

# **TRABAJO DE DIPLOMA**

## **INTRODUCCIÓN**

Desde tiempos inmemoriales, el ser humano ha utilizado las plantas como medicamentos naturales y, actualmente, se conoce que dos terceras partes de la población en los países subdesarrollados utilizan plantas para el tratamiento de sus enfermedades. Los costos de los medicamentos de patentes son elevados e inaccesibles para poblaciones de muchos países del mundo, por lo que recurren a la compra de plantas medicinales a un menor costo (Fuentes, 1997).

En la actualidad, a pesar del desarrollo científico alcanzado, el mayor porcentaje de la población mundial no tiene acceso al sistema moderno de salud, ni a los medicamentos sintéticos, siendo las plantas medicinales la base de medicina verde que han sido utilizadas desde tiempos remotos en el tratamiento y prevención de enfermedades, además de ser fuente de un sinnúmero de compuestos químicos biológicamente activos que le confieren propiedades terapéuticas (Roersch, 1994).

La producción de plantas medicinales es una de las vías que ha utilizado el hombre para darle solución a los problemas en el campo de la salud, no hacerlo con criterio de sostenibilidad es un riesgo que compromete el futuro de la humanidad. La protección del suelo, la calidad de los fármacos y los demás recursos naturales, resulta una visión más que necesaria, imprescindible, para el desarrollo de la misma (Villalba y Joaquín, 1993).

Dentro de la Agricultura Sostenible, el empleo de los biofertilizantes juega un papel importante según Altieri (1995), al aportar nutrientes al suelo y por tanto, a las plantas, lo cual determina el crecimiento, rendimiento del cultivo y la susceptibilidad a las enfermedades.

Dentro de las plantas medicinales el *Plecthranthus amboinicus*, L. conocido popularmente como "Orégano francés", de la familia Lamiaceae, constituye un potencial valioso para la fabricación de medicamentos, ha tomado gran importancia por presentar una amplia gama de principios activos en las hojas, encontrándose aceites esenciales, taninos, glucósidos (Acosta *et al.*, 1996).

Una de las alternativas agrícolas y de salud es precisamente la Agricultura Orgánica, de sustitución de insumos, o sea, un reemplazo de insumos agroquímicos tóxicos y caros por insumos alternativos (biofertilizantes) más benignos ambientalmente y de suma importancia por el aporte de nutrientes al suelo y por tanto a las plantas, lo cual determina mayor crecimiento, mejor rendimiento del cultivo y menos susceptibilidad a enfermedades (Altieri, 1995).

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

### **Problema de esta investigación es:**

Necesidad de aumentar la supervivencia en condiciones de vivero del cultivo *Plecthranthus amboinicus*, L. (Orégano Francés) como planta medicinal para suelo representativo en la producción de esta especie.

### **Objeto:**

Especie *Plecthranthus amboinicus*, L. (Orégano Francés)

### **Objetivo general:**

Determinar el comportamiento en altura, indicadores morfológicos del sistema radical, sustancias inorgánicas y eficiencia económica, a partir de la especie *Plecthranthus amboinicus*, L. en condiciones de vivero.

### **Objetivos:**

1. Evaluar la aplicación de Fosforina, Rhizobium más Fosforina y Humus de Lombriz en el comportamiento de la altura y morfología del sistema radical para la especie *Plecthranthus amboinicus*, L. en condiciones de vivero.
2. Determinar el efecto de los biofertilizantes objeto de estudio en la especie *Plecthranthus amboinicus*, L., a través de sustancias inorgánicas en el follaje y su eficiencia económica.
3. Determinar metabolitos secundarios en hojas y tallos para la especie *Plecthranthus amboinicus*, L. en condiciones de vivero.

### **Hipótesis:**

Si se estudia el efecto de la aplicación de los biofertilizantes, Fosforina, Rhizobium más Fosforina y Humus de lombriz, a través de la altura, morfología del sistema radical y sustancias inorgánicas para la especie *Plecthranthus amboinicus*, L., entonces, se podrá contribuir al aumento de la supervivencia y la obtención de estacas de mayor calidad para esta especie en condiciones de vivero.

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

### **CÁPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.**

#### **1. 1. Breve reseña histórica, del *Plecthranthus amboinicus*, L.**

Las plantas medicinales ocupan un lugar primordial entre las especies de gran importancia económica por el importante papel que desempeñan como fuente directa de medicamentos. Los tratamientos médicos hasta el siglo XIX se hacían por medios de extractos obtenidos naturales, pero los químicos comenzaron el análisis de algunas sustancias de las plantas medicinales y de esta forma se inició la industria terapéutica actual (García, 1996).

El *Plecthranthus amboinicus*, L., conocido como (Orégano francés), es nativo de las regiones tropicales de Asia Oriental y es cultivado desde hace muchos años en Cuba (Roig, 1974).

El *Plecthranthus amboinicus*, L., se encuentra distribuida en América Tropical; en Cuba se cultiva con frecuencia en el campo y la ciudad. Su cultivo se extiende a Puerto Rico, Islas Vírgenes, Jamaica, Haití, Santo Domingo, Antillas Menores y Venezuela (Roig, 1974).

#### **1. 2. Descripción del orégano francés.**

Es conocida comunmente como orégano francés otros nombres comunes: oreganón, orégano de la tierra, su nombre científico es *Plecthranthus amboinicus* L., sinónimos; *Coleus amboinicus* Lour., *Coleus aromaticus* Familia botánica: Lamiaceae (FITOMET ,1993).

Hierba perenne, suculenta, de hojas anchamente ovadas de bordes dentados, peciolo gruesos y flores violáceas en espigas terminales con fuerte olor característico a orégano de donde deriva su nombre común (Acosta ,1996).

Es una planta ramosa, fragante, de tallos angulosos y frágiles, que puede alcanzar hasta 1 m de altura, las hojas son carnosas, tomentosas en ambas caras, de base sub acorazonada y peciolo gruesos, sus flores con estambres de dinamos, declinados, filamentosos a veces unidos debajo, sus flores son bilabiales de color violáceo, se encuentran agrupadas en verticilos que forman espigas terminales (Acosta ,1996 y Fuentes, 1997).

Se cultiva con abundancia a escala doméstica en poblaciones rurales urbanas (FITOMET, 1993).

Este es un largo género que comprende cerca de 200 especies e innumerables híbridos pertenecientes al mismo; se distribuyen en regiones tropicales y sub-tropicales de Asia, África, Australia e Islas del Pacífico. En la India alrededor de 8 especies son registradas y cultivadas con propósitos ornamentales y comestibles. Algunas encontradas en México son usadas en mezclas con drogas sicotrópicas (Baslas, 1981).

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

### **1. 3. Principales atenciones culturales para el cultivo de *Plecthranthus amboinicus*, L., en condiciones de producción.**

Desde el punto de vista fisiológico, la especie es estéril en las condiciones de Cuba, por lo que se propaga de forma vegetativa mediante estacas de yemas terminales de alrededor de 20 cm de longitud, con 2 ó 3 nudos y de 2 a 3 pares de hojas, obtenidas de plantas madres de más de 4 meses de edad; se determinó que de éstas se pueden lograr aproximadamente unas 10 estacas por plantas. No es necesario establecer estaquilleros para su previo enraizamiento (FITOMET, 1993).

#### **1. 3. 1. Condiciones de cultivo.**

Época, distancia y forma de plantación por sus exigencias biológicas, la especie no requiere de una época específica del año para brotar y crecer, puede cultivarse durante todo el año. Las estacas de Orégano se plantan directamente en los surcos, a una distancia de 90 cm uno de otro equivalente a 27700 plantas/ha, a plena exposición solar, enterrándolas 2/3 de su longitud, colocadas de forma vertical a 40 cm una de otra (Acosta, 1996).

#### **1. 4. Composición química del *Plecthranthus amboinicus*, L.**

Los aceites esenciales son mezclas complejas de componentes orgánicos insolubles en agua que se encuentran distribuidos en el reino vegetal y son los principios aromáticos que existen en las diversas partes de las plantas (Bello, 1999).

Las hojas contienen aceites esenciales, azúcares reductores, fenoles, triterpenos y esteroides, flavonoides, principios amargos y aminos. La evaluación físico-química del aceite de las hojas arrojó que el principal componente era el carvacrol, el cual se considera uno de los responsables de su acción bacteriostática, se presenta con valores superiores al 40 % (Timor *et al.*, 1991).

La dinámica de acumulación arrojó que los mejores contenidos del aceite (0,30 % y 79,48 kg/ha) se presentan en el primer corte de las plantas de 5 meses de edad y que su principal constituyente, el carvacrol, se muestra en alta proporción 58,89 %, (Acosta, 1996).

#### **1. 4. 1. Otros compuestos identificados en los aceites esenciales.**

Plantea Haque, (1988) que el orégano Frances *Plecthranthus amboinicus*, L., en especies cultivadas en Pakistán determinados por cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masa, en el análisis se encontró: cariotileno (1,8 %), p-cimeno (1,0 %), tetrahidroxi verbenona (1,3 %), 4 terpinenol (2,9 %), terbutil anisol (1,3 %), timol (79,69 %).

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

Además se determinó por Timor, (1991) que en especies cultivadas en Cuba posee alfa terpinoleno (4,01 %), 1,8 cineol (8,72 %), salicilato de etilo. En especies cultivadas en Hungría: eugenol (8,4 %) (Brieskorn, 1977).

En especies cultivadas en México se refiere la presencia de vitaminas como B-1 (tiamina), B-2 (riboflavina) y C (ácido ascórbico) (Morton, 1992).

### **1. 5. Usos populares.**

En la medicina tradicional se emplea la decocción de las hojas frescas como broncodilatador, expectorante en ronqueras y catarrros en general, como digestivo; en dolores de oídos se utilizan las hojas salteadas en aceite. Se plantea en la India que el jugo de las hojas tiene propiedades específicas contra el cólera (Fuentes, 1997).

Se emplea como antiepiléptico en la medicina Tradicional Vietmanita (Roig ,1974).

Las extracciones con agua caliente de las partes aéreas de la planta son utilizadas en Asia en el tratamiento de asma, tos crónica, epilepsia y otras afecciones convulsivas siendo administrada por vía oral (Asprey, 1955).

En la India el jugo de las hojas de Orégano francés secadas a vapor y combinada con otras plantas medicinales es administrado por vía oral en el tratamiento de enfermedades digestivas y fiebres en niños (John, 1984).

En Cuba es muy utilizado como condimento, remedios caseros y fines ornamentales (Acosta, 1996).

### **1. 6. Principios de Agricultura Sostenible en las producciones agrícolas en viveros**

La actividad del hombre con el uso de prácticas agrícolas intensivas basadas en altos insumos conducen a la degradación de los recursos naturales, erosión hídrica y eólica de los suelos, disminución de la capacidad de retención de humedad, salinización, contaminación con pesticidas, desertificación, pérdida de la biodiversidad, reducciones progresivas de la productividad y la pérdida de rendimientos por plagas en muchos cultivos, lo cual afecta el funcionamiento de los ecosistemas agrícolas y promueve una crisis ambiental (Pimentel, 1980).

La producción sostenible se deriva del balance apropiado del suelo, cultivos, nutrientes, luz solar, humedad y de sinergismos entre organismos existentes. El agroecosistema es productivo cuando este balance y las condiciones óptimas prevalecen y, cuando las plantas cultivadas son adaptables para tolerar el estrés y la adversidad (Edwards, 1993). El uso de biofertilizantes, bioplaguicidas y otros productos naturales como los biorreguladores del crecimiento, permiten mitigar los efectos

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

provocados por los cambios ambientales y el estrés hídrico en los cultivos agrícolas (Villalba y Joaquín, 1993).

### **1. 6 .1. Importancia del cultivo en vivero.**

Lazo, (1999) refiere que el cultivo en vivero es una técnica de cultivo establecida en canteros (camas o barbacostas) sobre sustratos preparados con mezclas de materia orgánica y capa vegetal de suelo, con buen drenaje y protegidos contra corrientes de agua y vientos.

Su construcción puede hacerse cerca a áreas de consumo con bloque, postes de concretos, piedras, tablas de maderas, troncos, etc., para lo cual se debe remover el suelo de 25 – 30 cm y emplear una capa de grava de cinco cm. en el fondo del cantero o hacer un corte en “V” en la base del mismo, la pendiente no debe ser mayor al 1 %, para evitar la erosión. Los canteros se orientaran en sentido norte a sur, con las siguientes dimensiones: Altura: de 10 a 15 cm, ancho: de 1, 20 m., largo: no mayor de 40 m., y pasillos: de 0, 50 m.

Ricaurte, (2008), menciona que la materia orgánica a emplear está en dependencia de la fertilidad del suelo, a razón de 10 Kg./m<sup>2</sup> (100 t/ha), constituida entre el 50 y 70 % por diferentes mezclas de origen animal y vegetal (estiércol de Gallinaza, Humus, Cachaza y otros), al cual se adicionará del 15 al 20 % de concha de arroz, concha de café, aserrín, turba u otros. Un metro lineal de cantero, con dimensiones (1, 00 X 1, 20 X 0, 30 m), requiere 0, 36 m<sup>3</sup> de sustrato (0, 18 – 0, 25 m<sup>3</sup> de materia orgánica y 0, 18 – 0, 11 m<sup>3</sup> de suelo).

La fertilidad del sustrato y el suelo se puede mantener de la siguiente forma: Aplicación de enmiendas orgánicas y Prácticas fitotecnias. Las enmiendas orgánicas se realizan adicionando materia orgánica cada 2 o 3 cosechas, fraccionada las dosis, hasta que se alcance como mínimo 10 Kg/m<sup>2</sup> al año (Lazo, 1999 y Ricaurte, 2008).

### **1. 6. 2. El Sustrato**

Pastor (2004), refiere que el sustrato es todo material sólido distinto del suelo, natural, de síntesis o residual, mineral u orgánico, que, colocado en un contenedor, en forma pura o en mezcla, permite el anclaje del sistema radical de la planta y puede intervenir o no en el proceso de nutrición mineral de la planta. Canovas *et al.*, (2000) indica que las condiciones físicas del suelo del campo no son iguales a las existentes en invernadero o cultivos organopónicos. Alvarado y Solano (2002) mencionan que ningún medio es perfecto para todas las plantas y condiciones de crecimiento, puesto que las diferentes especies de plantas y esquejes varían en sus necesidades.

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

Los sustratos son obtenidos a partir de mezclas de diferentes componentes orgánicos (Pastor, 2004). Los materiales utilizados son muchos y no siempre han respondido positivamente desde el punto de vista técnico y económico. Existe un elevado número de materiales aptos para la formación de sustratos, de los cuales, los más conocidos son: Las turbas, los residuos forestales (hojas, aserrín y cortezas), las arenas, los materiales sintéticos (perlita, vermiculita, lana de roca, poliestireno), estiércoles, mantillos, tierra vegetal, y otros (Calderón y Cevallos, 2003).

Alvarado y Solano, 2002 refiere que para obtener buenos resultados se requiere que un sustrato tenga las siguientes características:

- 1) Ser denso y firme, que sostenga las plantas o estacas durante la germinación o el enraizamiento.  
Su volumen debe ser constante tanto si está húmedo como seco.
- 2) Retener suficiente humedad, para que el riego no sea muy frecuente.
- 3) Poroso con buen drenaje para facilitar la entrada de oxígeno a las raíces.
- 4) Bajo contenido de sales.

### **1. 7. Importancia de los biofertilizantes.**

El estado nutritivo influye de manera determinante en la resistencia al estrés y a las enfermedades de las plantas, estando presente en todos los procesos fisiológicos que determinan la morfología final de la planta (Rook, 1991).

Plantea Fernández, (1995), que el mayor efecto de los microorganismos en los biofertilizantes se debe a la estimulación que producen los mismos en las raíces, aumentando el sistema radical, lo que posteriormente implica un incremento general de las plantas en condiciones de campo.

Vázquez y Torres, (1995) plantean que el fósforo es un elemento constituyente del protoplasma y el segundo elemento de importancia para el crecimiento de los vegetales.

El incremento de la población mundial sin precedente, constituye uno de los importantes desafíos que enfrenta la humanidad y la agricultura.

1. El agotamiento de la energía fósil, no renovable, que se ha convertido en un factor limitante para lograr aumentos de los rendimientos agrícolas, donde solo para producir industrialmente los 77 millones de toneladas que se aplican en el mundo como fertilizante nitrogenado, requieren anualmente 100 millones de Tm de combustible, lo que resulta totalmente insostenible (Bokman, 1997).

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

2. Esta insostenibilidad se acrecienta si se toma en cuenta que en el año 2020 se requieren 160 millones de toneladas de fertilizante nitrogenado para la producción de cereales (Dyson, 1996).
3. El uso de los “biofertilizantes” para, entre otras cosas, lograr reducir las dosis de fertilización mineral recomendadas a los cultivos y establecer un equilibrio biológico en los suelos, capaz de potencializar la activación microbiana en la fijación simbiótica del nitrógeno, en la solubilización del fósforo, en la disponibilidad de diversos nutrientes y en la producción de sustancias activadoras del crecimiento vegetal en determinados estadios de su desarrollo (Martínez *et al.*, 1995).
4. En Cuba desde hace un par de años se aplican crecientemente cinco tipos de biofertilizantes (azobacter, azospirillum, fosforina, micorrizas y rhizobium), preparados estos que contienen células vivas o latentes de cepas microbianas, eficientes en ejercer funciones multipropósitos en el suelo, beneficiadoras para los cultivos agrícolas. Además se ha desarrollado la lombricultura y los bioplaguicidas, donde a partir de 1988 se pone en práctica un plan nacional para la reproducción y aplicación de estos medios biológicos en la agricultura, ya que la importación de fertilizantes y plaguicidas químicos era aproximadamente de 40 millones de dólares, lo cual se hacía insostenible para la economía, como también era perjudicial para el medio ambiente y los consumidores (FAO ,1992).

### **1. 8. Importancia del humus de lombriz.**

Los primeros resultados obtenidos, como informaron Hernández *et al.*, (1989); Caballero *et al.*, (1989) y Pérez *et al.*, (1989) fueron alentadores e indicaron una tendencia general a que cantidades de entre 2 y 4 t/ha de humus pudieran disminuir la aplicación de una parte del fertilizante mineral y el abono orgánico empleado en los cultivos de acuerdo a las normás agroquímicas establecidas.

#### **1. 8. 1. Características del humus de lombriz.**

Es el fertilizante orgánico por excelencia. Se trata del producto que sale del tubo digestor de la lombriz, es un material de color oscuro, con un agradable olor a mantillo de bosque, es limpio, suave al tacto, de gran bioestabilidad que evita su fermentación o putrefacción. Contiene una elevada carga enzimática y bacteriana que aumenta la solubilización de los nutrientes haciendo que puedan ser inmediatamente asimilables por las raíces, impide que estos sean lavados por el agua de riego manteniéndolos por más tiempo en el suelo. Influye de forma efectiva en la germinación de las semillas y en el desarrollo de las plántulas. (MINAGRI, 2003).

El lombricompost aumenta notablemente el porte de las plantas, árboles y arbustos en comparación con otros ejemplares de la misma edad. Durante el transplante previene enfermedades y evita el



## **TRABAJO DE DIPLOMA**

shock por heridas o cambios bruscos de temperatura y humedad. Se puede usar sin inconvenientes en estado puro y se encuentra libre de nematodos, favorece la formación de micorrizas. Aumenta la resistencia de las plantas a enfermedades y agentes patógenos. Inhibe el desarrollo de bacterias y hongos que afectan las plantas. Su pH neutro lo hace sumamente confiable para ser usado con plantas delicadas. Debido a su pH neutro y otras cualidades favorables aporta y contribuye al mantenimiento, desarrollo y diversificación de la microflora y microfauna del suelo (MINAGRI, 2003).

El humus de lombriz es de 5 a 6 veces más fértil que el estiércol común, tiene valores fitohormonales que estimulan los procesos biológicos de la planta, Estos agentes reguladores del crecimiento son, auxinas que provocan el alargamiento de las células de los brotes, incrementan la floración, la cantidad y tamaño de los frutos, giberelinas que favorece el desarrollo de las flores, la germinabilidad de las semillas y aumenta la dimensión de algunos frutos, y las citoquininas mismas que retardan el envejecimiento de los tejidos vegetales, facilita la formación de tubérculos y la acumulación de almidones en ellos (MINAGRI, 2003).

### **1. 9. Importancia del Rhizobium y su empleo en cultivos agrícolas.**

Este biopreparado conocido por el nombre de nitragina, surge por primera vez en la antigua URSS, donde conjuntamente con otros biofertilizantes permitieron que fueran tratados más de 35 000,000 de ha cultivadas, observándose efectos beneficiosos en un 50-70% de los cultivos sometidos a experimentación, con incrementos de la producción entre un 10-20% (Suárez *et al.*, 1994).

En zonas cultivadas la asociación del Rhizobium - leguminosas son las fuentes significativamente más importantes de nitrógeno fijado. En estos sistemas agrícolas los promedios de fijación de nitrógeno son del orden de 100 kg de N/ha en año sin embargo es posible obtener niveles de 200 kg de N/ha/año mediante una selección adecuada de cepas de Rhizobium de variedades apropiadas de plantas hospederas y en condiciones de cultivo convenientes (La casa, 1990).

En la actualidad, el Instituto de Suelos de Cuba (1998), ha realizado diversas investigaciones en este sentido y ha logrado seleccionar un grupo de cepas nativas de este microorganismo en todos los tipos genéticos de suelos de las 14 provincias y la Isla de la Juventud obteniendo como resultado una cepa para cada región con capacidad para satisfacer entre el 75 y el 80 % de las necesidades de nitrógeno.

En los cultivares de soya, maní y garbanzo a pesar de la escasa información sobre sus requerimientos nutricionales en asociación simbiótica con Rhizobium se han obtenidos altos

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

rendimientos donde la inoculación y bajas dosis de nitrógeno de arranque (30 kg de N/ha) más una adecuada disponibilidad de P y Mo son necesarias bajo condiciones locales, no diferenciándose significativamente con la aplicación de 150 kg/ha de N, no afectándose de forma general los parámetros altura, número y peso de las vainas, biomasa, entre otras, al reducir hasta un 70 % la dosis de fertilizante nitrogenado (FAO ,1985).

El Instituto de Suelos de Cuba (1998) recomienda de forma general, según investigaciones realizadas, con *Rhizobium* la inoculación con dosis de 750 g de producto por saco de semilla (16,3 g/ha de semilla) en el momento de la siembra, donde se mezclarán ambos en una manta de polietileno en un lugar fresco y sombreado añadiendo agua de tal forma que el bioproducto quede impregnado en la testa del grano.

### **1. 10. Importancia del uso de la fosforina.**

Es un biopreparado a base de varios tipos de cepas de microorganismos (bacterias, hongos y actinomicetos) que tienen la principal función de solubilizar las formas insolubles de fósforo en los suelos y ponerlas a disposición de las plantas, principalmente en los suelos ácidos. Además contiene cepas como la *Pseudomona Sp*, capaz de producir sustancias con una actividad auxínica, giberélica y citoquinínica, haciendo que el mismo, además de su efecto fundamental, tenga un marcado efecto estimulador en el desarrollo vegetativo (Oliva *et al.*, 1993).

En Cuba, el Instituto de Suelos, investigó a través de la selección, purificación e identificación de cepas microbianas provenientes de diferentes tipos de suelos cubanos, las más promisorias, las de mayor eficiencia y efectividad para la solubilización de los fosfatos insolubles. Los microorganismos aislados pertenecieron a los tres grandes grupos, bacterias, hongos y actinomicetos. Las bacterias aisladas pertenecieron a los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterias*, *Arthrobacter* y *Acinetobacter*, fundamentalmente, mientras que en los hongos predominaron los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Paecelomices*.

La Fosforina, (Martínez *et al.*, 1995), es un inoculante microbiano obtenido a partir de la reproducción aeróbica de la rizobacteria (*Pseudomona sp.*), el cual ha sido probado en diferentes tipos de suelos y cultivos con resultados satisfactorios en los rendimientos de las cosechas y la disminución parcial de la fertilización mineral fosfórica (Instituto de Suelos, 1998).

Además tienen la capacidad de producir sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal como auxinas, giberelinas y citoquininas (Oliva *et al.*, 1993).

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

### **CAPÍTULO II. MATERIALES Y MÉTODOS.**

#### **2. 1. Ubicación geográfica.**

El experimento se realizó en La Empresa de Cultivos Varios de Pinar del Río, en áreas de la Finca Provincial de Plantas Medicinales “La Quinta”, ubicada en el kilómetro ocho de la carretera a Viñales, en la provincia Pinar del Río, Cuba.

#### **2. 2. Clasificación de suelos, propiedades químicas y físicas del área donde se realizó el experimento en condiciones de vivero para el cultivo *Plecthranthus amboinicus*, L.**

##### **2. 2. 1. Clasificación genética del suelo.**

Según Clasificación Genética de los Suelos de Cuba (Hernández *et al.*, 1975) pertenece al agrupamiento aluvial, tipo aluvial, género materiales transportados arcillosos generalmente, especie medianamente profunda, Textura Loam Arenoso. Teniendo en cuenta la nueva versión de clasificación genética pertenece al agrupamiento Fluvisol (Hernández *et al.*, 1994).

Se realizó un análisis edáfico representando el área de estudio en el cual se motó el experimento. Se tomaron cuatro muestras de suelo a una profundidad de 0 - 20 cm para para el área total, se obtuvo una mezcla homogénea y se analizaron las propiedades mediante la caracterización química y física de las muestras.

##### **2. 2. 2. Caracterización química del suelo.**

La caracterización química se realizó en el Laboratorio de Suelos perteneciente al Ministerio de la Agricultura, Pinar del Río, mediante:

- Determinación del grado de acidez del suelo (pH) por el Método del Potenciómetro (Norma Ramal, 1976).
- Determinación de las formas móviles de fósforo y potasio por el Método de Oniani (Norma Ramal, 1976).
- Determinación del porcentaje de materia orgánica. Mediante Walkey – Black, según la Norma Cubana 51 (1999).
- Determinación de los cationes intercambiables (Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>), por el Método de Schachtschabel por Fotometría de llama (Norma Ramal, 1976).
- Determinación de los cationes Mg<sup>2+</sup> y Ca<sup>2+</sup> y capacidad de intercambio catiónico (valor T) por el Método de Schachtschabel por valoración con EDTA en medio básico, según Norma Ramal, (1976).

## TRABAJO DE DIPLOMA

Los resultados obtenidos al iniciar la investigación indican que el suelo es ligeramente ácido, su contenido de fósforo es bajo, el contenido de potasio es medio, la materia orgánica es muy baja, con 0,55 y la capacidad de intercambio catiónico es muy baja (Tabla 1).

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas del suelo al inicio de la investigación.

Propiedades Físicas			Propiedades Químicas								
Densidad Aparente (g/ cm <sup>3</sup> )	Densidad Real (g/ cm <sup>3</sup> )	Porosidad (%)	PH (KCL)	Mg/ 100g de Suelo		MO (%)	Mg/100g de suelo				
				P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O		Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	T
1,43	2,75	48	5,50	20,84	16,26	0,55	3,20	0,57	0,05	0,20	5,27

### 2. 2. 3. Caracterización física del suelo.

La caracterización física del suelo se realizó en el Laboratorio de Suelos de la Universidad de Pinar del Río a través de los métodos establecidos por MINAGRI (1984) y se calculó la densidad real y aparente por la fórmula descrita por Fraguela *et al.*, (1986).

#### 2. 2. 3. 1. Método del picnómetro para la determinación de la densidad real.

La densidad de la fase sólida se calcula por la fórmula descrita por (Fragueta *et al.*, 1986):

$$D = \frac{A}{(B + A) - C}$$

donde: A: peso de la muestra de suelo seco en g.

B: masa del picnómetro con agua en g.

C: masa del picnómetro con agua y suelo en g.

$$A = \frac{a * 100}{100 + W}$$

donde: a: muestra de suelo (g) y W: humedad higroscópica.

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

### **2. 2. 3. 2. Método del cilindro para determinar densidad aparente.**

La misma fue determinada a través de la fórmula descrita por (Fraguela *et al.*, 1986):

$$Da = \frac{m}{v}$$

donde: m: masa de suelo seco en g

v: volumen de cilindro en cm<sup>3</sup>

$$V = \pi * r^2 * h$$

donde:  $\pi = 3.1416$

R: radio del cilindro.

H: altura del cilindro.

Teniendo calculada ambas densidades se procedió a calcular la porosidad total:

$$P_{Total} = \left(1 - \frac{da}{dr}\right) * 100$$

donde:

da: densidad del suelo.

dr: densidad de la

Se aprecia que la densidad aparente es de 1, 43 g / cm<sup>3</sup> es media para este tipo de suelo arenoso, la densidad real o peso específico se encuentra en un valor muy bajos de 2, 75 g/cm<sup>3</sup> (Tabla 1).

### **2. 3. Experimento y metodología experimental.**

En este experimento se estudia la influencia de la aplicación de biofertilizantes (fosforina, la combinación de fosforina más rhizobium y el efecto de la aplicación de humus de lombriz) en condiciones de vivero en un sustrato mezclando suelo con materia orgánica a una proporción aproximadamente de 60 % de suelo y un 40 % materia orgánica en cada uno de los canteros a utilizar.

El experimento se condujo en el mes de marzo del año 2010 realizándose la plantación el día primero del propio mes hasta el 15 de abril del año 2010 en condiciones de vivero con un tiempo de

## TRABAJO DE DIPLOMA

duración de 45 días.

Para la plantación se utilizó tres canteros de 13,5 m de largo por 1 m de ancho, para un área total de 54 m<sup>2</sup>, además de estacas de 15 cm de longitud obtenidas de las partes terminales de las plantas y realizándole un corte oblicuo en la parte inferior de la misma, deshojando un tercio del follaje (Anexo 1).

Se realizó un análisis foliar al follaje del material inicial en cuanto a los contenidos de (N, P, K, Ca y Mg), como el contenido de materia seca (Tabla 2).

Tabla 2: Análisis foliar del material a utilizar en la plantación de vivero para *Plecthranthus amboinicus*, L. (%)

Material Inicial	N	P	K	Ca	Mg	Materia seca
Hojas	1,1	0,55	1,35	1,14	0,70	80

Posteriormente se realizó la plantación en condiciones de vivero en cuatro hileras a una distancia de 10 x 10 cm (Acosta, 1993).

Para la distribución del experimento en condiciones de vivero se utilizó un diseño de bloques al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones para un total de 3 parcelas con las siguientes características (Anexo 1).

- ❖ Largo de parcela.....3.0 m
- ❖ Ancho de parcela.....1.0 m
- ❖ Superficie de parcela..... 3.0 m<sup>2</sup>
- ❖ Distancia entre parcelas..... 0.5 m
- ❖ Número de plantas total de experimento..... 240
- ❖ Número de plantas a analizar/parcela.....10 plantas para un total de 60 plantas por tratamientos

Los tratamientos utilizados fueron los siguientes.

- ❖ Testigo absoluto (sin la aplicación de biofertilizantes).
- ❖ Humus de lombriz, dosis de 900 g/m<sup>2</sup>
- ❖ Fosforina dosis de 2 g/ m<sup>2</sup>
- ❖ Fosforina más Rhizobium dosis de 50 g/m<sup>2</sup>

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

### **2. 4. Metodología del montaje.**

Los biofertilizantes se aplicaron manualmente de forma localizada en el momento de la plantación para cada uno de los tratamientos, realizando las pesadas en una balanza digital BL500 (Sartorius)

### **2. 5. Mediciones y observaciones.**

Se realizaron las siguientes mediciones a 10 plantas por parcelas tomadas al azar.

- Altura de la planta.
- Diámetro del cuello de la raíz.
- Número de raíces primarias y secundarias.
- Volumen del sistema radical.
- Contenido de masa verde y seca del sistema radical.
- Análisis foliar.

Las mediciones se realizaron cada 15 días en condiciones de vivero para el cultivo de *Plecthranthus amboinicus*, L, con un total de tres mediciones las cuales se realizaron de la siguiente forma para cada uno de los parámetros.

1. Altura: Se midió desde la superficie del suelo hasta la yema apical.
2. Diámetro del cuello de la raíz. Se utilizó el pie de rey con error de 0.05 mm.
3. Número de raíces primarias y secundarias. Se realizó mediante el conteo de las mismas.
4. Volumen del sistema radical. Se realizó utilizando una probeta graduada de 100 ml, la cual de llenó de agua y se calculó a través del desplazamiento del líquido.
5. Masa verde y seca del sistema radical. Se determinó a través del peso en una balanza analítica digital con error de 0.01 mg al igual que la masa seca.
6. Para el análisis foliar se tomó una muestra del follaje seleccionando de 10 plantas por tratamientos. Este fue lavado y secado en una estufa a una temperatura de 30 a 35 °C posteriormente fueron molidas y pasadas por un tamiz de 0,05 mm. Se le determinó macronutrientes primarios y secundarios como: N, P, K, Ca y Mg (MINAGRI, 1983).

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

### **2. 6. Valoración económica.**

Se realizó la valoración económica de la investigación a partir de los costos de los biofertilizantes utilizando humus de lombriz, fosforina, Rhizobium más fosforina, además de los análisis foliares que se determinaron para cada uno de los tratamientos, demostrando su factibilidad económica.

Para determinar el costo de los biofertilizantes se tuvo en cuenta:

La cantidad plantas para una hectárea, con un total de 39,285 plantas incluyendo el 10% por concepto de pérdida para un marco de plantación de 0,70 m de camellón por 0,40 de narigón. Es necesario utilizar 3 canteros para garantizar la cantidad de posturas para una hectárea; además se calculó los costos para cada uno de los biofertilizantes:

- ❖ Para el humus de lombriz se tuvo en cuenta la cantidad de este biofertilizante siendo de 160 Kg para los 3 canteros y se calculó en función de una tonelada de humus que cuesta 56,35 pesos.
- ❖ En el caso de la fosforina se siguió la misma metodología teniendo en cuenta que se aplicó 2 g de fosforina por m<sup>2</sup> y cuesta \$ 9,33 necesitando una dosis de 312 g para los 3 canteros.
- ❖ Para el biopreparado de Rhizobium más fosforina se tuvo en cuenta que un Kg cuesta \$ 10,00 para una dosis de 50 g/ m<sup>2</sup> (anexo 2)
- ❖ Para los análisis foliares se realizaron determinaciones (N, P, K, Ca, y Mg) con un valor de \$ 9,79 por muestras, realizando tres muestras para cada uno de los tratamientos con un total de 12 muestras en la investigación.

### **2. 7. Tamizaje fitoquímico de metabolitos secundarios.**

El material vegetal colectado es depositado en bandejas y se tritura finamente a tamaño de partícula 0,8 µ (Nogueira y Spengler, 1994).

#### **2. 7. 1. Preparación de la muestra.**

Se realiza el análisis del material vegetal en verde de hojas y tallos del cual, se pesa 10 g y se macera con 100 ml de éter dietílico, se filtra y el residuo vegetal se macera con 100 ml de etanol y posteriormente con 100 ml de agua destilada.

Las maceraciones se realizan por espacio de 48 h. Los solventes de cada maceración se concentran por separado a presión reducida hasta un volumen de 50 ml y en cada extracto se identifican los metabolitos secundarios, utilizando las reacciones químicas mediante la Guía para



## **TRABAJO DE DIPLOMA**

tamizaje fitoquímico (Nogueira y Spengler, 1994).

### **2. 7. 2. Extracto etéreo.**

Se concentra a sequedad cada una de las fracciones y se llevan a cabo los ensayos: Dragendorff y Mayer (alcaloides), de Baljet (cumarinas) y de Sudán III (ácidos grasos).

### **2. 7. 3. Extracto etanólico.**

El extracto etanólico se utiliza para los ensayos: Resinas, Liebermann- Burchard (triterpenos y/o esteroides), Espuma (saponinas), Nihidrina (aminoácidos libres), Dragendorff y Mayer (alcaloides), Baljet (cumarinas), Kedde (glicósidos cardiotónicos), Fehling (carbohidratos reductores), Cloruro férrico (fenoles y/o taninos), Borntrager (quinonas), Shinoda (flavonoides) y Antocianidinas.

### **2. 7. 4. Extracto acuoso.**

El extracto acuoso se utiliza para los ensayos: de Espuma (saponinas), de Fehling (carbohidratos reductores), de Shinoda (flavonoides), de Cloruro férrico (fenoles y/o taninos), de Dragendorff y Mayer (alcaloides), de Principios amargos y de mucílagos.

### **2. 7. 5. Procesamiento estadístico.**

Las mediciones y observaciones realizadas fueron sometidas a un análisis de varianza de clasificación doble sobre un diseño de bloques al azar, el cual fue utilizado siempre y cuando hubieran diferencias entre los bloques, de lo contrario, se analizó sobre un diseño completamente aleatorizado buscando el aumento de la precisión de los cálculos, Todo se realizó basado en las asunciones de ANOVA esencialmente la normalidad según (Kolmogorou - Smirnov) y la homogeneidad de varianza según la prueba de Bartlett.

Las pruebas de comparaciones de medias utilizadas fueron para los datos que cumplieren la normalidad y homogeneidad de varianza (DUNCAN) con un  $p < 0.05$ , y si no se cumplieron, entonces la prueba de S N K. Todo el procedimiento estadístico se realizó según Sigarroa, (1995).

### **CAPÍTULO III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.**

#### **3. 1. Influencia de la aplicación de los biofertilizantes en el crecimiento en altura y diámetro del cuello de la raíz para el cultivo de *Plecthranthus amboinicus* L. en condiciones de vivero.**

En las figuras 1 y 2 se presentan los parámetros de altura de la planta y diámetro del cuello de la raíz para el cultivo de *Plecthranthus amboinicus*, L. reaccionado con el efecto de la aplicación de los biofertilizantes.

No existen diferencias significativas para estos indicadores, tomando una altura las estacas en un rango entre 11, 7 cm a 12, 8 cm para este parámetro. Con relación al diámetro del cuello de la raíz osciló entre 7, 02 mm y 7, 2 mm para los tratamientos estudiados.

Es decir, que con la aplicación de Rhizobium más Fosforina, Humus de Lombriz y Fosforina por separado no se aprecia influencia en las variables estudiadas el crecimiento en altura, ni engrosamiento en cuanto al diámetro del cuello de la raíz con relación al testigo donde no se aplicó estos biofertilizantes, teniendo en cuenta que la longitud del material de siembra utilizado fue de 15 cm de longitud, plantado a una profundidad de 2, 5 a 3 cm.

Este resultado puede deberse, a que durante los primeros estadios del ciclo del cultivo estuvo favorecido por la mezcla del sustrato utilizado y las características que presentan estos biofertilizantes que poseen microorganismos que actúan sobre el suelo y las plantas lo que le permitió desarrollar su sistema radical y preparar a la planta para su desarrollo foliar. Mirabal, *et al.*, (1990), plantea que la estructura del terreno o sustrato es un factor de gran importancia para el desarrollo del sistema radical, ya que le permite absorber con mayor facilidad los nutrientes, de este modo, actúa como organizador de la fertilidad. Sánchez (2003), menciona que esta especie, dada sus características fisiológicas, es una planta anual y durante su primera etapa del ciclo biológico el crecimiento vegetativo es lento.

Estos resultados no coinciden con lo planteado por Pascual *et al.*, (1993) donde expone que la inoculación de la fosforina en postura de café en condiciones de vivero, demuestra la efectividad de estos microorganismos en su desarrollo en cuanto a: altura, diámetro del cuello de la raíz, los pares de hojas y área foliar. Además no hubo correspondencia con lo planteado por Alardo *et al.*, (1993) con la aplicación del biofertilizante fosforina para postura de cítrico en la fase de vivero en cuanto a altura y diámetro, así como en el crecimiento y desarrollo, fueron sobresalientes las plantas inoculadas con fosfobacterias y microorganismo estimuladores del crecimiento vegetativo, además de lo planteado por Aguilar *et al.*, (1995), que cuando se combina la fosforina con otros

## TRABAJO DE DIPLOMA

biofertilizantes en suelos aluviales manifiesta un efecto positivo en el diámetro del tallo de la planta de cacao en condiciones de vivero.

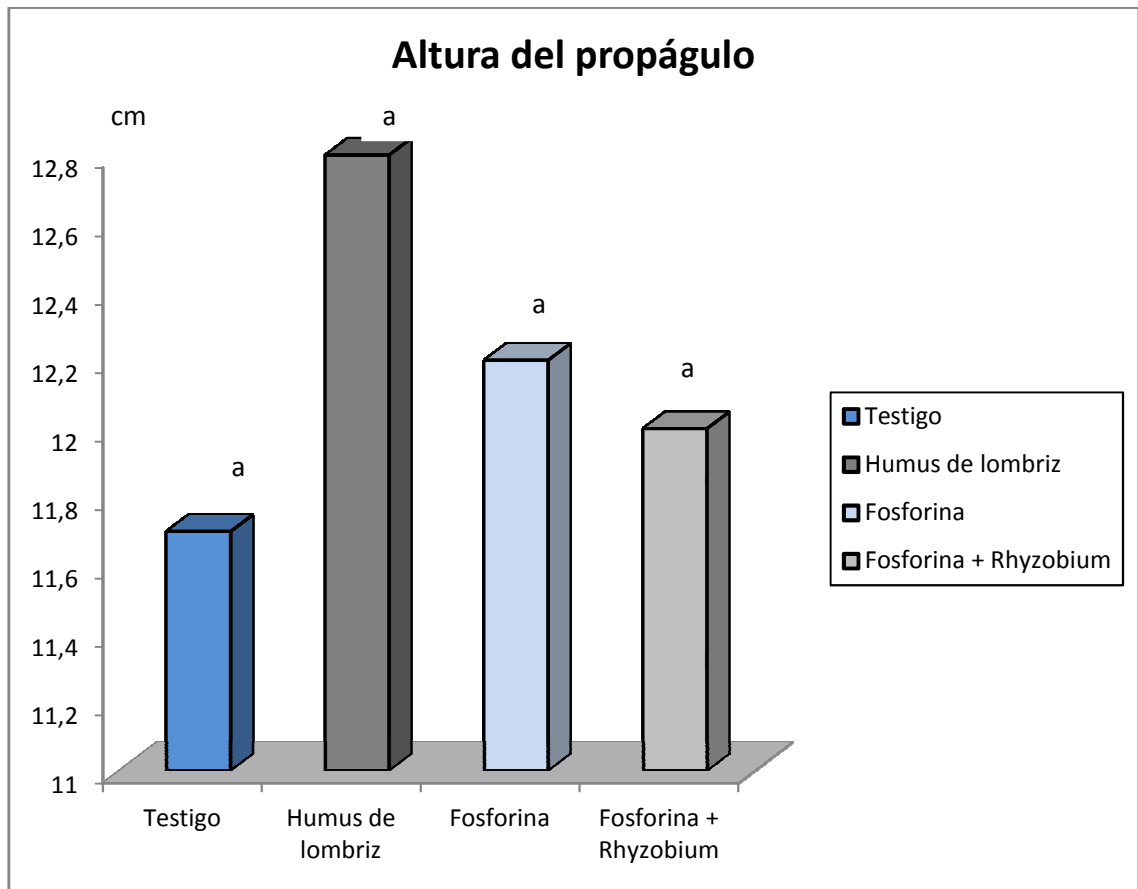


Figura 1: Influencia de los tratamientos en la altura de las plántulas en condiciones de vivero para el *Plecthranthus amboinicus*, L.

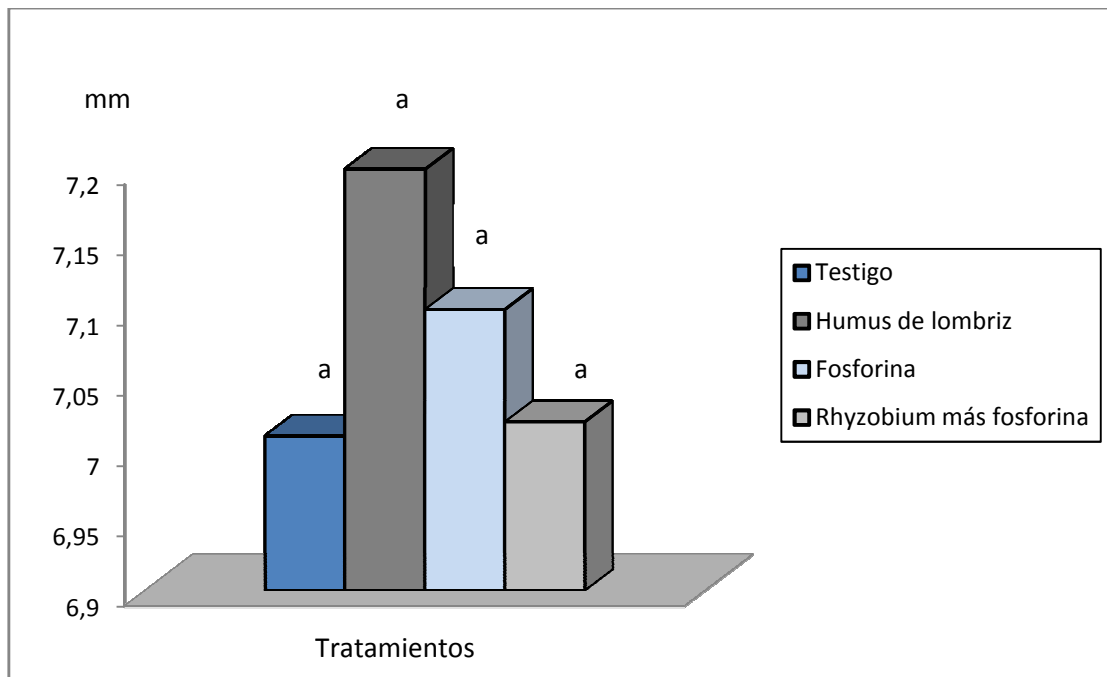


Figura 2: Efecto de los tratamientos en el diámetro del cuello de la raíz tallo para el Orégano francés en condiciones de vivero.

### **3. 2. Influencia de los tratamientos en el número de raíces primarias y secundarias en condiciones de vivero para el orégano francés.**

En la figuras 3 y 4 se aprecia que existen diferencias significativas entre los tratamientos estudiados tanto en el número de raíces primarias, como secundarias. Siendo el mejor tratamiento donde se aplicó humus de lombriz con una dosis de 900 g/m<sup>2</sup> con un número de raíces primarias de 29 raíces y en el caso de las secundarias de 16 raíces a los 45 días del establecimiento del vivero, seguido por los tratamientos donde se aplicò Fosforina más Rhizobium y Fosforina por separado con un número de raíces primarias de 23 y 21, no presentando diferencias significativas para este indicador. Con relación al número de raíces secundarias se observa que el segundo tratamiento de mejor resultado correspondió cuando se aplicó Fosforina con un número de raíces de 12 presentando diferencias significativas con la mezcla de Rhizobium más Fosforina con 9 raíces secundarias. El testigo fue el de peor comportamiento en cuanto a estos indicadores.

Con la aplicación de humus de lombriz hubo mayor desarrollo de las raíces primarias para la especie de orégano francés desde los 15 días de realizada la plantación hasta los 45 días en condiciones de vivero, presentando también un mayor número de raíces secundarias lo cual puede estar influenciado por un mayor desarrollo de los microorganismos beneficiosos cerca de la risósfera con la mezcla del fertilizante orgánico empleado y con la aplicación del humus de lombriz, logrando un mayor intercambio entre los microorganismos del suelo y los presentes con la aplicación de estos

## TRABAJO DE DIPLOMA

biofertilizantes, permitiendo un mayor desarrollo en cuanto a raíces primarias y secundarias fundamentalmente, coincidiendo con lo planteado por Sivori (1980) y Pastor (2004).

Además estos resultado coinciden con La casa, (2009) que plantea que el humus de lombriz puede reemplazar en su totalidad a los fertilizantes químicos, con la ventaja que la carga bacteriana que posee recupera plenamente a los suelos por infértiles que hayan sido.

Igualmente plantea CLADES, (2005) que el efecto colateral de una sobre dosis de humus de lombriz no quema ninguna planta, ni siquiera las más tiernas y reduce el estrés inevitable que sufren las plantas al transplantarlas al terreno.

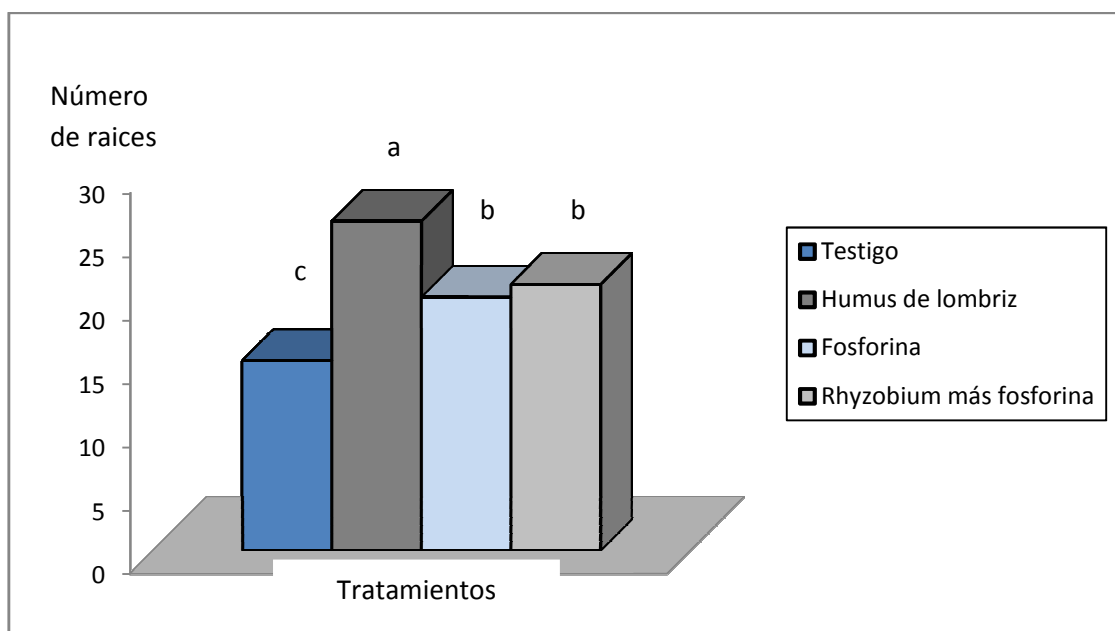


Figura 3: Efecto de los tratamientos a los 45 días con relación al número de raíces primarias para el *Plecthranthus amboinicus L.* en condiciones de vivero.

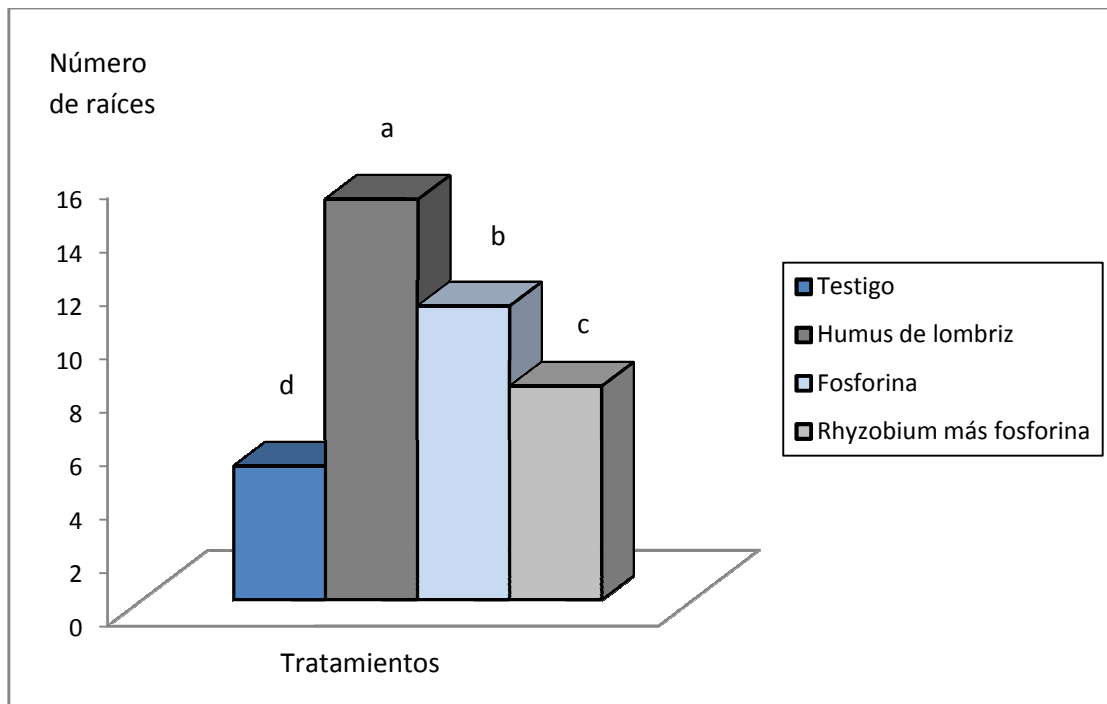


Figura 4: Efecto de los tratamientos a los 45 días con relación al número de raíces secundarias para el *Plecthranthus amboinicus L.* en condiciones de vivero.

### **3. 3. Influencia de los tratamientos en el volumen del sistema radical de *Plecthranthus amboinicus L.* en condiciones de vivero.**

Con relación al volumen del sistema radical para el orégano francés en condiciones de vivero se observa que existen diferencias significativas en cuanto a los tratamientos estudiados siendo el de mejor comportamiento para este parámetro el Humus de Lombriz con volumen del sistema radical de 1,4 ml con relación al desplazamiento del agua, seguido del tratamiento donde se aplicó Fosforina con volumen de 1,01 ml. (Figura 5.).

En relación al biopreparado Rhizobium más Fosforina fue el tercer tratamiento de mejor comportamiento con volumen de 0,90 ml. El tratamiento de peor comportamiento correspondió al testigo.

Con la aplicación de humus de lombriz se obtuvo un mayor volumen del sistema radical dado por un mayor número de raíces primarias y secundarias para este tratamiento, siendo más efectivo, permitiendo un mayor desarrollo del sistema radical y por lo tanto, un mayor anclaje de la planta, así como posturas de alta calidad para trasplante.

Además el humus de lombriz debe su enorme poder o valor, según Ferrusi, (2007), dentro de otros aspectos, a la gran diversidad de microorganismos y a la flora bacteriana que contiene y tiene como función poder combinar, gracias a las enzimas producidas por su dotación bacteriana, sus propios

## TRABAJO DE DIPLOMA

elementos especiales con los presentes en el terreno en función de las necesidades específicas de cada tipo de planta y cada suelo.

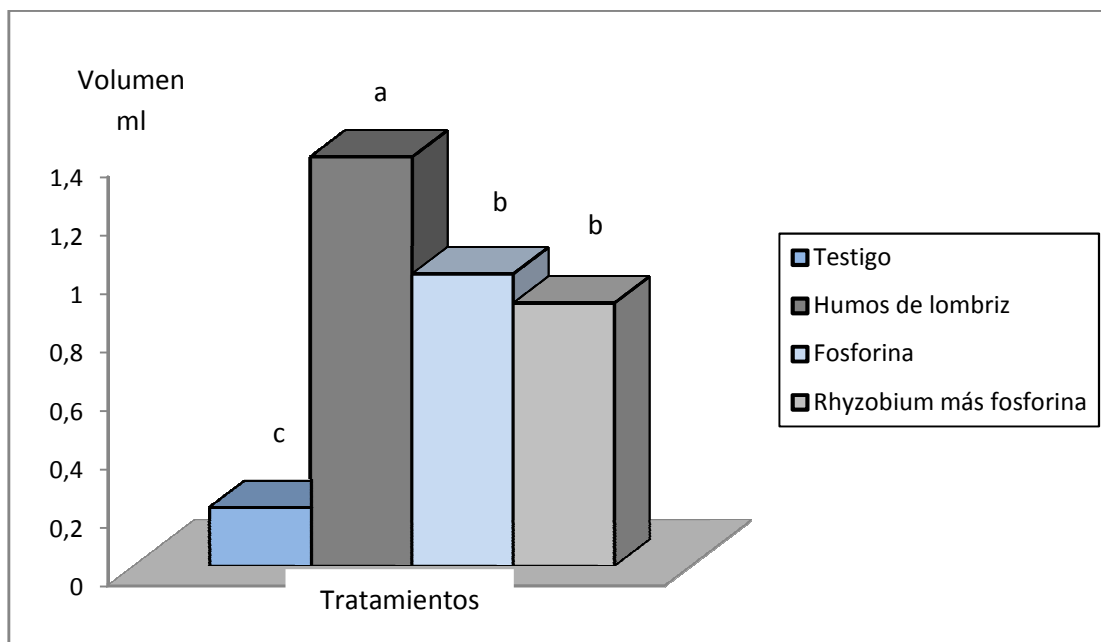


Figura 5: Efecto de los tratamientos en el volumen del sistema radical para el *Plecthranthus amboinicus L.* en condiciones de vivero.

### 3. 4. Influencia de los tratamientos en la composición química del área foliar para el cultivo *Plecthranthus amboinicus L.*, en condiciones de vivero.

En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los tratamientos estudiados a los 45 días en relación a la composición química de las hojas para el cultivo del orégano francés.

Tabla 3. Análisis foliar de las hojas para el cultivo *Plecthranthus amboinicus L.* (%).

TRATAMIENTOS	N	P	K	Ca	Mg	Materia Seca
Testigo	1,4	0,35	1,75	2,46	1,10	87
Humusde Lombriz	1,8	0,54	2,40	3,00	3,00	90
Fosforina	1,5	0,40	1,95	2,56	2,56	89
Rhizobium más Fosforina	1,7	0,46	2,15	3,14	3,14	90

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

Estos resultados demuestran que los mayores contenidos de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio son con la aplicación de cada uno de los biofertilizantes aplicados en relación al testigo, siendo el de mayor concentración el tratamiento donde se aplicó humus de lombriz con un contenido de nitrógeno 1,8 %, fósforo 0,54 %, potasio de un 2,40 % y magnesio de 3,00 %, además de un contenido de materia seca de un 90 %, concidiendo este con el tratamiento donde se aplicó Fosforina más Rhizobium en el cual este último biofertilizante posee la mayor concentración de calcio con 3,14 % en relación con los demás biopreparados.

Es decir, que aunque no hubo una respuesta positiva con la altura de planta y el diámetro del cuello de la raíz cuando se aplicaron los distintos tipos de biofertilizantes sí presenta una mayor concentración en cuanto a los contenidos de N, P, K Ca, Mg así como el contenido de materia seca en el follaje de cada tratamiento con relación al testigo donde no se aplicó estos biopreparados orgánicos.

Estos resultados no coinciden con lo reportados por Cadme, (2010) para la especie *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz, en condiciones de organopónico con fines medicinales donde presenta altos contenidos de calcio (12,67 %). El comportamiento con la relación al calcio y magnesio en el follaje osciló entre 2,56 y 3,14 % para los tratamientos donde se aplicaron los biofertilizantes, no siendo similar a las concentraciones de estos dos elementos en el sustrato inicial, presentando una concentración de 3,20 de Ca y 0,57 Mg mg/100g (Tabla 3), no coincidiendo con lo planteado por Cadme, (2010) que la alta presencia de calcio (12,67 %) y magnesio (1,39 %) en el follaje pudiera estar asociado al alto contenido de estos elementos en el sustrato con 33,33 y 1,71 mg/100g, para la especie *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz.

Entre los macroelementos de importancia presentes en esta especie, le siguen N, K y P, no coincidiendo la concentración de estos elementos para las especies orégano francés con investigaciones realizadas en condiciones de vivero por Okwu y Josiah (2006), para la especie *Bryophyllum pinnatum*, donde demostraron la presencia de dosis de 0,32 mg/100 de calcio, 0,18 mg/100 g de fósforo, 5,38 mg/100 de zinc y, de 31,85 mg/100 g de hierro.

La nutrición de las plantas no depende solamente de la fotosíntesis y del agua, sino que necesita cierto número de elementos químicos que, por lo general, le son proporcionados a expensas de las sustancias minerales del suelo a través del sistema radical, muchos de estos elementos son esenciales para la planta, ya que tienen un papel principal en los diferentes procesos fisiológicos por ejemplo, el magnesio y el nitrógeno forman parte de la clorofila y el fósforo actúa en los procesos de



## TRABAJO DE DIPLOMA

síntesis de todas las sustancias vegetales como transferencia de energía (Vázquez *et al.*, 2001).

En cuanto a las concentraciones de potasio en los tejidos de las partes aéreas están relacionadas con el vigor de la planta y la regulación de la apertura estomática, (Eymer, 1993).

El estado nutritivo influye de manera determinante en la resistencia al estrés y a las enfermedades de las plantas, estando presentes en todos los procesos fisiológicos que determinan la morfología final de la planta (Roak, 1991).

Según Ribeira, (1998) la variación en cuanto al contenido de nutrientes en las plantas está relacionada con la variación del peso de la masa seca coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación, ya que el tratamiento que mayor masa seca presente (Tabla 4). Es con la aplicación de humus de lombriz coincidiendo con la de mayor contenido de nutrientes.

### 3. 5. Efecto de los tratamientos en la masa verde y seca del follaje del *Plecthranthus amboinicus* en condiciones de vivero.

En la tabla 4 se observa el rendimiento en masa verde y masa seca del follaje para la especie *Plecthranthus amboinicus* L., existiendo diferencias significativas entre los tratamientos estudiados.

Tabla 4: Efecto de los tratamientos en la masa verde y seca del follaje del. *Plecthranthus amboinicus* L. en condiciones de vivero.

Tratamientos	Peso de Masa Verde (g)	Peso de Masa Seca (g)
Testigo	0,094c	0,32c
Humus de Lombriz	0,243a	0,121a
Fosforina	0,170b	0,085b
Rhizobium más Fosforina	0,167b	0,081b

Siendo el tratamiento de mejor comportamiento cuando se aplicó Humus de Lombriz con un contenido de masa verde de 0,243 g y masa seca de 0,121 g, seguido de los tratamientos Fosforina y Fosforina más Rhizobium, que no presentaron diferencias significativas entre ellos para cada uno de los indicadores. El testigo fue el tratamiento de más bajos resultados en cuanto a estos parámetros.

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

Es decir, que con la aplicación de humus de lombriz en condiciones de vivero hasta los 45 días de establecido el mismo para el cultivo de orégano francés se obtiene el mayor contenido de masa verde y seca del follaje, así como el mayor número de raíces primarias, secundarias y volumen del sistema radical, constituido en su totalidad por raíces finas, preparando al cultivo, desde sus primeros estadios para una mayor absorción de nutrientes, obteniendo estacas de mayor calidad para el trasplante.

Thompson, (1985), plantea que la longitud o superficie de la raíz es un indicador de su capacidad absorbente. Sin embargo, la funcionalidad del sistema radical depende no solo del tamaño adquirido, sino también del porcentaje de superficie no suberizada absorbente respecto al total; y este porcentaje viene determinado por el número de raíces finas.

Zazo, (2005), plantea que debe existir influencias sobre el equilibrio sobre la parte aérea y parte radical en relación con el contenido de agua y aire del sustrato.

Según Vinicius, (1988), en un estudio realizado por él con relación al contenido de peso seco de diferentes partes de la planta *Eucalyptus saligna*, incluyendo sistema radical y utilizando una dosis del 40 % de vermicompost y 120 días de permanencia de la postura en vivero, obtuvo un contenido de masa seca de la raíz de 0.15 g/planta.

### **3. 6. Análisis económico con relación a los tratamientos estudiados para el orégano francés.**

En la Tabla 5, se presenta el análisis económico en condiciones de vivero para un tiempo de permanencia de la especie orégano francés de 45 días.

El costo total en la producción de estacas de *Plectharanthus amboinicus* es mayor cuando se aplican los biofertilizantes, siendo la más costosa cuando se aplicó Humus de Lombriz seguido del biopreparado Rhizobium más Fosforina con un costo de producción de \$ 155,25 y \$ 153,44 respectivamente. El testigo fue el tratamiento de menor costo de producción, debida a que no se aplicó biofertilizante, pero sí tenemos en cuenta que para los indicadores morfológicos del sistema radical de *Plectharanthus amboinicus* con la aplicación de humus de lombriz se obtuvieron los mejores resultados, al igual que la mayor acumulación de N, P, K, Ca, y Mg y mayor contenido de materia seca. Manteniéndose plantas de una calidad superior, garantizando una mayor supervivencia en condiciones de campo, así como mejores rendimientos agrícolas posteriormente a la factibilidad económica de esta investigación esta dirigida a la mejora del suelo como recurso natural en condiciones de vivero con la aplicación de los biofertilizantes empleados.

Tabla 5. Análisis económico del *Plectharanthus amboinicus*, L., con relación a los tratamientos estudiados.

## TRABAJO DE DIPLOMA

Tratamientos	Costo de los Biofertilizantes (Pesos)	Costo de los Análisis Foliare (Pesos)	Otros Gastos (Pesos)	Costo Total (Pesos)
Testigo	-	29,37	116,87	146,24
Humus de Lombriz	9,016	29,37	116,87	155,25
Fosforina	2,91	29,37	116,87	149,15
Rhizobium más Fosforina	7,2	29,37	116,87	153,44

### 3. 7. Composición fitoquímica en hojas y tallos de la especie *Plectharanthus amboinicus*, L.

En la tabla 6 se muestra la presencia de metabolitos secundarios en los diferentes tipos de extractos. Se destaca cuantiosa presencia de carbohidratos reductores en extrato alcohólico y acuoso, tanto para tallos como en hojas, leve presencia de taninos y / o fenones en dichos extractos, además de la presencia de cumarinas en los extractos etéreos y alcohólicos, que fue este último el de mayor diversidad de compuestos respecto a los demás extractos.

## TRABAJO DE DIPLOMA

Tabla 6. Resultado del tamisaje fitoquímico del *Plectranthus amboinicus*, L.

Ensayos	Extracto Etéreo		Extracto Alcohólico		Extracto Acuoso	
	Tallo	Hojas	Tallo	Hojas	Tallo	Hojas
Alcaloides	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Cumarinas	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
Lactonas	(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)
Resinas	(-)		(-)	(-)	(-)	(-)
Quininas	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Carbohidratos	(-)	(-)				
Reductores			(+++)	(+++)	(++)	(+++)
Saponinas	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Taninos y/o Fenoles	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
Taninos pirocatécolicos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Aminoácidos libres y aminòcidos en general	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Flavonoides	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)
Antocianidinas	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Mucílagos	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

Leyenda: (+++) Cuantiosa; (++) Notable; (+) Leve; (-) Ausente

Sin embargo, en el extracto etéreo se detectó una leve presencia de alcaloides, lo que sugiere una mayor polaridad de esta familia de compuestos presentes en esta especie. La presencia de estos compuestos para el orégano francés coincide con lo expuesto por (Ahmad, 1986 y Viqar, 1990).

En este estudio no se detectó la presencia de saponinas, flavonoides, antocianidinas, mucílagos y resinas en ninguno de los extractos evaluados a los 45 días en condiciones controladas de viveros para la especie de orégano francés, lo que puede estar dado por que durante la primera etapa del ciclo biológico el cultivo, en estas condiciones, desarrolló el sistema radical en la emisión de raíces

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

primarias, secundarias y terciarias y no en la acumulación de metabolitos secundarios, tal como se refiere Verpoorte *et al.*, (2002) que señala que las plantas son fuente de una amplia variedad de compuestos químicos o metabolitos secundarios. Su acumulación es baja y lenta y ocurre en células, órganos y tejidos específicos en fases determinadas del ciclo de vida de la planta, bajo condiciones estacionales.

Estos resultados no coinciden con investigaciones realizadas por Okwu y Josiah (2006), encontrando en Nigeria la presencia de compuestos bioactivos como alcaloides, saponinas, flavonoides, no siendo así con fenoles y taninos.

En estudios realizados en condiciones de campo por Timor *et al.*, (2003) para el cultivo orégano francés en Cuba, cuantificó la presencia de azúcares reductores, fenoles, triterpenos, esteroides y flavonoides, además de principios amargos, aminos y aceites esenciales.

Acosta, (1996), determinó la presencia de aceites esenciales en 0,30 % para un rendimiento agrícola de 79, 48 kg/ha y un contenido de carvacrol en una proporción del 58. 89 %.

El aceite esencial del orégano francés presenta un alto índice de compuestos aromáticos y oxigenados, los cuales varían según la procedencia de la planta. En extracto de la especie cultivada en Hungría se encontró un 8.4 % de eugenol, en México se reporta la presencia de canfor y limoneno, además de vitaminas como B-1(Tiamina), B-2(riboflavina), y C (ácido ascórbico) por citar algunos ejemplos (Acosta *et al.*, 1996).

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

### **CONCLUSIONES.**

A partir de los resultados obtenidos, es posible arribar a las siguientes conclusiones:

1. Con relación a la altura de la planta y el diámetro del cuello de la raíz no hubo diferencias significativas en cuanto a los tratamientos estudiados, resultando que con la aplicación de Humus de Lombriz se obtuvo los mejores indicadores morfológicos: raíces primarias (29), secundarias (16) y el volumen del sistema radical (1,4 ml). El testigo fue el tratamiento de peor comportamiento para estos indicadores.
2. En las hojas de *Plectranthus Amboinicus*, L. con el tratamiento de humus de lombriz se obtuvo una mayor concentración de minerales con un contenido de nitrógeno 1,8 %, fósforo 0,54 %, potasio de un 2,40 % y magnesio de 3,0 %, además de un contenido de materia seca de un 90 %, siendo este el de mejor resultado económico.
3. En la composición de metabolitos secundarios en hojas y tallos en condiciones de viveros para el orégano francés, resaltan mayoritariamente: carbohidratos reductores, taninos y o fenoles, alcaloides y cumarina, con una mayor extracción en el extracto alcohólico.

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

### **RECOMENDACIONES.**

Sobre la base de esta investigación se recomienda:

1. Repetir la investigación en condiciones de vivero en el cultivo *Plecthranthus amboinicus*, L., para confirmar la veracidad de los parámetros estudiados.
2. Continuar los estudios con otros biofertilizantes para condiciones de campo incluyendo observaciones a través de parámetros morfológicos para el follaje del cultivo en diferentes suelos de la provincia de Pinar del Río.
3. Realizar estudios fitoquímicos para determinar el efecto de los biofertilizantes en producción de campo en varios momentos del ciclo biológico del cultivo.
4. Extender la producción orgánica en la provincia de Pinar del Río para el cultivo del orégano francés por sus cualidades farmacéuticas y terapéuticas en la fabricación de medicamentos a partir de sus principios activos.

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

### **BIBLIOGRAFIA.**

1. Acosta L, Rodríguez, C., Menéndez, R., Fuentes, V., Pino, J. y Echevarria, (1996). Cultivo del orégano francés (*Plecthranthus amboinicus, L*) para la producción de fitofármacos. Rev Cubana Plant Med., 1 (1): 3 - 7 p
2. Altieri, M. (1995): Agroecología, Creando sinergias para una agricultura sostenible. Cuaderno de Trabajo 1, 31 p.
3. Asprey, G., Thornto, P, (1955). P. Medicinal plants of Jamaica. III. West India Medical Journal, (4), p. 69 -82.
4. Bello, A., (1999). Estudios de aceites esenciales de especie Myrtaceae de la flora de Pinar del Río. Tesis de Maestría en Ciencias Químicas.
5. Fuentes, V., (1997). *Conozca las plantas medicinales*. Editorial Científica- Técnica. Ciudad de la Habana. 244 p. 2- 7.
6. García, R., (1996). Plantas Medicinales, Aromáticas y Especies como alternativas productivas para la pequeña agricultura. Proyecto apoyo a la exportación del producto agrícola no tradicional producido por pequeños agricultores. Chile: FAO. Ministerio de la Agricultura de Chile.
7. John, D., (1984). One hundred useful raw drugs of the Kami tribes of Triwaandrom forest division. Kerala. India International Journal Crude Drug Research, p.17 – 24.
8. Roersch, C., (1994). *Plantas medicinales en el sur andino del Perú*. (s.l): Edición Koettz Scientific Books Koenigstein.
9. Roig, J., (1974). *Plantas medicinales, aromáticas y venenosas de Cuba. Ciencia y técnica*. La Habana: Instituto cubano del Libro, 449 p. 450 p. 455p.
10. Villalva, Q., Joaquín, F., (1993): *Agricultura Sostenible*. Instituto Nacional de Agraria. Madrid. No7, 31 p.
11. Alvarado, M. y Solano, J., (2002). Medios o sustratos en la producción de viveros y plantas, en: Manual de producción de sustratos para vivero. [en línea] junio. Disponible en:<http://ns1.oirsa.org.s>. [Consulta: 08 de junio 2010].
12. Barbier, E., (1990). After the revolution sustainable agriculture for development. London:
13. Caballero, R., Gandarilla, J. y Pérez, D. 1989. Efecto de los abonos orgánicos en la explotación de huertos intensivos. Revista Centro Agrícola. (CU) UCLV. 4. Año 27. Oct. a Dic. 96 p.
14. Calderón, M. y Cevallos J., (2003). Los sustratos. [en línea] Febrero. Disponible en: [http://www.drcalderonlabs.com/Publicaciones/Los\\_Sustratos.htm](http://www.drcalderonlabs.com/Publicaciones/Los_Sustratos.htm) [Consulta: 18 de febrero 2010].



## **TRABAJO DE DIPLOMA**

15. Edwards, C., (1993). The role of agroecology and integrated farming systems in agricultural sustainability, *Agric. Ecosyst. Environ.*46: p. 99 - 120.
16. FAO. (1992). Conferencia política y acción. Desarrollo sostenible y medio ambiente. Estocolmo: Río. P. 1972 - 1992.
17. Canovas, F., Magna, J. y Boukhalifa, A. 2000. Cultivos sin suelo. Hidroponía. En Técnicas de producción de frutas y hortalizas en los cultivos protegidos del Sureste español. Ed. Instituto de la Caja Rural de Almería, España.
18. Fuentes, V., (1997). Conozca las plantas medicinales. Editorial Científica- Técnica. Ciudad de la Habana. 244 p. 2- 7.
19. Lazo, R., (1999). Manual de Organopónico. Cuba. 28 p.
20. MINAGRI, (2003). Manual de interpretación de los índices físico – químicos y morfológicos de los suelos cubanos. Editorial Científico. Técnico. Ciudad de la Habana, Cuba.113 p.114 p. 116 p.
21. MINAGRI, (1983), El cultivo de las plantas medicinales., Recomendaciones preliminares de algunos aspectos aerotécnicos. 156 p.
22. Mirabal, A., (1990). Fertilización de origen biológico. Centro de información y documentación agropecuaria. CIDA, 43 p.
23. Okwu, D. y Josiah, C., (2006). Evaluation of the chemical composition of two Nigerian medicinal plants. Department of Chemistry, Michael Okpara University of Agriculture, Umudike, P.M.B. 7267. Umuahia, Abia State, Nigeria. [en línea] Julio. *African Journal of Biotechnology* Vol. 5 (4), pp. 357
  
- 24 Pastor, J. 2004. Utilización de sustratos en vivero. [en línea] Julio. Disponible en: [http://www.chapingo-mx/terra-/contenido/17/3/art\\_](http://www.chapingo-mx/terra-/contenido/17/3/art_) (Consulta: 20 de junio 2010).
29. Pérez, I., Olivera, O., Reynaldo, I., Batista, J., Grinión, L., Pestano, C. y Finlay, C., (1989). Diuretic effect of *Bryophyllum pinnatum* Lam. (Siempreviva). Medical University of Camagüey. Central Highway West. Camagüey. Cuba. *Revista Cubana de Farmacia* vol. 40 (Suplemento Especial): 72 p.
25. Pimentel, D., (1980). Environmental and social cost of pesticides; a preliminary assesment. *Oikos* 23, p. 127- 140.
26. Rook, D., (1991). Seedling development and physiology in relation to mineral nutrition. En: van den Driessche. R.(Ed.): *Mineral nutrition in conifer seedlings*. CRC Press. p. 86 – 112

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

27. Sánchez, J., (2003). Las especies del género *Kalanchoe* cultivadas en España. [en línea] Abril. Disponible en: <http://www.arbolesornamentales.com/Kalanchoe.htm>. [Consulta: 20 de Junio 2010]
28. Thompson, B., (1985). Seedling morphological evaluation. What can you tell by looking. In: Evaluating seedling quality: principles, procedures and predictive abilities of major test. M. L. Duryea eds. Forest Research Laboratory. Oregon State University. P. 59 - 69
29. Vázquez, E. y Torres, S., (1995). Fisiología Vegetal. Editorial Félix Valera. La Habana. Tomo I y II.
30. Vinicuis, M. 1988. Crecimiento de mudas de *Eucalyptus salina smith* en función de diferentes dosis de nemocomposto. Revista Forestal. Vol. 8, No. 1e2, p. 19-30
31. Verpoorte, R. 2000. Plant secondary metabolism. En Verpoorte R, Alfermann AW (Eds.) Metabolic Engineering of Plants Secondary Metabolism. Kluwer. Dordrecht, Holanda. p: 1 - 29.
32. FITOMET II (1993). Plantas medicinales. Editorial ciencias médicas. 230 p. 256 p. 269 p.
33. Hernández A., Asconio O., Ortega F., Avila L., Cárdenas A., Marrero A., (1994). Segunda Clasificación genética de los suelos de Cuba. Serie Suelos (23). p 1-40. Instituto de Suelos (1975). Informe sobre Biopreparados *Rhizobium* y Fosforina en cuanto a dosis e importancia. 16 p.
34. La casa, (1990): Humus de lombriz o vermicompost de fertilización de origen biológico. CIDA. La Habana. p 39-42.
35. Martínez, P. y Hernández, R., (1995). Los biofertilizantes en la agricultura cubana. n Encuentro Nacional de Agricultura Orgánica. Conferencias y mesas redondas. la Habana. Cuba. 43 p.
36. Sigarroa, A., (1995). Biometría y diseño experimental. la Habana, Editorial Pueblo y Educación, 26 p.
37. Suárez, L, G, Hernández, V, Marrero, J, Guzmán, S, Hernández, F, Coto, E, Andreus, A. Cañada (sf) (1994). Empleo de bajas dosis de nitrógeno con la inoculación de la cepa CF-1 de *Rhizobium Phaseoli* en frijol. Logros de la ciencia y la técnica, CIDA. Habana Cuba.
38. Baslas. R. y Pradeep K., (1981). Phytochemical studies of plants of *Coleus* genera. Herba Hung :20. p. 1-2.
39. Brieskorn, C, Riedel W., (1977). Triterpene acids from *coleus amboinicus* toureiro. Arch Pharm ; 310(11):p. 910-16.
40. Acosta, L., (1996). Cultivo del Orégano francés para la producción de fitofármacos. Rev Plantas Medicinales (1),
41. Haque V., (1988). Analysis of volatile constituents of Pakistani *Coleus aromaticus* plant oil by

## TRABAJO DE DIPLOMA

capillary gas chromatography/mass spectrometry. Journal Chemical Society Pak 1988; 10(3). p. 369-71.

42. Timor, C., (1991). Evaluación físicoquímica del aceite esencial de las hojas de *Plecthranthus amboinicus* (Lour). Spreng. Rev Cubana, Farm; 25(1):63-6.

43. Morton, J., (1992). Country horage (*Coleus amboinicus* Lour) A potent flavoring and medicinal plant. Journal Herbs Spices Medicinal, Plants (1 1/2). P.77-90.

44. FAO, 1985. Manual Técnico de la fijación simbiótica del nitrógeno. Leguminosas/ Rhizobium. Roma 80 p.

45. Böckman, O., (1997). Non biological nitrogen fixation. En Biological Nitrogen Fixation. The Global Challenge and Future Needs, Roma, p. 24-26.

46. Dyson, T.,(1996). Population and Foods. Global Trends and Future Prospects. Global Environmental Programme Rutledge, ISBN. 0-415-11975-8, 45 p.

47. Fernández, A., (1995). *Azospirillum lipoferum* y *Azospirillum brasilense*. Sus relaciones con Maíz y Caña de Azúcar. Tesis de Maestría. La Habana. UH. Facultad de Biología. 71p.

48. Acosta L., Rodríguez, C., Menéndez, R., Fuentes V., Pino J., Echevarría, I., (1996). Cultivo del orégano francés (*Plecthranthus amboinicus*, L) para la producción de fitofármacos. Rev Cubana Plantas Medicinales.

49. Timor, C., Manzini, M., Fernández, A. y González, M., (2003). Evaluación físico-química del aceite de las hojas de *Plecthranthus amboinicus* (Lour) Spreng. Rev Cubana Farm; 25(1): p. 63-8.

50. Acosta, L., (1996). Cultivo del Orégano francés para la producción de Fitofármacos. Rev Plantas Medicinales (1).

51. Oliva A., J. González, R. Seoane, M. Hernández, T. Bach y A. Martínez, (1993). Producción de sustancias bioactivas por una cepa solubilizadora de fósforo. II Taller sobre biofertilización en los trópicos. IV Simposio de Botánica. 237 p.

52. Ferruzzi, R.:(2007) Manual de Lombricultura. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 138 pag.: 1983.

---

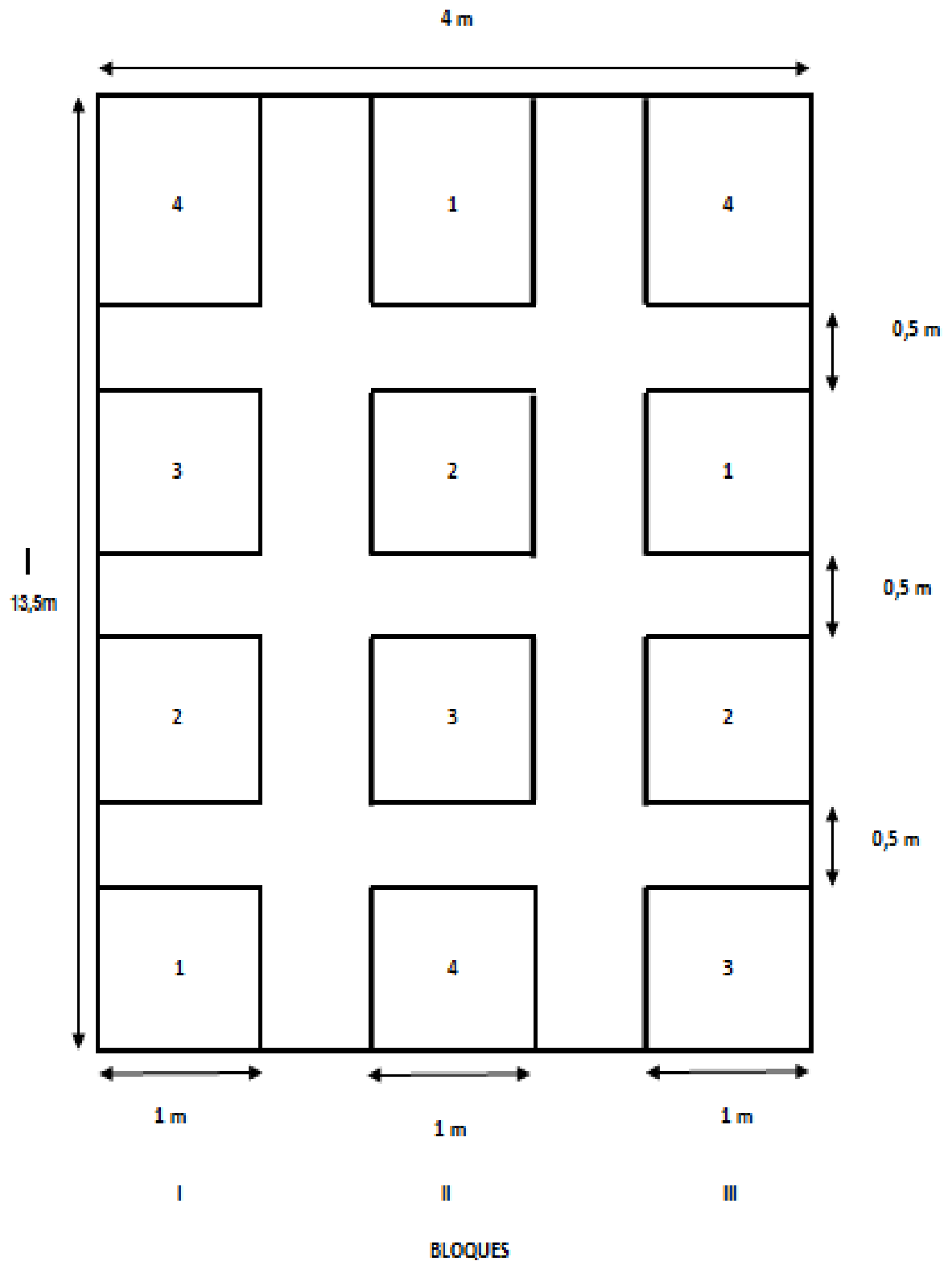
53. Acosta, L., (1993). Proporciónese salud. Cultive Plantas Medicinales. La Habana: Editorial Científico-Técnica: 227 p.

## **TRABAJO DE DIPLOMA**

54. Nogueira, L y Eapengler (1994).. Fitoquímico de *Rauwolfia viridis* Róm et Schult alcaloides de la corteza del tallo y la raíz. Trabajo de diploma Facultad de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana, 23 p 28 p.
55. Pascual J., (1993). Plantas medicinales aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana:Editorial Ciencia y Técnica: 949 p.
56. Alardo, J (1993). La Habana, Editorial Ciencias Médicas: 87 p.
57. Acosta, L., (1996). Cultivo del Orégano francés para la producción de fitofármacos. Rev Plantas Medicinales (1).
58. Aguilar, L (1995) Orégano francés para la producción de fitofármacos.
59. Vasquez, Menéndez, R., Fuentes, V., Rodríguez, C. (2001). Instructivo técnico del *Plecthranthus amboinicus* (Lour). Spreng. Rev Plantas Medicinales.
60. Cadme 2010 J., (1974). Plantas medicinales, aromáticas y venenosas en Cuba. La Habana, Ediciones de Ciencia y Técnica: 597 p.
61. Sirovi, K., (1980). Plantas de Cuba .Pinar del río .23p
62. La casa ., J (2004). resumen de biofertilizantes en Pinar del Río. 456 p.
63. Eymer ., (1993). Estadísticas de uso de las plantas medicinales en Cuba .89 p.
64. Ribera., (1998). Analisis de suelos para plantas medicinales.48.p
65. Zazo., (2005). estructura de los biofertilizantes, La Habana Ediciones de Ciencia y Técnica. 65 p.
66. Almad., (1986). Instructivo Casero del *Plecthranthus amboinicus* (Lour). Spreng. 13.p
67. Vigar ., (1990). Metabolitos secundarios , Universidad de La Habana, 28 p 36 p.
68. Ricaurte, M., (2008). Estudio toxicológico del extracto del orégano francés 45.p

## TRABAJO DE DIPLOMA

### Anexo 1. Diseño experimental en condiciones de vivero para el cultivo *Plecthranthus amboinicus*



## **TRABAJO DE DIPLOMA**

Anexo 2. Estimados de los gastos en condiciones de vivero para *Plecthranthus amboinicus* en (pesos).

<b>PARÁMETROS</b>	<b>GASTOS PARA LOS CANTEROS</b>
Preparación del suelo	16,9
Compost	41,30
Riego	13,20
Combustible y lubricantes	30,50
<b>TOTAL</b>	<b>116,87</b>