

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS



Efecto alelopático de extractos de ortiga (*Urtiga dioica*) y cola de caballo (*Equisetum arvense* L) en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de limón rugoso (*Citrus jambhiri* Lush).

TESIS

Para optar el grado de Ingeniero Agrónomo.

Autor:

Br. Sigifredo Farias Carrillo

Tumbes, 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS



Efecto alelopático de extractos de ortiga (*Urtiga dioica*) y cola de caballo (*Equisetum arvense* L) en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de limón rugoso (*Citrus jambhiri* Lush).

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dr. Deza Navarrete Carlos A. (Presidente)

M.Sc. Campaña Olaya Jalmer F. (Secretario)

Dra. Quevedo Narváez Teresa (Vocal)

Tumbes, 2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS



Efecto alelopático de extractos de ortiga (*Urtiga dioica*) y cola de caballo (*Equisetum arvense* L) en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de limón rugoso (*Citrus jambhiri* Lush).

Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido y forma.

Bach. Farías Carrillo Sigifredo (Autor)

Dr. García Seminario Ramón (Asesor)

Tumbes, 2019



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



.....
CAMPUS UNIVERSITARIO S/N "LA CRUZ"
SECRETARIA ACADÉMICA
TUMBES - PERU

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Tumbes, a los 11 (once) día (s) del mes de Diciembre de dos mil diecinueve, se reunieron en el aula virtual N° 3 de la Facultad de Ciencias Agrarias, los integrantes del jurado designados, según Resolución N° 119-2018/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D (07-09-2018) y Resolución N° 042-2019/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D (30-04-2019) donde se aprueba el Proyecto de Tesis y ratifica el jurado; con el objeto de evaluar la sustentación de la tesis denominada: **Efecto alelopático de extractos de ortiga (*Urtiga dioica*) y cola de caballo (*Equisetum arvense* L) en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de limón rugoso (*citrus jambhiri* Lush), para optar el Título de Ingeniero Agrónomo. Cuyo Asesor de la mencionada tesis es el Dr. Ramón García Seminario.**

A las Doce horas con quince minutos y, de acuerdo a lo estipulado en el Reglamento respectivo, el presidente del jurado dio por iniciado el acto.

Luego de la exposición del trabajo, la formulación de preguntas y la deliberación del jurado lo declararon aprobado por Unanimitad con el calificativo de Buena.

Por lo tanto el Bachiller: **FARIAS CARRILLO SIGIFREDO**, queda apto para que el Consejo Universitario de la Universidad Nacional de Tumbes, le expida el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo de conformidad con lo estipulado en el Artículo 90 del Estatuto de la Universidad Nacional de Tumbes y a lo normado en el Reglamento de Grados y Títulos.

Siendo las 13 (trece) horas con cinco minutos, el presidente del jurado dió por concluido el presente acto académico y para mayor constancia de lo actuado firman en señal de conformidad todos los integrantes de este jurado, presentes en el acto de sustentación.

Dr. CARLOS ALBERTO DEZA NAVARRETE
 Presidente

Mg. JALMER FIDEL CAMPAÑA OLAYA
 Secretario

Dra. TERESA QUEVEDO NARVAEZ
 Vocal

DEDICATORIA:

A mis padres sigifredo y Carmen, y mi hermano Francisco, y mis amigos que me motivan seguir luchando por mis sueños y mostrarles toda la dedicación y nunca abandonar tus objetivos por más inconvenientes que te pongan la vida en el camino.

El Autor

AGRADECIMIENTO

A nuestro creador Dios por haber dado la grandeza de la vida y por darme una familia maravillosa que a pesar de las buenas y malas seguimos unidos. A todos las personas que me ayudaron a realizar este trabajo, a maestros por los conocimientos brindados. A mi asesor el Dr. Ramón García Seminario y al encargado de laboratorio el Sr. Domiciano Sullon More por el apoyo y ayuda constante para realizar este trabajo.

El Autor

INDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
INDICE GENERAL.....	vii
INDICE DE TABLAS (CUADROS).....	x
INDICE DE FIGURAS	xiii
INDICE DE ANEXOS.....	xiv
CAPITULO I.....	15
1. RESUMEN	15
1.1. RESUMEN.....	16
1.2. ATRACT.....	16
CAPITULO II.....	17
2. INTRODUCCIÓN.....	18
CAPITULO III.....	19
3. REVISION DE LITERATURA.....	19
3.1. Aspectos relacionados con Limón rugoso.....	19
3.1.1. Ubicación taxonómica.....	19
3.1.2 .Características Morfológicas.....	19
3.2. Aspecto relacionados con la ortiga	20
3.2.1. Ubicación taxonómica.....	20
3.2.2. Características Morfológicas.....	20
3.3. Aspectos relacionados con Cola de caballo.....	21
3.3.1. Ubicación taxonómico.....	21
3.3.2. Características Morfológicas.....	22
3.4. Aspecto generales de la estructura y fisiología general de la germinación de las semillas.....	22
3.4.1. Estructura de las semillas.....	22
3.4.2. Fisiología de la germinación de las semillas.....	23
3.5. La ortiga y cola de caballo como estimulante en el crecimiento de plantas.....	25
CAPITULO IV.....	27

4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
4.1. Lugar de ejecución.....	27
4.2. Materiales, Insumos y Equipos.....	28
a. Materiales.....	28
b .Insumos.....	28
c. Equipos.....	28
d. Material vegetal.....	30
4.3. Metodología.....	29
a. Recolección de material vegetal.....	29
b. Siembra.....	29
c. Preparación de los extractos.....	30
d. Diseño experimental y análisis estadístico.....	30
e. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	31
4.4. Variables evaluadas.....	31
a. Porcentaje de germinación de semilla.....	31
b. Días al inicio de la germinación.....	31
c. Altura de parte aérea de la planta.....	31
d. Longitud promedio de la raíz.....	32
e. Biomasa fresca de parte aérea y parte radical.....	32
f. Biomasa seca de parte aérea y parte radical.....	32
CAPITULO V.....	33
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
5.1. Resultados	33
5.1.1. Porcentaje de germinación.....	33
5.1.2. Días al inicio de la germinación.....	36
5.1.3. Altura de tallo en plántulas de limón rugoso.....	37
5.1.4. Longitud de la raíz.....	38
5.1.5. Biomasa fresca de parte aérea y raíz.....	39
5.1.6. Biomasa seca de parte aérea y raíz.....	41
5.2. DISCUSION.....	44
CAPITULO VI.....	46
6. CONCLUSIONES.....	46
CAPITULO VII.....	47
7. RECOMENDACIONES.....	47

CAPITULO VIII.....	48
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	48
CAPITULO IX.....	52
9. ANEXOS.....	52

ÍNDICE DE TABLAS (CUADROS)

	Pág
Cuadro 1: Tratamientos ensayados para evaluar el efecto alelopático de extractos de ortiga y cola de caballo (<i>Equisetum arvense</i> L) en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de limón rugoso (<i>Citrus jambhiri</i> Lush).....	31
Cuadro 2: Prueba de Duncan (5%) para el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo a los 7 días después de la siembra *Datos transformados mediante la raíz cuadrada de arco seno.....	34
Cuadro 3: Prueba de Duncan (5%) para el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo a los 14 días después de la siembra..*Datos transformados mediante la raíz cuadrada de arco seno.....	35
Cuadro 4: Prueba de Duncan (5%) para el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo a los 21 días después de la siembra.*Datos transformados mediante la raíz cuadrada de arco seno.....	35
Cuadro 5: Prueba de Duncan (5%) para los días de germinación de semillas de limón rugoso por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo.....	36
Cuadro 6: Prueba de Duncan (5%) para los días de germinación de semillas de limón rugoso por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo.....	38
Cuadro 7: Prueba de Duncan (5%) para la longitud promedio de raíz (cm) de las plántulas del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	39

Cuadro 8:	Prueba de Duncan (5%) para la Biomasa fresca (g) de la parte aérea de las plántulas del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	40
Cuadro 9:	Prueba de Duncan (5%) para la Biomasa fresca de la raíz (g.) de las plántulas del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	41
Cuadro 10:	Prueba de Duncan (5%) para la Biomasa seca (g.) de la parte aérea de las plántulas del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	42
Cuadro 11:	Prueba de Duncan (5%) para la Biomasa seca (g.) de la raíz de las plántulas del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	43
Cuadro 12:	Análisis de varianza para el porcentaje de germinación de semilla de limón rugoso a los 7 días por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	52
Cuadro 13:	Análisis de varianza para el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso a los 14 días por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	53
Cuadro 14:	Análisis de varianza para el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso a los 21 días por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	53
Cuadro 15:	Análisis de varianza para los días al inicio de la germinación de semillas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	53
Cuadro 16:	Análisis de varianza Altura de parte aérea de plántulas de limón rugoso (cm), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	54
Cuadro 17:	Análisis de varianza la longitud promedio de raíz de las plántulas de limón rugoso (cm), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	54

Cuadro 18:	Análisis de varianza para la Biomasa fresca del tallo de las plántulas de limón rugoso (g.), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	54
Cuadro 19:	Análisis de varianza para la Biomasa fresca de la raíz de las plántulas de limón rugoso (g.), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	55
Cuadro 20.	Análisis de varianza para la Biomasa seca del tallo de las plántulas de limón rugoso (g.), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	55
Cuadro 21.	Análisis de varianza para la Biomasa seca de la raíz de las plántulas de limón rugoso (g.), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	55

ÍNDICE DE FIGURAS

		Pág.
Figura 1.	Planta de ortiga (<i>Urtica dioica</i> L.).....	21
Figura 2.	Planta de “cola de caballo” (<i>Equisetum arvense</i> L.).....	22
Figura 3.	Posición global satelital del laboratorio del laboratorio de Morfo-fisiología.....	27
Figura 4.	Porcentaje de germinación en semillas de limón rugoso a los 7,14 y 21 días por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo.....	34
Figura 5.	Días al inicio de la germinación de semillas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	36
Figura 6.	Altura del tallo de plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	37
Figura 7.	Plántulas de limón rugoso tratadas a los 21 días con extractos de ortiga (A) y cola de caballo (B).....	37
Figura 8.	Longitud promedio de raíz de las plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	39
Figura 9.	Biomasa fresca de la parte aérea de las plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	40
Figura 10.	Biomasa fresca de la raíz de las plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	41
Figura 11.	Biomasa seca de la parte aérea de las plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	42
Figura 12.	Biomasa seca de la raíz de las plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.....	43
Figura 13.	Extractos de ortiga.....	56
Figura 14.	Extracto de cola de caballo.....	56

ÍNDICE DE ANEXO

	Pág.
Anexo N°01. Cuadros de resultados de la varianza.....	52
Anexo N°02. Figuras de los extractos de ortiga y cola de caballo....	56

CAPÍTULO I

1. RESUMEN

1.1. RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Morfofisiología vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Tumbes, y tuvo como objetivo, determinar el efecto de los extractos de las plantas de ortiga (*Urtiga dioica* L.) y “cola de caballo” (*Equisetum arvense* L.) sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de limón rugoso (*Citrus jambhiri* Lush). Se ensayaron tres concentraciones (25%, 50% y 100%) de extractos de ambas plantas más un testigo referencial (agua destilada) dispuestos en un diseño experimental de Bloque Completamente al Azar con tres repeticiones. Los resultados muestran un menor tiempo de germinación con ambos extractos, el porcentaje de germinación de las semillas del limón rugoso fue mayor con las diversas concentraciones de los extractos de la ortiga y cola de caballo, alcanzando valores superiores al 80%. Las variables de crecimiento (Longitud de tallo y de raíz, biomasa fresca y seca) de las plántulas del limón fueron estimuladas por los extractos acuosos de las plantas de ortiga, no así con los extractos de “cola de caballo”.

Palabras clave: Alelopatía, extractos, crecimiento, germinación.

1.2. ABSTRACT

The present research work was carried out in the plant morpho-physiology laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the National University of Tumbes, and aimed to determine the effect of extracts of nettle plants (*Urtiga dioica L.*) and "horsetail" (*Equisetum arvense L.*) on the germination of seeds and the growth of rough lemon seedlings (*Citrus jambhiri Lush*). Three concentrations (25%, 50% and 100%) of extracts from both plants were tested plus a reference control (distilled water) arranged in an experimental design of Completely Random Block with three repetitions. The results show a shorter germination time with both extracts, the percentage of germination of the seeds of the rough lemon was greater with the various concentrations of extracts of the nettle and horsetail, reaching values higher than 80%. The growth variables (stem and root length, fresh and dry biomass) of the lemon seedlings were stimulated by the extracts of the nettle plants, but not with the "horsetail" extracts of nettle plants, but not with "horsetail" extracts.

Key words: Allelopathy, extracts, growth, germination.

CAPITULO II

2. INTRODUCCIÓN

El limón es un cultivo permanente y uno de los más importantes en la costa norte del Perú, cuya cosecha continua durante todo el año, genera una actividad fluida en el aspecto económico y social. Su producción se viene incrementando desde algunos años, debido a la demanda en los mercados nacionales, tanto como consumo fresco, como en extracción de aceites esenciales. En el año 2016, la producción nacional de limón ascendió a 270 308 t, siendo las principales regiones productoras, Piura (54,8%), Lambayeque (19,1%), Tumbes (11%), Loreto (4%) y Ucayali (3,3%) (MINAGRI, 2017).

Sin embargo, la producción se ve afectada por la incidencias de plagas y enfermedades, sobre todo las ocasionadas por virus. Una alternativa para contrarrestar estos problemas fitosanitarios, es la búsqueda de variedades resistentes, que puedan ser utilizadas como patrones (porta injertos), siendo tradicionalmente el limón rugoso (*Citrus jambhiri* Lush) el más utilizado.

Uno de los factores a tener en cuenta, es el mayor tiempo de germinación de las semillas (7-18 días), lo que ha llevado a los agricultores a efectuar aplicaciones de productos químicos, entre ellos los activadores químicos de germinación, los cuales incrementan los costos de producción a nivel de vivero; además de afectar el entorno ecológico-ambiental.

Los extractos vegetales se han constituido en una alternativa para la sostenibilidad del medio físico; ya que muchos de ellas presentan

metabolitos que inciden en la estimulación de procesos fisiológicos favoreciendo el crecimiento de las plantas y por ende incrementan la producción y calidad de los frutos (Rodríguez y Hechevarría, 2004; Castillo y Rodríguez, 2014 y Puca , 2016).

La ortiga (*Urtiga dioica* L.) y la cola de caballo son dos plantas consideradas como malezas y utilizadas como plantas medicinales que contienen principios químicos usados como repelentes de insectos, estimuladores e inhibidores del crecimiento en plantas (Oliver *et al.*, 2017). Estudios realizados muestran efectos positivos en los parámetros de germinación y crecimiento de diversas especies de plantas cuando se les aplica extractos de ortiga (Puca, 2016; Vega *et al.*, 2015; González *et al.*, 2015; Vera, 2016).

Con estos antecedentes, se realizó la presente investigación que tuvo como objetivo, evaluar el efecto de los extractos de plantas de ortiga (*Urtiga dioica* L.) y “cola de caballo” (*Equisetum arvense* L.) en el proceso de la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de limón rugoso (*Citrus jambhiri* Lush) en condiciones de laboratorio.

CAPITULO III

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. ASPECTO RELACIONADOS CON EL LIMÓN RUGOSO

3.1.1. Ubicación taxonómica

Inga (2017), clasifica la especie de Limón rugoso en las siguientes condiciones taxonómicas:

Reino	: Plantae
Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Sapindales
Familia	: Rutaceae
Género	: <i>Citrus</i>
Especie	: <i>Citrus jambhiri</i> Lush,

3.1.2. Características Morfológicas

El limón rugoso es una planta perenne que desarrolla una cantidad de dos a tres raíces pivotantes, y puede alcanzar una profundidad de hasta 3 metros a más, tiene un tallo corto de una forma cilíndrica con ramas curvadas. Por lo general, sus hojas son de color verde y forma elíptica, poseen un peciolo que determinan la especie cítrica y son más desarrollados en los árboles jóvenes. Las flores tienen una coloración blanca, se puede encontrar en grupos o solitarias, en las axilas o yemas terminales de las hojas, el tipo de fruto es de color verdoso y es periforme,

aplanado o esférico de forma rugosa y cáscara gruesa, pulpa de color verde blanquecino. Las semillas son de diferente tamaño formas esféricas, tiene una coloración blanca o amarilla (Inga, 2017; Calderón, 2019).

3. 2. ASPECTO RELACION CON LA ORTIGA

3.2.1. Ubicación taxonómica

Puca (2016), clasifica a la ortiga en las siguientes categorías taxonómicas:

Reino : Plantae
Clase : Magnoliopsida
Orden : Rosales
Familia : Urticaceae
Género : Urtica
Especie : *Urtica dioica* L.

3.2.2. Características Morfológicas

La ortiga (Fig. 1) es una planta arbustiva, perenne, dioica y puede llegar a medir 150 cm. de altura aproximadamente, rizomas de color amarillo, ramificado. Tallo erecto, cuadrangular, pubescente, hojas oblongas – ovaladas, opuestas decusadas, pubescentes, flores unisexuales, verde amarillosas con estambres amarillos reunidos en panículas pendulares, axilares y terminales y el fruto es tipo aquenio. Toda la planta está cubierta con tricomas o pelos urticantes que tienen forma de pequeñas burbujas o ampollas que están llenan de una sustancia irritante que al contacto con la piel produce una lesión y entra ácido fórmico, histamina, resina y otros. Raíz es muy rica en tanino, que le confiere una acción astringente (Puca, 2016).

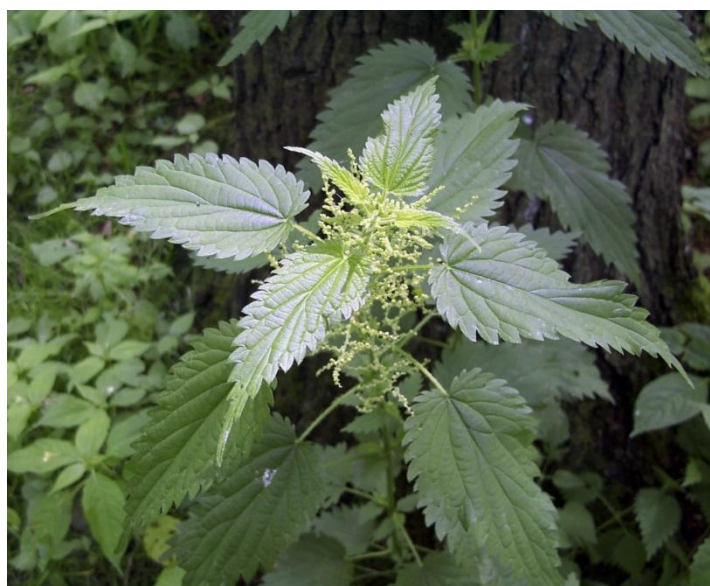


Figura 1. Planta de ortiga (*Urtica dioica* L).

Fuente: <https://www.herbolario.cl/extracto-de-ortiga>.

3.3. ASPECTO RELACIONADOS CON LA COLA DE CABALLO

3.3.1. Ubicación taxonómica

Calsin (2017), Clasifica la planta “cola de caballo” en las siguientes categorías taxonómicas:

Reino	: Plantae
Phylum	: Pteridophyta
Clase	: Equisetopsida
Orden	: Equisetales
Familia	: Equisetaceae
Género	: Equisetum
Especie	: <i>Equisetum arvense</i> L.

3.3.2. Características Morfológicas

La “cola de caballo” (Fig. 2) es una planta criptogámica vascular, tiene tallos huecos y rectos, son fértiles y miden entre 10 y 20 cm. y los tallos estériles pueden medir entre 20 y 80 centímetros, crecen a partir de un rizoma subterráneo, presentan nudos y entrenudos y flores reducidas. Es rica en minerales, silicatos, potasio, calcio, aluminio y magnesio; también contiene equisitonina, luteolina, kaemferol, nicotina y taninos y otros.



Figura 2. Planta de “cola de caballo” (*Equisetum arvense* L.)

Fuente: <https://www.jardineriaon.com/cola-de-caballo-planta-de-ribera-para-tu-estanque.html>

3.4. ASPECTO GENERALES DE LA ESTRUCTURA Y FISILOGIA DE LA GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS.

3.4.1 Estructura de las semillas

Zepeda (2015), considera que la estructura básica de la semilla tiene tres partes, a saber:

- El embrión, procede del resultado de la fecundación de la oosfera, se encuentra en el saco embrionario dentro del ovulo y se

encuentra con dos células llamadas sinérgicas y existe en semillas viables.

- El endospermo, es tejido triploide puede formar la mayor parte de las reservas nutritivas, a su madurez tiene una consistencia esponjosa que rodea el embrión.
- Las cubiertas seminales, se forman en los tegumentos del óvulo que constas de dos partes bien diferenciadas:
 - a) La testa, que procede del desarrollo de los tegumentos del ovulo.
 - b) Cubiertas exteriores, que proceden de orígenes muy diversos y que faltan en las semillas.

3.4.2. Fisiología de la germinación de las semillas.

La germinación de semillas es el proceso fisiológico que tiene como resultado la entrada de agua a la semilla y cuando finaliza este proceso, la radícula penetra la testa y emerge. El embrión es enorme y que para emerger necesita una cierta cantidad de degradación de enzimas producidas por las estructuras de la semillas. La absorción del agua en la semilla es la condición primordial para la germinación sin el cual, este proceso no puede producirse. La hidratación inicial de la semilla depende en gran parte del potencial hídrico de las células que lo integran. Dicho potencial tiene tres componentes: Osmótico, mátrico y el potencial de turgencia. Los valores de los dos primeros componentes son negativos, mientras que el tercero es positivo; en la semilla seca, la suma de los tres términos es negativa, debido principalmente al componente mátrico. La diferencia entre los potenciales hídricos de las semillas y el substrato es uno de los principales factores de los que depende de la fuerza del flujo de agua que entra a la semilla desde el principio , al comenzar la fase de imbibición la diferencia entre los potenciales hídricos de la semilla y el substrato suele ser muy alta, lo que produce un fuerte flujo de agua hacia el interior y hace que ésta se hinche, en muchas semillas cuando la germinación se da en agua destilada y en condiciones óptimas muestran

una forma de absorción de agua en tres fases: a) primera fase, de absorción rápida, es principalmente consecuencia de las fuerzas mátricas de las paredes y contenidos celulares de la semilla; b) segunda fase, constituye un periodo de absorción de agua mucho más lento; c) tercera fase, la absorción de agua vuelve a aumentar, esta fase es asociada a la emergencia de la radícula y al crecimiento de la plántula, cada una de estas fases depende de ciertas propiedades inherentes a las semillas, entre las que destacan su contenido en compuestos hidratables y permeabilidad de las cubiertas al agua y al oxígeno, también son afectadas por las condiciones del medio, como el nivel de humedad, las características y composición del substrato, la temperatura, entre otras, la relación de esta fase se produce de forma similar en semillas vivas y muertas; por tanto, es un fenómeno netamente físico independiente de la actividad metabólica de la semilla (Azcon y Talón 2008).

Según, Bewley y Black, citado por Moreno *et al.* (2006), la mayor parte de las semillas requieren para su germinación un medio airado que permitiera la disponibilidad de oxígeno; sin embargo, las semillas de muchas plantas acuáticas y algunas terrestres son capaces de germinar en condiciones de muy baja presión de oxígeno. La semilla “seca” muestra generalmente la escasa actividad respiratoria, aumentando el consumo del oxígeno por la misma, después de iniciada la imbibición. A partir de este momento el proceso respiratorio de las semillas se puede dividir cuatro fases: *Fase I*, se caracteriza por el aumento de la respiración; *fase II*, la actividad respiratoria se estabiliza entre 12 y 24 horas desde inicio de la imbibición; *fase III*, se produce el segundo incremento en la actividad respiratoria; *fase IV*, la disminución de la respiración.

Arrieta *et al* (2018), consideran que la germinación de la semilla es hipogea (los cotiledones permanecen subterráneos), requiere una temperatura promedio entre 9 y 38°C según la variedad. La emergencia de las plántulas oscila entre 14 – 30 días con una temperatura adecuada

de 30 y 35 °C. La luz no afecta en la germinación de las semillas, ya que se desarrollan en el suelo.

3.5. LA ORTIGA Y COLA DE CABALLO COMO ESTIMULANTE EN EL CRECIMIENTO DE PLANTAS.

Diversos trabajos realizados por investigadores muestran que los extractos de las plantas de ortiga y “cola de caballo” estimulan la germinación de semillas y el crecimiento de las plántulas de diversas especies, así tenemos:

Castillo y Rodríguez (2014), hicieron un ensayo con diversas dosis de extracto fermentado de purín de hojas de ortiga (*Urtiga dioica*) para evaluar la germinación de semillas y el crecimiento de las plántulas de rabanito (*Raphanus sativus*). Sus resultados mostraron que hubo un mayor estímulo con la dosis de 50 % del extracto.

Calsin (2017), sostiene que la cola de caballo es una planta rica en minerales, como silicatos, potasio, calcio, aluminio y magnesio. Contiene una saponina tóxica denominada Equisitonina, la cual es eficaz para la eliminación de hongos que infectan a la planta desde la germinación, evitando la pudrición de la semilla, además, es preventivo y curativo durante el crecimiento de la planta. El principal mecanismo de acción se basa en favorecer el engrosamiento de las paredes celulares, lo que evita la penetración de patógenos.

Puca (2016), evaluó el efecto de los extractos acuosos de ortiga (*Urtica dioica*) y diente de león (*Taraxacum officinales*) sobre la germinación de semillas de Citrus x limón Var. Rampur, obteniendo como resultado una influencia directa entre las dosis utilizadas y el porcentaje de la germinación.

Vega et al (2015), a partir de la obtención de principios activos estimulantes de plantas de ortiga (*Urtica dioica* L.) por destilación de barrido de alcohol, realizaron ensayos de campo en el cultivo de lechuga, obteniendo un aumento de biomasa fresca y seca con el 14% del extracto.

Gonzales *et al* (2015) en un ensayo con extractos de girasol (*Helianthus annuus* L.) fermentado durante 75 a 90 días, encontró que con el 2% del extracto se estimula el crecimiento de la radícula e hipocótilo del tomate (*Solanum copersicum*).

Un ensayo experimental realizado por Vera (2016) concluyó que, con el 15 % el extracto acuoso de la ortiga (*Urtica dioica* L.) se incrementó el peso fresco y diámetro del fruto del pimiento (*Capsicum annum*).

Cardenas (2014), sostiene que la alelopatía es un fenómeno de las plantas que pueden generar una o varias sustancia químicas que puede afectar en desarrollo y crecimiento.

CAPITULO IV

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación se realizó en el laboratorio de Morfo- fisiología vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias en la Universidad Nacional de Tumbes, ubicado 4 a km del distrito de Corrales, Provincia y Región de Tumbes, en las coordenadas son las UTM 9603.391 Km. N., 555 .384 km. E y la altitud de 5 m.s.n.m (Figura 3).



Figura 3. Posición global satelital del laboratorio del laboratorio de Morfo-Fisiología Vegetal.

Fuente: Google earth - 2019

4.2. MATERIALES, INSUMOS Y EQUIPOS:

a. Materiales:

- ✓ Etiquetas.
- ✓ Placas petri.
- ✓ Libreta de registro.
- ✓ Probetas.
- ✓ Regla.
- ✓ Pizeta.
- ✓ Tijeras.
- ✓ Pipetas.
- ✓ Papel bond.
- ✓ Vasos de precipitación.
- ✓ Bandejas de poliestireno.
- ✓ Papel absorbente.

b. Insumos:

- ✓ Hipoclorito de sodio al 10%.
- ✓ Agua.
- ✓ Aguas destilada.

c. Equipos:

- ✓ Cámara fotográfica marca Samsung.
- ✓ Balanza.
- ✓ Estufa.

d. Material vegetal

- ✓ Semillas de Limón rugoso (*Citrus jambhiri* L.)
- ✓ Plantas de ortiga (*Urtiga dioica*).
- ✓ Plantas de cola de caballo (*Equisetum arvense* L.)

4.3. METODOLOGIA

Se evaluó el efecto de los extractos de ortiga (*Urtiga dioica*) y cola de caballo (*Equisetum arvense L.*), sobre la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de Limón rugoso (*Citrus jambhiri L.*), especie receptora.

La conducción del experimento se realizó según el procedimiento siguiente:

a. Recolección de material vegetal

Las plantas de ortiga y cola de caballo fueron recolectadas de las quebradas de la zona alta del sector Cumbicus, distrito de Pacaypampa, provincia de Ayabaca y región de Piura.

Estas muestras se colocaron en bolsas de papel Kraft y se trasladaron al laboratorio de Morfo-Fisiología vegetal de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Tumbes.

b. Siembra

Se utilizaron bandejas de poliestireno (con dimensiones de 10,0 cm de largo; 10,0 cm ancho y 5,0 cm de alto) desinfectadas con cloro comercial (hipoclorito de sodio al 10%) y cubiertas con una capa doble de hojas de papel absorbente sobre el que se colocaron 30 semillas/bandeja, disponiendo así de 90 semillas por tratamiento en función de tres repeticiones. Las semillas fueron cubiertas con una capa simple del mismo papel absorbente. Se realizaron riegos diarios humedeciendo el papel de las bandejas mediante un aspersor manual de 1,5L con los extractos acuosos de los tratamientos ensayados y agua destilada para el testigo absoluto. La recolección de las plántulas se efectuó los 7 días después de la siembra.

c. Preparación de los extractos acuosos

100 gramos de hojas y tallos de plantas de ortiga y “cola de caballo” fueron cortados en trocitos no mayores de 3 cm y homogenizado en agua destilada. La preparación, así obtenida se dejó en reposo por 48 h en recipientes de vidrio de color caramelo tapados y puestos a refrigeración. Posteriormente, se separó el líquido del sobrenadante a través de un proceso de filtrado (papel Whatman N°1) y a partir de ese extracto se prepararon por dilución extractos de 0, 25, 50 y 100%. Como tratamiento control se utilizó agua destilada.

d. Diseño experimental y análisis estadístico.

Se utilizó el diseño estadístico de Bloques Completos al Azar (BCA) con siete tratamientos, incluyendo el testigo (0, 25, 50 y 100 % p/v de extractos de hojas y tallos de ortiga y cola de caballo) y cuatro repeticiones (Cuadro 1).

La población total estuvo compuesta por 840 semillas comprendiendo los 7 tratamientos y distribuidas en 28 unidades experimentales de 30 semillas por cada unidad experimental. La unidad muestral abarcó el total de semillas sembradas para el caso de germinación, y 10 plántulas por repetición para la evaluación del crecimiento de plántulas, haciendo un total de 40 plántulas por tratamiento.

Para validar los datos cuantitativos obtenidos de las evaluaciones se realizó un ANVA y la prueba de significación de Duncan (5%) para comparar las medias de cada una de las variables.

Cuadro 1: Tratamientos ensayados para evaluar el efecto alelopático de extractos de ortiga (*Urtiga dioica*) y cola de caballo (*Equisetum arvense* L) en la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de limón rugoso (*Citrus jambhiri* Lush).

Factor	Tratamiento	Clave
	Testigo	T0
Extractos De Ortiga y Cola de caballo.	25% de extracto de ortiga	T1
	50% de extracto de ortiga	T2
	100% de extracto de ortiga	T3
	25% de extracto de Cola de caballo	T4
	50% de extracto de Cola de caballo	T5
	100% de extracto de Cola de caballo	T6

Fuente: Elaborado por el investigador.

e. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizaron técnicas de observación y medición, utilizando para ello fichas de observación y formatos de registro.

4.4. Variables evaluadas:

a. Porcentaje de germinación de semillas

Se contaron el número de semillas germinadas por tratamiento y los resultados fueron transformados a datos reales mediante la fórmula: $\arcsin \sqrt{x/100}$.

b. Días al inicio de la germinación

Se contó el número de días en que se observó la emisión de la raíz en la primera semilla de limón rugoso en los diversos tratamientos ensayados.

c. Altura del tallo de la plántula

Se midió desde el cuello de la raíz al ápice de la plántula. Se tomaron al azar diez plántulas de cada uno de los tratamientos.

d. Longitud promedio de la raíz

Se midió desde el cuello de la raíz al ápice del mismo. Se tomaron al azar diez plántulas de cada uno de los tratamientos.

e. Biomasa fresca de parte aérea y parte radical de la planta.

Las plántulas fueron seccionadas en dos partes, separando la parte aérea y radical. La biomasa fresca se determinó utilizando una balanza digital marca OHAUS, con la cual se pesaron 10 plántulas tomadas al azar de cada uno de las unidades experimentales.

f. Biomasa seca de parte aérea y parte radical

Las plántulas en que se evaluaron la biomasa fresca fueron depositadas por separado en bolsas confeccionadas con papel periódico; se codificaron y colocaron en una estufa de aire caliente forzado marca MEMMERT por 72 horas a 80°C. El peso seco se determinó en una balanza digital marca OHAU.

CAPITULO V

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 RESULTADOS

5.1.1. Porcentaje de germinación

En la Figura 4, se ilustra los resultados del porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo. A los 7 días se aprecia un estímulo de la germinación de las semillas de limón rugoso cuando se aplica los extractos de cola de caballo y ortiga, siendo más notorio en este último. Sin embargo, a los 14 y 21 días, el porcentaje de germinación fue ligeramente superior con los extractos de ortiga llegando a valores por encima del 85%.

El análisis estadístico mediante la prueba de Duncan (5%) muestra diferencias altamente significativas entre los tratamientos que contienen extracto de ortiga con relación al testigo a los 7 días, mientras que a los 14 días no existe diferencia estadística entre ellos y a los 21 existe diferencia significativa entre el extracto de ortiga al 25 y 50 % con respecto al testigo. (Cuadro 2, 3 y 4).

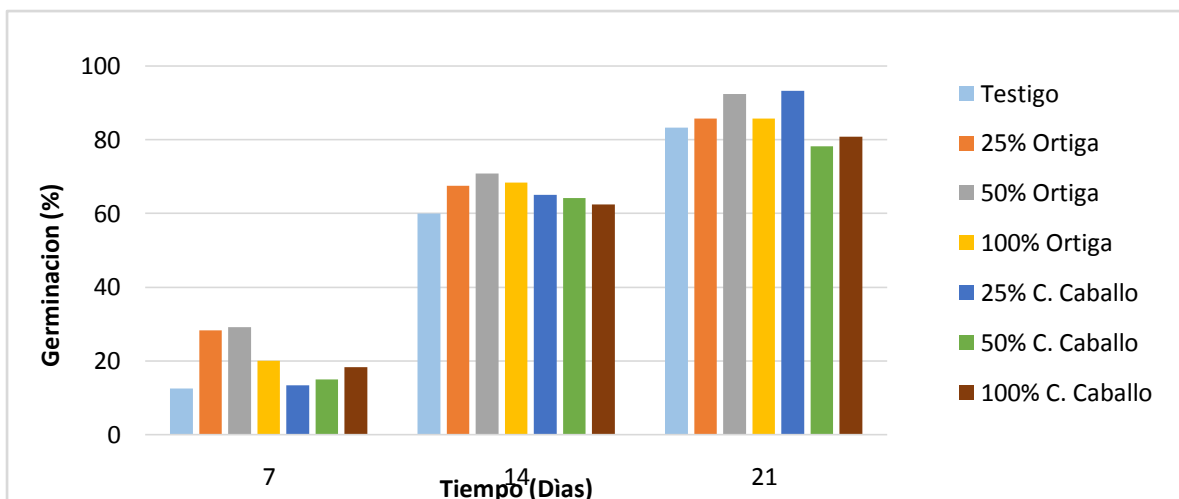


Figura 4. Porcentaje de germinación en semillas de limón rugoso a los 7,14 y 21 días por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo.

Fuente: Cuadro 2,3 y 4.

Cuadro 2: Prueba de Duncan (5%) para el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo a los 7 días después de la siembra.

Clave	Tratamiento	Bloques				Promedio	Duncan 5% (*)
		I	II	III	IV		
T2	50% de Ortiga	33.33	36.67	16.67	30.00	29.17	a
T1	25% de Ortiga	26.67	33.33	30.00	23.33	28.33	a
T3	100% de Ortiga	26.67	16.67	16.67	20.00	20.00	b
T6	100% de cola de caballo	16.67	23.33	20.00	13.33	18.33	bc
T5	50% de cola de caballo	16.67	13.33	20.00	10.00	15.00	bc
T4	25% de cola de caballo	13.33	16.67	13.33	10.00	13.33	bc
T0	Testigo	13.33	16.67	13.33	6.67	12.50	C
C.V = 12,818%						Sign. **	

*Letras iguales indican diferencia no significativa, según Duncan (5%).

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 3: Prueba de Duncan (5%) para el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo a los 14 días después de la siembra.

Clave	Tratamiento	Bloques				Promedio	Duncan 5% (*)
		I	II	III	IV		
T2	50% de Ortiga	70.00	63.33	80.00	70.00	70.83	A
T3	100% de Ortiga	66.67	70.00	66.67	70.00	68.34	A
T1	25% de Ortiga	66.67	50.00	80.00	73.33	67.50	A
T4	25% de cola de caballo	66.67	70.00	63.33	60.00	65.00	A
T5	50% de cola de caballo	63.33	70.00	63.33	60.00	64.17	A
T6	100% de cola de caballo	63.33	60.00	60.00	66.67	62.50	A
T0	Testigo	60.00	70.00	60.00	50.00	60.00	A
C.V = 8,018%						Sign. NS	

*Letras iguales indican diferencia no significativa, según Duncan (5%).

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 4: Prueba de Duncan (5%) para el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo a los 21 días después de la siembra.

Clave	Tratamiento	Bloques				Promedio	Duncan 5% (*)
		I	II	III	IV		
T4	25% de cola de caballo	96.66	86.67	93.33	96.66	93.33	a
T2	50% de Ortiga	90.00	93.33	90.00	96.67	92.50	a
T3	100% de Ortiga	83.33	93.33	80.00	86.67	85.83	ab
T1	25% de Ortiga	80.00	86.67	86.67	86.67	85.00	ab
T0	Testigo	76.67	83.33	96.66	76.67	83.33	ab
T6	100% de cola de caballo	83.33	73.33	76.66	90.00	80.83	b
T5	50% de cola de caballo	76.87	83.33	80.00	80.20	80.10	b
C.V = 7,884%						Sign. *	

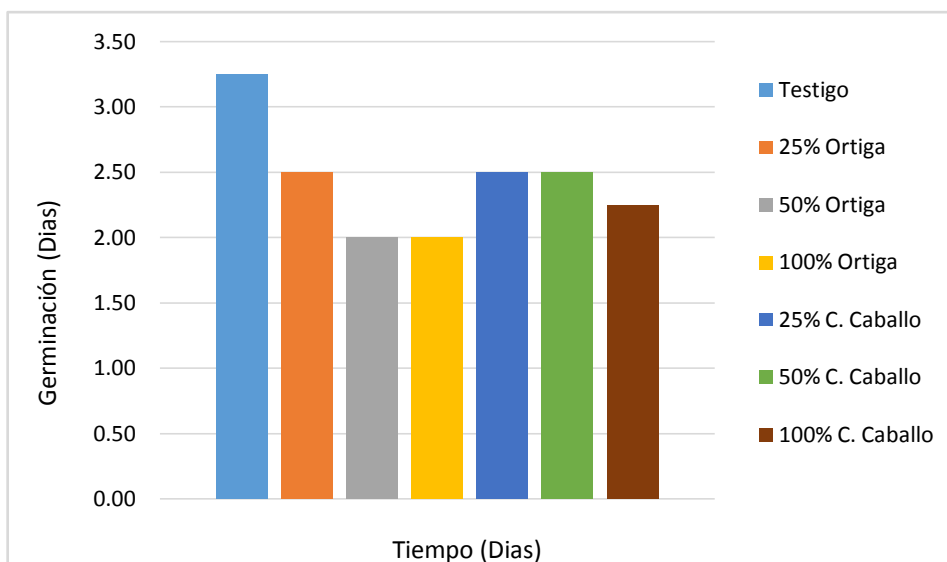
*Letras iguales indican diferencia no significativa, según Duncan (5%).

Fuente: Elaborado por el investigador.

5.1.2. Días al inicio de la germinación

Las semillas germinaron un día antes cuando se les aplica los extractos de ortiga y cola de caballo en comparación al testigo (Fig. 5); sin embargo, no se observa diferencias estadísticas entre los diversos tratamientos (Cuadro 5).

Figura 5.



Días al inicio de la germinación de semillas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Fuente: cuadro 5.

Cuadro 5: Prueba de Duncan (5%) para los días de germinación de semillas de limón rugoso por efecto de extractos de ortiga y cola de caballo.

Clave	Tratamiento	Bloques				Promedio	Duncan 5% (*)
		I	II	III	IV		
T0	Testigo	3.00	2.00	3.00	5.00	3.25	A
T1	25% de Ortiga	3.00	3.00	2.00	2.00	2.50	A
T5	50% de cola de caballo	2.00	2.00	3.00	3.00	2.50	A
T4	25% de cola de caballo	2.00	2.00	3.00	3.00	2.50	A
T6	100% de cola de caballo	2.00	2.00	2.00	3.00	2.25	A
T2	50% de Ortiga	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	A
T3	100% de Ortiga	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00	A
C.V = 11,501%						Sign. NS	

*Letras iguales indican diferencia no significativa, según Duncan (5%).

Fuente: Elaborado por el investigador.

5.1.3. Altura de tallo en plántulas del limón rugoso

Las Figuras 6 y 7, muestran un incremento de la altura del tallo de las plántulas de limón rugoso cuando se les aplica extracto de ortiga, siendo más significativo con la concentración 50%; lo que no sucede con el extracto de cola de caballo. El análisis estadístico indica que hay una diferencia altamente significativa entre el extracto acuoso de ortiga al 50% y los demás tratamientos (cuadro 6).

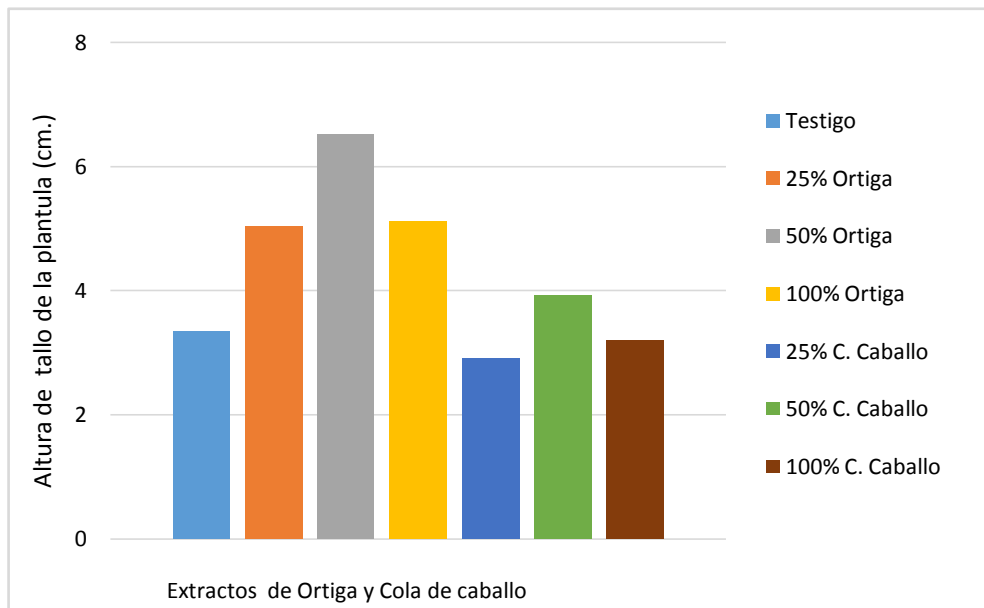
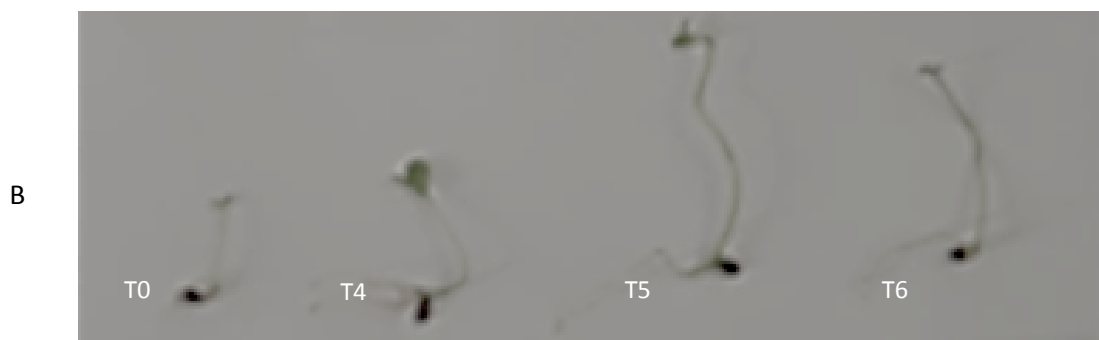


Figura 6. Altura del tallo de plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Fuente: Cuadro 6.

Figura 7. Plántulas de limón rugoso tratadas a los 21 días con extractos de ortiga (A) y cola de caballo (B).





Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 6: Prueba de Duncan (5%) para la altura del tallo de plántulas (cm.) del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Clave	Tratamiento	Bloques				Promedio	Duncan 5% (*)
		I	II	III	IV		
T2	50% de Ortiga	6.68	7.00	6.14	6.28	6.53	a
T3	100% de Ortiga	5.88	5.02	4.86	4.72	5.12	b
T1	25% de Ortiga	5.38	5.12	4.98	4.68	5.04	b
T5	50% de cola de caballo	4.10	3.80	4.42	3.40	3.93	c
T0	Testigo	3.66	3.00	3.10	3.62	3.35	cd
T6	100% de cola de caballo	3.30	3.12	3.38	3.00	3.20	cd
T4	25% de cola de caballo	3.20	3.28	2.72	2.48	2.92	d
C.V = 11,949%						Sign. **	

*Letras iguales indican diferencia no significativa, según Duncan (5%).

Fuente: Elaborado por el investigador.

5.1.4. Longitud promedio de la raíz

La longitud promedio de la raíz se ve favorecida con el 25 y 50% del extracto de ortiga, mientras que los extractos de “cola de caballo” no tuvieron efecto alguno (Figura 8). La prueba estadística muestra diferencia altamente significativa entre el tratamiento 50% de extracto de ortiga con los otro tratamientos ensayados (Cuadro 7).

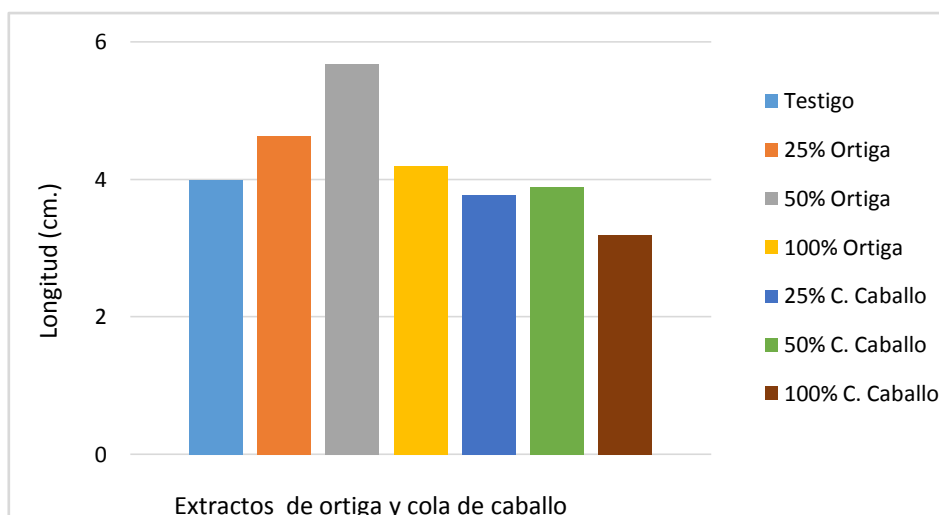


Figura 8. Longitud promedio de raíz de las plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Fuente: Cuadro 7.

Cuadro 7: Prueba de Duncan (5%) para la longitud promedio de raíz (cm) de las plántulas del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Clave	Tratamiento	Bloques				Promedio	Duncan 5% (*)
		I	II	III	IV		
T2	50% de Ortiga	6.08	6.20	5.40	5.06	5.69	a
T1	25% de Ortiga	4.66	5.08	4.20	4.60	4.64	b
T3	100% de Ortiga	4.24	4.30	4.20	4.06	4.20	b
T0	Testigo	4.20	3.94	3.92	3.92	4.00	bc
T5	50% de cola de caballo	4.08	3.66	4.14	3.72	3.90	bc
T4	25% de cola de caballo	4.08	3.86	3.52	3.66	3.78	bc
T6	100% de cola de caballo	3.20	3.46	3.12	2.98	3.19	c
C.V = 13,462%						Sign. **	

*Letras iguales indican diferencia no significativa, según Duncan (5%).

Fuente: Elaborado por el investigador.

5.1.5. Biomasa fresca de parte aérea y raíz

En las Figuras 9 y 10, se observa un incremento del 80 a 90% de la biomasa fresca de la parte aérea y raíz de las plántulas de limón rugoso, con el 50 % de extracto de ortiga; en tanto que los extractos de “cola de caballo” no tuvieron efecto significativo sobre estas variables; tal como lo refleja el análisis estadístico (Cuadro 8 y 9).

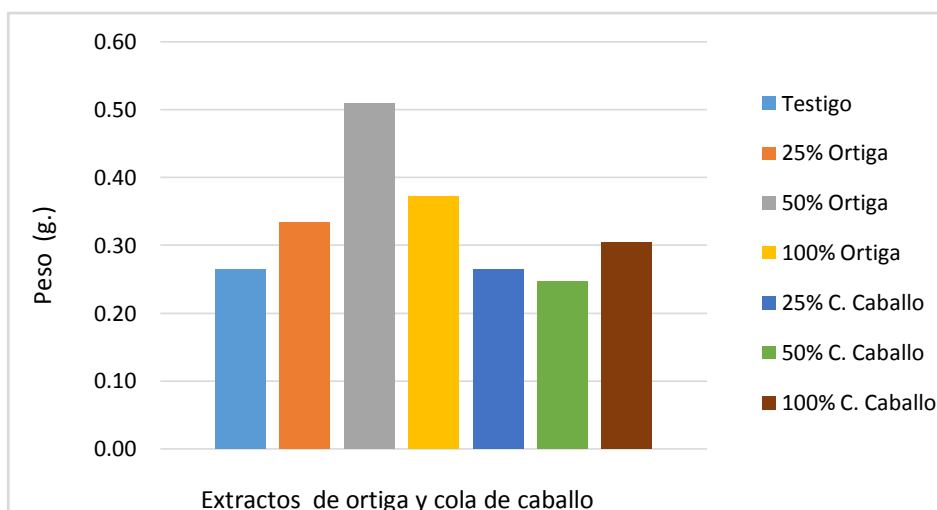


Figura 9. Biomasa fresca de la parte aérea de las plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Fuente: Cuadro 8.

Cuadro 8: Prueba de Duncan (5%) para la Biomasa fresca (g) de la parte aérea de las plántulas del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Clave	Tratamiento	Bloques				Promedio	Duncan 5% (*)
		I	II	III	IV		
T2	50% de Ortiga	0.48	0.72	0.44	0.40	0.51	a
T3	100% de Ortiga	0.45	0.37	0.30	0.37	0.37	b
T1	25% de Ortiga	0.43	0.30	0.31	0.30	0.34	b
T6	100% de cola de caballo	0.41	0.20	0.31	0.30	0.31	b
T4	25% de cola de caballo	0.25	0.26	0.32	0.23	0.27	b
T0	Testigo	0.28	0.20	0.38	0.20	0.27	b
T5	50% de cola de caballo	0.24	0.32	0.21	0.22	0.25	b
C.V = 14,963%						Sign. **	

*Letras iguales indican diferencia no significativa, según Duncan (5%).

Fuente: Elaborado por el investigador.

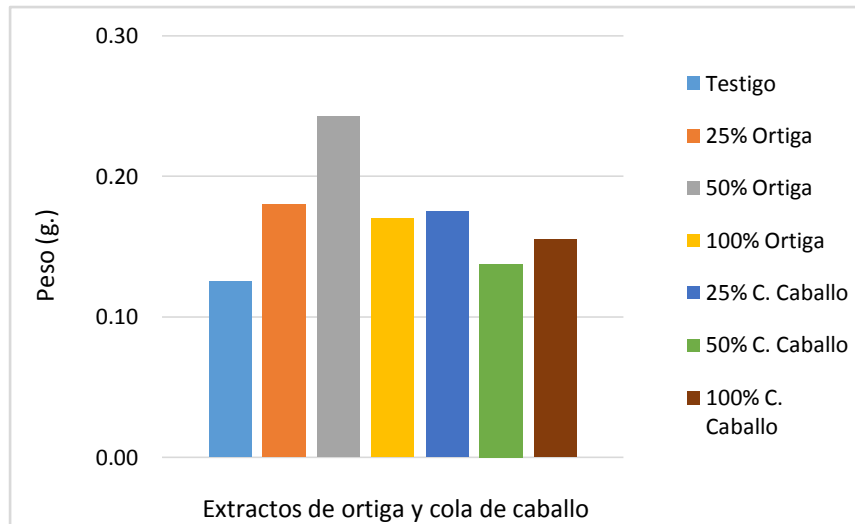


Figura 10. Biomasa fresca de la raíz de las plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Fuente: Cuadro 9.

cuadro 9: Prueba de Duncan (5%) para la Biomasa fresca de la raíz (g.) de las plántulas del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Clave	Tratamiento	Bloques				Promedio	Duncan 5% (*)
		I	II	III	IV		
T2	50% de Ortiga	0.28	0.25	0.23	0.21	0.24	a
T1	25% de Ortiga	0.19	0.18	0.16	0.19	0.18	b
T4	25% de cola de caballo	0.19	0.17	0.16	0.18	0.18	b
T3	100% de Ortiga	0.20	0.15	0.17	0.16	0.17	b
T6	100% de cola de caballo	0.16	0.17	0.15	0.14	0.16	b
T5	50% de cola de caballo	0.16	0.14	0.13	0.12	0.14	b
T0	Testigo	0.13	0.13	0.13	0.11	0.13	b
C.V = 12,168%						Sign. **	

*Letras iguales indican diferencia no significativa, según Duncan (5%).

Fuente: Elaborado por el investigador.

5.1.6. Biomasa seca de parte aérea y raíz

La aplicación del 50 y 100% del extracto de ortiga estimula significativamente la biomasa seca de la parte aérea y raíz de las plántulas de limón rugoso; mientras que las diferentes concentraciones de extracto de cola de caballo no influye en la producción de biomasa

seca de aquellas variables (Fig. 11 y 12). El análisis estadístico refleja la diferencia significativa entre los extractos acuosos de ortiga 50 y 100% con el resto de los tratamientos probados. (Cuadro 10 y 11).

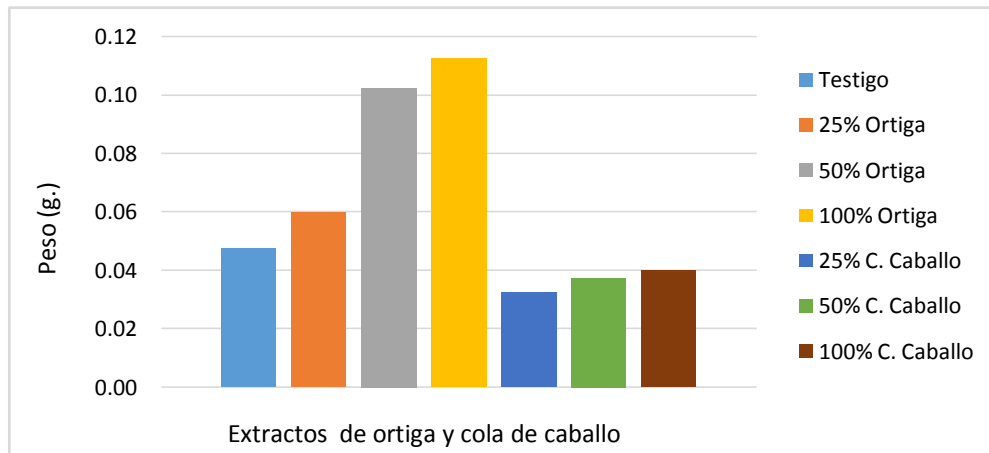


Figura 11. Biomasa seca de la parte aérea de las plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Fuente: Cuadro 10.

Cuadro 10: Prueba de Duncan (5%) para la Biomasa seca (g.) de la parte aérea de las plántulas del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Clave	Tratamiento	Bloques				Promedio	Duncan 5% (*)
		I	II	III	IV		
T3	100% de Ortiga	0.16	0.09	0.10	0.10	0.11	a
T2	50% de Ortiga	0.08	0.16	0.11	0.06	0.10	a
T1	25% de Ortiga	0.08	0.05	0.05	0.06	0.06	b
T0	Testigo	0.04	0.03	0.08	0.04	0.05	b
T6	100% de cola de caballo	0.05	0.02	0.02	0.07	0.04	b
T5	50% de cola de caballo	0.03	0.06	0.02	0.04	0.04	b
T4	25% de cola de caballo	0.03	0.02	0.05	0.03	0.03	b
C.V = 14,523%						Sign. **	

*Letras iguales indican diferencia no significativa, según Duncan (5%).

Fuente: Elaborado por el investigador.

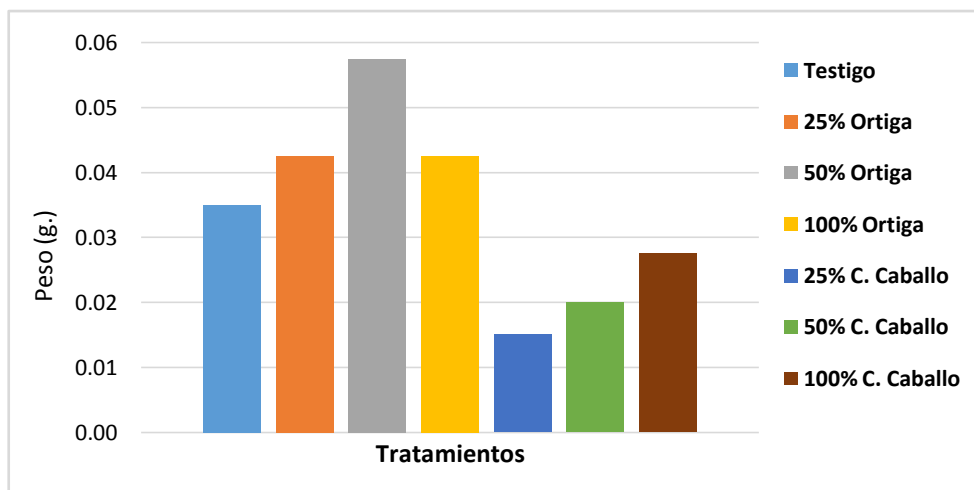


Figura 12. Biomasa seca de la raíz de las plántulas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Fuente: Cuadro 11

Cuadro 11: Prueba de Duncan (5%) para la Biomasa seca (g.) de la raíz de las plántulas del limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

Clave	Tratamiento	Bloques				Promedio	Duncan 5% (*)
		I	II	III	IV		
T2	50% de Ortiga	0.04	0.09	0.06	0.04	0.06	A
T3	100% de Ortiga	0.01	0.03	0.06	0.07	0.05	A
T1	25% de Ortiga	0.04	0.06	0.02	0.05	0.04	Ab
T0	Testigo	0.02	0.05	0.04	0.03	0.04	Ab
T6	100% de cola de caballo	0.02	0.01	0.05	0.03	0.03	B
T5	50% de cola de caballo	0.01	0.02	0.03	0.02	0.02	B
T4	25% de cola de caballo	0.02	0.01	0.01	0.02	0.02	B
C.V = 19,913%						Sign. *	

*Letras iguales indican diferencia no significativa, según Duncan (5%).

Fuente: Elaborado por el investigador.

5.2 DISCUSION

Los metabolitos alelopáticos sintetizados por las plantas ocasionan múltiples respuestas que pueden ser de estimulación o inhibición del crecimiento en otras plantas. Estos efectos inhibitorios o estimulantes dependen de la concentración (Leiva, 2005).

Diversos estudios realizados sobre el efecto de extractos de diferentes plantas en la germinación de semillas muestran variadas respuestas. En esta investigación se obtuvo un estímulo en el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso con las dosis de 25 y 50% de extracto de plantas de ortiga (*Urtiga dioica*). Ensayos realizados con Purín de *Taraxacum Officinale* muestran efectos positivos en la germinación de semillas de Citrus x limón Var. Rampur pero no con *Urtiga dioica* (Puca, 2016). Ello contrasta con otros estudios que reportan un efecto negativo en la germinación de semillas de varias especies de plantas (Silva *et al.*, 2009; Blanco *et al.*, 2007; Gonzales *et al.*, 2015; Soriano, 2017).

Las variables de crecimiento (altura del tallo, longitud de la raíz, biomasa fresca y seca de parte aérea y radical de la planta) evaluadas muestran valores superiores al testigo cuando se les aplica extractos de ortiga. Un experimento ejecutado para evaluar el efecto de la aplicación de Purín de ortiga en dosis de 20 y 50% en plantas de rabanito (*Raphanus sativus* L.) mostró efectos positivos sobre los parámetros de crecimiento (longitud de hoja, longitud y diámetro de raíz, peso fresco y seco de hojas y raíz) y efecto negativo de esos mismos parámetros a dosis de 100% (Castillo y Rodríguez, 2014). Un ensayo a nivel de campo también mostró un incremento de peso fresco y seco en plantas de lechuga cuando se aplicó extractos de ortiga (Vega *et al.*, 2015). Asimismo, se encontró una respuesta inhibitoria en el crecimiento de radícula e hipocótilo en tomate cuando se aplicó extractos acuosos de raíz y hojas de girasol (Gonzales *et al.*, 2015).

Estos resultados corroboran la teoría de que los aleloquímicos pueden influir ejerciendo un efecto inhibitorio o estimulante (Hernández *et al.*, 2013) o simplemente no tener influencia, como es nuestro caso con los extractos de “cola de caballo” (*Equisetum arvense* L) que no tuvieron efecto sobre la germinación y crecimiento de las plántulas de limón rugoso (*Citrus jambhiri* Lush).

Los extractos de ortiga (*Urtica dioica* L.), son uno de los más utilizados como bioestimulante y cuya función está relacionada con el alto contenido de metabolitos secundarios; incluyendo los ácidos orgánicos y las sales minerales; especialmente el nitrógeno que forma parte de la estructura de un gran número de compuestos orgánicos, incluidas las hormonas de crecimiento (Crillo y García, 2009) estarían ejerciendo influencia en la estimulación del crecimiento

La acción alelopática es muy compleja y podría ejercer un enmascaramiento y no ejercer influencia alguna, siendo necesario aislar el agente químico que causa el efecto, debido a que en el extracto acuoso se concentran numerosos compuestos que en una acción combinada pueden perder el efecto o hacer sinergia (Blanco *et al.*, 2007).

CAPÍTULO VI

6. CONCLUSIONES

- ✓ El porcentaje de germinación de las semillas del limón rugoso fue mayor con las diversas concentraciones del extracto de la ortiga y cola de caballo, alcanzando valores superiores al 80%.

- ✓ La germinación de las semillas de limón rugoso se realizó en menor tiempo con ambos extractos; sin embargo no fue significativo con respecto al testigo.

- ✓ Las variables de crecimiento (Longitud de tallo y de raíz, biomasa fresca y seca) de las plántulas del limón fueron estimuladas por los extractos de las plantas de ortiga, no así con los extractos de “cola de caballo”.

CAPÍTULO VII

7. RECOMENDACIONES

- ✓ Realizar ensayos experimentales utilizando otras especies de plantas para evaluar su crecimiento y desarrollo.

- ✓ Continuar las investigaciones con plantas de ortiga y “cola de caballo”, ensayando otras concentraciones, usando raíces y otras partes de la plantas.

- ✓ Analizar y determinar los metabolitos con propiedades alelopáticas en las plantas de ortiga y “cola de caballo”.

- ✓ Realizar experimentos a nivel de vivero y campo para evaluar el efecto estimulante de los extractos acuosos de plantas sobre los procesos de crecimiento en plantas.

CAPITULO VIII

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Arrieta Padilla, E. P., Herrera, R., y Enrico, H. (2018) Producción de plántulas de limón criollo (*Citrus aurantifolia*) mediante la técnica de micropropagación in vitro. Universidad de Sucre. Sincelejo – Colombia.

Azcon-Bieto, J. y Talon, M. (2008) Fisiología y bioquímica vegetal (No. 581.1 FIS). Editorial interamericana. Madrid – España.

Blanco, Y; Hernández, I; Urra, I; y Leyva, A. (2007). Potencial alelopático de diferentes concentraciones de extractos de girasol (*Helianthus annuus* L.), maíz (*Zea mays* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y boniato (*Ipomoea batata* L.) sobre el crecimiento y desarrollo inicial del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) Cultivos Tropicales, vol. 28, núm. 3, núm. 5-9 Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas La Habana, Cuba.

CALDERON. (2019) Determinación del porcentaje de germinación de semilla de limón *Citrus* limón en diferentes tiempos de inmersión a base de extracto de limón (*Citrus limón*), Facultad de Ciencias Agrarias Universidad de Guayaquil). Guayaquil – Ecuador

CALSIN. (2017) Actividad antimicrobiana “In vitro” del aceite esencial y extracto etanólico de *Equisetum arvense* “cola de caballo” frente a *Escherichia coli* y *Candida albicans* uropatógenas. Universidad Nacional de Altiplano. Puno- Perú.

Castillo, L y Rodríguez, M. (2014) Efecto del purín de hojas de ortiga, *Urtica dioica*, sobre el crecimiento del rabanito (*Raphanus sativus*), en condiciones de laboratorio. REBIOLEST 2(2): e 33. Universidad Nacional de Trujillo (UNT). Trujillo – Perú.

CÁRDENAS. (2014) Plantas alelopáticas. Ecuador.

CRILLO. (2009) Efecto de la densidad de siembra sobre el crecimiento de plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.) bajo invernadero. Univ. De Nariño, Colombia. 2009; 3(2): 210- 222.

Gonzales, Y; Pino,O; Leyva, A; Antonioli, Z; Arévalo, R;Gómez, Y; Pavón, M.(2015) Efecto de extractos acuosos de *Helianthus annuus* L. sobre el crecimiento de *Solanum lycopersicum* Lin. cultrop vol.36 no.4 La Habana – Cuba.

Hernández Escobar, I.; Urra Zayas, I.; Díaz Viruliche, L.; Pérez Petitón, J. y Hernández Cuello, G. (2013) Labranza mínima y efecto alelopático en la producción de frijol común en la Empresa Agropecuaria 19 de Abril de la provincia Mayabeque, *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, vol. 22, no. 3, septiembre de 2013, pp. 46-48, ISSN 2071-0054.

INGA. (2017) Efecto de diferentes concentraciones de Sapo Huasca (*Cissus verticillata*) en el enraizamiento de limón rugoso (*Citrus jambhiri* L.), Universidad Nacional de Ucayali. Pucallpa-Ucayali – Perú.

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y RIEGO. (2017) Informe del limón. Dirección General de Políticas Agrarias Dirección de Estudios Económicos e Información Agraria. Lima-Perú.

- Moreno, F.; Plaza, G. A.; y Magnitskiy, S. V. (2006). Efecto de la testa sobre la germinación de semillas de caucho (*Hevea brasiliensis* Muell.). Agronomía Colombiana, Colombia.
- Leyva, A. (2005). Diversidad de plantas potencialmente útiles en los agroecosistemas. Alelopatía en: Agroecología en el Trópico-Ejemplos de Cuba. 2005, 144 p.
- Oliver, M; Cavigioli, J; Marasas, M; Simontacchi, M y Lujan, M. (2017). Efecto de un fermentado vegetal de ortiga sobre crecimiento de lechuga Cátedra de Agroecología, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (FCA y F), Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE) Investigación Joven, vol. 4, núm. 71. Buenos Aires – Argentina.
- Puca, F. (2016). Evaluación de bioestimulantes orgánicos como alternativa ecológica para accionar la germinación de semillas de *Citrus x limón* Variedad Rampur, en el cantón Ambato, parroquia Izamba. Cevallos –Ecuador.
- Rodríguez, H. y Hechevarría, I. (2004). Efectos estimulantes del crecimiento de extractos acuosos de plantas medicinales y gel de *Aloe vera* (L.) N. L. Burm. Revista Cubana de Plantas Medicinales Habana – Cuba
- Silva, H.L.; Trezzi, M.M.; Marchese, J.A.; Buzzello, G.; Miotto, J.E.; Patel, F.; Debastiani, F. y Fiorese, J. (2009). Determinação de espécie indicadora e comparação de genótipos de girassol quanto ao potencial alelopático, *Planta Daninha*, vol. 27, no. 4, pp. 655-663, ISSN 0100-8358.

- Soriano R.M. (2017). Alelopatía de la maleza *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton sobre otras plantas y el crecimiento in vitro de hongos fitopatógenos. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/6128>. Consultado el 10 de septiembre de 2019.
- Vega, D.; Garzón, M.; Niño, S.; Rico, P. (2015). Bioestimulante para la producción de lechuga (*Lactuca sativa* L.). Agroeco y Gestión Ambiental, grupo de Investigación, Ingeniería Agroecológica, semillero en Agricultura Urbana vol. 10, núm. 19, 13 -20 pp. Bogotá – Colombia.
- Vera, R. (2016). Evaluación de extractos vegetales para la prevención de plagas en el cultivo de pimiento (*Capsicum annum*) en la zona de Quevedo – Ecuador.
- Zepeda, C.(2015). Semilla: morfología y desarrollo. Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias. México.

CAPITULO IX

9. ANEXOS

ANEXOS N° 1:

CUADROS DE RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA

Cuadro 12: Análisis de varianza para el porcentaje de germinación de semilla de limón rugoso a los 7 días por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

F.V	G.L	S.C	C.M	F°	F 5%	F 1%	Sign.
Bloque	3	0,03	0,01	2,87	3,16	5,09	NS
Tratamiento	6	0,18	0,03	9,04	2,66	4,01	**
Error	18	0,06	0				
Total	27	0,27					
(C.V)= 12,818%							

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 13: Análisis de varianza para el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso a los 14 días por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

F. V	G.L	S.C	C.M	F°	F 5%	F 1%	Sign.
Bloque	3	0,01	0,00	0,35	3,16	5,09	NS
Tratamiento	6	0,04	0,01	1,06	2,66	4,01	NS
Error	18	0,10	0,01				
Total	27	0,15					
(C.V) = 8,018%							

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 14: Análisis de varianza para el porcentaje de germinación de semillas de limón rugoso a los 21 días por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

F. V	G.L	S.C	C.M	F°	F 5%	F 1%	Sign.
Bloque	3	0,01	0,00	0,54	3,16	5,09	NS
Tratamiento	6	0,18	0,03	3,27	2,66	4,01	*
Error	18	0,16	0,01				
Total	27	0,35					
(C.V) = 7,884%							

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 15: Análisis de varianza para los días al inicio de la germinación de semillas de limón rugoso por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

F.V	G.L	S.C	C.M	F°	F 5%	F 1%	Sign.
Bloque	3	0,17	0,06	1,81	3,16	5,09	NS
Tratamiento	6	0,38	0,06	2,02	2,66	4,01	NS
Error	18	0,57	0,03				
Total	27	1,12					
(C.V) = 11,501%							

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 16: Análisis de varianza Altura de parte aérea de plántulas de limón rugoso (cm), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

F.V	G.L	S.C	C.M	F°	F 5%	F 1%	Sign.
Bloque	3	2,91	0,97	3,12	3,16	5,09	NS
Tratamiento	6	41,34	6,89	26,13	2,66	4,01	**
Error	18	4,75	0,26				
Total	27	48,99					
(C.V) = 11,949%							

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 17: Análisis de varianza la longitud promedio de raíz de las plántulas de limón rugoso (cm), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

F. V	G.L	S.C	C.M	F°	F 5%	F 1%	Sign.
Bloque	3	4,06	1,35	2,24	3,16	5,09	NS
Tratamiento	6	14,89	2,48	7,77	2,66	4,01	**
Error	18	5,75	0,32				
Total	27	24,7					
(C.V) = 13,462%							

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 18: Análisis de varianza para la Biomasa fresca del tallo de las plántulas de limón rugoso (g.), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

F. V	G.L	S.C	C.M	F°	F 5%	F 1%	Sign.
Bloque	3	0,02	0,01	1,00	3,16	5,09	NS
Tratamiento	6	0,2	0,03	4,96	2,66	4,01	**
Error	18	0,12	0,01				
Total	27	0,34					
(C.V) = 14,963%							

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 19: Análisis de varianza para la Biomasa fresca de la raíz de las plántulas de limón rugoso (g.), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

F. V	G.L	S.C	C.M	F°	F 5%	F 1%	Sign.
Bloque	3	0,02	0,01	3,04	3,16	5,09	NS
Tratamiento	6	0,03	0,01	4,1	2,66	4,01	**
Error	18	0,03	0				
Total	27	0,08					
(C.V)= 12,168%							

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 20: Análisis de varianza para la Biomasa seca del tallo de las plántulas de limón rugoso (g.), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

F. V	G.L	S.C	C.M	F°	F 5%	F 1%	Sign.
Bloque	3	0,00	0,00	0,16	3,16	5,09	NS
Tratamiento	6	0,03	0,00	5,6	2,66	4,01	**
Error	18	0,01	0,00				
Total	27	0,04					
(C.V) = 14,523%							

Fuente: Elaborado por el investigador.

Cuadro 21: Análisis de varianza para la Biomasa seca de la raíz de las plántulas de limón rugoso (g.), por efecto de los extractos de ortiga y cola de caballo.

F. V	G.L	S.C	C.M	F°	F 5%	F 1%	Sign.
Bloque	3	0,00	0,00	1,40	3,16	5,09	NS
Tratamiento	6	0,01	0,00	2,95	2,66	4,01	*
Error	18	0,01	0,00				
Total	27	0,01					
(C.V) = 19,913%							

Fuente: Elaborado por el investigador.

ANEXOS N° 2

**FIGURAS DE LOS EXTRACTOS DE ORTIGA Y
COLA DE CABALLOS**



Figura 13. Extracto de ortiga



Figura 14. Extracto de cola de caballo