chinapintza- Zamora Chinchipe. Tesis Ing. Gestión ambiental. Loja, Ecuador, Universidad Técnica Particular de Loja. 82 p.
- Blanco, Y. 2006. La utilización de la alelopatía y sus efectos en diferentes cultivos agrícolas. *Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas* 27(3):5-6.
- Bodner, F; Strutzenberger, P; Brehm, G; Fiedler, K. 2012. Species richness and host specificity among caterpillar ensembles on shrubs in the Andes of southern Ecuador. *Neotropical entomology* 41(5):375-385. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13744-012-0066-4>
- Borbor-Villalta, JE. 2017. Propagación vegetativa de la especie forestal guasango (*Loxopterygium huasango* Spruce ex Engl) utilizando dos tipos de estacas en vivero, en la comuna Palmar, Provincia de Santa Elena Tesis Ing. Agropecuaria. Santa Elena, Ecuador, Universidad Estatal Península de Santa Elena. 52 p.
- Calle-Peralta, JL. 2012. Propagación vegetativa de la cantuta (*Cantua buxifolia*) con fitohormonas naturales y sintéticas en vivero, Achocalla. Tesis Ing. Agronómica. La Paz, Bolivia, Universidad Mayor de San Andrés. 97 p.
- Carpena, RO; Bernal, MP. 2007. Claves de la fitorremediación: fitotecnologías para la recuperación de suelos. *Ecosistemas* 16(2):1-3.
- Cerliani, C; Esposito, GP; Morla, FD; Balboa, GR; Naville, RA. 2018. Relación entre la densidad óptima agronómica y el número de granos por planta en maíz (*Zea Mays*L.). *European Scientific Journal* 14(9):29-45. <https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n9p29>

- Chamba, I; Gazquez, M; Selvaraj, T; Calva, J; Toledo, J; Armijos, C. 2016. Selection of a suitable plant for phytoremediation in mining artisanal zones. *International Journal of Phytoremediation* 18(9):853-860. DOI: 10.1080/15226514.2016.1156638
- Chamba, I; Rosado, D; Kalinhoff, C; Thangaswamy, S; Sánchez-Rodríguez, A; Gazquez, M. 2017. *Erato polymnioides* – A novel Hg hyperaccumulator plant in ecuadorian rainforest acid soils with potential of microbe-associated phytoremediation. *Chemosphere* 188:633-641. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.08.160>
- Conde, M. 2016. Propagación in vivo de *Cinchona officinalis* L., a partir de material vegetal sexual y asexual con fines de conservación de la especie. Tesis Ing. Forestal. Loja, Ecuador, Universidad Nacional de Loja. 80 p.
- Cuenca, D. 2016. Flotación del mineral del sector La Pangui, en el distrito minero Chinapintza. Tesis Ing. Geología y minas. Loja, Ecuador, Universidad Técnica Particular de Loja. 87 p.
- Davis, T; Sankhla, N; Walsler, R; Upadhyaya, A. 1985. Promotion of adventitious root formation on cuttings by paclobutrazol. *HortScience* 20(5):883-884.
- Factos-Palacio, V; Montero-Cueva, M. 2009. Influencia del estado sucesional en la regeneración natural del bosque seco y distribución espacial de la familia Cytheaceae en un bosque de neblina montano de la región sur del Ecuador. Tesis Gestión ambiental. Loja, Ecuador, Universidad Técnica Particular de Loja. 78 p.
- Freire-Villalva, MB. 2013. Producción de plántulas de miconia robinsoniana para el posible establecimiento de un banco de germoplasma como una acción a tomarse frente al cambio climático, en la isla santa cruz, Galápagos. Tesis Lic. Galápagos, Ecuador, Universidad de Guayaquil. 65 p.
- Gárate-Díaz, M. 2010. Técnicas de propagación por estacas. Tesis ing. Agrónomo. Ucayali, Perú, Universidad Nacional de Ucayali. 42 p.
- Huanca, W. 2010. Métodos de reproducción asexual de plantas y su aplicación. Puno, Perú, Universidad nacional del altiplano. 2 p.
- Ilori, O; Otusanya, O; Adelusi, A; Sanni, R. 2010. Allelopathic activities of some weeds in the Asteraceae family. *International Journal of Botany* 6(2):161-163. DOI: <http://dx.doi.org/10.3923/ijb.2010.161.163>
- Inderjit, D; Dakshini, K. 1994. Allelopathic effect of *Pluchea lanceolata* (Asteraceae) on characteristics of four soils and tomato and mustard growth. *American Journal of Botany* 81(7):799-804. DOI: <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1994.tb15560.x>
- Jiménez, LS; Mezquida, ET; Benito, M; Rubio, A. 2008. Fertilidad del suelo de bosques tropicales y pastizales de uso ganadero en el sur del Ecuador. *Sociedad Española de Ciencias Forestales* 25:241-245.
- Kim, HG; Funk, VA; Vlasak, A; Zimmer, EA. 2003. A phylogeny of the Munnoziinae (Asteraceae, Liabae): Circumscription of *Munnozia* and a new placement of *M. perfoliata*. *Plant Systematics and Evolution* 239(3-4):171-185. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00606-003-0003-4>
- López, F; Guío, N; Fischer, G; Miranda, D. 2008. Propagación de uchuva (*Physalis peruviana* L.) mediante diferentes tipos de esquejes y sustratos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín* 61(1):4347-4357.
- Maldonado, M; García, J; Santos, G; Rojas, A; Cuevas, J; Torres, N. 2017. Reguladores del crecimiento y sustratos en la propagación vegetativa de nanche (*Malpighia mexicana* A. Juss. y *Byrsonima crassifolia* (L) H. B. K.). *Revista Brasileira de Fruticultura* 39(3):1-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0100-29452017700>
- Moran, E; Funk, VA. 2006. A Revision of *Erato* (Compositae: Liabae). *Systematic Botany* 31(3):597-609. DOI: <https://doi.org/10.1600/036364406778388728>
- Omokhua, GE; Aigbe, HI; Uko, IJ. 2015. Effect of pre-treatments on germination and early seedling growth of *Maesobotrya barteri*. *International Journal of Scientific & Engineering Research* 6(3):921-925.
- Paladines, M. 2014. Determinación de metales pesados en plantas en áreas explotadas por la minería aurífera en el sector Chinapintza-Zamora Chinchipe-Ecuador. Tesis Ing. Gestión ambiental. Loja, Ecuador, Universidad Técnica Particular de la Loja. 32 p.
- Porlingis, IC; Koukourikou-Petridou, M. 1996. 'Promotion of adventitious root formation in mung bean cuttings by four triazole growth retardants', *Journal of Horticultural Science* 71(4):573-579. DOI: 10.1080/14620316.1996.11515437
- Quesada-Roldan, G; Méndez-Soto, C. 2005. Evaluación de sustratos para almácigos de hortalizas. *Agronomía Mesoamericana* 16(2):171-183.
- Quezada, F. 2017. Propagación por esquejes de stevia (*Stevia rebaudiana* Bert) en tres sustratos y dos dosis de hormona de enraizamiento bajo invernadero en el Cantón Santa Isabel. Tesis Lic. Cuenca, Ecuador, Universidad de Cuenca. 126 p.
- Riesco, R. 2012. Proyecto de recuperación de suelos contaminados por hidrocarburos Tesis Ing. Química. Barcelona, España, Universidad Autónoma de Barcelona. 28 p.
- Rucks, L; García, F; Kaplán, A; Ponce De León, J; Hill, M. 2004. Propiedades físicas del suelo (en línea). Montevideo, Uruguay.: s.n. Consultado 13 jul. 2018. Disponible en <http://bibliofagro.pbworks.com/f/propiedades+fisicas+del+suelo.pdf>

- Sarmiento, M. 2015. Propagación vegetativa de la Baganvilla (*Bougainvillea glabra* C.) en base a tres hormonas sintéticas y dos tipos de sustratos en la Estación Experimental de Cota Cota. Tesis Ing. Agronómica. La Paz, Bolivia, Universidad Mayor de San Andrés. 77 p.
- Silva, R; Da Oliveira, M; De Monte, MA; Xavier, A. 2010. Propagación clonal de guanandi (*Calophyllum brasiliense*) por miniestaquia (en línea). *Agronomía Costarricense* 34(1):99-104. Consultado 19 mar. 2019. Disponible en http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S0377-94242010000100010&script=sci_arttext
- Solís, C; Jiménez, V. 2015. Propagación asexual de azul de mata (*Justicia tinctoria* OERST.) D.N. Gibson, Fam. Acanthaceae) por medio de estacas. *Agronomía Costarricense* 39(2):91-103.
- Tamayo-Rincón, M; Rodríguez-Perez, L; Escobar-Torres, W. 2010. Sexual propagation of arboloco *Montanoa quadrangularis* Schultze Bipontianus. *Universitas Scientiarum* 15(1):37-48.
- Wenzel, W. 2009. Rhizosphere processes and management in plant-assisted bioremediation (phytoremediation) of soils. *Plant and Soil* 321(1-2):385-408. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11104-008-9686-1>
- Wiesman, Z; Riov, J. 1994. Interaction of paclobutrazol and indole-3-butyric acid in relation to rooting of mung bean (*Vigna radiata*) cuttings. *Physiologia Plantarum* 92(4):608-612. DOI: 10.1111/j.1399-3054.1994.tb03030.x

