

## Artículo científico

**Efecto inductor de un extracto de hojas de frutilla (*Fragaria x ananassa* Duch.) sobre la germinación y el crecimiento de lechuga (*Lactuca sativa* L.)****Inducing effect of a strawberry leaves extract (*Fragaria x ananassa* Duch.) on the germination and growth of lettuce (*Lactuca sativa* L.)**Andrea Villalba<sup>1\*</sup>; Leni Huviene<sup>1</sup>; Alicia Mamani<sup>1</sup>; María P. Filippone<sup>1,2</sup><sup>1</sup>Facultad de Agronomía, Zootecnia y Veterinaria, Universidad Nacional de Tucumán (FAZyV-UNT). Florentino Ameghino S/N, El Manantial (T4104AUD), Tucumán, Argentina.<sup>2</sup>Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

\*Correo electrónico: andreadaiana123@gmail.com

**Resumen**

Esta investigación tuvo por finalidad determinar los efectos de un extracto hidroalcohólico de hojas de frutilla (*Fragaria x ananassa* Duch.) en la germinación y el crecimiento de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L.) var. crispera. El extracto hidroalcohólico de frutilla (EHF) se obtuvo a partir de hojas recolectadas al final del ciclo del cultivo. Se evaluaron los efectos de cuatro concentraciones del EHF sobre la germinación y el crecimiento de plantas de lechuga en condiciones controladas y de campo. La mayor concentración ensayada del EHF (100 mgPF/mL) tuvo efecto inhibitorio en el porcentaje de semillas germinadas y la longitud de la radícula, mientras que el resto de las concentraciones (10, 1 y 0,1 mgPF/mL) aceleraron la germinación y elongación de la radícula con respecto al tratamiento control. Las plantas tratadas con las tres concentraciones más bajas del EHF presentaron valores medios superiores en peso fresco, peso seco, longitud de parte aérea y radicular con respecto al tratamiento control. Estos resultados demuestran que el EHF induce en la lechuga un estímulo que, en dependencia de la concentración, inhibe o estimula el crecimiento por lo que podría ser potencialmente utilizado para diferentes objetivos dentro de un esquema de producción orgánica.

**Palabras clave:** Bioinsumos; Hortalizas; Inductores del crecimiento; Producción orgánica.**Abstract**

The goal of this research was to determine the effects of a hydroalcoholic extract of strawberry leaves (*Fragaria x ananassa* Duch.) on the germination and growth of lettuce seedlings (*Lactuca sativa* L.) var. crispera. Strawberry hydroalcoholic extract (EHF) was obtained from leaves collected at the end of the crop cycle. The effects of four EHF concentrations on germination and growth of lettuce seedlings under controlled and field conditions were evaluated. The highest EHF concentration tested (100 mgPF/mL) had an inhibitory effect on the number of germinated seeds and the length of the radicle, while the rest of the concentrations (10, 1 and 0.1 mgPF/mL) accelerated the germination and elongation of the radicle with respect to the control treatment. The plants treated with the three lowest concentrations of EHF showed higher mean values in fresh and dry weight, length of the aerial part and root with respect to the control treatment. These results show that EHF generates a stimulus in lettuce that, depending on the concentration, inhibits or stimulates growth, so it could be potentially used for different objectives within an organic production scheme.

**Keywords:** Bioproducts; Organic production; Plant growth inductor; Vegetables.**Introducción**

La actividad hortícola se caracteriza por ser generadora y dinamizadora de empleo a lo largo de toda la cadena (producción, transporte y distribución, almacenamiento, comercialización e industrialización), cubriendo así las demandas cada vez más crecientes de hortalizas y verduras, diferenciadas y especializadas. El cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) es el más importante

entre las hortalizas de hojas en Argentina, se desarrolla prácticamente en todo el territorio nacional, tiene notable importancia desde el punto de vista geopolítico y estratégico, y forma parte destacada de las denominadas economías regionales (Mariani *et al.*, 2011). Un importante logro del sector en el año 2020, fue la exportación por primera vez de 16 toneladas (tn) de lechuga refrigerada a Uruguay (La Gaceta, 2020). Esta hortaliza es muy apreciada por ser un alimento

Recibido: 10/02/2023; Aceptado: 05/05/2023.

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

<https://doi.org/10.61914/ranar.4301.03>

fresco, de alto contenido en agua, minerales y vitaminas. En los últimos años se ha puesto atención en la importancia de la clorofila y compuestos relacionados, como la feofitina, en la dieta humana por sus propiedades antitumorales (Quezada *et al.*, 2021).

En la provincia de Tucumán (26°49'26,9"S, 65°13'21,36"O), según estadísticas de la Dirección de Agricultura Provincial, la superficie dedicada al cultivo de lechuga es alrededor de las 2.600 hectáreas, con volúmenes producidos entre los 32.000 y 35.000 tn (Yñiguez y Ríos González, 2017). Su producción se ubica principalmente en las localidades de Tañi del Valle a 2.014 m.s.n.m. (26°52'00"S, 65°41'00"O) y la zona del faldeo de la Sierra del Aconquija desde Tañi Viejo a 627 m.s.n.m. (26°44'04"S, 65°15'33"O), hasta Juan Bautista Alberdi a 342 m.s.n.m. (27°35'10"S, 65°37'11"O).

En general, las prácticas de manejo del cultivo de la lechuga, al igual que la mayoría de las especies hortícolas, incluyen el uso de fertilizantes y plaguicidas de síntesis química para combatir plagas y enfermedades. Esto no debiera ser un problema si se respetaran las dosis, frecuencias y técnicas de aplicación, y tiempos de carencias, pero lamentablemente no siempre se cumple (Schmidt *et al.*, 2022), lo que en el caso de las hortalizas de hojas reviste mayor gravedad debido a su consumo directo y en crudo, y a los cortos tiempos de transporte a los centros de comercialización. De acuerdo con un estudio realizado por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA) en el año 2015, la lechuga fue la verdura que presentó mayor exceso de residuos de agroquímicos, con muestras que superaron el límite permitido en un 47 % (Infocampo, 2016). El daño que los agroquímicos provocan sobre la salud humana es el más alarmante, ya que éstos llegan a los consumidores directamente a través de los alimentos con elevados niveles de residuos, pero también por medio de aguas contaminadas, consecuencia de un mal manejo durante la aplicación y posterior manipulación de recipientes, herramientas, materiales de descarte, etc. Si bien la intoxicación aguda es muy peligrosa, la exposición crónica a bajas dosis también puede causar alteraciones de diversa gravedad en la salud de los consumidores y trabajadores (López *et al.*, 2022).

En búsqueda de alternativas para atenuar

esta situación y alcanzar los objetivos de una producción sostenible e inocua, surge la necesidad de investigar y desarrollar nuevos productos que sean económicamente viables y ecológicamente aceptables. En los últimos años estas líneas de investigación han recibido gran atención y han surgido una gran cantidad de productos de origen biológico que son utilizados para disminuir el uso de los agroquímicos de síntesis (Quisque y Valdez, 2020).

En la producción frutihortícola se han ensayado una gran cantidad de bioinsumos con resultados muy satisfactorios como por ejemplo hongos y bacterias benéficas de diferentes géneros tales como *Trichoderma spp.*, *Azospirillum spp.* y *Pseudomonas spp.* (Pedraza *et al.*, 2010; Sánchez *et al.*, 2015; Gámez Carrillo, 2019). También compuestos vegetales como el ácido salicílico (Pérez, 2022), hormonas como los brasinoesteroides (Furio *et al.*, 2022), extractos provenientes de algas marinas (Zermeño *et al.*, 2015) y de una gran diversidad de plantas silvestres o cultivadas (Jiménez Núñez, 2018; Rodríguez *et al.*, 2019; Valderrama *et al.*, 2020).

Una de las líneas de investigación de nuestro grupo de trabajo es el desarrollo de bioinsumos de origen vegetal a partir de extractos de hojas de frutilla (*Fragaria x ananassa* Duch.), cuyos principales componentes bioactivos son compuestos fenólicos con propiedades antimicrobianas e inductoras de la defensa innata de la planta en diferentes especies vegetales tales como frutilla, limón (*Citrus limon* L.), caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) y soja (*Glycine max* L.) (Filippone *et al.*, 1999; Mamani *et al.*, 2012). Di Peto (2017), observó que estos extractos también tienen capacidad para promover el crecimiento vegetal en soja ya que la aplicación externa sobre las plantas incrementó el número de vainas por planta. Los principales compuestos bioactivos identificados pertenecen al grupo de los taninos hidrolizables (Mamani *et al.*, 2012; Grellet *et al.*, 2021) cuya característica química es la presencia de numerosos grupos oxidrilos unidos a anillos aromáticos que le confieren propiedades antioxidantes/prooxidantes de acuerdo a la concentración, e intervienen modificando el estado redox de las membranas celulares (Labieniec *et al.*, 2003; Martos *et al.*, 2020) lo que induce una respuesta defensiva de la planta evidenciada por la acumulación de Especies Reactivas de Oxígeno (EROs), calosa, ácido salicílico y de proteínas PR (relacionadas con la

patogénesis) (Mamani *et al.*, 2012). De acuerdo a esto, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de un extracto hidroalcohólico de hojas de frutilla enriquecido en los taninos bioactivos, sobre la germinación y crecimiento en lechuga, para valorar su potencialidad como alternativa para disminuir el uso de agroquímicos.

## Materiales y métodos

El presente trabajo se desarrolló en la Facultad de Agronomía, Zootecnia y Veterinaria de la UNT-Finca el Manantial (26°51'0"S, 65°16'60"O). Se trabajó con semillas y plántulas de la variedad crisa de lechuga.

### *Obtención del extracto hidroalcohólico de hojas de frutilla (EHF)*

Los extractos se obtuvieron de acuerdo con la descripción de Mamani *et al.* (2012), a partir de hojas jóvenes totalmente expandidas, de plantas de frutilla de la variedad Camarosa, colectadas al final del ciclo de un cultivo orgánico realizado en una finca comercial de la localidad de Famaillá, provincia de Tucumán (27°1'3,34"S y 65°22'46,544"O). El material vegetal se secó a 50 °C con aire continuo hasta peso constante. Para preparar el extracto, las hojas secas y molidas se mezclaron con etanol 80 % (v/v) en una relación 1/10 (peso seco de hoja/volumen de solvente), y se maceraron durante 24 h, a 25 °C y agitación constante. El homogenato alcohólico se filtró y se concentró en un evaporador rotatorio al vacío a 50 °C, hasta eliminar totalmente el alcohol. El residuo acuoso que se obtiene es fácilmente soluble en agua y presenta alta estabilidad a la luz y a altas temperaturas (Mamani *et al.*, 2012). Para los ensayos biológicos el extracto (EHF) se diluyó con agua destilada hasta una concentración final equivalente a 100 mg de peso fresco de hojas por mL (mgPF/mL).

### *Tratamientos*

Los tratamientos aplicados fueron los siguientes:

EHF 100 mgPF/mL

EHF 10 mgPF/mL

EHF 1 mgPF/mL

EHF 0,1 mgPF/mL

Se utilizó agua como control.

### *Ensayo para evaluar el efecto sobre la germinación*

Las semillas de lechuga fueron sumergidas en 2 mL de cada tratamiento durante 8 h. En un vaso germinador previamente esterilizado y cubierto con papel de filtro se colocó una mezcla de tierra: arena (2:1) previamente esterilizada y humedecida con agua destilada estéril. Se utilizaron 20 semillas por tratamiento, y cada tratamiento se realizó por triplicado. Se utilizó un vaso germinador por tratamiento y repetición. Las variables evaluadas fueron longitud de la radícula (raíz principal), y el número de semillas germinadas a los 2, 5 y 10 días posteriores al tratamiento (dpt). La primera variable fue evaluada con papel milimétrico y la segunda, por conteo directo. Se determinó el porcentaje de germinación de cada tratamiento de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ germinación} = \frac{\text{n}^{\circ} \text{ de semillas germinadas}}{\text{n}^{\circ} \text{ de semillas tratadas}} \times 100$$

Con los datos obtenidos se calcularon el índice de germinación residual normalizado (IGN) de acuerdo a la fórmula  $\text{IGN} = (\text{germinación con EHF} - \text{germinación control}) / \text{germinación control}$ ; y el índice de elongación radical residual normalizado (IRN), de acuerdo con Bagur González *et al.* (2011), según la siguiente fórmula  $\text{IRN} = (\text{elongación radicular con EHF} - \text{elongación control}) / \text{elongación control}$ . Los datos de germinación corresponden a los porcentajes promedios de la germinación de las semillas tratadas con EHF y controles con agua, y los datos de elongación radicular corresponden a la longitud promedio de la radícula de las semillas tratadas con EHF y de las semillas tratadas con agua como control, al final del ensayo (10 días). Los valores negativos de estos índices determinan situaciones de toxicidad de acuerdo a la siguiente escala: de 0 a -0,25 toxicidad baja, de -0,25 a -0,5 toxicidad moderada, de -0,5 a -0,75 toxicidad alta y de -0,75 a -1,0, toxicidad muy alta; mientras que los valores positivos indican inducción de la germinación / crecimiento de la radícula u hormesis.

### *Ensayos para evaluar el efecto sobre el crecimiento vegetal*

A- *En condiciones controladas.* Las semillas sin tratamiento fueron sembradas en bandejas germinadoras de 72 pocillos sobre un sustrato

esterilizado (2 tierra: 1 arena: 1 mantillo), colocando 2 semillas/pocillo. Las bandejas fueron ubicadas en condiciones controladas con un fotoperiodo de 16 h de luz y 25 °C. A los 10 días de la siembra se aplicaron 5 mL del extracto mediante riego y posteriormente cada 15 días. Se utilizaron 14 pocillos/tratamiento, por triplicado. A los 45 días posteriores de la siembra, las plántulas fueron descalzadas y lavadas para eliminar el sustrato de las raíces, y secadas al aire para realizar las siguientes determinaciones: peso fresco total (PFT), peso fresco de la raíz (PFR) y de la parte aérea (PFA); números total de hojas, ancho de las dos hojas más grandes, longitud de raíz (LR) y de la parte aérea (LA); peso seco total (PST), peso seco de la parte aérea (PSA) y peso seco de la raíz (PSR). Para la determinación de materia seca se tomaron 18 plantas al azar (6 de cada repetición), y se secaron en estufa a 50 °C hasta peso constante. Los valores de peso se tomaron con una balanza electrónica (Lexus, 0,0001 de precisión).

*B- en condiciones no controladas.* La siembra de las semillas se realizó de la misma manera que en el ensayo anterior, y las plántulas se mantuvieron en las bandejas germinadoras durante 30 días en condiciones controladas antes de ser trasplantadas. El trasplante se realizó en camellones de 2 x 1 x 0,15 m (largo x ancho x alto), a una densidad de 16 plantas/m<sup>2</sup>. Se realizaron tres camellones para las plantas tratadas y tres para los controles. Para el tratamiento con el EHF se utilizó la concentración 1 mgPF/mL y para las parcelas controles, se utilizó agua destilada. Se aplicaron 50 mL/planta mediante riego al momento del trasplante y cada 15 días durante 60 días. Las plantas no recibieron fertilización ni agroquímicos de síntesis durante el ensayo. Para evaluar, previamente a ser extraídas, se realizó un riego abundante para evitar el daño en las raíces, luego se lavaron para eliminar restos de sustrato y se secaron al aire. Las variables evaluadas fueron: peso fresco total (PFT), peso fresco de la raíz (PFR) y de la parte aérea (PFA). Para ello se tomaron al azar 18 plantas de lechuga completas (6 de cada camellón) (parte aérea y raíz) y éstas se llevaron en bolsas de papel al laboratorio. Para la determinación de peso seco se tomaron 6 plantas al azar, las cuales se colocaron en estufa a 50 °C hasta peso constante y se determinó porcentaje de materia seca de la parte aérea (% MSA) y raíz (% MSR). Con el dato del peso fresco de las 18 plantas, se calculó

el rendimiento potencial promedio por unidad de superficie (Kg/m<sup>2</sup>).

### *Análisis estadístico*

Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico InfoStat (Di Rienzo *et al.*, 2018). En el análisis inferencial de los datos de germinación obtenidos como porcentajes en función de los tratamientos se utilizó un modelo lineal generalizado con el programa R a través del software estadístico (GLMM). Se asignó para el análisis la distribución Poisson. Los factores tratamiento y condiciones del mismo fueron considerados efectos fijos y el porcentaje de germinación fue la variable respuesta. La prueba de comparación de medias se realizó mediante la prueba DGC (5 %) (Di Rienzo *et al.*, 2002). En el caso de las variables evaluadas en el ensayo bajo condiciones no controladas, se realizó una prueba T de comparación de medias para muestras independientes con un nivel de significación de 0,05. Se establecieron las siguientes hipótesis:

H<sub>0</sub>: el valor de la media de las variables evaluadas en el tratamiento EHF 1 mgPF/mL es igual al valor de la media de las variables del control.

H<sub>1</sub>: el valor de la media de las variables evaluadas en el tratamiento EHF 1 mgPF/mL es distinta al valor de la media de las variables del control.

Para las variables evaluadas en el ensayo bajo condiciones controladas, se utilizó análisis de la varianza y prueba de Tukey de comparación de medias con un nivel de significación de 0,05. Los datos se obtuvieron de tres experimentos independientes y se expresaron como media ± error estándar.

## **Resultados**

### *Efecto del EHF en la germinación de semillas de lechuga y longitud de la radícula*

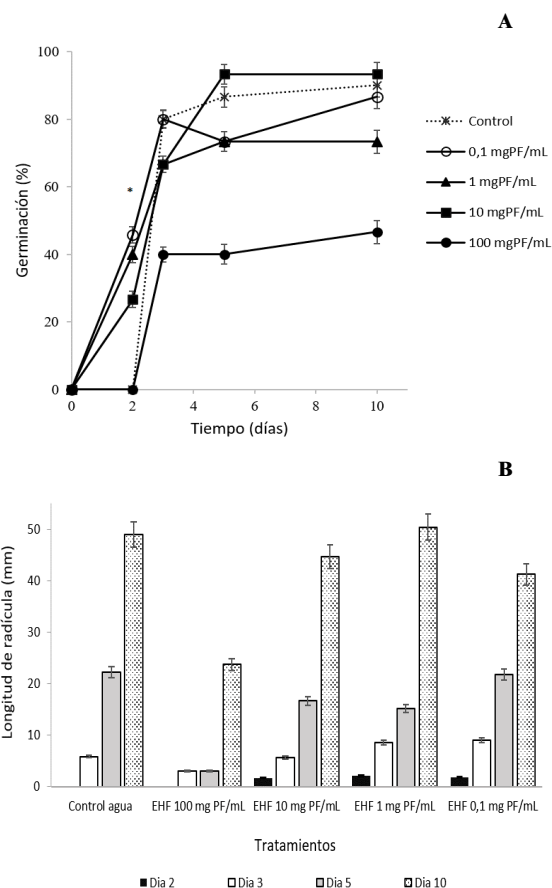
El efecto del EHF sobre la germinación y longitud de la radícula resultó dependiente de la concentración y el tiempo transcurrido después del tratamiento. La ocurrencia de la germinación, considerada al momento de la emergencia de la radícula, en las semillas tratadas con las concentraciones 10, 1 y 0,1 mgPF/mL de EHF comenzó a los dos días posteriores al tratamiento (dpt), registrando un porcentaje promedio de germinación de 26,6 %, 40 % y

46 %, respectivamente (Figura 1A), mientras que en el control se inició un día más tarde, con 80 %. La prueba de hipótesis sobre el efecto fijo de los tratamientos arrojó diferencias significativas entre las medias de estos tres tratamientos y el control a los 2 dpt ( $F = 456,62$ ;  $gl = 4$ ;  $p < 0,0001$ ), sin embargo, a los 3 dpt, los tratamientos con las tres concentraciones más bajas del EHF no mostraron diferencias significativas con el tratamiento control. Al final del ensayo el tratamiento con 10 mgPF/mL consiguió el mayor porcentaje promedio de germinación, con un valor de 93,3 %, pero sin mostrar diferencias significativas con el control agua y el EHF 0,1 mgPF/mL que alcanzaron un 93 % y 86,6 % de germinación promedio, respectivamente ( $F = 7,42$ ;  $gl = 6$ ;  $p = 0,81$ ). A los 3 dpt, los tratamientos con las concentraciones 1 y 0,1 mgPF/mL del EHF presentaron los mayores valores medios de longitud radicular, pero al igual que la germinación, al final del ensayo el valor medio de longitud en las menores concentraciones del extracto fue similar al tratamiento control. Las semillas tratadas con la concentración más alta del EHF (100 mgPF/mL) presentaron la menor longitud media de la radícula y porcentaje promedio de germinación en todos los tiempos evaluados, incluso más bajo que el control con agua, alcanzando un valor promedio de 46,6 % de germinación al final del ensayo (Figura 1B).

La máxima concentración del EHF (100 mgPF/mL) presentó los menores valores de índice de germinación residual normalizado (IGN) y de índice de elongación radical residual normalizado (IRN) indicando un efecto negativo sobre la germinación, así por ejemplo el IGN solo alcanzó un valor de 8,3 y 50 para 3 y 10 dpt, mientras que los valores de IRN fueron de -0,49 y -0,51, para los mismos tiempos. Se observó que a medida que la concentración del extracto disminuye, los valores de los índices aumentaron. A los 3 dpt, las dos menores concentraciones del EHF (1 y 0,1 mgPF/mL) los valores de IGN fueron superiores a 80 y los de IRN alcanzaron valores de 0,45 y 0,53 respectivamente, lo que indica una respuesta estimulante del crecimiento de la radícula (Tabla 1).

#### *Efecto del EHF en el crecimiento vegetal de plantas de lechuga en condiciones controladas*

En general, las tres concentraciones más bajas del EHF, presentaron el mejor comportamiento



**Figura 1.** Velocidad promedio de germinación (% de germinación/días) (A), y longitud promedio de radícula (B) de semillas de lechuga, *Lactuca sativa* variedad crispera, tratadas con diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas de frutilla (EHF) y el control agua, a los 2, 3, 5 y 10 días posteriores al tratamiento. Los valores medios  $\pm$  EE se obtuvieron de tres repeticiones ( $n = 20$ ).

en todas las variables evaluadas. En la Figura 2 se observa que las plantas tratadas con 10, 1 y 0,1 mgPF/mL de EHF, presentaron los mayores valores medios de peso fresco de la planta completa (PFT), de la parte aérea (PFA) y radicular (PFR). La prueba de hipótesis sobre el efecto fijo de los tratamientos en estos tres parámetros, determinó que existían diferencias significativas entre los valores medios en las plantas tratadas con 10, 1 y 0,1 mgPF/mL de EHF con el control agua y el tratamiento con 100 mgPF/mL del EHF ( $F = 5,08$ ;  $gl = 4$ ;  $p = 0,0041$ ). La relación de los datos promedios de PFR/PFA arrojó los valores más bajos para los cuatro tratamientos con el extracto vegetal de frutilla, mientras que el valor más alto le correspondió al control con agua (Figura 3A y B). Esto indica que las plantas tratadas con las diferentes concentraciones del EHF presentaron mayor crecimiento aéreo en relación al crecimiento

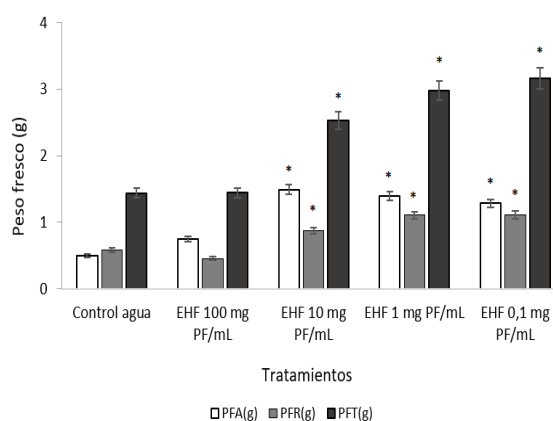
**Tabla 1.** Índice de germinación residual normalizado (IGN) e índice de elongación radical residual normalizado (IRN) en semillas de lechuga, *Lactuca sativa* variedad crispa tratadas con el extracto vegetal hidroalcohólico de hojas de frutilla (EHF) a los 3 y 10 días posteriores al tratamiento.

| Índice | Días posteriores al tratamiento | Tratamientos     |                 |                |                  |
|--------|---------------------------------|------------------|-----------------|----------------|------------------|
|        |                                 | EHF 100 mg PF/mL | EHF 10 mg PF/mL | EHF 1 mg PF/mL | EHF 0,1 mg PF/mL |
| IGN    | 3                               | 8,3              | 83,3            | 83,3           | 100              |
| IGN    | 10                              | 50               | 100             | 71,4           | 92,8             |
| IRN    | 3                               | -0,49            | -0,03           | 0,45           | 0,53             |
| IRN    | 10                              | -0,51            | -0,08           | 0,02           | -0,05            |

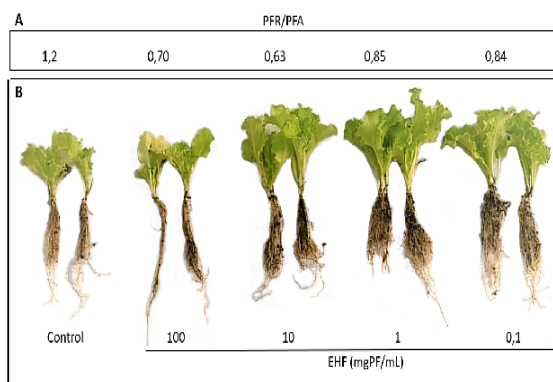
radicular mientras que el control agua tuvo un comportamiento inverso.

El efecto de los tratamientos en el peso seco mostró el mismo comportamiento que el peso fresco. La prueba de hipótesis sobre el efecto fijo de los tratamientos determinó que existen diferencias significativas entre las medias del peso seco de las plantas tratadas con las concentraciones evaluadas y el tratamiento control ( $F = 6$ ;  $gl = 4$ ;  $p < 0,0001$ ). Las plantas tratadas con las tres concentraciones más bajas del EHF (0,1; 1 y 10 mgPF/mL), presentaron el mayor promedio de PST, PSA y PSR mostrando diferencias significativas con el control agua y el tratamiento con 100 mgPF/mL del EHF (Figura 4).

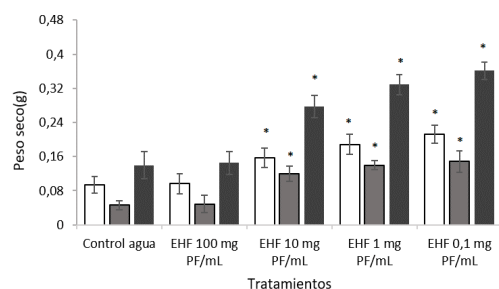
La evaluación de la longitud de la parte aérea, el número y ancho de hojas, mostró una respuesta similar a lo observado con el peso fresco y seco. La prueba de hipótesis sobre el efecto fijo de los tratamientos determinó que existen diferencias significativas entre alguna de las medias de los tratamientos ( $F = 7,92$ ;  $gl = 4$ ;  $p = 0,0003$ ). Los resultados de las pruebas *a posteriori* entre las medias de los tratamientos se muestran en la Tabla 2. Las tres concentraciones más bajas del EHF mostraron diferencia significativa con respecto al control en estas variables, mientras que el tratamiento con el EHF 100 mgPF/mL presentó valores similares a las plantas controles. La relación entre la longitud de la raíz y de la parte aérea (LR/LA), arrojó los menores valores para estas tres concentraciones más bajas del EHF, a diferencia de las plantas tratadas con 100 mgPF/mL, en donde el valor de LR/LA fue superior a la de todos los tratamientos evaluados. El tratamiento con la mayor concentración del EHF y el tratamiento control no mostraron diferencias significativas en el número de hojas por planta y al ancho de las dos hojas más grandes, arrojando valores promedios de 3 hojas/planta y 2,05 cm de ancho, mientras que las tres concentraciones



**Figura 2.** Peso fresco aéreo (PFA), radicular (PFR) y total (PFT) de plantas de lechuga, *Lactuca sativa* variedad crispa, tratadas con diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas de frutilla (EHF) a los 45 días posteriores al tratamiento. Los valores medios  $\pm$  ES se obtuvieron de tres repeticiones ( $n = 14$ ). El análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey se realizó con el software InfoStat/L. Asteriscos indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).



**Figura 3.** Relación de los valores promedios de peso fresco aéreo (PFA) y radicular (PFR) en plantas de lechuga, *Lactuca sativa* variedad crispa, tratadas con diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas de frutilla (EHF) a los 45 días posteriores al tratamiento, (A). Aspecto de las plántulas de lechuga al final del ensayo en condiciones controladas, (B). Los valores medios  $\pm$  ES se obtuvieron de tres repeticiones ( $n = 14$ ). El análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey se realizó con el software InfoStat/L ( $p < 0,05$ ).



**Figura 4.** Peso seco aéreo (PSA), radicular (PSR) y total (PST) de plantas de lechuga, *Lactuca sativa* variedad crispa, tratadas con diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de hojas de frutilla (EHF) a los 45 días posteriores al tratamiento. Los valores medios  $\pm$  ES se obtuvieron de tres repeticiones ( $n = 14$ ). El análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tukey se realizó con el software InfoStat/L ( $p < 0,05$ ).

menores del EHF lograron un incremento de 4 a 5 hojas/planta y entre 3 y 3,4 cm en el ancho promedio de las dos hojas más grandes alcanzando diferencias significativas con el control agua.

#### *Efecto del EHF en el crecimiento vegetal de plantas de lechuga en condiciones no controladas*

En base a los resultados obtenidos en el ensayo en condiciones controladas, se seleccionó la concentración de 1 mgPF/mL para evaluar el efecto en condiciones de producción a campo. En la Tabla 3 se observa que, en forma similar a los resultados obtenidos en condiciones controladas, las plantas tratadas con el EHF presentaron valores de PFT, PFA y PFR superiores a las plantas controles y en donde la prueba de hipótesis para estas variables demostró que existían diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Las plantas tratadas con el EHF también presentaron mayores valores del PST, PSA y PSR, sin embargo, los porcentajes de

materia seca tanto de la parte aérea como radicular fueron similares al control, sin mostrar diferencias significativas entre ambos tratamientos. En base a los resultados obtenidos de PFA, se realizó un cálculo teórico para determinar el rendimiento promedio para una densidad de 16 plantas/m<sup>2</sup> que es la utilizada en la práctica de producción, el que arrojó un valor de 1,1 Kg/m<sup>2</sup> para las plantas tratadas con el EHF y de 0,67 Kg/m<sup>2</sup> en las plantas controles (Figura 5).

## Discusión

Los resultados presentados en este trabajo demostraron que un extracto hidroalcohólico de hojas de frutilla, denominado EHF, induce la germinación y el crecimiento en lechuga dependiendo de la concentración. El EHF fue obtenido y caracterizado previamente en nuestro grupo de trabajo, y el mismo se encuentra enriquecido en dos compuestos fenólicos, del grupo de los taninos hidrolizables, el elagitanino HeT (1-O-galloil-2,3;4,6-bis-hexahidroxidifenoil- $\beta$ -D-glucopiranos) y el galotanino HgT (1-O-galloil- $\beta$ -D-glucopiranos), con propiedades antimicrobianas e inductoras de la defensa vegetal contra patógenos (patente de protección intelectual en Argentina N°ARP080103098 y en México MX2009007715A). Si bien se han caracterizado intensamente estas dos últimas propiedades biológicas, tanto de los compuestos como de los extractos que los contienen, el efecto promotor de la germinación y del crecimiento vegetal, no había recibido la misma atención.

Los taninos generalmente están presentes en las plantas en cantidades mucho mayores que otros compuestos fenólicos, en especial en la frutilla, y se cree que son componentes principales de las defensas químicas de las plantas. Se ha demostrado

**Tabla 2.** Valores medios  $\pm$  EE de longitud aérea (LA) y radicular (LR), ancho (cm) y número de hojas en plantas de lechuga, *Lactuca sativa* variedad crispa tratadas con extracto vegetal hidroalcohólico de hojas de frutilla (EHF) y el control agua a los 45 días posteriores al tratamiento.

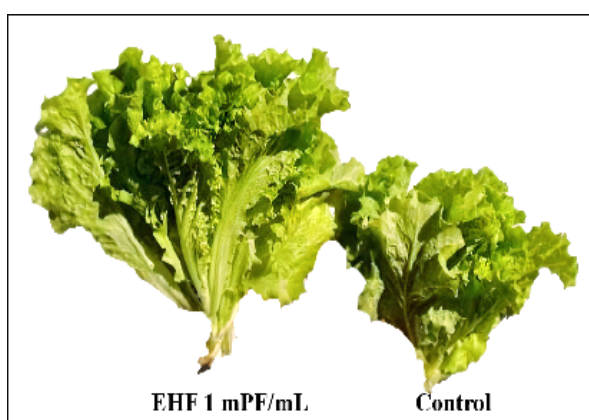
| Tratamientos    | LA (cm)           | LR (cm)           | Ancho de hoja (cm) | Nº de hojas       |
|-----------------|-------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| Control agua    | 5,0 $\pm$ 0,36 b  | 6,08 $\pm$ 0,33 b | 1,66 $\pm$ 0,20 a  | 2,80 $\pm$ 0,31 b |
| EHF 100 mgPF/mL | 5,89 $\pm$ 0,33 b | 7,50 $\pm$ 0,30 a | 2,12 $\pm$ 0,18 a  | 2,83 $\pm$ 0,28 b |
| EHF 10 mgPF/mL  | 8,40 $\pm$ 0,33 a | 7,63 $\pm$ 0,30 a | 2,97 $\pm$ 0,18 b  | 4,33 $\pm$ 0,28 a |
| EHF 1 mgPF/mL   | 8,67 $\pm$ 0,33 a | 8,23 $\pm$ 0,30 a | 3,37 $\pm$ 0,18 b  | 4,50 $\pm$ 0,28 a |
| EHF 0,1 mgPF/mL | 8,08 $\pm$ 0,33 a | 6,93 $\pm$ 0,30 a | 3,52 $\pm$ 0,18 b  | 3,83 $\pm$ 0,28 a |

Los valores medios  $\pm$  EE se obtuvieron de tres repeticiones ( $n = 14$ ). En una misma columna, medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 3.** Valores medios  $\pm$  EE de peso fresco aéreo (PFA) y radicular (PFR), peso seco aéreo (PSA) y radicular (PSR) y porcentaje de materia seca aérea (% MSA) y radicular (% MSR) en plantas de lechuga, *Lactuca sativa* variedad crispa tratadas con extracto vegetal hidroalcohólico de hojas de frutilla (EHF) y no tratadas (control agua), a los dos meses del trasplante en condiciones de campo.

| Variables | Tratamientos     |                  | Prueba T      |          |
|-----------|------------------|------------------|---------------|----------|
|           | Control agua     | EHF 1 mgPF/mL    | Estadístico T | p- valor |
| PFA (g)   | 44,85 $\pm$ 2,32 | 68,71 $\pm$ 2,25 | -7,18         | < 0,0001 |
| PFR (g)   | 3,65 $\pm$ 0,49  | 8,52 $\pm$ 0,52  | -6,67         | < 0,0001 |
| PSA (g)   | 3,61 $\pm$ 0,52  | 5,49 $\pm$ 0,59  | -2,45         | 0,0705   |
| PSR (g)   | 0,40 $\pm$ 0,06  | 0,90 $\pm$ 0,06  | -5,62         | 0,0049   |
| % MSA     | 8,04 $\pm$ 0,057 | 8,03 $\pm$ 0,057 | 0,01          | 0,9907   |
| % MSR     | 11,05 $\pm$ 0,72 | 10,50 $\pm$ 0,72 | 0,41          | 0,6145   |

Los valores medios  $\pm$  EE de las variables se obtuvieron de tres repeticiones. Se realizó una Prueba T de comparación de medias para muestras independientes.



**Figura 5.** Aspecto de las plantas de lechuga, *Lactuca sativa* variedad crispa, cosechadas a los dos meses del trasplante a campo.

que actúan como antioxidantes, regulan el equilibrio redox de las células vegetales (Martos *et al.*, 2020), proporcionan protección contra los rayos UV y actúan como antimicrobianos, insecticidas y disuasivos de alimentación (McAllister *et al.*, 2005; Lattanzio *et al.*, 2008; Salminen y Karonen, 2011). Sin embargo, existen pocas evidencias en cuanto a su efecto en la promoción del crecimiento vegetal.

En este trabajo se demostró que el EHF tiene un efecto positivo o negativo en la germinación de la lechuga dependiente de la concentración. Las concentraciones más bajas, activaron la germinación, adelantando la elongación de la raíz principal y el porcentaje de semillas germinadas, con respecto a las plantas controles tratadas con agua. El efecto sobre la germinación fue dependiente de la concentración del EHF de una manera no correlativa, ya que valores negativos de los índices IGN e IRN para la concentración más alta (100 mgPF/mL), indicaron un efecto tóxico, mientras que las diluciones de 10, 1 y 0,1 mgPF/

mL, tuvieron un efecto promotor del crecimiento con valores positivos de ambos índices. Guedes *et al.* (2002) obtuvieron un resultado similar de estímulo en el porcentaje de germinación en lechuga en relación al control, en tratamientos con extractos de la parte aérea y de tubérculos de *Cyperus rotundus*, a concentraciones de 1 y 2 %, sin embargo, a 4 y 6 % los efectos fueron inhibitorios. La germinación de semillas de *Sesamum indicum* L. fue evaluada con el mismo extracto de *C. rotundus* por Laynez Garsaball y Méndez Natera (2006) y observaron que concentraciones de 0,5 y 1,0 % provocaban un incremento en la germinación, para posteriormente disminuir hasta alcanzar la concentración de 1,5%, momento a partir del cual tendió a estabilizarse.

En este trabajo también se demostró que el EHF tuvo un efecto inductor en el crecimiento vegetal, cuando el extracto fue aplicado por riego en estado de plántula en condiciones controladas. Sin embargo, la mayor concentración del EHF no produjo un efecto significativo en el crecimiento vegetal como el observado con las tres concentraciones más bajas evaluadas.

Como se mencionó antes, los taninos hidrolizables, y muchos compuestos fenólicos, pueden funcionar como antioxidantes ya que tienen la capacidad de secuestrar radicales libres para modular el equilibrio redox celular (Yoshida *et al.*, 1989). Sin embargo, también se ha demostrado que las propiedades antioxidantes pueden cambiar a prooxidantes dependiendo de otros factores, tales como altas concentraciones de los compuestos, altas presiones parciales de oxígeno (Labieniec *et al.*, 2003) y del pH celular (Salminen y Karonen, 2011). Mamani *et al.* (2012) demostraron que el EHF induce diferentes eventos

bioquímicos en plantas tratadas, siendo el estallido oxidativo uno de los más tempranos, y es el que antecede a la activación de una diversidad de respuestas de la planta conducentes a la protección contra el estrés biótico. Las especies reactivas del oxígeno (EROs) regulan una gran diversidad de estadios de desarrollo y respuestas fisiológicas, pero si están en exceso por una deficiencia en la maquinaria antioxidante de la célula, se produce daño oxidativo (Pitzchke *et al.*, 2006). El efecto dual del EHF para inducir o inhibir la germinación y el crecimiento en las plantas de lechuga, podría estar asociado a esta capacidad de inducir las EROs que está en correlación con las concentraciones de los compuestos presentes en el EHF. El efecto tóxico observado con la mayor concentración del EHF sobre la germinación de semillas o en el crecimiento de lechuga podría explicarse por el cambio de la propiedad antioxidante a prooxidante. Sin embargo, esto queda para ser confirmado.

## Conclusión

Los resultados obtenidos en este trabajo son promisorios ya que el extracto bioactivo EHF extensamente caracterizado favorece el crecimiento vegetativo aéreo del cultivo de lechuga (*Lactuca sativa* L.) incrementando su peso fresco que se traduce finalmente en mayores rendimientos en la producción a campo. La lechuga es una de las hortalizas más consumidas a nivel mundial, y en el que se aplican una gran diversidad de productos químicos de síntesis directamente en el tejido que se consume, por lo que los riesgos para la salud del consumidor son altos. El futuro implica el menor uso de agroquímicos de síntesis, la utilización racional de fertilizantes y el manejo de la interrelación entre nutrición y sanidad. El EHF es un bioinsumo de bajo costo ya que se obtiene a partir de residuos de cosecha de frutilla, con un solvente hidro-alcohólico reutilizable y a temperatura ambiente en solo 48 h. En base al cálculo teórico de producción de EHF, a partir de una hectárea del cultivo se pueden obtener aproximadamente 70.000 L del extracto (100 mgPF/mL), y considerando la disponibilidad de materia prima, sería un bioinsumo accesible para ser utilizado en el marco de una producción inocua y sostenible.

## Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Consejo de Investigaciones de la Universidad Nacional de Tucumán (PIUNT, A621) y por la Secretaria de Ciencia, Arte e Innovación Tecnológica de la Universidad Nacional de Tucumán (SCAIT).

## Referencias bibliográficas

- Bagur González M., Estepa Molina C., Martín Peinado F., Morales Ruano S. (2011). Toxicity assessment using *Lactuca sativa* L. bioassay of the metal(loid)s As, Cu, Mn, Pb and Zn insoluble in water saturated soil extracts from an abandoned mining site. *Soil Sediment* 11: 281-289.
- Di Peto P. (2017). Desarrollo de estrategias de biocontrol para un manejo fitosanitario sustentable de cultivos de importancia regional. Tesis doctoral. CONICET. Universidad Nacional de Tucumán, Argentina. En: <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/92674>, consulta: Octubre 2021.
- Di Rienzo J., Cassanoves F., Bazarini M., Tablada M., Robledo C. (2018). InfoStat. Grupo Infostat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>
- Di Rienzo J.A., Guzmán A.W., Casanoves F. (2002). A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of agricultural, biological, and environmental statistics* 7 (2): 129-142.
- Filippone M.P., Díaz Ricci J., Mamani A., Farías R., Castagnaro A. (1999). Isolation and purification of a 316 Da preformed compound from strawberry (*Fragaria x ananassa* Duch.) leaves active against plant pathogens. *FEBS Letters* 459: 115-118.
- Furio R., Medrano N., Coll Y., Pérez G., Díaz Ricci J., Salazar S. (2022). Uso de brasinoesteroides como estrategia para aumentar la tolerancia a estrés salino en plantas de petunia. *Revista Agronómica del Noroeste Argentino* 42 (1): 38-47.
- Gamez Carrillo R. (2019). Evaluación de *Pseudomonas fluorescens* y *Bacillus amyloliquefaciens* como bacterias promotoras de crecimiento en plántulas de banano cv. Williams. Tesis Doctoral. Universidad de La Sabana. Colombia. En: <http://hdl.handle.net/10818/36738>, consulta: octubre 2022.
- Grellet C., Di Peto P., Cerviño A., Mamani de Marchese A., Díaz Ricci J., Filippone M.P. (2021). Seasonal Variation of Plant Defense Inductor Ellagitannins in Strawberry Leaves under Field Conditions for Phytosanitary Technological Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 69 (42): 12424-12432.
- Guedes C., Melo de Souza C., De Morais V., Alves de Carvalho G., De Paiva F. (2002). Efeitos de extratos

- aquosos de tiririca sobre a germinação de alface, pimentão e jiló e sobre a divisão celular na radícula de alface. *Ceres* 49 (281): 1-11.
- Infocampo (2016). La lechuga, a la cabeza de las verduras excedidas de residuos tóxicos. En Portal infocampo. <https://www.infocampo.com.ar/la-lechuga-a-la-cabeza-de-las-verduras-excedidas-de-residuos-toxicos/>, consulta: octubre 2021.
- INTA y SENASA (2015). Jornada de uso de agroquímicos en hortalizas de hoja. En: <https://inta.gob.ar/noticias/uso-de-agroquimicos-se-presentaron-datos-contundentes>, consulta: octubre 2021.
- Jiménez Núñez S. (2018). Extractos de plantas y preparados minerales sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, *Phytophthora* spp. y *Alternaria alternata*. Tesis de Grado. Facultad de Ciencias Agronomicas campus V. Universidad Autónoma de Chiapas. México En <http://www.repositorio.Unach.mx:8080/jspui/bitstream/123456789/3117/1/RIBC152282.pdf>, consulta: octubre 2021.
- La Gaceta (2020). “Por primera vez exportan lechuga refrigerada desde Tucumán”. En: Diario La Gaceta. Tucumán. Argentina. En <https://www.lagaceta.com.ar/nota/836820/actualidad/por-primera-vez-exportan-lechuga-refrigerada-desde-tucuman.html>, consulta: octubre 2022.
- Labieniec M., Gabrylak T., Falcioni G. (2003). Antioxidant and pro-oxidant effects of tannins in digestive cells of the freshwater mussel *Unio tumidus*. *Mutation Research* 539(1-2): 19-28.
- Lattanzio V., Kroon P., Quideau S., Treutter, D. (2008). Plant phenolics—Secondary metabolites with diverse functions. En: *Recent Advances in Polyphenol Research*. Daayf F., Lattanzio V., (Eds). Blackwell Publishing Ltd: Oxford, Reino.
- Layne Garsaball J., Mendez Natera J. (2006). Efectos de extractos acuosos del follaje de corocillo (*Cyperus rotundus* L.) sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de ajonjolí (*Sesamum indicum* L.) cv arapatol S-15. *Idesia* 24(2): 61-75.
- López E., Martínez Y., Romero O. (2022). Características y consecuencias adversas a la salud humana de agroquímicos usados en la agricultura cubana. *Revista Cubana de Salud Pública* 48. En: <http://www.revsaludpublica.sld.cu/index.php/spu/article/view/2810>, consulta: octubre 2022.
- Mamani A., Filippone M., Grellet C., Welin B., Castagnaro A., Diaz Ricci J. (2012) Pathogen Induced Accumulation of an Ellagitannin elicits plant defense response. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25 (11): 1430-1439.
- McAllister T., Martinez T., Bae H., Muir A., Yanke L., Gones G. (2005). Characterization of condensed tannins purified from legume forages: Chromophore production, protein precipitation and inhibition of cellulose digestion by *Fibrobacters uccinogens*. *Chemical Ecology* 31: 2049-2068.
- Mariani S., Podversich R., Grosso J., Leon C., Juarez M. (2011). Ensayo de rendimiento y parámetros de calidad en función de la aplicación de purín de ortigas en lechuga Grand Rapid. Agencia de extensión rural INTA Marcos Juarez. En: <https://docplayer.es/66485958-Ensayo-de-rendimiento-y-parametros-de-calidad-en-funcion-de-la-aplicacion-de-purin-de-ortigas-en-lechuga-grand-rapid.html>, consulta: octubre 2021.
- Martos G., Grau R., Marino C., Mamani A., Diaz Ricci C. (2020). Defense elicitation activity of the ellagitannin HeT depends on its redox state. *Scientia Horticulturae* 267:109312. En: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109312>
- Pedraza R., Motok J., Salazar S., Ragout A., Mentel M., Tortora M., Guerrero Molina M., Winik B., Diaz Ricci J. (2010). Growth-promotion of strawberry plants inoculated with *Azospirillum brasilense*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26: 265-272.
- Pérez J. (2022). Estudio del modo de acción del  $\alpha$ -terpineol y su relación con la respuesta defensiva mediada por ácido salicílico en plantas de tomate frente a la bacteria *Pseudomonas syringae*. Tesis de Maestría. Universidad Politécnica de Valencia. España. En: <http://hdl.handle.net/10251/180651>
- Pitzschke A., Forzani C., Hirt H. (2006). Reactive oxygen species signaling in plants. *Antioxidants and Redox signaling* 8 (9): 1757-1764.
- Quezada D., Flores M., Córdoba O. (2021). Perfil metabólico y actividad biológica de *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar alariaceae colectada en invierno en el Golfo San Jorge, Argentina. Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud. *Naturalia Patagonica* 16: 132-142.
- Quisque M., Valdez S. (2020). Bioinsumos: un aporte a la resiliencia de los sistemas productivos. Programa colaborativo de investigación sobre cultivos (Prosuco). La Paz, Bolivia. En: <https://prosuco.org/wp-content/uploads/2020/10/Bioinsumos.pdf>, consulta octubre 2022.
- Rodríguez C., Pulido N., Rodríguez A. (2019). Evaluación de tres extractos de plantas para inhibir el desarrollo de larvas de los parásitos gastrointestinales de ovinos. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 23(3). En: <http://revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/449>
- Salminen J., Karonen M. (2011). Chemical ecology of tannins and other phenolics: We need a change in approach. *Functional Ecology* 25: 325-338.
- Sánchez A., Barrera V., Reybet G., Sosa M. (2015). Biocontrol con *Trichoderma* spp. de *Fusarium oxysporum* agente causal del “mal de almácigos” en pre y post emergencia en cebolla. *Revista de la Facultad de Agronomía de La Plata* 114 (1): 61-70

- Schmidt M., Toledo V., López M., Grinberg T., Merlinsky G. (2022). Conflictividad socio-ambiental por uso de agroquímicos en Salta, Santiago del Estero y Santa Fe, Argentina. *Ciência & Saúde Coletiva* 27 (3): 1061-1072.
- Valderrama R., José A., Galeano P. (2020). Antioxidant and antimicrobial activities in leaf methanolic extracts from the plant genus *Solanum*. *Información Tecnológica* 31(5): 33-42.
- Yñiguez E., Ríos de González L. (2017). El INTA contribuye al sector hortícola de la región. En: <https://inta.gob.ar/documentos/el-inta-contribuye-al-sector-horticola-de-la-region>, consulta octubre 2022.
- Yoshida T., Mori K., Hatano T., Okumura T., Uehara I., Komagoe K., Fujita Y., Okuda T. (1989). Radical-scavenging effects of tannins and related polyphenols on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 37: 1919-1921.
- Zermeño A., López B., Melendres A., Aarón I., Ramírez H., Cárdenas J., Munguía J. (2015). Extracto de alga marina y su relación con fotosíntesis y rendimiento de una plantación de vid. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6: 2437-2446.