

Efecto de productos bioactivos combinados con el biopreparado microbiano Azotofos en el crecimiento de *Paspalum salam*

Effect of bioactive products combined with the microbial biopreparate Azotofos on the growth of *Paspalum salam*

Gertrudis Pentón¹, Inés Reynaldo², R. Medina¹ y G. Onono³

¹*Estación Experimental de Pastos y Forrajes "Indio Hatuey"*

Central España Republicana, CP 44280, Matanzas, Cuba

E-mail: gertrudis.penton@indio.atenas.inf.cu

²*Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas, La Habana, Cuba*

³*Facultad de Agronomía, Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos", Matanzas, Cuba*

Resumen

Con el objetivo de evaluar el efecto de los productos bioactivos y su combinación con Azotofos en el crecimiento de *Paspalum salam* (*Paspalum vaginatum* Sw. cv. Salam), se realizaron dos experimentos. Se empleó un diseño en bloques al azar con tres repeticiones y se probaron los productos bioactivos: Pectimorf® (a base de pectinas) y BIOBRAS-16® (a base de brasinoesteroides), y su combinación con el biopreparado microbiano Azotofos, que consiste en una mezcla en soporte húmico de *Pseudomonas* sp. y *Azotobacter chroococcum*. En el primer experimento se establecieron seis tratamientos a partir de los productos bioactivos, el biopreparado microbiano y su combinación. El segundo experimento consistió en probar distintos tiempos de imbibición de los propágulos en Pectimorf®. Se obtuvo a los 30 días de la siembra una significativa superioridad en el porcentaje de esquejes enraizados en los tratamientos con BIOBRAS-16® y Pectimorf®, superior a 89%; mientras que el testigo no superó el 69%. La combinación del Pectimorf® con el Azotofos aumentó el porcentaje de esquejes enraizados. En cuanto a la biomasa total acumulada, el mejor resultado se obtuvo en el tratamiento con Pectimorf (0,84 g/individuo). Con respecto al tiempo de imbibición, los tratamientos testigo hidratado y sin hidratar no superaron el 69% de esquejes enraizados, y fueron diferentes significativamente del tiempo de imbibición 60 min. que alcanzó 100%. Se concluye que el Pectimorf® fue la mejor alternativa para estimular el crecimiento de *P. vaginatum* cv. Salam. Los resultados indicaron además que los esquejes deben mantenerse imbibidos en Pectimorf® durante 60 minutos.

Palabras clave: Biomasa, enraizamiento, *Paspalum salam*

Abstract

In order to evaluate the effect of bioactive products and their combination with Azotofos on the growth of *Paspalum salam* (*Paspalum vaginatum* Sw. cv. Salam), two trials were conducted. A randomized block design was used with three repetitions and the bioactive products Pectimorf® (based on pectins) and BIOBRAS-16® (based on brassinosteroids), and their combination with the microbial biopreparate Azotofos, which consists in a mixture on humic support of *Pseudomonas* sp. and *Azotobacter chroococcum*. In the first experiment six treatments were established from the bioactive products, the microbial biopreparate and their combination. The second trial consisted in testing different imbibition times of the propagules in Pectimorf®. A significant superiority was found 30 days after planting in the percentage of rooted cuttings in the treatments with BIOBRAS-16® and Pectimorf®, higher than 89%; while the control did not exceed 69%. The combination of Pectimorf® with Azotofos increased the percentage of rooted cuttings. Regarding the total cumulative biomass, the best result was obtained in the treatment with Pectimorf (0,84 g/individual). As to the imbibition time, the treatments hydrated control and non-hydrated one did not exceed 69% of rooted cuttings; significantly different from the imbibition time 60 min, which reached 100%. Pectimorf® was concluded to be the best alternative to stimulate the growth of *P. vaginatum* cv. Salam. The results also indicated that the cuttings must remain imbibed in Pectimorf® for 60 minutes.

Key words: Biomass, *Paspalum salam*, rooting

Introducción

El género *Paspalum* Linn. pertenece a la familia *Gramineae*, subfamilia *Panicoideae*, y tuvo su origen en la zona de América tropical. En la actualidad se encuentra ampliamente distribuido en todo el continente americano y en Australia. Se adapta a climas calientes e incluye especies que se desarrollan bien en suelos de baja fertilidad y mal drenaje (Martínez *et al.*, 1986).

Paspalum vaginatum cv. *Salam* se presenta como una especie promisorio, resistente a la sequía y la salinidad (Hernández *et al.*, 1998), que con un régimen adecuado de riego puede reducir hasta un 25% del consumo de agua con relación a la bermuda y también permite ahorrar entre un 25 y 50% de los fertilizantes (Duncan, 2006). El modo de reproducción es apomítico (Martínez *et al.*, 1986), por lo que la siembra se puede efectuar mediante semilla vegetativa (a través de rizomas y estolones) preferentemente en los meses de primavera. Sin embargo, su lento establecimiento y su desarrollo poco precoz obligan a buscar opciones que garanticen una mayor competencia en las edades tempranas, respecto a la flora acompañante. Los productos bioactivos y su combinación con los biopreparados microbianos constituyen una alternativa, que además es congruente con el medio ambiente.

Es conocido que cuando las plantas se inoculan con bacterias y hongos benéficos, que transforman el nitrógeno y otros macronutrientes y micronutrientes, se produce un marcado incremento de los procesos de absorción y translocación de los nutrientes (Pulido *et al.*, 2003). Ello se revierte en un mayor crecimiento, el mejoramiento de los indicadores hídricos de las plantas y una inducción del desarrollo del sistema radical (Morte *et al.*, 2001; Dell'Amico *et al.*, 2002). En cuanto a los productos bioactivos, Góngora *et al.* (2004) destacaron los efectos inductores de los mecanismos de tolerancia al estrés por salinidad y sequía, a partir del pretratamiento a las semillas de tomate y arroz con sustancias promotoras del crecimiento vegetal basadas en análogos de brasinoesteroides u oligogalacturónidos, y la interacción de ellos con hongos micorrizógenos. Otros autores se han referido al Fitomas-E®, BIOBRAS-16® y EnerPlant®, como bioestimuladores exitosos. Sin embargo, en la actualidad también se emplean la Quitosana y el Pectimorf®.

El uso de biopreparados microbianos resulta particularmente exitoso en el género *Paspalum*. Se conoce acerca de su capacidad para asociarse con microorganismos del suelo, fijadores-transformadores de nitrógeno, y solubilizadores de fósforo. Benzion y Quesenberry (citados por Martínez *et al.*, 1986) inocularon varios genotipos de *P. notatum* con *Azospirillum brasilense* JM 125 A2 y encontraron que estos incrementaron su peso seco desde 18 hasta 22,9% y un diploide fue el único genotipo que disminuyó su peso seco. Pereira (citado por Martínez *et al.*, 1986) se refirió a la efectividad de la asociación de *P. notatum* con *Azotobacter paspali*.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de dos productos bioactivos y su combinación con un biopreparado a base de *Pseudomonas sp.* y *Azotobacter chroococcum* en el crecimiento inicial de *Paspalum salam* (*P. vaginatum* Sw. cv. *Salam*).

Materiales y Métodos

Los experimentos se realizaron en la Estación Experimental "Indio Hatuey", situada entre los 22° 48' 7" de latitud Norte y los 81° 2' de longitud Oeste, a 19,01msnm, en la provincia de Matanzas, Cuba. El período experimental fue de 30 días, y se enmarcó entre los meses de febrero y marzo del año 2009.

El acumulado de precipitaciones fue significativamente bajo (tabla 1), lo que se corresponde con la media del período correspondiente a los primeros meses del año, reconocida esta etapa como la de mayor sequía en Cuba.

La especie evaluada fue *P. vaginatum* cv. *Salam*. El material vegetativo se obtuvo de un banco de semilla básica. Los esquejes se seleccionaron de la zona media de las plantas, con una longitud de 15 cm y cuatro o más yemas. La siembra se realizó en bandejas de poliespuma, divididas en cubículos con capacidad de 144 cm³; estas se mantuvieron durante todo el período experimental expuestas a cielo abierto. El sustrato empleado consistió en una mezcla de suelo arenoso, extraído del campo de golf de Varadero (Cuba), y materia orgánica a partir de humus de lombriz, en una relación 2:1. El riego se realizó cada dos días.

Todos los productos se aplicaron en el momento de la siembra. Estos consistieron en:

- Pectimorf®, a base de pectinas, obtenido en el Laboratorio de Fisiología y Bioquímica Vegetal del Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas (La Habana, Cuba). Se aplicó a razón de 10 mg/L, por el método de inmersión de los propágulos.
- BIOBRAS-16®, a base de brasinoesteroides, producido por la Facultad de Química de la Universidad de La Habana (Cuba). Se aplicó por el método de inmersión de los propágulos.
- Azotofos, un preparado microbiano consistente en una mezcla en soporte húmico de *Pseudomonas sp.* y *A. chroococcum*. Se aplicó a razón de 10 g/L, por el método de inmersión.

Tabla 1. Características climáticas del período.

Table 1. Climatic characteristics of the period.

Indicador	Precipitación (mm)	Temp. media (°C)	Humedad relativa media (%)	Evaporación (mm)	Viento (promedio) (km/h)
	51,53	23,35	76,86	5,02	3,7

Experimento 1. Efecto de los productos bioactivos y su combinación con Azotofos.

Los tratamientos fueron los siguientes:

- Testigo hidratado durante 30 minutos en agua clara.
- Azotofos
- Azotofos + Pectimorf®
- Azotofos + BIOBRAS-16®
- Pectimorf®
- BIOBRAS-16®

Se realizaron las siguientes mediciones:

1. Porcentaje de esquejes enraizados (%).
2. Peso de la biomasa total (g/individuo).

Experimento 2. Efecto del tiempo de imbibición en Pectimorf.

Los tratamientos fueron los siguientes:

- Testigo sin hidratación previa a la plantación.
- Testigo hidratado durante 120 minutos en agua clara.
- Imbibición durante 30 minutos en Pectimorf.
- Imbibición durante 60 minutos en Pectimorf.
- Imbibición durante 90 minutos en Pectimorf.
- Imbibición durante 120 minutos en Pectimorf.

Se realizaron las siguientes mediciones:

3. Porcentaje de esquejes enraizados (%).
4. Longitud máxima de las raíces (cm).
5. Peso de la biomasa radical (g).

Análisis matemático y diseño

En ambos experimentos se empleó un diseño de bloques al azar con tres repeticiones. El paquete estadístico utilizado fue Infostat, versión libre, a través del modelo ANOVA y la prueba de comparación de

Duncan. En el primer experimento se procedió a través de un análisis multifactorial, donde los factores de variación fueron los productos bioactivos y los biopreparados microbianos. En el segundo experimento el factor de variación fue el tiempo de imbibición, por lo que se realizó un análisis simple.

Resultados y Discusión

En la tabla 2 se presenta el efecto del Azotofos, el Pectimorf® y el BIOBRAS-16®, y sus combinaciones. La combinación del Pectimorf® con el biopreparado microbiano significó un aumento sensible del porcentaje de esquejes enraizados, respecto al testigo y a cada producto por separado. Ello corrobora el marcado efecto de la combinación del Azotofos, cuyo mayor impacto se manifestó en la estimulación del crecimiento. El Pectimorf® actuó mayormente en función del desarrollo de las raíces. El BIOBRAS-16® y su combinación con Azotofos produjo un alto porcentaje de esquejes enraizados, lo cual se explica por la significativa influencia de los brasinoesteroides en el crecimiento celular y las bacterias promotoras de crecimiento presentes en el biopreparado, que además de facilitar el acceso de las raíces a los elementos minerales, exudan sustancias de bajo peso molecular aprovechables por la planta. Todo esto conlleva un aumento del vigor de los propágulos (Noriega, 2009).

Tabla 2. Efecto de los tratamientos y sus combinaciones en los indicadores de establecimiento de los propágulos.

Table 2. Effect of the treatments and their combinations on the establishment indicators of the propagules.

Tratamiento	Esquejes enraizados (%)	Peso de la biomasa total (g/individuo)
Testigo	69,2 ^b	0,67 ^b
Azotofos	82,05 ^{ab}	0,76 ^{ab}
Azotofos + Pectimorf®	100 ^a	0,56 ^c
Azotofos + BIOBRAS-16®	97,44 ^a	0,55 ^c
Pectimorf®	89,74 ^{ab}	0,82 ^a
BIOBRAS-16®	100 ^a	0,54 ^c
ES+	0,02	0,01
CV (%)	2,25 (Acosh%)	27,33

a,d,c Valores con superíndices no comunes difieren a $P < 0,05$ (Duncan, 1955)

En cuanto a la biomasa total el mejor resultado se obtuvo en el tratamiento con Pectimorf®, lo que se justifica por ser las pectinas un componente mayoritario de la pared celular de los organismos vegetales, donde actúan como una especie de cemento celular que une, a través de las hemicelulosas, las microfibrillas de celulosa, y contribuye a su fortaleza (Naranjo, 2005). Estas oligosacarinas son moléculas señalizadoras derivadas de los polisacáridos que componen la pared celular de las plantas y poseen en su constitución elementos auxínicos y citoquinínicos semejantes a aquellos de los reguladores artificiales del crecimiento. Se han utilizado en muchos cultivos con excelentes resultados, similares a lo obtenido con BIOBRAS-16 (Jomarrón *et al.*, 2000).

La combinación de Azotofos con los productos bioactivos y el BIOBRAS-16® no superaron los acumulados alcanzados por el testigo.

En las figuras 1 y 2 se presenta el efecto de diferentes tiempos de imbibición de los propágulos en Pectimorf®, comparados con el testigo sin tratar. Se puede apreciar que los tratamientos testigo hidratado y sin hidratar tuvieron los valores de enraizamiento más bajos (59,5 y 69,8% de esquejes enraizados) y difirieron significativamente del tiempo de imbibición de 60 minutos en Pectimorf®, que alcanzó el 100%. Los valores más altos de longitud máxima de las raíces se alcanzaron en los tiempos 30, 60 y 120 minutos, en contraste con los testigos sin tratar.

Tomando en consideración lo sugerido por Inés Reynaldo (comunicación personal) acerca de los tiempos de imbibición de 15 a 30 minutos para las posturas de hortalizas, y entre tres y cuatro horas para las semillas de pepino y quimbombó, el mejor resultado en el presente trabajo con el tiempo de imbibición de 60 minutos

indica que el volumen óptimo de sustancia activa que se difundió hacia el interior de las células y su efecto en la inducción de los procesos ligados al enraizamiento, dependen de la especie vegetal y del material de propagación. En cuanto a la producción acumulada de biomasa verde radical (fig. 3), el tratamiento de 60 minutos tuvo un efecto significativamente mayor y hubo un descenso a partir de 90 minutos. El tratamiento de 90 minutos coincidió con la peor repuesta, lo cual debe ser objetivo de futuros estudios con vista a profundizar en la acción del producto bioactivo. El efecto positivo del Pectimorf® en la concentración y el tiempo de imbibición adecuados, según el cultivo de que se trate, está determinado por la acción que ejerce el producto en los procesos fisiológicos de alargamiento y diferenciación celular. Según González *et al.* (2002), el efecto de este producto en la organogénesis es el más sensible de los estudiados, lo que confirma que puede regular un proceso fundamental para el desarrollo de las plantas, como la formación de órganos.

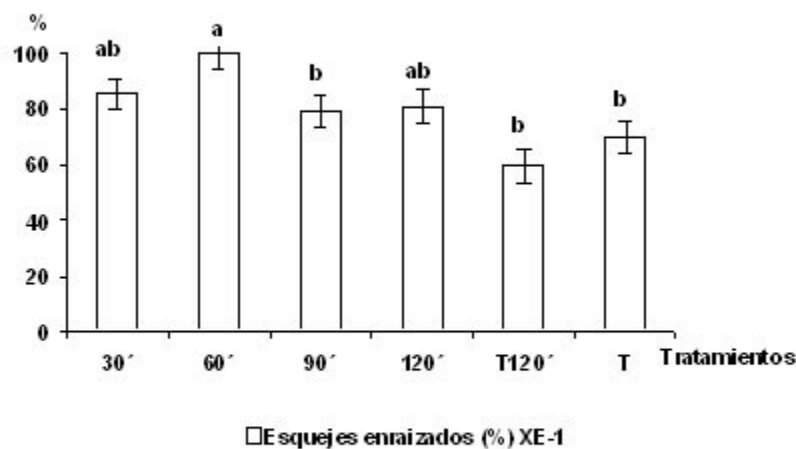
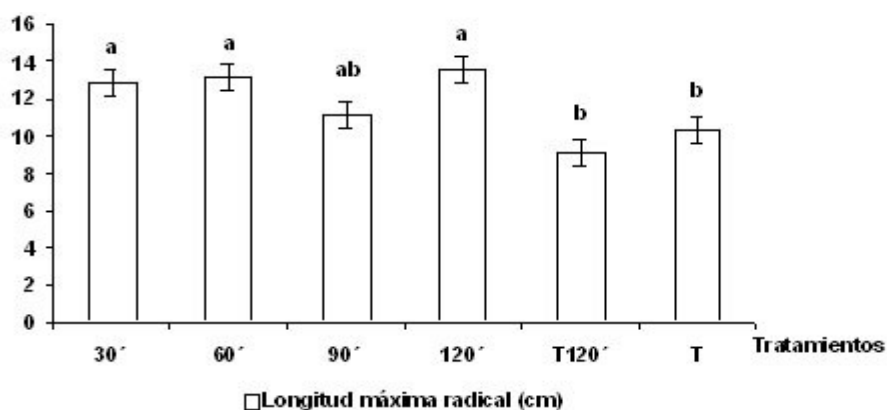


Fig. 1. Efecto del tiempo de imbibición en Pectimorf, en el enraizamiento.

Fig. 1. Effect of imbibition time in Pectimorf, on rooting.



Leyenda: 30': Imbibición por 30min. 60': Imbibición por 60 min. 90': Imbibición por 90 min. 120': Imbibición por 120 min. T 120': Testigo hidratado por 120 min. T: Testigo sin hidratar.

Fig. 2. Efecto del tiempo de imbibición en Pectimorf, en la longitud máxima radical.

Fig. 2. Effect of imbibition time in Pectimorf, on maximum root length.

Terrero (2010) señala que para obtener una respuesta satisfactoria al Pectimorf se mezcla entre 5 y 20 mg del Pectimorf® en un litro de agua, rango similar al utilizado para las hormonas tradicionales al expresarlas en unidades de concentraciones molares. En el presente estudio la concentración fue de 10 mg, por lo que se

considera importante realizar pruebas con diferentes concentraciones con el objetivo de potenciar el efecto del producto, el cual ofrece, entre sus ventajas adicionales, su solubilidad en el medio acuoso (empleado para preparar los medios de cultivo) y su estabilidad en las condiciones utilizadas para esterilizar los medios (Terrero, 2010).

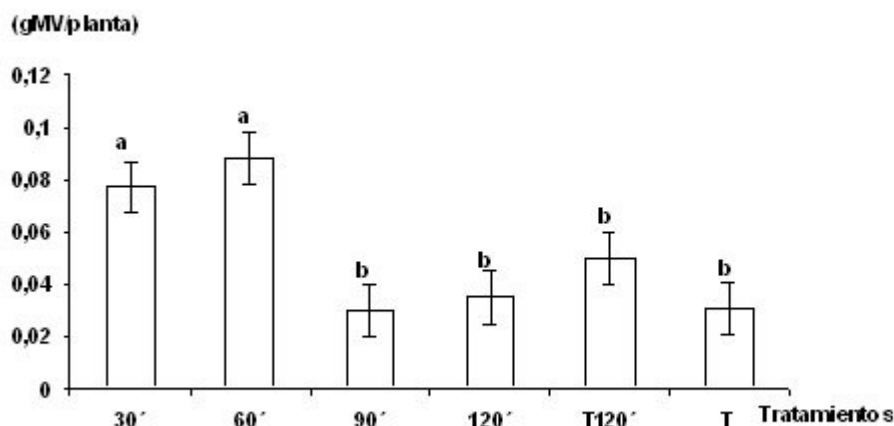


Fig.3. Efecto del tiempo de imbibición en Pectimorf, en la biomasa radical.

Fig. 3. Effect of imbibition times in Pectimorf, on root biomass.

Según el autor, el Pectimorf® (subproducto de la industria citrícola) es de bajo costo y se encuentra disponible en el mercado cubano, por lo que constituye una alternativa en la sustitución de los reguladores tradicionales del crecimiento. Núñez *et al.* (1996) demostraron que las oligosacarinas inducen el enraizamiento y el crecimiento vegetativo, y además mejoran la simbiosis soya-Bradyrizobium.

Conclusión

Se concluye que el Pectimorf® es la mejor alternativa para estimular el crecimiento inicial de *P. vaginatum* cv. Salam. Los resultados indicaron, además, que los esquejes deben mantenerse en imbibición en Pectimorf® durante 60 minutos antes de la siembra. “Indio Hatuey”

Referencias bibliográficas

- Dell'Amico, J. *et al.* 2002. Water and growth parameter responses to tomato plants associated with arbuscular mycorrhizae during drought and recovery. *J. Agric. Sci.* 138:387
- Duncan, R. 2006. El periodigolf. “Algunos proyectos de golf en España solo podrán usar *Paspalum*”. Disponible en http://www.madrimasd.com/golf/content/index.php?option=com_content&task=view&id=2993&Itemid=38. [Consulta: 8 de abril del 2009]
- Góngora, A. *et al.* 2004. Influencia de diferentes proporciones de NPK y los momentos de aplicación de Biobrás 16 en la fase de semillero del cultivo del tabaco variedad Habana 92. En: Memorias del XIV Congreso Científico del INCA. La Habana, Cuba. p. 115
- González, S. *et al.* 2002. Las oligosacarinas y los brasinoesteroides como reguladores del crecimiento en la biotecnología vegetal. En: Congreso Científico del INCA. Memorias. [cd-rom]. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. La Habana, Cuba
- Hernández, L. *et al.* 1998. Evaluación de gramíneas cespitosas para el fomento de campos de golf y áreas de jardinería. *Pastos y Forrajes*. 21:323
- Jomarrón, I.R. *et al.* 2000. Polyhidroxispirostenones as plant growth regulators. *European Patent Bulletin*. Number 2000/29
- Martínez, M. *et al.* 1986. *Paspalum* spp. *Pastos y Forrajes*. 8:157

- Morte, A. *et al.* 2001. Growth and water relations in mycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus halepensis* plants in response to drought. *Biol. Plant.* 44 (2):263
- Naranjo, O. 2005 Evaluación del Pectimorf y Biobras-16 en la variedad de tabaco Habana 92. Trabajo de Diploma. Universidad de Granma, Cuba. p. 21
- Noriega, A.V. 2009. Eficaz regulador para que las plantas crezcan más. La Habana. Disponible en: <http://www.elhabanero.cubaweb.cu>. Consulta: 28 de marzo del 2009
- Núñez, M. *et al.* 1996 Influencia de un análogo de Brasinoesteroide en el crecimiento y la actividad metabólica de plantas jóvenes de tomate. *Cultivos Tropicales.* 17 (3):26
- Pulido, L.E. *et al.* 2003. La biofertilización con rizobacterias y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de posturas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y cebolla (*Allium cepa* L). I. Crecimiento vegetativo. *Cultivos Tropicales.* 24 (1):15
- Terrero, J.C. 2010. Evaluación de 3 sustancias bioestimulantes en el cultivo del pepino (*Cucumis sativus*, L.) en condiciones de organopónico. [En línea]: <http://www.monografias.com/feu.udg@udg.co.cu>. Consulta: 10 de agosto del 2010.

Recibido el 10 de julio del 2009

Aceptado el 15 de mayo del 2010

Effect of bioactive products combined with the microbial biopreparate Azotofos on the growth of *Paspalum salam*

Abstract

In order to evaluate the effect of bioactive products and their combination with Azotofos on the growth of *Paspalum salam* (*Paspalum vaginatum* Sw. cv. Salam), two trials were conducted. A randomized block design was used with three repetitions and the bioactive products Pectimorf® (based on pectins) and BIOBRAS-16® (based on brassinosteroids), and their combination with the microbial biopreparate Azotofos, which consists in a mixture on humic support of *Pseudomonas* sp. and *Azotobacter chroococcum*. In the first experiment six treatments were established from the bioactive products, the microbial biopreparate and their combination. The second trial consisted in testing different imbibition times of the propagules in Pectimorf®. A significant superiority was found 30 days after planting in the percentage of rooted cuttings in the treatments with BIOBRAS-16® and Pectimorf®, higher than 89%; while the control did not exceed 69%. The combination of Pectimorf® with Azotofos increased the percentage of rooted cuttings. Regarding the total cumulative biomass, the best result was obtained in the treatment with Pectimorf (0,84 g/individual). As to the imbibition time, the treatments hydrated control and non-hydrated one did not exceed 69% of rooted cuttings; significantly different from the imbibition time 60 min, which reached 100%. Pectimorf® was concluded to be the best alternative to stimulate the growth of *P. vaginatum* cv. Salam. The results also indicated that the cuttings must remain imbibed in Pectimorf® for 60 minutes.

Key words: Biomass, Paspalum salam, rooting

Introduction

The *Paspalum* Linn. genus belongs to the family *Gramineae*, subfamily *Panicoideae*, and originated in tropical America. At present it is widely distributed throughout the American continent and in Australia. It adapts well to hot climates and includes species that are well developed on soils with low fertility and poor drainage (Martínez *et al.*, 1986).

Paspalum vaginatum cv. Salam appears to be a promising drought- and salinity-resistant species (Hernández *et al.*, 1998), which with an adequate irrigation regime can reduce up to 25% of the water consumption as compared to Bermuda grass and it also allows saving between 25 and 50% of the fertilizers (Duncan, 2006).

The reproduction is apomictic (Martínez *et al.*, 1986); for which planting can be done by means of vegetative seed (through rhizomes and stolons) preferably in the spring months. However, its slow establishment and little precocious development force to look for options that guarantee higher competition in early stages, regarding the accompanying flora. Bioactive products and their combination with microbial biopreparates constitute an alternative, which is also environment-friendly.

It is known that when plants are inoculated with beneficial bacteria and fungi, which transform nitrogen and other macronutrients and micronutrients, a remarkable increase is produced in the nutrient absorption and translocation processes (Pulido *et al.*, 2003). This causes higher growth, improvement of plant hydric indicators and induction of the root system development (Morte *et al.*, 2001; Dell'Amico *et al.*, 2002). Regarding bioactive products, Góngora *et al.* (2004) highlighted the inducing effects of the mechanisms of tolerance to salinity and drought stress, from the pretreatment to tomato and rice seeds with plant growth promoting substances, based on substances analogous to brassinosteroids or oligogalacturonids, and their interaction with micorrhyzal fungi. Other authors have referred to Fitomas-E®, BIOBRAS-16® and EnerPlant®, as successful biostimulators. Yet, at present Quitosana and Pectimorf® are also used.

The use of microbial biopreparates is particularly successful in the *Paspalum* genus. Its capacity to associate to nitrogen fixing-transforming and phosphorus solubilizing soil microorganisms is known. Benzion and Quesenberry (cited by Martínez *et al.*, 1986) inoculated several genotypes of *P. notatum* with *Azospirillum brasilense* JM 125 A2 and found them to increase their dry weight from 18 to 22,9% and just

one diploid was the only genotype which decreased its dry weight. Pereira (cited by Martínez *et al.*, 1986) referred to the effectiveness of the association of *P. notatum* with *Azotobacter paspali*.

The objective of this work was to evaluate the effect of two bioactive products and their combination with a biopreparate based on *Pseudomonas* sp. and *Azotobacter chroococcum* on the initial growth of *Paspalum salam* (*P. vaginatum* Sw. cv. Salam).

Materials and Methods

The trials were conducted at the Experimental Station "Indio Hatuey" located between 22° 48' 7" latitude north and 81° 2' longitude west, at 19,01 masl, in Matanzas province, Cuba. The experimental period was 30 days, and it was framed within February and March, 2009.

Total rainfall was relatively low (table 1), which is in correspondence with the mean of the period belonging to the first months of the year; this season being acknowledged as the most dried in Cuba.

The evaluated species was *P. vaginatum* cv. Salam. The vegetative material was obtained from a basic seed bank. The cuttings were selected from the mid zone of the plants, with a length of 15 cm and four buds or more.

Planting was made in polystyrene trays, divided into 144-cm³ cubbyholes; they remained exposed to open air throughout the experimental period. The substratum used consisted in a mixture of sandy soil, extracted from the Varadero golf course (Cuba), and organic matter from earthworm humus, in 2:1 ratio. Irrigation was applied every two days.

All the products were applied at the moment of planting. They consisted in:

- Pectimorf®, based on pectins, obtained at the Laboratory of Plant Physiology and Biochemistry of the National Institute of Agricultural Sciences (Havana, Cuba). It was applied at a rate of 10 mg/L, by the method of propagule immersion.
- BIOBRAS-16®, based on brassinosteroids, produced by the School of Chemistry of the University of Havana (Cuba). It was applied by the method of propagule immersion.
- Azotofos, a microbial preparate consisting in a mixture on humic support of *Pseudomonas* sp. and *A. chroococcum*. It was applied at a rate of 10 mg/L, by the immersion method.

Experiment 1. Effect of bioactive products and their combination with Azotofos.

The treatments were the following:

- Control hydrated for 30 minutes in clear water.
- Azotofos
- Azotofos + Pectimorf®
- Azotofos + BIOBRAS-16®
- Pectimorf®
- BIOBRAS-16®

The following measurements were made:

1. Percentage of rooted cuttings (%).
2. Total biomass weight (g/individual).

Experiment 2. Effect of imbibition time in Pectimorf®.

The treatments were the following:

- Control without hydration before planting.
- Control hydrated for 120 minutes in clear water.

- Imbibition for 30 minutes in Pectimorf.
- Imbibition for 60 minutes in Pectimorf.
- Imbibition for 90 minutes in Pectimorf.
- Imbibition for 120 minutes in Pectimorf.

The following measurements were made:

3. Percentage of rooted cuttings (%).
4. Maximum root length (cm).
5. Root biomass weight (g).

Mathematical analysis and design

In both experiments a randomized block design with three repetitions was used. The statistical pack used was Infostat, free version, through the ANOVA model and Duncan's comparison test. In the first experiment a multifactorial analysis was used; where the variation factors were the bioactive products and microbial preparates. In the second experiment, the variation factor was the imbibition time, for which a simple analysis was made.

Results and Discussion

Table 2 shows the effect of Azotofos, Pectimorf® and BIOBRAS-16®, and their combinations. The combination of Pectimorf® with the microbial preparate meant a sensible analysis of the percentage of rooted cuttings, as compared to the control and each product separately. This corroborates the remarkable effect of the combination of Azotofos, which higher impact was shown in growth stimulation. Pectimorf® acted mainly on root development. BIOBRAS-16® and its combination with Azotofos produced a high percentage of rooted cuttings; which is accounted for by the significant influence of brassinosteroids on cell growth and the growth promoting bacteria present in the biopreparate, which in addition to facilitating the access of roots to mineral elements, exudates low molecular weight substances utilizable by the plant. All this leads to an increase of propagule vigor (Noriega, 2009).

Regarding total biomass the best result was obtained in the treatments with Pectimorf; which is justified by pectins being a majority component of the cell wall of plant organisms, where they act as some kind of cell cement which joins, through hemicelluloses, cellulose microfibrils, and contribute to their strength (Naranjo, 2005). These oligosaccharins are signaling molecules derived from the polysaccharides which compose the cell wall of plants and have in their constitution auxinic and cytoquininic elements similar to those of artificial growth regulators. They have been used in many crops with excellent results, similar to the ones obtained with BIOBRAS-16® (Jomarrón *et al.*, 2000).

The combination of Azotofos with bioactive products and BIOBRAS-16® did not exceed the totals reached by the control.

Figures 1 and 2 show the effect of different imbibition times of the propagules in Pectimorf®, as compared to the untreated control. It can be observed that the treatments hydrated control and non-hydrated control had the lowest rooting values (59,5 and 69,8% of rooted cuttings) and differed significantly from the imbibition time of 60 minutes in Pectimorf®, which reached 100%. The highest values of maximum root length were reached in times 30, 60 and 120 minutes, in contrast with untreated controls.

Taking into consideration the suggestions made by Inés Reynaldo (personal communication) about the imbibition times from 15 to 30 minutes for vegetable seedlings, and between three and four hours for cucumber and okra seeds, the best result in this work with the imbibition time of 60 minutes indicates that the optimum volume of active substance that was spread inside the cells and its effect on the induction of the processes linked to rooting depend on the plant species and the propagation material.

Regarding the cumulative production of root green biomass (fig. 3), the 60-minute treatment had a significantly higher effect and there was a decrease from 90 minutes. The 90-minute treatment coincided with the worst response, which must be object of future research in order to further study the functioning of the bioactive product. The positive effect of Pectimorf® on the concentration and the adequate imbibition time, according to the specific crop, is determined by the action the product exerts on the physiological processes of cell enlargement and differentiation. According to González *et al.* (2002), the effect of this product on organogenesis is the most sensitive of all the studied ones, which confirms that it can regulate such a fundamental process for plant development, as organ formation.

According to Terrero (2010), in order to obtain a satisfactory response to Pectimorf between 5 and 20 mg of Pectimorf® are mixed in a liter of water, similar range as the one used for traditional hormones when expressed in units of molar concentrations. In this study the concentration was 10 mg, for which it is considered important to conduct tests with different concentrations to enhance the effect of the product, which offers, among its additional advantages, its solubility in aqueous medium (used to prepare culture media) and its stability under the conditions used to sterilize media (Terrero, 2010).

According to this author, Pectimorf® (byproduct of the citrus fruit industry) has low cost and is available in the Cuban market, for which it constitutes an alternative in the substitution of traditional growth regulators. Núñez *et al.* (1996) proved that the oligosaccharin induces rooting and plant growth, and it also improves the soy-Bradyrhizobium symbiosis.

Conclusion

Pectimorf® is concluded to be the best alternative to stimulate the initial growth of *P. vaginatum* cv. Salam. The results also indicated that the cuttings should be kept imbibed in Pectimorf® during 60 minutes before planting.