

Establecimiento de un método de propagación vegetativa para *Catharanthus roseus* (L.)

Elaboration of a method for vegetative propagation of *Catharanthus roseus* (L.)

Ing. Pamela Maia Dirchwolf,^I Mgter. María Andrea Schroeder^{II}

^I Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Argentina.

^{II} Cátedra de Química Analítica y Agrícola. Facultad de Ciencias Agrarias.

Universidad Nacional del Nordeste. Argentina.

RESUMEN

Introducción: *catharanthus roseus* (L.) , es una planta apreciada por ser una fuente de alcaloides utilizados como quimioterápicos.

Objetivo: estudiar diferentes factores que inciden en el enraizamiento, para optimizar su multiplicación vegetativa por estacas.

Métodos: se probaron dos tipos de estacas (terminal y subterminal) a partir de plantas jóvenes y adultas, tres sustratos (tierra de monte, sustrato comercial y arena) y un promotor de enraizamiento (ácido naftalén acético). El diseño experimental fue bloques al azar con tres repeticiones, en un arreglo factorial 2x2x3. Las variables evaluadas fueron: porcentaje de enraizamiento, número, longitud de raíces y porcentaje de brotación; valoradas a los 60 días. Se analizó el perfil nutricional de las láminas foliares.

Resultados: en estacas de plantas jóvenes el mejor sustrato para las variables relacionadas con el desarrollo radical fue la arena. El factor estaca arrojó diferencias significativas en el nivel subterminal en cuanto al enraizamiento y número de raíces, mientras que la aplicación del promotor no mostró diferencias significativas. En estacas de plantas adultas el porcentaje de enraizamiento y en la longitud de raíces fueron significativos mayores en el sustrato comercial. El factor estaca no presentó diferencias significativas, mientras que el factor promotor mostró una mejor respuesta sin su agregado en la brotación. El número de raíces, su longitud, y la brotación fue significativa; mayor en estacas de plantas jóvenes, en comparación con las de plantas adultas. Se obtuvieron diferencias significativas en el contenido de N, Zn y Mn, el cual fue mayor en plantas adultas; mientras que el K fue mayor en plantas jóvenes.

Conclusiones: la propagación vegetativa mediante estacas de *C. roseus* fue posible, y permitió obtener en forma rápida y simple, plantas de porte homogéneo. La multiplicación fue favorecida al utilizar estacas provenientes de plantas jóvenes, subterminales, en arena, sin Ácido 1-naftalén-acético.

Palabras clave: multiplicación vegetativa, estacas, *Catharanthus roseus*, plantas de menos de un año de edad, plantas de más de un año, sustrato, ácido naftalén acético.

ABSTRACT

Introduction: *catharanthus roseus* var. *roseus* (L.), is a prized plant because it has several antitumor alkaloids.

Objective: to evaluate the effect of indoleacetic acid, cutting types, plant age and substrates on *Catharanthus roseus* (L.) rooting.

Methods: the experiment was arranged in a complete randomized design with a 2 x 2 x 3 factorial with three replications, with two ANA concentrations (0 and 1000 ppm), two positions in the stem (terminal and subterminal) and three types of substrate (commercial substrate, local low fertility soil and sand) in plants aged less and more than a year. After 60 days, percentage of rooted cuttings, root number and length, and percentage of sprouting were evaluated. A nutritional analysis of leaf blades was performed.

Results: the best scores in terms of rooting rates were obtained for the sand, the subterminal portion of the branch and without the rooting promoting substance, in younger plants. Older cuttings best development was found in commercial substrate. No statistical differences were found between cutting types or with or

without the rooting promoting substance. Root length and number, as well as sprouting were significantly better using younger cuttings. Nitrogen, Zinc and Manganese content were significantly superior in older plants, but Potassium was higher in the younger ones.

Conclusion: the results obtained demonstrate that the potential of *C. roseus* to be propagated by cuttings is possible, and that is even better if subterminal young cuttings, in sand, without rooting promoters are used.

Key words: vegetative propagation, cuttings, *Catharanthus roseus*, plants ages, substrate, rooting promoter.

INTRODUCCIÓN

Catharanthus roseus (L.) es una planta muy apreciada por ser una fuente de alcaloides utilizados como quimioterapéuticos, de actividad anticancerígena.¹⁻⁴ Si bien produce centenas, dos revisten especial importancia: la vinblastina, utilizada en el tratamiento del mal de Hodgkin y la vincristina, empleada para tratar la leucemia.⁵ Según Loyola-Vargas y colaboradores,⁶ el proceso de elaboración de un kilogramo de vinblastina tiene un costo de 1 millón de dólares, mientras que son necesarios 3,5 millones para producir la misma cantidad de vincristina. El alto importe de estas sustancias se debe a que se encuentran en concentraciones muy bajas en la parte aérea del vegetal (alrededor de 0,0005 % PS); por lo que se requiere media tonelada de hojas secas de *C. roseus* para la obtención de 1 gramo de vinblastina;⁷ mientras que para producir 1 kilogramo de vincristina son utilizados 530 kg.⁸ Además, su extracción es muy complicada debido a que se lleva a cabo en presencia de otros 200 compuestos con propiedades químicas y físicas similares.⁶

C. roseus es muy usual cultivada como ornamental,^{2,3} en la localidad de Lavalle, provincia de Corrientes, existen establecimientos dedicados a su producción para suministrar materia prima a laboratorios destinados a la extracción de sus alcaloides, situados en la provincia de Entre Ríos.

Dichos invernaderos obtienen sus plantines a partir de semillas, método natural que presenta como desventaja la desuniformidad en el material genético, debido a la condición alógama de la especie.⁹ Dicho de otra manera, resulta difícil obtener un

stand de plantas homogéneo, que pueda ser cosechado en el momento adecuado. Por ello, y por la necesidad de disponer de un sistema de clonación apto para la región, se llevó a cabo el siguiente trabajo, cuyo objetivo principal es elaborar un protocolo de propagación vegetativa de *C. roseus* que permita obtener una mayor cantidad de especímenes idénticos al material de partida. Dado que el éxito en el enraizamiento de una estaca depende de factores internos como la edad de la planta madre o la posición de la estaca en el tallo; y de factores externos como el lecho de enraizamiento y la aplicación de promotores de desarrollo radical; se tuvieron éstos en consideración al realizar la investigación.

MÉTODOS

La experiencia fue llevada a cabo en un invernadero de vidrio de la Facultad de Ciencias Agrarias (FCA), de la Universidad Nacional del Nordeste (UNNE), en la provincia de Corrientes, Argentina.

Se seleccionaron 54 ejemplares jóvenes (menores a un año) de *C. roseus* (L.), Herbario del Instituto de Botánica del Nordeste, Corrientes, Argentina, CTES 3472, provenientes de un establecimiento comercial de Lavalle, sanos y sin ningún tipo de estrés visible. Asimismo, para la evaluación del comportamiento de plantas adultas, se escogieron plantas de más de un año de edad del Campo Didáctico Experimental FCA - UNNE, situado en Ruta N° 12, km 1032, Corrientes Capital, se tomó el mismo criterio para su elección.

Las plantas jóvenes crecieron en una mezcla de tierra negra abonada con perlita; mientras que las adultas se desarrollaron directo en el suelo de dicho Campo Didáctico Experimental, el cual corresponde a la serie Ensenada Grande (Udipsament árgicos).¹⁰ Es un suelo de baja fertilidad y baja retención de humedad. La obtención de las estacas fue realizada mediante el uso de tijeras de podar. Se utilizaron dos tipos de estacas: terminales y subterminales; se considera terminales, a la porción apical de la rama, se tomó los primeros 10 a 15 cm a partir del ápice, con más de 4 yemas. Las estacas subterminales fueron recogidas con el mismo criterio; presentaban una tonalidad rojiza, y una consistencia menos tierna y flexible, en especial aquellas provenientes de plantas adultas. Todas las estacas fueron despojadas de sus hojas para evitar su deshidratación.

Las estacas que recibieron el tratamiento con producto comercial promotor del enraizamiento fueron sumergidas hasta sus dos tercios inferiores en una solución

de *Fertifox Hormona*, cuyo principio activo es el Ácido 1-naftalén-acético (ANA), al 0,1 % (1000ppm), durante 30 minutos. Se aplicó un fungicida de contacto en la base de todas las estacas, conocido en lo común, como "Captan" (N-triclorometiltio) ciclohex-4-eno-1,2-dicarboximida).

Fueron probados tres sustratos diferentes: arena, tierra de monte (obtenida del Campo Didáctico Experimental, FCA - UNNE) y sustrato comercial (tierra negra abonada, originaria de Corrientes), previo esterilizados en recipientes de aluminio en estufa, a 150 °C durante 8 horas. La plantación fue realizada en macetas individuales de 150 cm³, consistentes en vasos térmicos de poliestireno expandido (telgopor), con orificios inferiores para favorecer el drenaje en hoyos antes realizados, con el fin de preservar la base de las estacas de cualquier daño mecánico. Las macetas fueron mantenidas en condiciones de invernadero.

Para el ensayo fue utilizado un diseño experimental de bloques al azar, con tres estacas por repetición, en un arreglo factorial de 2x2x3. Los factores analizados fueron: tratamiento hormonal ANA (con y sin), tipo de estaca (terminal y subterminal) y tipo de sustrato (arena, tierra de monte y sustrato comercial), en estacas obtenidas de plantas jóvenes y adultas.

Las variables evaluadas fueron los porcentajes de enraizamiento (%), número de raíces por estaca, longitud de raíces (cm) y porcentajes de estacas con brotación (%). La toma de datos se realizó a los 60 días de la fecha de plantación.

Se realizó un análisis nutricional de las hojas de *C. roseus*, las que fueron secadas en estufa (60 °C) durante 72 h aproximadas hasta peso constante, y luego molidas mediante molinillo mecánico tipo Willey (malla 20). Se determinó el Nitrógeno por el método de *Kjeldhal*, el Fósforo por espectrometría UV-Visible (Método *Murphy - Riley*), y los demás macronutrientes, así como también la totalidad de los microelementos por espectrometría de absorción atómica.¹¹

Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) y según correspondieron las medias aritméticas fueron comparadas con el test de comparaciones múltiples de *Tukey* ($p \leq 0,05$) o con t de Student para muestras independientes ($p < 0,05$), fue empleado el Software Infostat.

RESULTADOS

Factor sustrato

A partir de estacas provenientes de plantas de más de un año de edad reflejan que los niveles de arena y sustrato comercial fueron muy diferentes entre sí, en cuanto al porcentaje de enraizamiento y longitud de raíces, a favor del nivel sustrato comercial. La tierra de monte tuvo un comportamiento intermedio.

Factor estaca

En estacas procedentes de plantas menores a un año, hubo diferencias significativas en cuanto al porcentaje de enraizamiento y el número de raíces, a favor del nivel estaca subterminal, mientras que para el resto de las variables analizadas no hubo diferencias. Sin embargo, en las estacas provenientes de plantas adultas, es decir de más de un año, este factor no presentó diferencias significativas en ningún caso (Figura).

Factor hormona

No mostró diferencias significativas para ninguna de las variables evaluadas en el caso de estacas procedentes de plantas jóvenes. Los resultados obtenidos en estacas provenientes de plantas adultas fueron muy similares, observándose diferencias significativas en el porcentaje de brotación, el cual fue mayor para el nivel sin el regulador de crecimiento.

La tabla 1 refiere el efecto del sustrato, tipo de estaca, y uso de Ácido 1-naftalén-acético (ANA) sobre la rizogénesis y la brotación de estacas procedentes de plantas jóvenes y adultas de *Catharanthus roseus*.

Al comparar el efecto de la edad de la planta de la cual procedían las estacas, observamos que no hubo diferencias significativas en cuanto al % de enraizamiento, pero si las hubo para las restantes variables analizadas a favor del nivel estacas, en aquellas provenientes de plantas de menos de un año (tabla 2).

Los macronutrientes no arrojaron diferencias significativas a excepción del N y K. La concentración de nitrógeno foliar fue superior en las plantas madres adultas; mientras que la del potasio fue significativo superior en las plantas jóvenes. Con relación a los micronutrientes, tanto el Mn como el Zn se hallaron en mayor concentración en plantas adultas (tabla 3).

DISCUSIÓN

El hecho de que el sustrato arena haya sido más conveniente para el desarrollo radical en el material que proviene de plantas jóvenes, se debió a la mayor humedad de sus tejidos, debido a que éstos no se encontraban lignificados.^{12,13} El mantenimiento del agua necesaria en ellos, por ende, favoreció a la iniciación del proceso de rizogénesis. La gran longitud alcanzada por las raíces se debe a la búsqueda de la humedad edáfica, la cual pronto fue evacuada por los macroporos que caracterizan dicho sustrato.¹⁴ Este proceso fue estudiado por *Acevedo*,¹⁵ quien asegura que si bien existe un cierto movimiento ascendente del agua hacia el cultivo; fluctúa considerable, según la textura del suelo, mientras que el crecimiento radical tiene un papel preponderante en el proceso de absorción de agua.

Las estacas provenientes del material adulto se desarrollaron mejor en el sustrato comercial que no sólo contiene materia orgánica, sino también una mayor proporción de microporos; elementos que contribuyen al almacenamiento de humedad, factor que pudo haber incidido dada la mayor lignificación del material vegetal y su menor contenido de agua.^{14,16}

Con respecto a la brotación observada en las estacas provenientes de plantas jóvenes en la arena, es debido al alto desarrollo radical presentado; la estaca obtuvo la humedad necesaria como para poder movilizar sus reservas y despertar las yemas de la porción superior. En cuanto al sustrato comercial, proporcionó a las estacas suficiente humedad para evitar su desecación y permitir su brotación.

Al comparar los mejores sustratos, es decir la arena en el caso de las estacas obtenidas, a partir de plantas jóvenes, y el sustrato comercial en aquellas estacas adquiridas en plantas adultas; se tuvo en cuenta que los valores de las variables evaluadas en el primer sustrato fueron muy superiores a los encontrados en el segundo. Se consideró que sería más conveniente utilizar arena como sustrato, dada su fácil accesibilidad y reproducibilidad. Esto último fue observado por *Plaizier*,¹⁷ quien aconseja que se utilicen suelos arenosos para el cultivo de esta planta, ya que en condiciones naturales se localiza en arenales costeros o terrenos interiores de esta textura.

En cuanto al factor estaca, los resultados logrados no concuerdan con aquellos obtenidos por *Aroucha Santos y colaboradores*,¹⁸ quienes consiguieron diferencias significativas a favor de las estacas terminales en la propagación de *C. roseus*. Sin embargo, *Granda y Acosta*¹⁹ habían comentado la posibilidad de propagar esta planta mediante estacas de tallos semilignificados, es decir, subterminales, con una brotación muy superior al obtenido con las estacas de yemas terminales.

Según *Fachinello*,²⁰ el mejor comportamiento de las estacas subterminales está asociado a la lignificación del material y a la mayor reserva de carbohidratos que contienen, en comparación con las terminales. Sin embargo, *Hartmann y Kester*,²¹ expresan que el mejor enraizamiento de las estacas apicales probable, se deba a la posibilidad de que en el ápice haya mayor concentración de sustancias endógenas promotoras del enraizamiento, ya que las mismas se originan en las yemas apicales; lo que no se evidenció en este trabajo, dado que las estacas terminales no fueron superiores en ningún caso.

Se consideró que la sensibilidad ocasionada por la menor lignificación de las estacas terminales del material procedente de plantas jóvenes, pudo ser la causa del menor desarrollo radical de éstas; debido a que de haber sido influenciado por las hormonas. No sólo debería haber sido mayor el desarrollo en las estacas apicales, sino que también se debería haber producido el mismo resultado en las estacas provenientes de plantas adultas, dado que sus porciones apicales son de igual productoras de dichas sustancias.

Por lo antedicho, el tipo de estacas es significativo para lograr mayores porcentajes de enraizamiento y número de raíces por estacas, a favor de las estacas subterminales, obtenidas a partir de plantas menores de un año; debido a tener una combinación favorable entre lignificación de sus paredes, junto con suficientes carbohidratos de reserva, además, de yemas lo suficiente jóvenes como para una rápida desdiferenciación.

Los resultados obtenidos al evaluar el factor promotor de enraizamiento coinciden con aquellos obtenidos por *Aroucha Santos y colaboradores*,¹⁸ ensayo en el cual no se encontraron diferencias significativas en el uso de 0 a 800 ppm de IBA en la propagación por estacas de *C. roseus*, como así también con *Waizel*.²² Investigación en la cual arribó a un 20 % de enraizamiento en esta misma especie, sin tratamiento hormonal; lo cual podría indicar que las estacas de *C. roseus* poseen un adecuado nivel endógeno de auxinas para iniciar la formación de raíces adventicias (mayor a 35 % en todos los casos), proceso que no se ve favorecido con el pretratamiento con ANA al 0,1 % (1000 ppm).

Según *Taiz y Zeiger*,²³ los elementos minerales en las plantas varían, entre otras cosas, de acuerdo con la edad de la planta, por lo que se determinó la concentración de los principales macro y micronutrientes en las hojas de plantas sanas de *C. roseus* del año, y de más de un año de edad, de modo de constatar si las diferencias observadas en el comportamiento durante el ensayo, se deben a la situación nutricional de los distintos materiales de partida.

Las concentraciones foliares de todos los nutrientes evaluados se encontraron dentro del rango expuesto por *Mills y Benton Jones*,²⁴ excepto el Mg, elemento que se hallaba en déficit, en plantas tanto jóvenes como adultas.

El hecho de que las plantas adultas hayan presentado una mayor concentración de N, Zn y Mn, es probable que se explique por la presencia de micorrizas, término que literal, significa "raíces fungosas", que describe la simbiosis entre hongos micorrícicos y raíces de plantas.²⁵⁻²⁷ Las especies de hongos micorrícicos asociadas a *C. roseus* pertenecen al género *Glomus*,²⁸⁻³¹ hongos que se encuentran presentes en el suelo del Campo Didáctico Experimental FCA – UNNE,²⁵ lugar de donde fueron extraídas dichas plantas. Los hongos micorrícicos arbusculares aumentan el área de absorción radical y mejoran la absorción de elementos minerales (P, N, Zn, Cu, Mn, etc.).³⁰⁻³²

Al encontrarse concentraciones óptimas de nutrientes, tanto en plantas jóvenes como adultas, el que haya una mayor concentración de N, Zn y Mn en las últimas, no incidiría en el porcentaje de enraizamiento y brotación.

Al comparar las edades del material de partida, se evidenció que si bien el porcentaje de enraizamiento fue muy similar, tanto en estacas obtenidas a partir de plantas jóvenes como en aquellas provenientes de adultas, no ocurrió lo mismo con el resto de las variables en evaluación, lo cual demostró que sería conveniente partir del material vegetal joven para la propagación vegetativa de esta especie.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aslam J, Haque Khan S, Hameed Siddiqui Z, Fatima Z, Maqsood M, Ahmad Bhat M, et al. *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. An important drug: it's applications and production. *Pharmacie Globale (IJCP)*. [Internet]. 2010 [citado 10 Ene 2014];1(4):1-16. Disponible en: http://www.pharmacie-globale.info/index.php?option=com_docman&task=doc_download&gid=71&Itemid=49
2. Acosta de la Luz L, Rodríguez Ferradá C. Instructivo técnico para el cultivo de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don Vicaria. *Rev Cubana de Plantas Medicinales*. [Internet]. 2002. [citado 9 Ene 2014];7(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962002000200008&script=sci_arttext

3. Alor Chávez MJ, Gómez Álvarez R, Huerta Lwanga E, Pat Fernández JM, González Cortázar M, De la Cruz González C, et al. Nutrición y crecimiento en fase de vivero de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don, *Mimordica charantia* L. y *Axadirachta indica* A. Juss, en el Municipio Centro, Tabasco-México. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. [Internet]. 2012 [citado 12 Ene 2014];11(2):163-71. Disponible en: <http://www.rhsm.usach.cl/ojs/index.php/blacpma/article/download/558/526>
4. Schlaepfer L, Mendoza-Espinoza JA. Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. Rev Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. [Internet]. 2010 [citado 11 Ene 2014];41(4):18-27. Disponible en: <http://www.www-com.es/928892328/cancer/plantasmedicinales.pdf>
5. Gomes de Moraes L, Alonso AM, Oliveira-Filho EC. Plantas medicinais no tratamento do câncer: uma breve revisão de literatura. Universitas: Ciências da Saúde, Brasília. [Internet]. 2011 [citado 12 Feb 2014];9(1):77-99. Disponible en: <http://www.publicacoes.uniceub.br/index.php/cienciasaude/article/viewArticle/1308>
6. Loyola-Vargas VM, Sánchez-Iturbe P, Canto-Canché B, Gutiérrez-Pacheco L, Glaz-Ávalos R, Moreno-Valenzuela O, et al. Biosíntesis de los alcaloides indólicos. Una revisión crítica. Rev de la Sociedad Química de México. [Internet]. 2004 [citado 9 Feb 2014];48(1):67-94. Disponible en: <http://www.jmcs.org.mx/PDFS/V48/03%20Jul%202004/48.1-112/M-Alcaloides.pdf>
7. Sottomayor M, Lopes Cardoso I, Pereira LG, Barceló A. Peroxidase and the biosynthesis of terpenoid indole alkaloids in the medicinal plant *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Phytochemistry Reviews. [Internet]. 2004 [citado 14 Feb 2014];3:159-71. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1023%2FB%3APHYT.0000047807.66887.09#page-1>
8. Levingston R, Zamora R. Medicine trees of the tropic. Unasylva. 1983;35(140):7-10.
9. Kulkarni RN, Baskaran K. From herkogamy to cleistogamy--development of cleistogamy in periwinkle. Journal of heredity. [Internet]. 2013 [citado 10 Feb 2014];104(1):140-8. Disponible en: <http://jhered.oxfordjournals.org/content/104/1/140.short>

10. Escobar EH, Ligier HD, Melgar R, Matteio H, Vallejos O. Mapa de Suelos de la Provincia de Corrientes 1:50.000. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Centro Regional Corrientes. Estación Experimental Agropecuaria Corrientes. Corrientes. Argentina; 1996.
11. Chapman HD, Pratt FP. Métodos de Análisis para Suelos, Plantas y Aguas. México: Ed. Trillas. 1973. p. 195.
12. Miralles OB, Garaulet IC. Las relaciones agua-planta. En: Santa Olalla Mañas FM, López Fuster P, Calera Belmonte A. Agua y Agronomía. Editorial MundiPrensa Libros SA. 2005. p. 87-162.
13. Santa Olalla Mañas FM, López Fuster P, Calera Belmonte A. Agua y Agronomía. Editorial MundiPrensa Libros SA. 2005. p. 606.
14. Fassbender HW. Modelos Edafológicos de Sistemas Agroforestales. 2da Edición. Editorial: Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza, CATIE. Proyecto AgroForestal CATIE/GTZ. Turrialba, Costa Rica. 1993. p. 420.
15. Acevedo E. Interacciones Suelo-Agua-Raíz en el proceso de absorción de agua por las plantas. Boletín Técnico. Facultad de Agronomía, Universidad de Chile. 1979;44:17-25.
16. FAO. Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelos. Boletín de Tierra y Agua. Roma; 2000.
17. Plaizer A. A revision of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Meded. Landbouwhogeschool Wageningen. Nederland. 1981;81-9.
18. Aroucha Santos MC, Paiva Freitas S, Aroucha Santos AL, Mendes Aroucha EM, Souza MS, Silva Lemos GC, et al. Efeito do ácido indolbutírico, tipos de estacas e substratos sobre o enraizamento de *Catharanthus roseus*. Revista Ceres. [Internet]. 2007 [citado 23 Abr 2014];54(314):369-74. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=305226821008>
19. Granda M, Acosta L. Apuntes sobre el cultivo de plantas medicinales en Cuba. No. IV. *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (vicaria). Rev Cultivos Tropicales. 1984;6(2):491-8.
20. Fachinello JC, Hoffman A, Nachtigal J. Propagação vegetativa por estaquia. En: Fachinello, JC. Propagação de Plantas Frutíferas. Brasília, DF. Editorial: Embrapa Informação Tecnológica. 2005. p. 69-109.

21. Hartmann HD, Kester FD, Davies FT, Geneve RL. Hartmann and Kester's plant propagation. Principles and practices. Editorial: Pearson Education. 2010. p. 760.
22. Waizel J. Cultivo y aislamiento de principios activos anticancerosos en tres especies de plantas. Editorial: Sociedad Mexicana de Historia Natural. Escuela Nacional de Medicina y Homeopatía. 1986. p. 14.
23. Taiz L, Zeiger E. Plant Physiology. Sinauer Associates, 3ra Edición. Massachusetts: Inc Publishers Sunderland. 2006. p. 1338.
24. Mills HA, Benton Jones Junior J. Plant Analysis Handbook II. Georgia, USA: Editorial: MicroMacro Publishing Inc. 1996. p. 213.
25. Schroeder MA. Una alternativa a los cultivos tradicionales en el NO de la provincia de Corrientes. Medición de biomasa y análisis químico de tejidos en plantines micorrizados de *Aloysia polystachya* (Grisebach) Moldenke y *Lippia turbinata* Grisebach. [Tesis de Maestría] Universidad Nacional del Nordeste. Corrientes, Argentina; 2009.
26. De La Rosa Mera CJ. Micorriza arbuscular y estrés abiótico en el contenido de alcaloides (vinblastina y vincristina) de *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. [Tesis] Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México; 2009.
27. Andrade SAL, Malik S, Sawaya ACHF, Bottcher A, Mazzafera P. Association with arbuscular mycorrhizal fungi influences alkaloid synthesis and accumulation in *Catharanthus roseus* and *Nicotiana tabacum* plants. Acta Physiologiae Plantarum. [Internet]. 2013 [citado 23 Ene 2014];35(3):867-80. Disponible en: <http://www.bv.fapesp.br/en/publicacao/62579/>
28. Gaur S, Kaushik P. Biodiversity of Vesicular Arbuscular Mycorrhiza associated with *Catharanthus roseus*, *Ocimum* spp. and *Asparagus racemosus* in Uttarakhand State of Indian Central Himalaya. International Journal of Botany. [Internet]. 2011 [citado 23 Ene 2014];7(1):31-41. Disponible en: <http://scialert.net/abstract/?doi=ijb.2011.31.41>
29. Srinivasan R, Govindasamy C. Influence of native arbuscular mycorrhizal fungi on growth, nutrition and phytochemical constituents of *Catharanthus roseus* (L.) G. Don. Journal of Coastal Life Medicine. [Internet]. 2014 [citado 23 Abr 2014];2(1):31-7. Disponible en: <http://www.jclmm.net/qk/20141/5.pdf>

30. Zeng Y, Guo L, Chen B, Hao Z, Wang Y, Huang L, *et al.* Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis for Sustainable Cultivation of Chinese Medicinal Plants: A Promising Research Direction. *The American Journal of Chinese Medicine*. [Internet]. 2013 [citado 10 Ene 2014];41(6):1199–221 Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24228596>

31. Ratti N, Verma HN, Gautam SP. Effect of *Glomus* species on physiology and biochemistry of *Catharanthus roseus*. *Indian Journal of Microbiology*. 2010;50(3):355-60.

32. De La Rosa-Mera C, Ferrera-Cerrato R, Alarcon A, Sanchez-Colin MJ, Franco-Ramirez A. Isolation of arbuscular mycorrhizal fungi consortia from medicinal plants and their effectiveness on growth of vinca (*Catharanthus roseus*). *Rev Chilena de la Historia Natural*. 2012;85(2):187-98.

Recibido: 20 de mayo de 2014.

Aprobado: 9 de marzo de 2015.

Pamela Maia Dirchwolf. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. Sargento Cabral 2131. Corrientes. Argentina. C.P.:3400. Becaria doctoral del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Correo electrónico: pdirchwolf@gmail.com