

ENRAIZAMIENTO EN ALAMO ¹

Por SINIBALDO OSCAR TRIONE y MANUEL OSCAR AVELLANEDA ²

PARTE I

INFLUENCIA DE LA EPOCA DE EXTRACCION Y DEL LAVADO DE LAS ESTACAS

SUMMARY

Rooting in poplar. I. Influence of the time of taken cuttings and their washing process to the rooting capacity.

The object of this paper is to determine which is the best time to take cuttings, in *Populus alba* cv. "Bolleana", that would express its best rooting capacity. The cuttings were taken every 30 days during 12 months. At the same time it was included a variable consisting of washing the physiological base of the cuttings in tap water during 96 hours. In cuttings which were not washed it was determined the activity of water soluble inhibitors, as well as their moisture content. The best time to take cuttings for propagation is that of the dormancy period, being July at it best with 100 % of rooting and 10 roots per cuttings. The washing operation increases not only the rooting capacity but the period of taking cuttings. There was no correlation among water soluble inhibitors activity on one hand and cuttings moisture content on the other, with the rooting capacity. The authors presume that the observed differences were due to the different ratios of natural auxins/cofactors present in the cuttings according to the collecting season, which in harmonious equilibrium favours the differentiation into root primordia. The washing process would facilitate this internal readjustment.

Populus alba cv. "Bolleana" presenta en nuestro medio una capacidad de enraizamiento relativamente baja comparada con la de álamos negros e híbridos euroamericanos. A pesar de la inferior calidad de su madera, resulta de interés el estudio de su propagación, ya que se adapta con ventajas a suelos salino-alealinos (AVELLANEDA y NIJENSOHN, 1960) y a zonas de bajas temperaturas, en relación a las especies citadas, los cuales en estos medios no rinden satisfactoriamente desde el punto de vista económico.

Uno de los primeros aspectos a determinar en el proceso de enraizamiento de un clón, es la época más apropiada de extrac-

¹ Trabajo realizado en colaboración con la Administración Provincial de Bosques, de Mendoza, Argentina.

² Laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, U.N.C. Mendoza, Argentina.

ción de las estacas que exprese la máxima capacidad potencial de enraizamiento. Se han establecido para otras especies variaciones estacionales en la manifestación del fenómeno, con resultados contradictorios (FARRAR y GRACE, 1941; DORE, 1953; HUDSON, 1953), etc. Quizás, una de las contradicciones observadas en la literatura radique en la posible presencia de sustancias tipo inhibidoras hidrosolubles que se encuentran en distintas partes de la estaca. El lavado en agua corriente de las bases fisiológicas de las estacas ha provocado respuestas favorables a la iniciación radicular en diferentes especies, habiéndose atribuido dicha respuesta a la eliminación de sustancias tipo inhibidoras que frenan o impiden el fenómeno rizogénico (KHAN y HALL, 1954; MORISHITA y OYAMA, 1952; OYAMA, 1957-1959; TIZIO *et al.*, 1961, II). Sin embargo, a pesar de ser un hecho conocido que el lavado basal de las estacas tiene una acción beneficiosa sobre el proceso de enraizamiento, hasta el presente el hecho no ha sido estudiado en álamo.

La práctica de estratificar las estacas, como medio de conservación del material destinado a la propagación, también tiene incidencia en la posterior rizogénesis de éstas. Algunos autores han comenzado a estudiar, en estacas de diversas especies, ciertos aspectos de esta vieja práctica, ya sea su modalidad (PORTIANKO, 1947; TRIONE, 1960) o bien algunos cambios de orden fisiológico y bioquímico que tienen lugar durante el proceso (TIZIO *et al.*, 1961, I).

El efecto de reguladores del crecimiento y compuestos nitrogenados orgánicos (amino-ácidos, vitaminas, purinas y pirimidinas, etcétera), sobre el fenómeno rizogénico, ha sido estudiado por numerosos autores, en muy diversas especies. Entre ellos (DOAK, 1949; HEMBERG, 1953) encuentran que, en general, la acción de diversas auxinas y compuestos nitrogenados, solos o combinados, exaltan la manifestación del fenómeno de enraizamiento, aunque en otros casos tal estimulación no existe o bien es detrimental (WENT, BONNER y WARNES, 1938; ROBBINS y KAVANAGH, 1941; PEARSE, 1948). En otros casos la acción estimulante de aquellos compuestos dependería del estado fisiológico de las estacas en relación a la época de extracción del material (SNOW, 1938). TIZIO *et al.* (1961, VI) demostraron *in vitro*, que la máxima expresión de enraizamiento está condicionada a la existencia de determinadas relaciones de concentración de auxinas y cofactores, tanto de los naturales, como de los suministrados exteriormente, actuando ambos a nivel celular.

La primera parte de este trabajo se refiere a la determinación de la época más apropiada para la extracción de estacas de las plantas madres, que expresen la máxima capacidad potencial de enraizamiento. En la segunda parte se estudian los efectos de la duración del lavado de las bases de las estacas, y se avalúa dicha respuesta por un "índice de enraizamiento" que permite involu-

crar en un mismo valor numérico, no sólo el porcentaje de enraizamiento, sino también el número de raíces por estaca.

Los efectos de la práctica de estratificación de estacas previamente lavadas y en estado natural, como asimismo las diferencias de carácter fisiológicas y bioquímicas de ellas durante dicho período, y su relación con el proceso de enraizamiento, son estudiadas en la parte tercera. Finalmente, en la última parte, se estudian las respuestas a tratamientos con reguladores del crecimiento y ciertos cofactores, en períodos de baja capacidad de enraizamiento, y en estacas en diferentes estados fisiológicos.

MATERIAL Y METODOS

Las estacas se extrajeron en forma periódica a fines de cada mes, durante un año a partir de mayo de 1960, del vivero Perdriel, ubicado en Luján, Mendoza, Argentina. En dicho vivero, constituido por plantas de 4 años "recepadas" anualmente a 0,40 m de la superficie, se delimitó una parcela compuesta por 100 ejemplares, que el año de la experiencia no se recepó a los efectos de obtener a lo largo del año, material del mismo ciclo vegetativo.

La extracción se efectuó al azar, eligiéndose 25 estacas para cada variante. El largo de las mismas fue de 0,40 m y su diámetro varió entre 0,8 y 2,5 cm según avanzaba el ciclo vegetativo de la planta madre. En todos los casos de existencia de brotes, éstos fueron eliminados.

El ensayo de "lavado" se realizó con agua de canilla corriente, sumergiendo las bases de las estacas en una pileta de laboratorio provista de sifón de descarga para mantener un nivel constante de 12 cm. La temperatura del agua de lavado varió, de acuerdo a las épocas, entre 8° C y 18° C. En cada caso la operación se prolongó por espacio de 96 horas. Las estacas "no lavadas" se mantuvieron durante ese lapso en lugar fresco envueltas en arpillera húmeda. Para cada época de extracción las dos variantes se llevaron a enraizar juntas, en cajoneras de madera de 80 × 40 × 30 cm, en línea y a una distancia de 7 cm, enterrándose las estacas a una profundidad de 25 cm. El sustrato utilizado fue una mezcla por partes iguales de arena de embanque y tierra de cultivo. El ensayo se condujo en condiciones de vidriera, bajo luz natural difusa, efectuándose riegos periódicos. Las temperaturas medias registradas durante las diferentes épocas osciló entre 10° C y 25° C. La humedad relativa ambiente se mantuvo entre 50 y 80 % mediante un humidificador.

De acuerdo a las temperaturas registradas, la duración del tiempo de enraizamiento se hizo variar desde 40 a 120 días. En ningún caso se observó existencia de primordios radiculares preformados en las estacas obtenidas de las plantas madres.

Cumplidos los respectivos períodos de enraizamiento, las variantes "lavado" y "no lavado" se extrajeron de sus medios procediéndose a contar número de raíces y brotes por estaca, para luego calcular los porcentajes de enraizamiento y brotación, como asimismo el número promedio de raíces por estaca. No se tomó en consideración el largo de raíces o brotes por existir diferencias en cuanto a la época de enraizamiento.

Paralelamente, en cada extracción, en material de estacas "no lavadas" se determinó la actividad de sustancias inhibidoras hidrosolubles con el objeto de comprobar la existencia de correlaciones entre porcentaje de enraizamiento y número de raíces con los efectos del lavado (TIZIO *et al.* 1961, II). Para ello se tomaron estacas de la misma característica que las empleadas en el ensayo, se seccionaron en finas rodajas y se sumergieron en agua destilada durante 24 horas. La actividad inhibidora de dichos extractos se llevó a cabo mediante el "test alelí de germinación" según técnica empleada por SÍVORI y WURCELDORF-WARDEN (1949).

RESULTADOS Y DISCUSION

Los datos registrados en la tabla I indican que la capacidad de enraizamiento es muy diferente según la época en que se extraen las estacas de las plantas madres. Este es un hecho de ocurrencia casi general observado en numerosas especies (FARRAR y GRACE, 1941; DORE, 1953; HUDSON, 1953; etc.). En la variante "no lavado" se observa un significativo aumento en la capacidad de enraizamiento, desde los meses de febrero y agosto que coincide con el período de dormancia de las estacas. Luego se observa un brusco decaimiento de dicha capacidad coincidente con el comienzo de la brotación y activo crecimiento de los nuevos vástagos. Este hecho concuerda con lo observado por otros autores (CHILDERS y SNYDER, 1957; REINES y BAMPING, 1960; SONNENFELD, 1961).

De acuerdo a los resultados obtenidos en la variante "lavado" la brusca disminución de la capacidad de enraizamiento a partir de brotación no se debería a una acumulación de sustancias inhibidoras, dado que las curvas de enraizamiento de ambas variantes son semejantes. Análogamente, de los datos obtenidos a partir del mes de enero, se inferiría la existencia de sustancias inhibidoras, que si bien no impiden el fenómeno rizogénico, contribuyen grandemente a su expresión. No obstante, los datos arrojados por el "test alelí" de germinación no señalan la existencia de correlaciones entre disminución de la actividad de dichas sustancias y una mayor capacidad de enraizamiento, como ocurre en otras especies (TIZIO *et al.*, 1961, I).

También se trató de verificar si el factor determinante de las variaciones observadas de acuerdo a las estaciones, era la humedad de la estaca en el momento de su plantación, según opinan algunos

TABLA I
Efectos de la época de extracción de las estacas y del « lavado » basal de las mismas, sobre la capacidad de enraizamiento

Expresiones vegetativas	Periodos del ciclo anual de la planta madre																								
	Dormancia						Crecimiento vegetativo de los vástagos																		
	Mayo/60		Julio		Agosto		Lento (inicial)		Gran periodo de crecimiento				Muy lento (final)												
NL ¹	L ²	NL	L	NL	L	NL	L	Sept.	Octub.	Nov.	Dic.	Enero/61	Feb.	Marzo	Abril										
Enraizamiento (%).....	88	100	60	60	100	96	88	96	44	100	0	9	0	0	4	12	0	64	4	41	20	84	28	56	
Número de raíces.....	7	15	10	7	10	10	11	14	7	13	0	5	0	0	1	5	0	4	4	3	2	3	2	3	
Brofación (%).....	100	100	100	90	100	90	96	96	44	96	0	9	0	0	4	12	0	72	0	12	0	8	8	12	8
Humedad de las estacas (%).....	51,1		56,9		48,6		54,7		51,7		59,1		61,0		55,2		42,0		46,6		47,4		44,0		

Las cifras indican promedio de 25 estacas.

¹ No lavadas.

² Lavadas.

autores (CRAM y LINDQUIST, 1961). Nuestros datos de la tabla II están indicando que no existe correlación entre estas dos variables. Creemos que si bien el contenido de humedad de la estaca, dentro de ciertos límites, puede tener influencia en el proceso, no es el único ni el principal factor.

Nos inclinamos a pensar que las distintas capacidades de enraizamiento observadas a través del año, podrían responder a cambios cuali-cuantitativos de auxinas y cofactores naturales de las estacas al momento de su obtención, tal como se ha demostrado en otras especies (TIZIO *et al.*, 1961-VI; FISCHNICH, 1938; ARAUJO, 1953; TYCE, 1957; REINES y BAMPING, 1960).

Con respecto al proceso de "lavado", nuestro criterio es que, en álamo bolleana, actuaría provocando un reajuste interno en la estaca, de la cantidad y calidad de los factores de enraizamiento naturales (auxinas/cofactores), ya sea facilitando la eliminación parcial de uno u otro, modificando el grado de disponibilidad de cada uno de ellos, o bien por movilización de precursores auxínicos preexistentes, todo esto, sobre la base del distinto estado fisiológico de las estacas de acuerdo al momento vegetativo en que fueron extraídas.

RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objeto determinar para *Populus alba* cv. "Bolleana" la época más propicia para la extracción de estacas en la que se manifieste una mayor capacidad rizógena. El corte de las mismas se efectuó cada 30 días durante 12 meses, incluyendo paralelamente una variante de lavado de las estacas por 96 horas con agua, previo a su plantación. Al mismo tiempo, en estacas no lavadas determinaron actividad de sustancias inhibidoras hidrosolubles mediante test biológico.

La mejor época para obtención de estacas correspondió al período de reposo vegetativo, siendo óptima en plena dormancia (fines de julio) con 100 % de enraizamiento y 10 raíces promedio por estacas. Con el lavado previo de las estacas la época de extracción se amplía desde enero a setiembre con los mejores resultados en mayo, julio, agosto y setiembre. No se encontró correlación entre actividad de inhibidores hidrosolubles y enraizamiento. Los autores presumen que las diferencias observadas se deben a diferentes relaciones de auxinas y cofactores naturales de las estacas, que en equilibrio armónico de concentraciones, favorecerían la diferenciación de primordios radicales. El lavado de las estacas facilitaría más dicho reajuste logrando exaltar al máximo las respuestas y ampliar la época de extracción.

PARTE II

EFECTO DEL TIEMPO DE LAVADO DE LAS ESTACAS SOBRE LA CAPACIDAD RIZOGENA EVALUADA POR «INDICE DE ENRAIZAMIENTO»

SUMMARY

Rooting in poplar. II. Effect of the length of time of the cuttings washing process, to the rooting capacity, evaluate by a "rooting Index".

The effect of different length periods of washing the base of cuttings of *Populus alba* cv. "Bolleana" was determined in relation to its rooting capacity. The 3 to 4 days period were the best, with the highest rooting and sprouting percentage and number of roots per cutting. The authors attribute this effect to a readjustment in the relative concentration of natural auxins and cofactors which would determine a favourable ratio for root primordia differentiation. It was not neglected the possibility of eliminating the inhibitor substances which would interfere with the rooting phenomena. With the object to evaluate the different responses (rooting percentage and number of root per cutting) in only one expression, it was established an Index which allows to visualize said phenomena quantitatively and qualitatively.

El presente trabajo tuvo por objeto determinar los efectos de la duración del lavado de las bases de las estacas sobre la capacidad rizógena, evaluando dicha respuesta por un Índice de Enraizamiento, de manera de involucrar en un mismo valor, no sólo el porcentaje de enraizamiento de cada variante, sino también el respectivo número de raíces. El método propuesto se basa en los utilizados por otros autores sobre el mismo fenómeno de enraizamiento (citados por MAHLSTEDTE y LANA, 1958).

MATERIAL Y METODO

Estacas de *Populus alba* cv. "Bolleana" fueron extraídas del mismo vivero forestal y con idéntico criterio que las utilizadas en el ensayo anterior. Una vez cortadas las estacas se procedió a su estratificación en suelo franco, disponiéndolas en manojos, los que se colocaron horizontalmente, enterrándose a 30 cm de profundidad. La humedad del suelo, al nivel de los manojos fue de $15\% \pm 3\%$. En este estado se mantuvieron por espacio de 60 días, al final de cuyo lapso se retiraron para su tratamiento. El lavado se realizó en la forma descripta en el ensayo anterior (citado). Se confeccionaron 10 lotes de 20 estacas cada uno, elegidas al azar, los que fueron tratados desde cero días de lavado (testigo) hasta 9 días con intervalos de un día. A fin de que la plantación de todas las variantes fuera simultánea, los diferentes tratamientos se llevaron a cabo en forma escalonada, manteniéndose las restantes en lugar fresco envueltas en arpillera húmeda hasta el momento de su plantación. Esta se realizó en cajoneras de madera, empleándose como

medio de arraigue una mezcla constituida por 1 parte de arena cuarzosa y 2 partes de granulado volcánico (V/V). El riego se efectuó diariamente alternando agua de canilla con solución nutritiva completa de Hoagland diluida a $\frac{1}{4}$. El ensayo se condujo en condiciones de vidriera con luz natural difusa y con temperaturas que oscilaron entre 12° C y 22° C. La humedad relativa ambiente se mantuvo entre 70 y 90 %. En estas condiciones se mantuvieron por espacio de 55 días al cabo de los cuales se retiraron para efectuar recuentos de número de estacas enraizadas, número de raíces por estacas y largo de brotes. Luego se determinaron los porcentajes de enraizamiento y brotación, y se calculó el Índice de Enraizamiento. Para ello se adoptó el siguiente criterio:

- a) Se formaron categorías de número de raíces por estaca, agrupadas en rangos con intervalo de 5 raíces, a saber: (0); (1-5); (6-10); (11-15); (16-20); (21-25); etc.
- b) A cada categoría se le asignó un factor según una progresión aritmética con razón 2: (0); (2); (4); (6); (8); (10); etc.
- c) El número de estacas enraizadas de cada categoría fue multiplicada por su respectivo factor. El índice empleado resulta de la sumatoria de tales productos.

RESULTADOS Y DISCUSION

De acuerdo a los datos de la tabla II se deduce que el lavado de las bases de las estacas tiene un efecto beneficioso sobre los porcentajes de enraizamiento y brotación hacia el tercero y cuarto día de lavado. Periodos más prolongados hacen caer dichos valores al de los testigos y al de los primeros días de tratamiento. Contrariamente el número de raíces no sufre variaciones apreciables a partir del segundo día de tratamiento.

TABLA II
Capacidad de enraizamiento con diversos tiempos de lavado de las bases de las estacas

	Días de lavado									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Enraizamiento (%)	40	35	40	70	65	40	50	20	40	40
Número de raíces	8	6	10	10	10	9	10	8	8	10
Brotación (%)	40	35	40	70	65	45	50	20	40	40
Largo de brotes (cm)	11	9	8	11	13	12	14	11	11	12

Las cifras indican promedio de 20 estacas.

TABLA III
Distribución de las estacas por categorías y cálculo del índice de enraizamiento, en tratamientos de lavado de las estacas

Categorías	Factores	Días de lavado																					
		0		1		2		3		4		5		6		9		8		9			
		N	P ²	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P	N	P		
(0).....	0	12	0	13	0	12	0	6	0	7	0	12	0	10	0	14	0	12	0	12	0		
(1-5).....	2	2	4	5	10	2	4	3	6	3	6	2	4	1	2	2	4	2	4	2	4	1	2
(6-10).....	4	4	16	—	—	2	8	5	20	4	16	4	16	5	20	1	4	3	12	2	8	2	8
(11-15).....	6	2	12	2	12	2	12	2	12	5	30	—	—	3	18	3	18	3	18	3	18	5	30
(16-20).....	8	—	—	—	—	2	16	3	24	1	8	2	16	1	8	—	—	—	—	—	—	—	—
(21-25).....	10	—	—	—	—	—	—	1	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Indíces.....		32		22		40		72		60		36		48		26		34		40			

¹ N: Número de estacas según categoría.

² P: Producto de N X Factor.

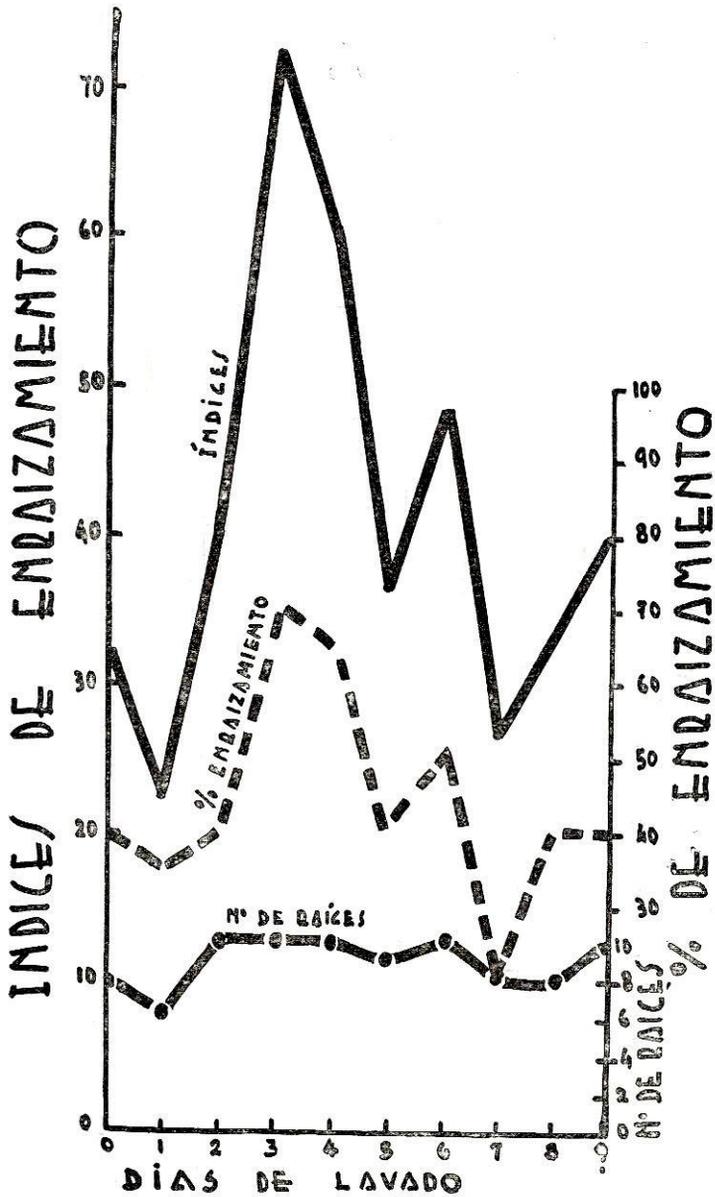


Fig. 1. — Gráfico comparativo entre % enraizamiento, nº de raíces e índice de acuerdo a tiempo de lavado

De acuerdo a nuestro criterio, el lavado produciría un reajuste en las concentraciones de auxinas y cofactores naturales (SKOOG y TSUI, 1948; TIZIO *et al.*, 1961 VI) hecho que determinaría una relación armónica más favorable a la diferenciación de primordios radicales. Aumentando el tiempo de lavado, dicha relación se alteraría, sin llegar a impedir totalmente el fenómeno. El lavado podría actuar también por hidratación de los tejidos, haciendo variar su actividad metabólica (ritmo respiratorio, "turnover" de proteínas, etc.) cuyos metabolitos intervendrían también en la relación mencionada.

No descartamos tampoco la posibilidad que el lavado elimine, hasta el 4º día de tratamiento, ciertos inhibidores que podrían interferir en la acción de las auxinas y cofactores naturales.

Mediante el empleo de los Índices mencionados (tabla III) puede apreciarse claramente cómo se distribuyen las estacas enraizadas según número de raíces, dando una idea cuantitativa y cualitativa más completa de la modalidad del fenómeno rizogénico. En la figura 1 puede observarse gráficamente, de un golpe de vista, cómo se magnifican las expresiones porcentaje de enraizamiento y número de raíces mediante el empleo de dicho Índice. Indudablemente cuando se quieran analizar las causas de diferencias debidas a tratamientos, se deberá recurrir al cuadro de distribución de estacas por categorías.

RESUMEN

Se determinó el efecto de diferentes períodos de lavado de las bases de estacas de *Populus alba* cv. "Bolleana", sobre la magnitud del fenómeno de enraizamiento. Se determinó que con períodos de lavado de 3 a 4 días la capacidad rizógena es máxima, traducida por un mayor porcentaje de enraizamiento, brotación y número de raíces. Los autores atribuyen este fenómeno a un reajuste de la concentración de auxinas y cofactores naturales, que determinarían en última instancia una relación favorable para la diferenciación de primordios radicales. Tampoco se descarta la posible eliminación de inhibidores naturales que interferirían en la manifestación del fenómeno. Con el objeto de evaluar las distintas respuestas mediante una sola expresión numérica que involucrara porcentaje de enraizamiento y número de raíces, se establecieron índices de enraizamiento, los que permiten visualizar cualitativa y cuantitativamente el fenómeno rizogénico y por ende la eficacia de los respectivos tratamientos.

PARTE III

INFLUENCIA DE LA ESTRATIFICACION DE ESTACAS LAVADAS Y SU
CORRELACION CON FACTORES FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS

SUMMARY

Rooting in poplar. III. Influence of the stratified washed cuttings and their correlation to physiological and biochemical factors.

In this paper the combined effect of stratification way (horizontal and vertical) to the washing process of the cuttings of *Populus alba* cv. "Bolleana" taken at two different periods (dormancy and sprouting stages) were studied. At the same time some free amino-acids and the activity of natural auxins and/or inhibitors present in the cuttings were determined. It was found that the washing the cuttings during 96 hours increased the rooting percentage in all the variables, and that stratification during 60 days at 20 cm depth also increased the number of roots per cuttings. It was observed that the best rooting capacity was obtained when washing and vertical stratification were combined. According to the physiological and biochemical determinations it is discussed their possible correlation with the rooting process.

El presente trabajo tuvo por finalidad estudiar los efectos que la estratificación de estacas previamente lavadas y no lavadas provocaba sobre la capacidad de enraizamiento, como asimismo determinar algunas diferencias fisiológicas y bioquímicas relacionadas con el mismo.

MATERIAL Y METODOS

La extracción de estacas de *Populus alba* cv. "Bolleana" se efectuó del mismo lugar y con idéntico criterio que en los ensayos anteriores. Las mismas se tomaron en dos épocas, principio de dormancia (30 de junio de 1961) y comienzos de brotación (3 de septiembre del mismo año). El lavado de las estacas se efectuó por 96 horas de acuerdo al procedimiento indicado en el ensayo anterior. Se realizaron las siguientes variantes:

Estacas en estado de dormancia (30 de junio)

1. No estratificadas.
 - a) No lavadas.
 - b) Lavadas.
2. Estratificadas "horizontalmente" durante 60 días.
 - a) No lavadas.
 - b) Lavadas.
- 2'. Estratificadas "verticalmente" durante 60 días.
 - a') No lavadas.
 - b') Lavadas.

Estacas en estado de brotación (3 de septiembre).

3. No estratificadas.

- a) No lavadas.
- b) Lavadas.

Para cada una de las variantes anteriores se emplearon 100 estacas. Otras 50 estacas de las mismas características se destinaron para las determinaciones analíticas. La estratificación se efectuó en condiciones naturales de campo, en suelo franco. Para la variante "estratificación horizontal" se siguió el método empleado por TRIONE (citado), o sea que se dispusieron acostadas en una sola capa y a 20 cm de profundidad. Para la variante "estratificación vertical" se colocaron en manojos, con las bases fisiológicas hacia abajo, a una profundidad tal que sus ápices quedaron a 20 cm de la superficie del terreno. La humedad edáfica a esa profundidad fue de $13\% \pm 3\%$.

En cada caso las distintas variantes se llevaron a enraizar en cajoneras de madera, conteniendo como medio enraizante 1 parte de arena cuarzosa y 2 partes de granulado volcánico (v/v). Se regaron diariamente, alternando agua de canilla con solución nutritiva de Hoagland. En cada época de enraizamiento, que duró para cada caso 35 días, los ensayos se condujeron en condiciones de vidriera termostatzada a $23^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ y humedad relativa ambiente de $92\% \pm 4\%$. Al finalizar los respectivos períodos de enraizamiento de cada variante, éstas se extrajeron de sus medios, procediéndose a contar número y largo de raíces y largo de brote, para calcular luego los porcentajes de enraizamiento y brotación, como asimismo los "índices de enraizamiento".

RESULTADOS

Puede apreciarse (tabla IV) que en estacas no estratificadas, cualquiera sea la época de extracción, el lavado aumenta los porcentajes de enraizamiento y brotación, pero resulta algo detrimental para número de raíces y largo de brote por estaca cuando éstas se toman en período de dormancia. La estratificación provoca en todos los casos un aumento del número de raíces, y el lavado previo de las estacas incrementa tanto los porcentajes de enraizamiento como de brotación. En cuanto a la modalidad de estratificación, se obtiene la máxima capacidad de enraizamiento cuando se combinan el lavado con la estratificación vertical.

TABLA IV
Efecto de la estratificación, del lavado de las estacas y combinaciones de los mismos sobre la capacidad rizógena

Variantes	Porcentaje de enraizam.	Número de raíces	Porcentaje de brotación	Largo del brote (cm)	Índice de enraizam.
<i>Estacas en dormancia</i>					
1. No estratificadas:					
a) No lavadas	74	8,4	91	15	320
b) Lavadas	82	5,7	97	13	272
2. Estratificadas horizontalmente:					
a) No lavadas	50	10,0	52	14	242
b) Lavadas	84	10,0	84	15	420
2'. Estratificadas verticalmente:					
a) No lavadas	70	9,7	70	17	324
b) Lavadas	98	10,9	98	19	512
<i>Estacas en brotación</i>					
3. No estratificadas:					
a) No lavadas	69	9,4	75	18	318
b) Lavadas	96	9,5	100	18	442

No se consigna largo de raíz por ser prácticamente similar en todas las variantes.

DETERMINACIONES FISIOLÓGICAS Y BIOQUÍMICAS

MÉTODOS Y RESULTADOS

a) *Determinación de algunos amino-ácidos libres.* El material de estacas, equivalente a 25 gr de materia seca, se molió rápidamente en un molinillo triturador, extrayéndose los amino-ácidos libres con alcohol etílico, 80 %, durante 24 horas a 2-4° C. El extracto obtenido por decantación y filtración se concentró a un volumen final de 50 ml en estufa a vacío a 35° C. La separación de los amino-ácidos se efectuó por cromatografía unidireccional sobre papel Whatman n° 1, siguiéndose la técnica descrita por Mc FARRÉN (1951). La elución de las respectivas "manchas", localizadas por superposición con un cromatograma paralelo y revelado, se realizó con agua destilada. La determinación se efectuó por reacción colorimétrica con ninhidrina, midiéndose la densidad óptica a 570 milimicrones. Por el método seguido se pueden separar los

amino-ácidos dicarboxílicos aspártico y glutámico, los hidroxiamino-ácidos serina y treonina, y los neutros glicina y alanina. Estos dos últimos en ningún caso estuvieron presentes en cantidades detectables. Los datos de esta determinación semicuantitativa se expresan como porcentaje relativo de cada compuesto, tomando como base la densidad óptica de una curva de soluciones standards.

Los datos de la tabla V muestran que en estacas no estratificadas, tanto en estado de dormancia como brotación, sólo aparecen los amino-ácidos dicarboxílicos (aspártico y glutámico) y que la proporción relativa de los mismos y cantidad total es diferente de acuerdo a la época de extracción de estacas. El lavado tiende a igualar dicha proporción y a incrementar la cantidad total de esos compuestos.

Durante la estratificación se suman dos hidroxiamino-ácidos (serina y treonina) y aumenta la cantidad total. El lavado no modifica prácticamente dicha cantidad, pero altera la proporción relativa de los distintos compuestos nitrogenados.

TABLA V

Determinación semi-cuantitativa por cromatografía, de algunos amino-ácidos libres presentes en las estacas según tratamientos

Variantes	% relativo a cada amino-ácido			
	Aspártico	Glutámico	Serina	Treonina
<i>Estacas en dormancia</i>				
1. No estratificadas:				
a) No lavadas	41	59	—	—
b) Lavadas	51	49	—	—
2. Estratificadas:				
a) No lavadas	25	28	31	16
b) Lavadas	36	30	15	19
<i>Estacas en brotación</i>				
3. No estratificadas:				
a) No lavadas	54	46	—	—
b) Lavadas	48	52	—	—

b) *Determinación de actividad de auxinas y/o inhibidores.* Se siguió la misma técnica empleada por TIZIO et al., 1961, I (citado), efectuándose los extractos etéreos con el equivalente a 50 gr de materia seca de estacas, durante 3 horas a 2-3° C. Su evaluación se llevó a cabo mediante el test trigo de crecimiento recto de coleóptiles, descrito en ese trabajo.

Las actividades de auxinas y/o inhibidores de la tabla VI muestran que en estacas no estratificadas la actividad de sustancias inhibidoras es mayor durante la brotación. El lavado de las estacas produce efectos diferentes de acuerdo al estado fisiológico de las mismas, así, en dormancia aumenta la actividad de inhibidores, mientras que en brotación sucede lo opuesto, posiblemente por facilitar su eliminación o bien por estimular la actividad auxínica natural que regularía el efecto de los inhibidores. Durante el proceso de estratificación es evidente la tendencia a favorecer la actividad de auxinas. El lavado tiende a contrarrestar levemente esta acción.

TABLA VI

Variaciones de actividad de auxinas y/o inhibidores en extractos e éreos de estacas, según tratamientos

Variantes	Diluciones					Testigo (H ₂ O)
	(1)	(1 : 1)	(1 : 2,5)	(1 : 5)	(1 : 10)	
<i>Estacas en dormancia</i>						
1. No estratificadas:						
a) No lavadas	71	87	87	98	102	100
b) Lavadas	50	70	78	96	102	100
2. Estratificadas:						
a) No lavadas	84	98	98	100	104	100
b) Lavadas	70	87	87	94	101	100
<i>Estacas en brotación</i>						
3. No estratificadas:						
a) No lavadas	51	56	80	80	88	100
b) Lavadas	80	85	90	99	94	100

DISCUSION

A través de la exposición de los resultados se ha visto una vez más el efecto beneficioso del lavado de las bases de las estacas sobre la capacidad de enraizamiento. Durante la estratificación se operan, evidentemente, cambios cuali-cuantitativos desde el punto de vista fisiológico y bioquímico. Así, por ejemplo, la aparición de los hidroxí-amino-ácidos serina y treonina hacia el final del período de estratificación, estaría correlacionado con una activación del "turnover" de proteínas, y, por ende, de ciertos sistemas enzimáticos. Esto resultaría particularmente cierto en la variante de lavado. Así, como dato ilustrativo, los autores, en colaboración con el Ing. PALLERONI, determinaron en estacas lavadas y no lava-

das tal activación enzimática, medida por la formación de ácido oxaloacético a partir de los ácidos aspártico y alfa-cetoglutámico.

De acuerdo a AVERY y POTTORF (1945), un aumento cuali-cuantitativo de nitrógeno puede, a su vez, incrementar la cantidad de auxina extractable, lo cual estaría en concordancia con la leve aparición de actividad auxínica o disminución de inhibidores observadas en estacas estratificadas.

Las distintas actividades de auxinas y/o inhibidores encontrado, como así también la proporción relativa de los compuestos nitrogenados analizados (que actuarían como cofactores), inducirían, de acuerdo a la relación de sus concentraciones, a diferenciar más o menos primordios radicales según la época en que se tomen, modalidad de estratificación y tratamiento de lavado.

RESUMEN

Se estudian los efectos combinados de la modalidad de estratificación (horizontal y vertical) con el lavado previo de las estacas de *Populus alba* cv. "Bolleana" tomadas en dos épocas distintas, principio de dormancia y comienzo de brotación. Paralelamente se efectuaron determinaciones de algunos amino-ácidos libres y actividad de auxinas y/o inhibidores. Encuentran que el lavado previo de las estacas por 96 horas, en todos los casos, aumenta el porcentaje de enraizamiento, y que la estratificación durante 60 días a 20 cm de profundidad incrementa además el número de raíces por estaca. La máxima capacidad de enraizamiento se produce cuando se combina el lavado previo de las estacas con la estratificación en posición vertical de las mismas. Mediante las determinaciones fisiológicas y bioquímicas se discute su posible correlación con la capacidad de enraizamiento.

PARTE IV

RESPUESTAS A TRATAMIENTOS DE REGULADORES DEL CRECIMIENTO Y CIERTOS COFACTORES¹

SUMMARY

Part A. Responses in periods of low rooting capacity.

On behalf of treatments with IBA and a series of cofactores like vitamins, aminoacids, yeast extract, etc., alone and in combination among them, it was tried to establish the possible causes of the low rooting capacity observed in cuttings of *Populus alba* cv. "Bolleana" when taken, from the mother plants,

¹ Las siguientes abreviaturas serán empleadas:

IBA: ácido Indol-3-butírico.

IPA: ácido beta-(indol-3-)propiónico.

EL: extracto de levaduras autolizado.

TIBA: ácido 2,4,5-Triiodobenzoico.

during the active period of growth (December). With the same purpose, the activity of free and bound auxins as well as water soluble inhibitors were determined in such cuttings. It was found a response to individual treatment with IBA (10, 25 and 50 ppm), biotin, alanine, threonine and adenine. When combining growth regulators and cofactors it appears more or less response in all the treatment depending on their relative concentration ratios. It was found activity of inhibitors and auxins deficiencies. The best treatments were the combined action of IBA 50 ppm with Yeast extract 0.1 ‰, and IBA 25 ppm with threonine and with glutamic acid. The rooting percentage was increased from 11% (check) to 83%, and the number of roots per cutting from 2 (check) to 11.

Part B. Responses in cuttings under different physiological stages.

Cuttings of *Populus alba* cv. "Bolleana" in four different physiological stages, namely:

- A) Cutting in dormancy stage, stratified and non washed.
- B) Cuttings in dormancy stage, stratified and then washed during 96 hours.
- C) Cuttings in sprouting stage, non estratified and non washed.
- D) Cuttings in sprouting stage, non estratified and washed during 96 hours.

These cuttings were treated with IPA 30 ppm., synthetic nitrogen cofactors 20 gammas N₂ per liter, and natural cofactors present in the Yeast extract, alone and in combination. It was found that the responses to said treatments were highly depending of the physiological stages of the poplar cuttings.

MATERIAL Y METODO

Las estacas de *Populus alba* cv. "Bolleana", utilizadas en ambos ensayos, fueron extraídas del mismo vivero y con el mismo criterio que en los trabajos anteriores, siguiéndose todo el posterior proceso indicado en los mismos. Los tratamientos con soluciones enraizantes se efectuaron sumergiendo 3 cm de las bases de las estacas en 200 ml de solución, permaneciendo durante 24 horas a oscuridad y a 22-25° C. Para cada tratamiento se utilizaron 20 estacas. Cuando hubo presencia de brotes del año, éstos fueron eliminados.

Con el objeto de conocer algunos aspectos del estado fisiológico de las estacas, se llevaron a cabo determinaciones de actividad de sustancias inhibitoras hidrosolubles, actividad de auxina libre y ligada, antes y después de la extracción acuosa de inhibidores. Las técnicas seguidas fueron las mismas descriptas por TIZIO et al. (1961, I), evaluándose las auxinas por el test de crecimiento recto de coleóptile de trigo, y los inhibidores por el test de germinación de aléfi.

ENSAYO A. *Respuestas en época de baja capacidad de enraizamiento.*

En uno de los ensayos anteriores los autores observaron bajas expresiones de enraizamiento cuando la extracción de las estacas de la planta madre se realizaba durante el período de activo crecimiento de los brotes del año (diciembre). Dicho comportamien-

to se debería a una relación adversa de auxinas y cofactores naturales o a ausencia de algunos de ellos dentro de las estacas.

El presente ensayo tuvo por finalidad corroborar dicha hipótesis. Para ello se extrajeron las estacas a fines de diciembre, eliminándose los brotes del año que habían alcanzado en esta época 45 cm de longitud en promedio, y se procedió a la aplicación de reguladores del crecimiento y diversos cofactores de acuerdo al siguiente plan:

Auxina: IBA, en concentraciones de 10, 25 y 50 ppm.

Antiauxina: TIBA, en concentraciones de 5, 50 y 100 ppm.

Cofactores sintéticos: ácido Ascórbico (vit. C), Biotina (vit. H), Riboflavina (vit. B₂), Tiamina (vit. B₁), ácido Glutámico, Alanina, Treonina, Valina, Asparagina y Adenina, cada uno en concentración de 50 gammas por litro; conjunto de estos Cofactores en concentración individual de 10 gammas por litro.

Cofactores naturales: EL en concentraciones de 0,1 ‰; 1,0 ‰ y 10,0 ‰.

Tratamientos combinados: IBA en sus tres concentraciones con cada uno de los cofactores.

RESULTADOS Y DISCUSION

En la figura 2 se han representado gráficamente los resultados en forma de histogramas y expresados por índices de enraizamiento; de ella pueden extraerse las siguientes conclusiones. Provocan respuestas favorables por sí mismo: IBA en sus tres concentraciones, biotina, alanina, treonina y adenina. TIBA resulta detrimental en todos los casos, como asimismo el EL en las dos concentraciones más bajas. Los restantes tratamientos se comportan en forma más o menos similar al testigo.

Con respecto a las combinaciones de IBA con los diferentes cofactores, todas resultan favorables, dependiendo únicamente de la relación de sus concentraciones. Así, las mejores respuestas se obtienen según la relación IBA/cofactor sea: *estrecha* (alanina), *amplia* (vitaminas B₁, B₂, H y valina), *intermedia* (ácido glutámico, treonina, asparagina), *intermedia a amplia* (adenina y EL), *todas las concentraciones* (vitamina C).

Los resultados de la tabla VII indican que las estacas extraídas en esta época acusan actividad de sustancias inhibitoras del tipo hidrosoluble; en cambio no existe actividad de auxinas libre o ligada, ya sea por ausencia de las mismas o por enmascaramiento de inhibidores del tipo soluble en solventes orgánicos (éter).

Tanto las respuestas a los diferentes tratamientos con soluciones enraizantes, como los resultados analíticos de los bio-ensayos, se encuentran en concordancia, demostrando que las sustancias con

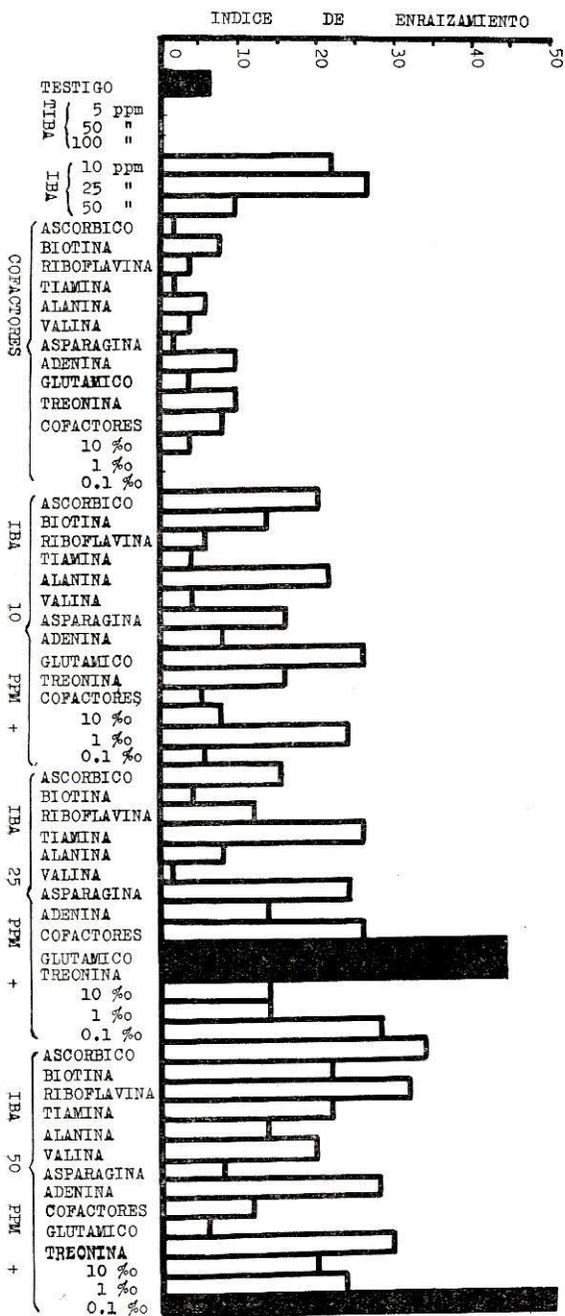


Fig. 2. — Estacas de álamo en época de baja capacidad de enraizamiento. Su respuesta a reguladores del crecimiento y cofactores

carácter auxínico se encuentran en deficiencias, ya que los tratamientos con la antiauxina TIBA inhiben totalmente la diferenciación radicular a concentraciones tan bajas como 5 ppm. La acción individual, tanto de IBA como de ciertos cofactores, indica también deficiencias de ambos tipos de sustancias.

El efecto de las diferentes relaciones de concentraciones de los factores de enraizamiento avalan la hipótesis de que en la estaca se necesita un equilibrio armónico de los mismos para provocar o elevar el umbral de su capacidad rizogénica.

TABLA VII

Determinación de inhibidores hidrosolubles y de auxina libre y ligada antes y después de extracción acuosa de inhibidores

Diluciones de los extractos	Actividad inhibidores hidrosolubles (% germ.)	Actividad de auxinas			
		Antes de la extrac. acuosa		Después de la extrac. acuosa	
		Libre (%/o crec.)	Ligada (%/o crec.)	Libre (%/o crec.)	Ligada (%/o crec.)
1.....	58	56	49	55	51
1 : 1.....	74	60	50	57	51
1 : 2.....	92	67	51	59	54
1 : 5.....	95	85	59	79	68
1 : 10.....	92	91	68	85	86
1 : 20.....	98	94	80	90	90
Testigo (H ₂ O).....	100	100	100	100	100

Los mejores resultados se han obtenido combinando IBA 50 ppm con EL 0,1 %/00 e IBA 25 ppm con ácido glutámico por un lado y treonina por otro. El porcentaje de enraizamiento y número de raíces por estaca se incrementó de 11 % y 2 respectivamente (testigo) a 83 % y 11 (tratamientos soluciones enraizantes).

ENSAYO B. *Respuestas en estacas bajo diferentes estados fisiológicos.*

Las contradicciones en la naturaleza química del o de los cofactores, generalmente nitrogenado, observada a menudo en la literatura, es posible que se deba, no solamente a las distintas formas de nitrógeno orgánico soluble requeridas de acuerdo a las especies (LEOPOLD, 1955), sino que también estaría condicionado muy especialmente por el estado fisiológico de la estaca.

Los tratamientos del presente ensayo tuvieron por finalidad testar, mediante la combinación de un regulador del crecimiento y distintos compuestos nitrogenados que tuvieran una misma concentración de nitrógeno, el efecto que los factores de enraizamiento pudieran tener en estacas de *Populus alba* cv. "Bolleana" que presentaran cuatro estados fisiológicos distintos. Dichos estados fueron los siguientes:

Estacas extraídas al inicio de dormancia:

1. Estratificadas y no lavadas.
2. Estratificadas y posteriormente lavadas por 96 horas.

Estacas extraídas al inicio de brotación:

3. No estratificadas, no lavadas.
4. No estratificadas y lavadas por 96 horas.

Los tratamientos con soluciones enraizantes fueron los siguientes:

Auxina: IPA 30 ppm.

Cofactores nitrogenados: ácido glutámico, serina, treonina, adenina, biotina, conjunto de estos cofactores. La concentración de cada variante fue de 20 gammas de Nitrógeno por litro. E.L. 1⁰/₀₀ en base al peso seco.

Tratamientos combinados: IPA con cada uno de los cofactores.

RESULTADOS Y DISCUSION

De la observación de los Índices de enraizamiento representados gráficamente en la figura 3, se puede inferir que el requerimiento de cofactores nitrogenados, en el proceso de enraizamiento, es distinto en calidad según el estado fisiológico de las estacas. Así, en las estratificadas sin lavar, las mejores respuestas ocurren con las combinaciones de IPA con biotina y adenina, mientras que sus similares lavadas responden a tratamientos simples de IPA y de biotina. En lo que se refiere a estacas extraídas a comienzos de brotación sin el tratamiento de lavado, los mejores resultados se obtienen combinando IPA con E.L. En sus similares sometidas al proceso de lavado, además de responder exitosamente a todos los tratamientos, simples y combinados, sobresalen el tratamiento simple del conjunto de cofactores y el combinado de IPA con E.L.

Se puede apreciar que en los distintos estados fisiológicos aparecen deficiencias de auxinas y/o cofactores, y que existe cierta selectividad de parte de la auxina(s) en la elección del cofactor(es) para interaccionar favorablemente. Si bien no se puede precisar con exactitud cuál es o son los cofactores en álamo necesarios para interaccionar en la morfogénesis radicular, se puede generalizar

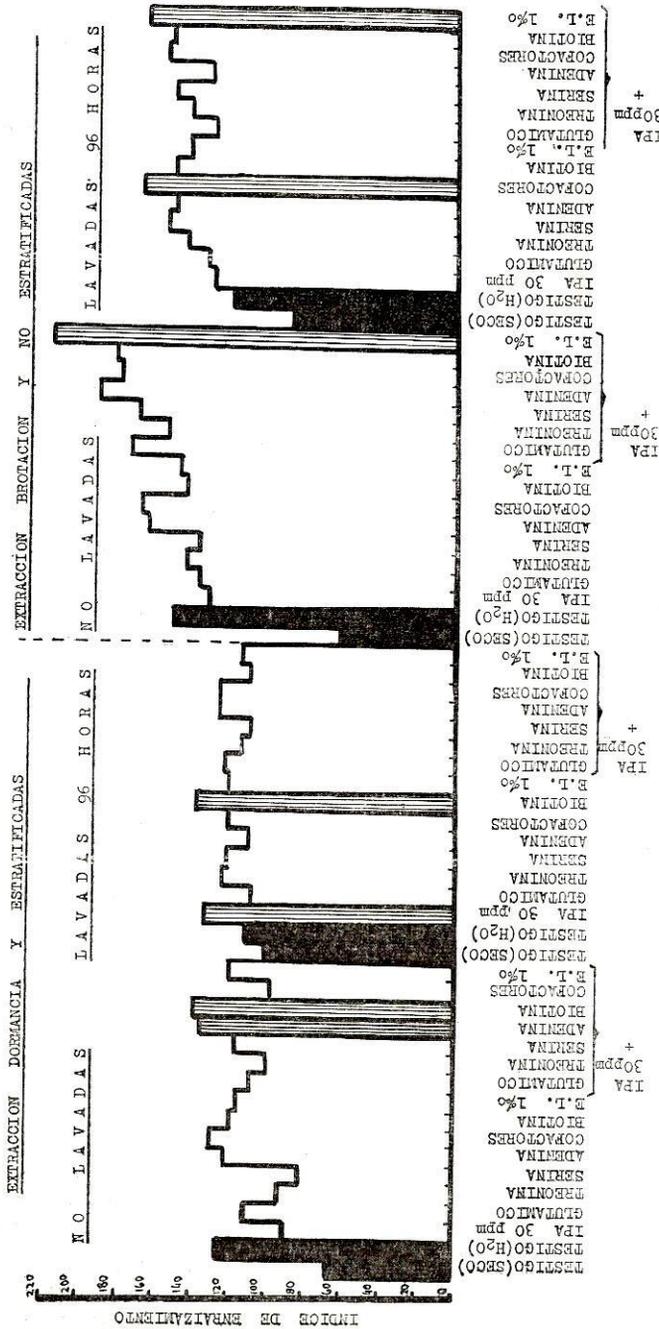


Fig. 3. — Estacas de álamos en cuatro estados fisiológicos diferentes. Su respuesta a tratamientos de hormona y cofactores nitrogenados en relación a la rizogénesis

que de acuerdo a los distintos estados fisiológicos, se comportan como tales, compuestos del tipo amino-ácidos, purina y vitaminas, lo que concuerda con lo encontrado por otros autores en variadas especies (DOAK, 1939; ARAUJO, 1953; TIZIO et al., 1961-VI). El efecto favorable del extracto de levadura autolizado se debería al contenido de una serie de cofactores, algunos de naturaleza conocida, como amino-ácidos (WHITE, 1937-39; SANDSTEDT y SKOOG, 1960), vitaminas (ROBBINS, 1951) y otros de naturaleza aún no bien identificados.

RESUMEN

ENSAYO A. Mediante tratamientos con IBA (10, 25 y 50 ppm), vitaminas, amino-ácidos, amina y purina (50 gammas por litro) y compuestos naturales (extracto de levadura autolizado), y combinaciones de ellos con IBA, se trata de establecer las posibles causas de la baja capacidad de enraizamiento observada en estacas de *Populus alba* cv. "Bolleana", cuando las mismas se extraen en el período de activo crecimiento de los brotes del año. Con el mismo fin, por bio-ensayos se determinó actividad de inhibidores y auxinas libre y ligada presentes en las estacas en dicha época. Se obtuvo respuesta a tratamientos simples de IBA en las tres concentraciones, biotina, alanina, treonina y adenina. Los tratamientos combinados resultaron todos exitosos, dependiendo de la relación de sus concentraciones. En las estacas existe actividad de inhibidores a la vez que deficiencia de auxinas.

ENSAYO B. Se trata de establecer los efectos de distintos compuestos nitrogenados, en base a una misma concentración de nitrógeno, solo y en combinación con IPA 30 ppm, sobre la capacidad rizógena de estacas de *Populus alba* cv. "Bolleana" en distintos estados fisiológicos dados por la época de extracción (dormancia y brotación), estratificación y proceso de lavado de las estacas. Se encontró que las respuestas a los distintos tratamientos eran dependientes de dichos estados fisiológicos y que también lo era el requerimiento de cofactores nitrogenados.

CONCLUSION

A través de la exposición de los resultados de esta contribución podemos concluir que la mejor época para extracción de estacas de *Populus alba* cv. "Bolleana" ocurre aproximadamente durante la mitad del período de reposo vegetativo (mayo a agosto), correspondiendo a fines del mes de julio la expresión máxima de iniciación radicular, con un porcentaje de enraizamiento del 100 por ciento y un promedio de 10 raíces por estaca.

El proceso de lavado de las bases de las estacas posibilita ampliar dicho período de extracción desde pleno crecimiento vege-

tativo de los vástagos (enero) hasta inicio de la posterior brotación de los mismos (setiembre).

Los tiempos de lavado de las estacas, más efectivos en la exaltación de la capacidad enraizante, oscilan entre las 72 y 96 horas a temperaturas tan variables como 8 y 18° C.

El material extraído e inmediatamente lavado, puede ser estratificado hasta el momento de su plantación, con la consiguiente ventaja de acrecentar su capacidad rizógena, sobre todo si las estacas se estratifican en forma vertical, con las bases fisiológicas hacia abajo y a una profundidad media de 20 cm, en suelo franco, con humedad edáfica de alrededor del 15 %.

Los tratamientos con reguladores del crecimiento y cofactores, suministrados en relaciones adecuadas, no solamente exaltan la capacidad natural de enraizamiento de las estacas, sino que inducen un alto porcentaje de enraizamiento y un mayor número de raíces por estaca en relación a aquellas que por su estado fisiológico muestran la mínima expresión de emisión radicular. Reguladores sintéticos del crecimiento, tales como IBA e IPA, y cofactores como ácido glutámico, treonina, serina, adenina, biotina y sustancias presentes en el extracto de levadura autolizado, producen los mejores efectos cuando se combinan en una relación armónica de acuerdo al estado fisiológico de las estacas, dado por la época de extracción, tratamientos físicos de lavado y estratificación.

AGRADECIMIENTOS

Los autores se hacen un deber en expresar su agradecimiento al Ing. Agr. RICARDO M. TIZIO por las oportunas indicaciones dadas durante la marcha de las experiencias. Asimismo agradecen la colaboración prestada por el Ing. Agr. NORBERTO J. PALLERONI en la parte bioquímica del ensayo.

BIBLIOGRAFIA

- ARAUJO, P. R., 1953. *Influencia de las estaciones y del estado de la estaca sobre el enraizamiento de estacas de cacao*. Acta Agronómica III (2): 123. Colombia.
- AVELLANEDA, M. O. y L. NIJENSOHN, 1960. *Intoxicación salina en álamo y sauce álamo*. Experimenta, 19 de noviembre. Mendoza, Argentina.
- EVERY, G. S. and L. POTTERF, 1945. *Auxin and nitrogen relationships in green plants*. Amer. Jour. Bot. 32: 666-671.
- CHILDERS, J. T. and W. E. SNYDER, 1957. *The effect of time of taking cuttings on the rooting of three cultivars of American holly ("Ilex opaca" Ait.)*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 17 (3): 233-235.
- CRAM, W. H. and C. H. LINDQUIST, 1961. *Moisture content as an index to the rooting capacity of Caragana softwood cuttings*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 77: 533-539.

- DOAK, B. W., 1939. *Amino acids on the rooting of cuttings*. Nature. 44: 379.
- 1940. *Effects of various nitrogenous compounds on the rooting of Rhododendron cuttings treated with alphanaphthaleneacetic acid*. N.Z.J. Sc. Tech. 21: 336-343.
- DORE, J., 1953. *Seasonal variation in the regeneration of root cuttings*. Nature. 172: 1189.
- FARRAR, J. L. and N. H. GRACE, 1941. *Vegetative propagation of conifers. X. Effect of season of collection and propagation media on the rooting of Norway Spruce cuttings*. Canadian Journal Res. Sect. C. Bot. Sci. 19 (10): 391-399.
- FISCHNICH, O., 1938. *Die rolle des wuchsstoffes bei der bildung von adventivsprossen und wurzeln*. Ber. Deutch. Bot. Ges. 56 (4): 144-151.
- HEMBERG, T., 1953. *The effect of vitamin K and vitamin H on the root formation in cuttings of Phaseolus vulgaris*. Physiol. Plantarum 6: 17-20.
- HITCHCOCK, A. E. and P. W. ZIMMERMAN, 1941. *Further test with vitamin B₁ on established plants and on cuttings*. Contr. Boyce Thompson Inst. 12: 143-155.
- HUDSON, J. P., 1953. *Factors affecting the regeneration of root cuttings*. Nature. 172 (4374): 411-412.
- KHAN, M. A. and W. C. HALL, 1954. *Effect of growth regulators on germination (axillary bud growth) and rooting development of sugar cane stem cuttings*. Bot. Gaz. 115: 261.
- LEOPOLD, A. C., 1955. *Auxins and plant growth*. Univ. Calif. Press.
- MAHLSTEDT, J. P. and E. P. LANA, 1958. *Evaluation of the rooting responses of cuttings by the method of rank*. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 71: 585-590.
- McFARREN, E. F., 1951. *Buffered filter paper chromatography of amino acid*. Analytical Chemistry. 23 (1): 168-173.
- MORISHITA, G. and N. OYAMA, 1952. *Inhibiting substance for the rooting which are founded in the cutting. II. Substance inhibiting rooting contained in saw dust and its elimination*. Journal of the Japanese Forestry Society. 34 (12): 1-5.
- OYAMA, N., 1957. *Substance to inhibit rooting which is contained in branches of Yamamomo (Myrica rubra Sieb. et Zucc.)* Bull. of the Government Forestry Exp. St. 99 : 145170.
- 1959. *Studies on the causes of lowering rooting ability of the cuttings from old trees of Sugi (Cryptomeria japonica D. Don) and the methods of promoting rooting*. Bull. Gov. Forest. Exp. St. 111 : 91-132.
- PEARSE, H. L., 1948. *Growth substances and their practical importance in agriculture*. Commonwealth Bureau of Horticulture and Plantation Crops. Tech. Comm. n° 20.
- PORTIANKO, V. F., 1949. *A method of increasing rooting in cuttings*. Doklady Akad. Nauk. S.S.S.R. 68 : 1121-1124.
- REINES, M. and J. H. BAMPING, 1960. *Seasonal rooting responses of slash loblolly pine cuttings*. Journal Forestry 58 (8) : 646-647.
- ROBBINS, W. J., 1951. *Vitamin and aminoacid requirement for the growth of higher plant*. In Plant Growth Substances, ed. by F. Skoog. Univ. of Wisconsin.
- and V. KAVANAGH, 1941. *Plant growth substances*. Amer. Rev. Biochem. 10 : 491.
- SANDSTEDT, R. and F. SKOOG, 1960. *Effects of aminoacid components of yeast extract on the growth of tobacco tissue in vitro*. Physiol. Plantarum. 13 : 250-256.
- SKOOG, F. and C. Tsui, 1948. *Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem segments and callus cultured in vitro*. Amer. J. Bot. 35 : 782.

- SÍVORI, E. M. y J. E. WURCELDORF-WARDEN, 1949. *Un inhibidor en Matthiola incana*. Lilloa, XIX : 49-70.
- SNOW, A. G., 1938. *Use of indolbutyric acid to stimulate the rooting of dormant aspen cuttings*. Jour Forest. 36 (6) : 582-587.
- SONNENFELD, M., 1961. *Preliminary researchs on proper time of propagation of several trees and shrubs species by cuttings*. Acta Agrobotánica. X (2) : 35-45.
- TIZIO, R., V. TRIPPI, S. TRIONI y G. ALMELA PONS, 1961. *Estudios sobre enraizamiento en vid. I. Aspectos fisiológicos y bioquímicos*. PHYTON. 16 (2) : 153-169.
- 1961, *Estudios sobre enraizamiento en vid. II. Acción del lavado sobre la capacidad de enraizamiento*. PHYTON, 16 (2) : 171-176.
- 1961. *Estudios sobre enraizamiento en vid. VI. Interacción de sustancias de crecimiento y ciertos cofactores, sobre el proceso de morfogénesis radical*. PHYTON. 17 (1) : 25-38.
- TRIONE, S. O., 1963. *Influencia de la profundidad de estratificación de estacas de vid sobre la capacidad rizógena*. Rev. Fac. C. Agrarias, 10 : 1-2.
- TYCE, G. M., 1957. *Growth substances in relation to the rooting of Salix fragilis cuttings*. Ann. Bot. 21 : 499-512.
- WENT, F. W., BONNER, J. and G. C. WARNER. 1938. *B₁ (aneurine) and the rooting of cuttings*. Science. 87 : 170.
- WHITE, P. W., 1937. *Separation from yeast of material essential for growth of excised tomato roots*. Plant Physiol. 12 : 777-779.
- 1939. *Glycine in the nutrition of excised tomato root*. Plant Physiol. 14 : 527-538.