Evaluación de bioestimulantes y prácticas orgánicas de manejo de malezas en la productividad y calidad de la fruta de pulasán [*Nephelium ramboutan-ake* (Labillardière) Leenhouts]

Por

Virgilio Olivera-Olivera

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requisitos para el grado de

MAESTRIA EN CIENCIAS

Programa de Horticultura

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

2015

Aprobada por:

_____	_____
José Pablo Morales Payán, Ph.D. Presidente del Comité Graduado	Fecha
_____	_____
Ricardo Goenaga, Ph.D. Miembro del Comité Graduado	Fecha
_____	_____
Wilfredo Robles, Ph.D. Miembro del Comité Graduado	Fecha
_____	_____
Elvin Román Paoli, Ph.D. Director Interino Departamento de Cultivos y Ciencias Agroambientales	Fecha
_____	_____
María L. Plaza, Ph.D. Representante de la Oficina de Estudios Graduados	Fecha

ABSTRACT

In 2012 and 2013 experiments were conducted in the mountains of Mayaguez, Puerto Rico to establish the effects of biostimulants and weed control in pulasán (*Nephelium ramboutan-ake*). The biostimulants used were seaweed extract (EAN) at 2 L/ha, a mixture of free aminoacids (MAA) at 2 L/ha and a plant extract from the Caryophyllaceae and Fabaceae (ECF) family. Also, natural brassinosteroids at a rate of 100 g/ha, and a control treatment. We applied 500 ml of the biostimulant solution on each tree every 14 days in the EAN and MAA treatments, and every 28 days in the ECF treatment, once fruits reached a diameter of approximately 25 mm. In the 2012 biostimulant experiment, number of marketable and non-marketable fruits, fruit weight, diameter, pericarp weight, pulp weight, seed weight, and total soluble solids determined. In the 2013 biostimulant experiment, the same treatments used in 2012 were used, but application of biostimulants started at bloom. Treatments and parameter studied were the same as in 2012, but fruit retention and fruit diameter in randomly-selected branches during fruit development until harvest process were determined. In the 2013 weed control experiment we evaluated weed damage by the herbicide, weed biomass thru time, weight and diameter of fruit at harvest, and number of marketable and non-marketable fruits. The predominant weeds were jungle rice (*Echinochloa colona*), green killinga (*Kyllinga brevifolia*), Johnsongrass (*Sorghum halepense*), nutgrass (*Cyperus rotundus*), crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) and bitter lettuce (*Launaea intybacea*). The weed control treatments were: 1) soil coverage using jute sacks (*Corchorus olitorius*); 2) limonene 3) acetic acid; 4) weed trimming; 5) glyphosate as the reference treatment (control). In 2012, there was no significant response of biostimulants, on any of the variables measured, except for diameter of marketable fruit which was significantly larger in those treated with ECF than in the control group. In 2013, the results showed that trees treated with MAA had more fruit harvested than the ones in the control group, meanwhile the trees treated with ECF had less commercial fruit harvested than the ones treated with MAA. There were no other significant differences for the rest of parameters. In the 2013 weed control experiment, trees treated with jute sack produced fruit with significantly larger diameter and weight than in trees were weeds were controlled with glyphosate. Trees treated with glyphosate produced more commercial fruits than trees treated with jute sacks. There were no other significant differences for the rest of parameters. Weed biomass produced in the jute sack treatment was lower than the

biomass produced in the glyphosate treatments, although the biomass produced at 48 days was significantly equal. The organic herbicides acted quickly and had their greatest effect 2 days after application, but weeds recovered shortly afterwards. In contrast, glyphosate effects were seen 14 days after application, and weeds did not recover and died.

RESUMEN

Se llevaron a cabo experimentos en el 2012 y 2013 en la zona montañosa de Mayagüez, Puerto Rico para determinar el efecto de bioestimulantes y en el 2013 para el control de malezas en pulasán (*Nephelium ramboutan-ake*). Los bioestimulantes que se utilizaron fueron un extracto del alga marina *Ascophyllum nodosum* (EAN) a una dosis de 2 L/ha, una mezcla de aminoácidos libres (MAA) a una dosis de 2 L/ha y un extracto de plantas de la Familia Caryophyllaceae y Fabaceae (ECF) con brasinoesteroides naturales a una dosis de 100 g/ha, y como control se dejaron árboles sin aplicar ningún bioestimulante. Se aplicaron 500 ml de solución de bioestimulante por árbol cada 14 días en los tratamientos de EAN y MAA, y cada 28 días en ECF, a partir que los frutos alcanzaron 25 mm de diámetro. En el experimento con bioestimulantes en el año 2012, se contó el número promedio de frutos comerciales y no comerciales por árbol, y a los frutos comerciales se les determinaron los valores promedio de peso, diámetro, peso de la cáscara, peso de la pulpa, peso de la semilla, concentración de sólidos solubles totales. En el experimento con bioestimulantes del año 2013 se aplicaron los mismos tratamientos que en el año 2012, pero empezando desde el inicio de la floración. Se evaluaron los mismos parámetros que en el 2012 y en ramas selectas también se evaluó la retención y diámetro de frutos durante su desarrollo hasta la cosecha. En el experimento de control de malezas del año 2013 se evaluó el daño causado a las malezas por los herbicidas, el porcentaje de control, la biomasa de la maleza a través del tiempo una vez aplicado los tratamientos, peso de la fruta al cosechar, diámetro de la fruta al cosechar, frutas comerciales y frutas no comerciales al momento de la cosecha. Las malezas predominantes fueron arrocillo (*Echinochloa colona*), fosforito (*Kyllinga brevifolia*), yerba Johnson (*Sorghum halepense*), coquí (*Cyperus rotundus*), pendejuelo (*Digitaria sanguinalis*) y Achicoria azul (*Launaea intybacea*). Los tratamientos del experimento de control de malezas fueron cobertura de suelo usando sacos de jute (*Corchorus olitorius*), herbicidas orgánicos a base de lemoneno y ácido acético, cortadora de cordel manual (*trimmer*) y glifosato como tratamiento de referencia. En el 2012, no hubo respuesta positiva a los bioestimulantes, excepto en que el diámetro de los frutos comerciales fue significativamente mayor en árboles tratados con ECF que en árboles control. En el año 2013, los resultados mostraron que los árboles tratados con la MAA tuvieron significativamente más frutos comerciales cosechados que los arboles control, mientras que los árboles que se trataron con el

ECF tuvieron significativamente menos frutos comerciales cosechados que los árboles tratados con la MAA. Los demás parámetros no obtuvieron diferencias significativas. En el experimento de malezas en el año 2013 en los árboles que se controló la maleza con el saco de yute produjeron las frutas con un diámetro y peso significativamente mayor cuando se comparó con las frutas de árboles que se controló la maleza con glifosato. Árboles tratados con glifosato produjeron más frutas comerciales que los árboles tratados con los sacos de yute. En los demás parámetros no hubo diferencia significativa. La biomasa producida a través del tiempo en el tratamiento del saco fue menor a la biomasa producida en los tratamientos de glifosato, aunque a los 48 días la biomasa era significativamente igual. En cuanto al porcentaje de control y daño a la maleza debido a los herbicidas, se demostró que los herbicidas orgánicos actuaron rápidamente y tuvieron su mayor efecto a los 2 días después de aplicarlos, pero la maleza se recuperó rápidamente. En cambio, el herbicida glifosato tuvo su mayor efecto a los 14 días después de ser aplicado, pero la maleza no se recuperó y murió totalmente.

© Virgilio Olivera-Olivera, 2015

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer primeramente a Dios por darme la oportunidad de llegar a esta etapa en mi vida y darme la fortaleza para continuar en todos los retos y metas de mi vida.

Al Dr. J. Pablo Morales Payan por creer en mi desde que era estudiante subgraduado. Por todas las oportunidades de hacer investigación. Por siempre buscar y recomendarme becas y oportunidades para presentar mis proyectos. Gracias a él fui el primer estudiante graduado de Ciencias Agrícolas en obtener la prestigiosa y competitiva beca "Bridge to the Doctorate" auspiciada por "The National Science Foundation", la cual me desarrollo como profesional.

Al Dr. Ricardo Goenaga, al químico Delvis Pérez, al agro. Ángel Marrero y demás personal de la Estación Experimental Federal de Agricultura Tropical por decir siempre que si, por ayudarme en el análisis de las muestras y por facilitar el uso del equipo de la estación.

Al Dr. Wilfredo Robles y su equipo por ayudarme en la tesis, por su orientación en el experimento de malezas y por facilitar parte de los materiales.

Al Dr. Manuel Gómez, al Prof. Javier Figueroa, a la Prof. Ana Feliciano y demás personal del programa "Puerto Rico Louis Stokes Alliance for Minority Participation" y "Bridge to the Doctorate Program" por confiar y creer en mí. Por la oportunidad de viajar y presentar mis investigaciones en diferentes jornadas científicas en Puerto Rico y Estados Unidos. Por la gran ayuda económica para la compra de materiales y estipendio mensual el cual me permitió dedicarme 100% a mi tesis. Gracias a ustedes por ser parte de mi transformación como líder.

Al Sr. Ian Crown y demás empleados de la finca "The Panoramic Fruit Farm" por permitirme hacer mi proyecto de tesis en su finca y por gran interés en echar nuestra agricultura hacia adelante permitiendo que estudiantes hagan sus proyectos allí.

A los estudiantes Pedro Cruz, Tania Burgos, Yehokhanan Lugo, Melisa Vila, Dayanara Burgos y Damaris Torres por su gran ayuda en mi proyecto y haberme permitido ser parte de su crecimiento y desarrollo como estudiantes.

A Yasil Ramos, a la nena de papi Yadielys Mikaela, a mi hermosa madre Margarita Olivera, al mejor padre del mundo Virgilio Olivera, a mi hermanito agricultor Ady (Adrián Olivera), a mi hermano bailarín Jesús Olivera y demás familia por siempre estar presente y ayudarme hasta lo imposible. Ustedes han sido fundamentales en mi desarrollo y la persona que soy hoy día se lo debo a ustedes, gracias por todo lo que han hecho por mí. Me siento muy orgulloso de tener una familia tan linda como ustedes. ¡Los amo!

A mi hermosa hija Yadielys
Has venido a mi vida a añadirle este toque
de alegría y ganas de seguir viviendo,
todo lo que hago, lo hago por ti.
Eres la luz de mis ojos.
Te amo con todas mis fuerzas!

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA

ABSTRACT……..…… ii

RESUMEN…… iv

COPYRIGHT…… vii

AGRADECIMIENTOS……...……. vii

DEDICATORIA……...…… viii

TABLA DE CONTENIDO……... ix

LISTA DE CUADROS……. x

LISTA DE FIGURAS……... xi

1. INTRODUCCION GENERAL…… 1

2. OBJETIVOS GENERALES..…….. 5

3. EFECTOS DE BIOESTIMULANTES SELECTOS EN EL CRECIMIENTO Y CALIDAD DE LA FRUTA ……. 6

3.1 Introducción…….. **6**

3.2 Materiales y métodos…… **9**

3.3 Resultados y discusión…….. **13**

4. EVALUACION DE EFECTOS DE BIOESTIMULANTES EN PULASAN: RETENCION DE FRUTOS, PRODUCTIVIDAD Y ATRIBUTOS SELECTOS DE CALIDAD DE FRUTA…… 19

4.1 Introducción……. **19**

4.3 Materiales y métodos…… **20**

4.4 Resultados y discusión…….…… **23**

5. EVALUACION DE PRACTICAS DE MANEJO ORGANICO DE MALEZAS EN PULASAN COMO ALTERNATIVAS A HERBICIDAS SINTETICOS……... 35

5.1 Introducción……. **35**

5.3 Materiales y métodos…… **40**

5.4 Resultados y discusión…….…… **45**

6. LITERATURA CITADA…… 57

7. APENDICES…….……..…….. 67

LISTA DE CUADROS

CUADRO **PÁGINA**

Cuadro1. Resultados del experimento con bioestimulantes, 2012……. 17

Cuadro 2. Resultados del experimento con bioestimulantes, 2013…… 30

Cuadro 3. Frecuencia relativa de las malezas en el predio de herbicidas.…..…… 42

Cuadro 4. Escala visual de daño de herbicidas…….. 44

Cuadro 5. Resultados del experimento de control de malezas en pulasán, 2013…… 45

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS **PÁGINA**

Figura 1. Fruta de pulasán comercial y no comercial ……..... 12

Figura 2. Cosecha por semana en el experimento de bioestimulantes en el año 2012 ……..... 14

Figura 3. Efecto de bioestimulantes aplicados foliarmente en el diámetro de frutas comerciales de pulasán, 2012……..... 16

Figura 4. Cosecha por semana en el experimento de bioestimulantes en el año 2013…… 24

Figura 5. Diámetro del fruto a través del periodo de su desarrollo……. 25

Figura 6. Número promedio de frutos por árbol por tratamiento desde la floración hasta la cosecha. …… 27

Figura 7. Diámetro promedio de la fruta de pulasán en el momento de la cosecha experimento de malezas…… 46

Figura 8. Peso promedio de la fruta de pulasán en el momento de la cosecha en el predio del experimento de malezas.……..……..……. 47

Figura 9. Transformación logarítmica del número de frutos comerciales por árbol al momento de la cosecha……. 48

Figura 10. Daño en las malezas tratadas con los herbicidas glifosato, lemoneno y ácido acético…….……..……. 49

Figura 11. Biomasa producida en las malezas desde antes de aplicar el tratamiento hasta 48 días después de la aplicación del tratamiento…….. 51

1. INTRODUCCION GENERAL

La globalización de la economía y el incremento en la demanda por alimentos saludables y diversos ha abierto una ventana para la oportunidad de comercializar frutales tropicales y subtropicales no tradicionales (Goenaga & Jenkins, 2011). En el año 2010, se produjo en Puerto Rico el 8.5% de las frutas consumidas, de modo que importamos 174 Kg (384 libras) de los 190.5 Kg (420 libras) per cápita que se consumieron ese año en la isla (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2012). En el año fiscal 2010-2011 el ingreso bruto en finca de la producción de frutas fue de $16.4 millones (Departamento de Agricultura de Puerto Rico, 2013). Por lo tanto, el mercado de frutas en la isla es uno que tiene gran potencial de expansión.

El clima de la isla lo hace un lugar favorable para la producción de frutas tropicales. El promedio de precipitación para la zona oeste-central de Puerto Rico es de 2,159 mm (85 pulgadas) por año (National Weather Service, 2013) con una fluctuación en temperatura en la zona central montañosa de 20.6 – 31.4˚C (69.1- 88.6˚F) (National Weather Service, 2013). Entre las frutas de mayor producción en Puerto Rico se encuentran el mango (*Mangifera indica*), el aguacate (*Persea americana*), las cítricas (*Citrus* spp.) y las musáceas (*Musa* spp.) (Morales-Payan, 2010), sin embargo se conoce muy poco sobre la producción de frutas tropicales exóticas en la isla. En el año 2010-2011, según el Departamento de Agricultura de Puerto Rico (2013) el valor a nivel de finca del mango fue de $2.1 millones de dólares, el del aguacate fue de $1.1millones de dólares, el de la china (*Citrus sinensis*) fue de $4.5 millones de dólares y el guineo (*Musa* AAA) generó $11.7 millones de dólares a nivel de finca.

En lo que va del siglo XXI se ha manifestado interés por producir y consumir frutas tropicales en la isla. Algunas de las especies frutales han estado en Puerto Rico por cientos de años, pero no ha habido un establecimiento comercial de los mismos. En ese grupo se encuentran

la quenepa (*Melicoccus bijugatus*) y la pana (*Artocarpus altilis*) (Morales-Payan, 2010). Otras frutas con potencial de desarrollo en la isla lo son la carambola (*Averrhoa carambola*), níspero (*Manilkara zapota*), zapote (*Pouteria sapota*), acerola (*Malpighia glabra*), y mangostán (*Garcinia mangostana*), de la familia Sapindaceae se encuentran el rambután (*Nephelium lappaceum*), el lichi (*Litchi chinensis*) y el longán (*Dimocarpus longan*) (Morales-Payan, 2010). Debido al interés en Puerto Rico con este nuevo mercado, se crea una oportunidad de negocios agrícolas, lo que pudiera reflejarse en crecimiento y desarrollo económico para la isla.

Entre los frutales exóticos con potencial económico en Puerto Rico está el pulasán (*Nephelium ramboutan-ake*), el cual es un árbol nativo de Malasia, Indonesia y Filipinas. El pulasán pertenece a la familia Sapindaceae y al género *Nephelium*, del cual el rambután es el miembro económicamente más importante y también el más parecido morfológicamente al pulasán.

El pulasán es un árbol dioico, que cuando no se poda alcanza de 9 a 14 metros (30 a 45 pies) de alto. Tiene tronco corto con una copa ancha y redondeada. Las hojas son compuestas, alternas, con 2 y hasta 5 pares de folíolos en un arreglo de alterno a casi opuesto, folíolos verdes oscuros y brillosos en el haz, verde claro y sin brillo en el envés. Las flores son pequeñas, verdosas, sin pétalos, dispuestas en panículas ramificadas, axiliares o terminales (Rivero & Brunner, 2007).

Se consume principalmente como fruta fresca, pero se puede procesar. La fruta es de forma esférica a ovoide, de 5-7 cm (2-3 pulgadas) de largo y cubierta por tubérculos cortos de color rojo oscuro a morado o amarillo, la pulpa es blanca o amarillenta, traslúcida, jugosa, dulce, aromática y contiene una sola semilla. Una porción de 100 gramos de la pulpa de la fruta

contiene 12.9 a 16.8 gramos de carbohidratos, 0.1 a 0.6 gramo de grasa, 0.8 a 0.9 gramos de proteína, 0.01 a 0.05 miligramos de calcio, 0.002 miligramos de hierro y 10.8 miligramos de vitamina C (Rivero & Brunner, 2007).

El árbol de pulasán crece bien en suelos fértiles, profundos y bien drenados, desde el nivel del mar hasta 305 metros (1,000 pies) de altitud. Necesita abundante lluvia o riego distribuido durante todo el año. La distancia de siembra generalmente es de 7 a 9 metros (25 a 30 pies) entre árboles. Se recomienda la aplicación de un abono completo 4 veces por año durante los primeros 5 años de siembra y hasta 2 veces luego del quinto año (Rivero & Brunner, 2007).

La rentabilidad de un frutal depende en gran parte de su productividad (número y peso de frutas comerciales por árbol o por unidad de área). Existen reportes que sugieren que el uso de reguladores fisiológicos o de bioestimulantes puede incrementar el rendimiento de producción, además de mejorar la calidad de las frutas. Por ejemplo, Abdel-Mawgoud et al. (2010) encontraron que según se aumentaba la concentración del bioestimulante a base del alga *Ascophyllum nodosum*, los rendimientos y el peso del melón de agua (*Citrullus lanatus*) aumentaba también. Zodape et al. (2011) encontraron que el uso del bioestimulante a base del alga *Kappaphycus alvarezii* aumentó los rendimientos del tomate (*Lycopersicon esculentum*) en un 60.89% cuando se aplicó a una concentración de 5% del extracto 7 días antes y 7 días después de la floración comparado con las plantas control (sin bioestimulante).

En Egipto, Abd El-Fatah et al. (2008) encontraron que un bioestimulante a base de microorganismos en una concentración de 5% en aplicaciones semanales al suelo desde febrero hasta la cosecha en octubre incrementaron el rendimiento de la fruta de caqui (*Diospyros kaki*) en 33.5 kg/árbol (63% sobre el control). Además aumentó el peso de la fruta en 27% en

comparación con el control en las aplicaciones al suelo y en un 40% con las aplicaciones foliares.

Fathy et al. (2010) encontraron que el uso de ácido húmico como bioestimulante en árboles de albaricoque (*Prunus armeniaca*) 'Canino' incrementó los rendimientos en 34 kg/árbol (33%) cuando se aplicó foliarmente en una dosis de 15 ml y cuando se aplicó directamente al suelo en una dosis de 75 ml en una solución de 3 litros semanalmente durante la época de crecimiento. El efecto del uso de bioestimulantes en los árboles de pulasán o en los frutales de la familia Sapindaceae no ha sido estudiado en Puerto Rico.

Las malezas son plantas indeseables, que reducen la productividad de los cultivos y dificultan su manejo. El control de malezas es un componente vital de un sistema de producción agrícola. El manejo o control de malezas se cree que ha existido desde los comienzos de la agricultura. Desde el año 6000 A.C. en el antiguo Egipto y en Mesopotamia se usaban implementos en la agricultura parecidos a la azada moderna, a mediados del siglo 18 comenzó la industrialización de implementos agrícolas y para comienzos del siglo 20 comenzó la era química en el control de malezas (Timmons, 2005). En los Estados Unidos de América, se estima que en promedio general las malezas causan un 12% de reducción en el rendimiento de los cultivos, lo que equivale a $33,000,000,000 de dólares en pérdidas anualmente (Pimentel et al., 2005). En el año 2008 en Estados Unidos se utilizaron 179,000,000 Kg (394 millones de libras) de ingrediente activo de diferentes herbicidas para controlar las malezas, de los cuales el 50% de los ingredientes activos utilizados era el herbicida glifosato (Fernández-Cornejo et al., 2014). Por tanto, es importante buscar nuevas alternativas para reducir los costos, también investigar nuevas formas de controlar las malezas a los agricultores orgánicos que puedan ser parecidos al efecto que tiene el uso de herbicidas sintéticos.

En el cultivo de pulasán no hay reportes sobre el uso de bioestimulantes para mejorar parámetros como tamaño, peso, rendimiento y peso de la pulpa, ni de su efecto en el peso de la semilla, peso del exocarpio y concentración de sólidos solubles totales; tampoco encontramos publicaciones sobre la eficacia de prácticas de control de malezas con métodos orgánicos en comparación con el herbicida sintético más utilizado en frutales en Puerto Rico, el glifosato.

2. OBJETIVOS GENERALES

1. Determinar los efectos de la aplicación de formulaciones comerciales del alga marina *Ascophyllum nodosum*, un cóctel de aminoácidos libres y un extracto de plantas de la Familia Caryophyllaceae y Fabaceae con brasinoesteroides naturales en la productividad y calidad de las frutas de pulasán (*Nephelium ramboutan-ake*).
2. Determinar el efecto en los frutales y la eficacia de ácido acético, d-limoneno, control mecánico usando una cortadora mecánica de cordel (*trimmer*), cobertura con sacos de fibra de yute (*Corchorus olitorius*), y glifosato en el control de malezas en un predio de pulasán (*Nephelium ramboutan-ake*).

3. EFECTOS DE BIOESTIMULANTES SELECTOS EN EL CRECIMIENTO Y CALIDAD DE LA FRUTA

3.1 Introducción

Los bioestimulantes son sustancias orgánicas exógenas biológicamente activas que sin ser fitohormonas modifican la fisiología y promueven el crecimiento de la planta cuando se aplican en concentraciones relativamente bajas; estos incluyen enzimas, proteínas, aminoácidos, vitaminas, sacáridos y otros compuestos (Kunicki et al., 2010). Los bioestimulantes se pueden usar también para incrementar la tolerancia de las plantas a condiciones de estrés y aumentar los rendimientos. Muchos bioestimulantes son sustancias derivadas de fuentes naturales y amigables al ambiente (Sarojnee et al., 2009; Kunicki et al., 2010). Aun cuando algunas formulaciones contienen bajas concentraciones de nutrientes minerales, la función del bioestimulante no es ser una fuente primaria de nutrientes ni su efecto es causado principalmente por los nutrientes minerales que contiene.

El alga marina *Ascophyllum nodosum* (EAN), un alga marrón, ha sido muy estudiada en la agricultura por su uso como bioestimulante. Las formulaciones de extractos de alga marrón contienen betaina, aminoácidos, sacáridos, vitaminas, citoquininas, auxinas, ácido abscísico y macro y micro elementos (Khan et al., 2009).

Spann & Little (2011) encontraron que el uso del extracto de alga marina *Ascophyllum nodosum* aumentó significativamente la cantidad de hojas en naranja dulce (*Citrus sinensis*) 'Hamlin' injertadas en patrón 'Carrizo' comparadas con el control bajo condiciones de estrés hídrico (50% evapotranspiración) cuando se aplicó directamente al suelo o al follaje. Bozorgi (2012) encontró que a mayor dosis de aplicación de *A. nodosum* en berenjena (*Solanum*

melongena) los rendimientos de cosecha, el número de frutas, la longitud y el diámetro de la fruta aumentaban significativamente. Además, Abdel-Mawgoud et al. (2010) encontraron que el uso de *Ascophyllum nodosum* en híbridos de melón de agua incrementó significativamente el peso de la fruta, el diámetro, la firmeza del exocarpio, el total de sólidos solubles y el total de azúcares, además del nitrógeno, fósforo y potasio de la fruta, a medida que aumentaba la concentración del extracto del alga.

Entre los efectos que tiene la aplicación de aminoácidos exógenos (MAA) en las plantas se encuentra aumento de tolerancia a la sequía y al estrés salino, promoción de la apertura de estomas, reducción de la permeabilidad de la membranas, aumento de la absorción de calcio y ayuda al transporte de iones (Rai, 2002), además el uso de aminoácidos como bioestimulante promueve el crecimiento de las plantas ya que son esenciales en la síntesis de proteínas (Sarajnee, 2009). Se ha encontrado que un complejo de aminoácidos libres derivados de la hidrólisis de sustancias orgánicas de origen animal incrementó la tolerancia al estrés por sequía en maíz (*Zea mays*) (Mladenova et al., 1998) y al cuajado de frutos de olivos (*Olea europea*) (Viti et al., 1989) y almendras (*Prunus amygdalus*) (Viti & Bartolini, 1998). Morales-Payán & Stall (2004) encontraron que a medida que aumentó la dosis aplicada de aminoácidos y de péptidos de cadena corta se acortaba significativamente el tiempo en que la parcha (*Passiflora edulis*) estaba lista para ser trasplantada. En el caso de la papaya (*Carica papaya*) Morales-Payán et al. (2003) encontraron que cuando se aplicaba este bioestimulante de aminoácidos 3 veces después de la floración aumentaban los rendimientos de producción significativamente y cuando se aplicó mensualmente los rendimientos de la papaya aumentaron en un 22% respecto a las plantas sin tratar.

Otro bioestimulante fue obtenido del extracto de plantas de las familias Caryophyllaceae y Fabaceae (ECF) (Hüster, 2011) y actúa como biocatalizador e inductor de resistencia mediante la activación de mecanismos de defensa contra estresores bióticos y abióticos (Melkamu et al., 2008). El uso de este extracto de plantas ha incrementado los rendimientos de cosecha en vegetales, promueve un mejor desarrollo y plantas más saludables; consiste principalmente de brasinoesteroides (24-epi-secasterona y 24-epicastasterona) (Volz, 2000). De acuerdo con Volz (2000) este extracto contiene un tercer brasinoesteroide aún no identificado. Además contiene aminoácidos, giberelinas, citoquininas, auxinas, metabolitos naturales, proteínas relacionadas al ataque de patógenos, terpenoides, flavonoides, vitaminas, inhibidores y cofactores (Workneh, 2011; Workneh, 2009) (Clouse & Sasse, 1998).

Melkamu et al. (2008) encontraron que el uso del ECF incrementó significativamente la cantidad de azúcares reductoras y azúcares totales en tomate (*Lycopersicon esculentum*) con respecto al control cuando se aplicó 2 veces durante el crecimiento de la planta. Workneh et al. (2011) encontraron que las plantas de zanahoria (*Daucus carota*) tratadas con ECF en la pre-cosecha tuvieron una concentración significativamente mayor de sólidos solubles totales después de haber estado almacenadas por 14 días a temperatura ambiente. Hasta donde sabemos, no se han reportado resultados de experimentos con bioestimulantes en pulasán. Por tal razón, este experimento tuvo como objetivo determinar los efectos de bioestimulantes en el crecimiento y atributos selectos de calidad de la fruta de pulasán.

3.2 Materiales y métodos

La investigación de campo se llevó a cabo en el año 2012 en una finca privada situada en el barrio Limón, carretera 105 Km 14.4, Mayagüez, Puerto Rico. El predio de pulasán fue plantado en el año 2006. El pH del suelo entre 0-20 cm (0-8") de profundidad es de 6.01 y entre 20-40 cm (8-16") de profundidad es de 6.08 (Apéndice A). El promedio de la precipitación anual fue de 54 a 96 pulgadas, el suelo predominante es un 65% de arcilla Consumo y un 35% de arcilla Humatas (Natural Resources Conservation Service, 2015), característicos de suelos Oxisoles. El cultivo de pulasán prospera en ese ambiente, al igual que el rambután, una especie frutal botánicamente muy relacionada con el pulasán. En Puerto Rico, se ha reportado la producción de rambután en suelo Oxisol (con un pH de 6.0) en el municipio de Isabela y en suelo Ultisol (con un pH de 4.2) en el municipio de Corozal; siendo la producción mayor en un 60% en el suelo Ultisol (Goenaga & Jenkins, 2011).

El manejo del predio experimental fue orgánico según las regulaciones del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA), que define un sistema orgánico como aquel en que la producción se maneja de acuerdo con la ley y los reglamentos contenidos en el Programa Nacional Orgánico para responder a las condiciones específicas de una localidad integrando prácticas de cultivo, biológicas y mecánicas, que fomenten el reciclaje de recursos, promueva el equilibrio ecológico y conserve la biodiversidad (USDA, 2009). La excepción fueron las parcelas en que se aplicó el bioestimulante Aminoquelant K®, una formulación para agricultura sustentable, pero que no tiene registro orgánico del *Organic Materials Review Institute*.

El experimento tuvo un diseño completamente aleatorio con 8 árboles por tratamiento. Se evaluaron 4 tratamientos, de los cuales tres fueron bioestimulantes y uno fue el control o referencia (sin bioestimulante). Uno de los bioestimulantes probados fue el extracto de alga *Ascophyllum nodosum* (Stimplex™[1], Acadian Seaplants, Nova Scotia, Canadá) en dosis de 2 L de formulación comercial/ha cada 14 días (aplicado 7 veces en total) comenzando a las 8 semanas luego del cuaje del fruto, cuando en promedio los frutos habían alcanzado 25 mm de diámetro. Otro bioestimulante fue un cóctel de aminoácidos libres (Aminoquelant K™[1], BioIbérica, Barcelona, España) en dosis de 2 L de formulación comercial/ha cada 14 días, comenzando a las 8 semanas luego del cuaje del fruto. El tercer bioestimulante que se utilizó fue un extracto de plantas de las familias Caryophyllaceae y Fabaceae (ComCat™[1], AgraForum, Dohren, Alemania) de ahora en adelante mencionado como ECF, cuyos ingredientes activos son brasinoesteroides naturales. El ECF se aplicó cada 28 días (3 veces en total) comenzando a las 8 semanas de haber cuajado el fruto, en dosis de 100 g de formulación comercial/ha en cada aplicación.

El ECF contiene sustancias naturales de plantas Caryophyllaceae y Fabaceae (Schnabl et al., 2001). El segundo bioestimulante contiene 5% de aminoácidos libres, 30% de potasio, 1% de nitrógeno total y 8% de materia orgánica (Trevisan et al., 2008). El extracto de alga contiene sustancias naturales con actividad biológica equivalente a 100 ppm de kinetina, 0.1% nitrógeno orgánico y 2.5% potasio (Khan et al., 2009).

[1] La mención de productos comerciales, instrumentos y equipos específicos no implica un endoso particular de los investigadores o de la Universidad a esos productos o equipos o fabricantes. Se mencionan solamente para especificar cuáles fueron y las formulaciones comercialmente disponibles de las sustancias activas.

Las aplicaciones de los bioestimulantes se realizaron foliarmente, usando un atomizador manual de 1.75 L, cubriendo bien el follaje (500 ml solución/árbol en cada fecha de aplicación). Todas las dosis de aplicaciones fueron según la recomendación del fabricante. En cada aplicación de los bioestimulantes se usaron 2 ml/L de surfactante no iónico (Nu-Film P[2], *Miller Chemical & Fertilizer Corporation*, Pennsylvania, USA). Al tratamiento de referencia no se le hizo ninguna aplicación de bioestimulante.

El control de malezas se hizo manual, usando una podadora mecánica de cordel (*trimmer*) cada 3 meses. Los árboles se abonaron 2 veces al año, después de la cosecha (agosto) y en enero utilizando el abono orgánico BioFlora Dry Crumbles 6-6-5-8 Ca® (Global Organics, 2012) en dosis de 3.4 kg por árbol en cada ocasión, que es una aproximación a la cantidad de nutrientes que aplica el productor en sus predios con fertilización mineral.

Al momento de la cosecha se contabilizó el número total de frutos para medir rendimiento y se clasificaron en comerciales y no comerciales. Esta es una clasificación visual, basada en la práctica del productor, en la cual los frutos no comerciales no contienen semillas y son achatados (Figura 1).

[2] La mención de productos comerciales, instrumentos y equipos específicos no implica un endoso particular de los investigadores o de la Universidad a esos productos o equipos o fabricantes. Se mencionan solamente para especificar cuáles fueron y las formulaciones comercialmente disponibles de las sustancias activas.

Figura 1. Diferencia entre una fruta de pulasán comercial (izquierda) y una no comercial (derecha). La fruta no comercial no tiene semilla, es pequeña, achatada y tiene muy poca pulpa. En promedio tiene un peso de 30 gramos o menos.

El día de la cosecha se tomaron las variables de peso y diámetro individual promedio de fruta. En el caso del peso se tomaron 56 frutos maduros comerciales representativos de cada árbol por tratamiento y se pesaron enteros por separado utilizando una balanza OHAUS® Serie CS[3] portable de 200 gramos de capacidad (OHAUS Corporation, New Jersey, USA). A esos mismos frutos se les tomó el diámetro utilizando un compás de calibre digital o "caliper" (*Ultimate Solution Tools*, California, USA). De esos 56 frutos se tomaron 23 frutos al azar y se

[3] La mención de productos comerciales, instrumentos y equipos específicos no implica un endoso particular de los investigadores o de la Universidad a esos productos o equipos o fabricantes. Se mencionan solamente para especificar cuáles fueron y las formulaciones comercialmente disponibles de las sustancias activas.

pesaron por separado el pericarpio, la pulpa, y la semilla. Se comenzó pesando la fruta completa, luego se pesó el pericarpio, y luego la semilla y por diferencia del peso total de la fruta menos la sumatoria del pericarpio y la semilla se obtuvo el peso de la pulpa.

Además se tomaron 15 frutas comerciales maduras y representativas para evaluar la concentración de sólidos solubles en el laboratorio aproximadamente cuatro horas después de la cosecha. La concentración de sólidos solubles se tuvo con una muestra de tres (3) gotas del jugo de la pulpa de cada fruta utilizando un refractómetro ATAGO® PAL-1 Pocket[4] (ATAGO, Tokyo, Japón). Los resultados fueron sometidos a pruebas de normalidad (Shapiro-Wilks) y de varianzas homogéneas (Prueba de Levene), seguidos por análisis de varianza y prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD, p=0.05), usando el paquete estadístico InfoStat[4] de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina (Di Rienzo, 2010).

3.4 Resultados y discusión

Primera cosecha y distribución de la cosecha. Se puede observar en la Figura 2 que la primera cosecha que se realizó fue en los árboles tratados con MAA, pero solamente adelantó la cosecha 7 días respecto a los bioestimulantes EAN y ECF. En cuanto a los árboles sin tratar (control) la cosecha se prolongó por 7 días más que los árboles tratados con EAN o con ECF y 14 días que en los árboles tratados con MAA, lo cual indica que ocurrió un desplazamiento hacia delante de la cosecha en el tiempo en los árboles tratados con bioestimulantes, aunque este desplazamiento no fue significativo respecto al control.

[4] La mención de productos comerciales, instrumentos y equipos específicos no implica un endoso particular de los investigadores o de la Universidad a esos productos o equipos o fabricantes. Se mencionan solamente para especificar cuáles fueron y las formulaciones comercialmente disponibles de las sustancias activas.

En términos generales, el periodo de cosecha de cada tratamiento tuvo una duración de 35 días. La mayor concentración de la cosecha de MAA se produjo entre los 203 y 212 días después de la floración, cosechándose en ese periodo un 57% de la cosecha total. El tratamiento ECF tuvo su mayor producción entre los días 203 y 210 días después de la florecida, cosechándose el 38% de su producción total. En el caso del tratamiento EAN la mayor cosecha de frutas fue entre el día 210 y 219 después de la florecida, cosechándose el 52% de su producción total.

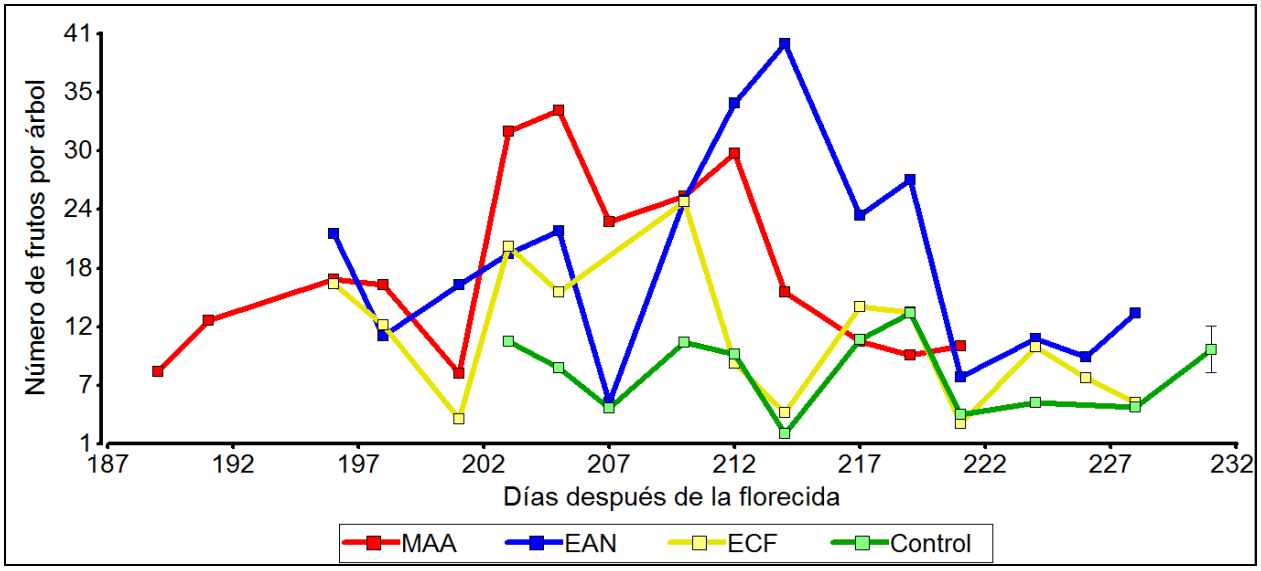

Figura 2. Cosecha realizada en el experimento de bioestimulantes en el año 2012. Mayagüez, Puerto Rico, 2012. Se muestra la cosecha por árbol después de la floración, según el tratamiento. El día 189 representa el 1 de agosto de 2012 y el día 231 representa el 10 de septiembre de 2012. MAA= mezcla de aminoácidos libres; EAN= extracto de *Ascophyllum nodosum*; ECF = extracto de plantas de las familias Cariophyllaceae y Fabaceae.

Diámetro promedio de la fruta individual. Los resultados de esta variable tuvieron distribución normal, pero no homogeneidad de varianza según la prueba de Levene. Se realizaron transformaciones logarítmicas y de raíz cuadrada, pero aun así no se tuvo homogeneidad. El análisis estadístico de la grafica de residuos vs predicho mostró una leve homogeneidad.

El diámetro de las frutas de árboles tratados con la formulación del extracto de alga y con el cóctel de aminoácidos libres fue estadísticamente el mismo y no fue significativamente diferente de las frutas control (Cuadro 1). Las frutas de árboles que se trataron con ECF tuvieron un diámetro significativamente mayor respecto a los otros 3 tratamientos con una diferencia de 12.8 mm (Figura 3). Se realizaron las pruebas de LSD, Duncan, Bonferroni y Tuckey y el resultado fue estadísticamente el mismo en todas las pruebas. El diámetro promedio de la fruta varió de 53.7 mm en frutas control a 66.5 mm en frutas tratadas con el ECF. Este efecto en las frutas se pudiera deber a los brasinoesteroides del ECF, ya que los mismos regulan el crecimiento y desarrollo de las plantas (Fujioka & Yokota, 2003). Además actúan en la elongación celular (Kauschmann et al., 1996), en la división celular, en el desarrollo vascular y reproductivo, en la polarización de la membrana, en el movimiento de protones y en respuestas a diferentes tipos de estrés en la planta (Clouse & Sasse, 1998). Los brasinoesteroides son compuestos esenciales en el desarrollo y en el proceso de la fotosíntesis, por lo que al aplicarle exógenamente estos compuestos, el árbol de pulasán pudo haber llevado a cabo un proceso de fotosíntesis más eficiente, lo que se tradujo en frutas de mayor tamaño. En este caso, solo hubo efecto significativo en el tamaño de la fruta y no en el peso de la fruta, lo cual se explica con el efecto de los brasinoesteroides en las plantas en cuanto a la elongación celular.

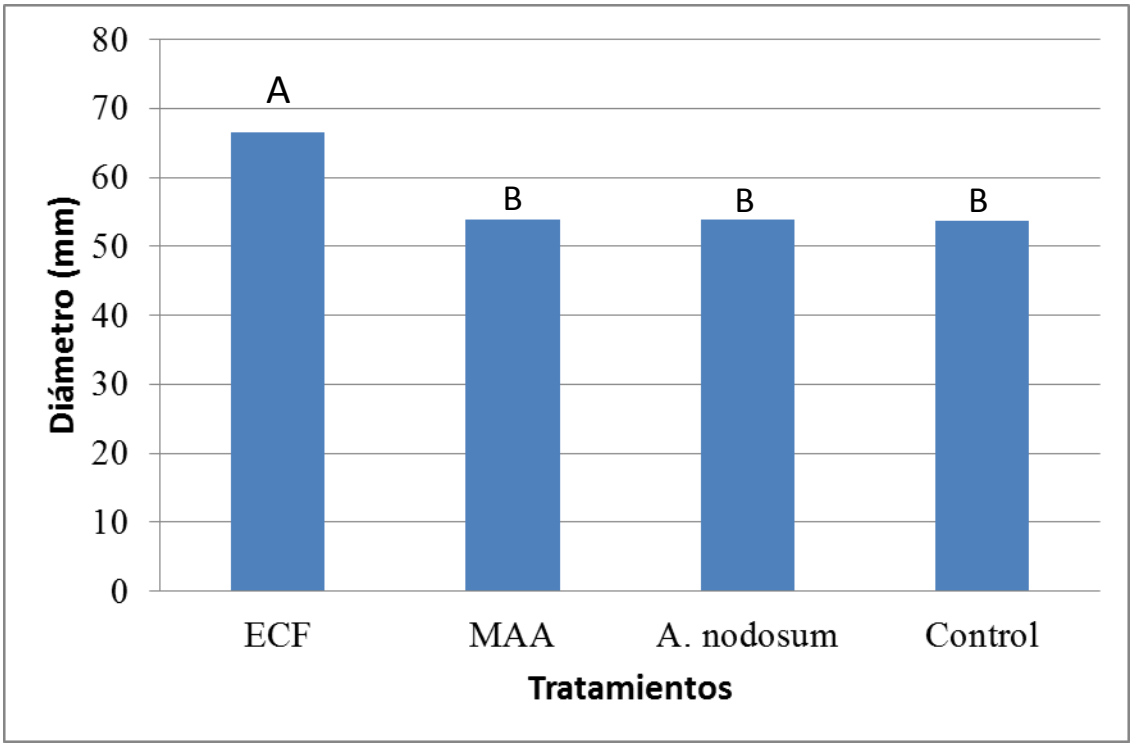

Figura 3. Efecto de bioestimulantes aplicados foliarmente en el diámetro de frutas comerciales de pulasán. Mayagüez, Puerto Rico. 2012. Barras con la misma letra no son significativamente diferentes (LSD p=0.05). ECF= extracto de plantas de las familias Cariophyllaceae y Fabaceae, MAA= mezcla de aminoácidos

Peso promedio de la fruta individual. Esta variable tuvo distribución normal y homogeneidad de varianza. No se encontró diferencia significativa en el peso promedio de la fruta individual entre tratamientos. El peso promedio de las frutas de pulasán fue de 63.5 gramos (Cuadro 1).

Peso promedio de las partes de la fruta individual. Los pesos frescos del pericarpio (cáscara), de la pulpa y el de la semilla tuvieron distribución normal y homogeneidad de varianzas. No hubo diferencia significativa entre los tratamientos ni con el control para ninguna de estas variables. En promedio, la cáscara pesó 40.69 g, la pulpa pesó 18.42 g, y la semilla pesó 2.18 g (Cuadro 1).

Número de frutas comerciales y no comerciales por árbol. Estas variables tuvieron distribución normal y homogeneidad de varianzas mediante transformación logarítmica. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al rendimiento comercial (número de frutas comerciales producidas por árbol) y producción de frutas no comerciales (número de frutas no comerciales producidas por árbol). El promedio de producción de frutas comerciales fue de 177.6 frutas por árbol y el promedio de frutas no comerciales fue de 25.8 frutas por árbol (14.5% del total de frutas cosechadas por árbol) (Cuadro 1).

Concentración de sólidos solubles en la pulpa de la fruta comercial. Esta variable presentó distribución normal y homogeneidad de varianzas. No hubo diferencia significativa en la concentración de sólidos solubles entre los tratamientos, cuyo promedio fue de 18.0 grados Brix (Cuadro 1).

Cuadro 1. Resultados del experimento con bioestimulantes en el año 2012

Tratamiento	**Parámetros evaluados**							
	Diámetro (mm)	Peso (g)	Peso exócarpio (g)	Peso pulpa (g)	Peso semilla (g)	Frutas comerciales	Frutas No comerciales	Brix (grados)
A. nodosum	53.84^{A}	60.72^{A}	39.50^{A}	18.13^{A}	2.44^{A}	266.75^{A}	20.00^{A}	18.5^{A}
ECF	66.45^{B}	71.65^{A}	45.97^{A}	19.55^{A}	2.14^{A}	144.80^{A}	15.20^{A}	16.7^{A}
MAA	54.00^{A}	61.12^{A}	38.88^{A}	17.61^{A}	2.04^{A}	217.00^{A}	34.50^{A}	17.7^{A}
Control	53.70^{A}	60.67^{A}	38.42^{A}	18.37^{A}	2.10^{A}	81.86^{A}	33.43^{A}	19.1^{A}
Promedio	----	63.54	40.69	18.42	2.18	177.60	25.78	18.0

*Letras diferentes representa diferencia significativa. (LSD p = 0.05). ECF= extracto de plantas Cariophyllaceae y Fabaceae; MAA= mezcla de aminoácidos

En resumen, en este estudio se pudo determinar que el bioestimulante ECF tuvo efecto significativo aumentando el tamaño del fruto mediante aumento de su diámetro. Aunque la fruta tuvo un diámetro mayor, no se encontró diferencia significativa en el peso de frutos de árboles tratados con ECF respecto a frutos de árboles control. Cabe señalar que el mercado principal de esta fruta en Puerto Rico es el mercado de fruta fresca donde se toma como criterio de venta el peso de la fruta, por lo cual el uso de los bioestimulantes evaluados en este estudio, de la forma, tiempo y dosis que fueron aplicados no aumentaría las ganancias del productor.

Se sugiere hacer una investigación sobre la forma de aplicación del bioestimulante, comparando la aplicación foliar (investigada en este estudio) con aplicaciones directamente al suelo. De esta manera se puede evaluar si tiene el mismo resultado en las frutas, además de que facilitaría el método de aplicación a los agricultores de la montaña, donde los terrenos son inclinados y no se puede utilizar equipo mecánico para hacer las aplicaciones.

4. EVALUACION DE EFECTOS DE BIOESTIMULANTES EN PULASAN: RETENCION DE FRUTOS, PRODUCTIVIDAD Y ATRIBUTOS SELECTOS DE CALIDAD DE FRUTA

4.1 Introducción

El proceso de fecundación es uno de los procesos más críticos en la producción de frutos. Primero el polen debe llegar hasta el estigma en la flor. Una vez allí, el mismo germina y el tubo polínico crece por el estigma hasta llegar al ovario y fecundar un óvulo. Una vez ocurre este proceso se crea el embrión (Lovatt, 1990), lo cual en este caso formará la fruta de pulasán. En el rambután (*Nephelium lappaceum*), un frutal relacionado botánicamente con el pulasán, existen tres tipos de flores predominantes. El primer tipo es el de flores masculinas, el cual produce solamente flores estaminadas. Esto ocurre entre el 40-60% de árboles provenientes de semilla. El segundo tipo es árboles con flores hermafroditas, el cual sólo es funcional la parte femenina. Por último, el tercer tipo son arboles con flores hermafroditas, con ambos sexos funcionales (Tindall, 1994).

Para mejorar el cuaje de frutos y retención de los mismos se han investigado varias técnicas, en las cuales se incluye el uso de reguladores de crecimiento en árboles de la familia Sapindaceae, a la cual pertenece el pulasán. Cronje & Mostert (2010) encontraron que el uso de la auxina 3, 5, 6-TPA aplicada a una dosis de 40 mg/L en el desarrollo del fruto del litchi (*Litchi chinensis*) cv. HLH Mauritius incrementaba los rendimientos, el tamaño del fruto y la retención del mismo en el árbol. En el 2009 Kumar y colaboradores encontraron que el uso de GA_3 a 20 mg/L en litchi incrementó el cuaje de frutos en un 42% e incrementó la retención del fruto en un 22%. Thakur et al. (1990) encontraron que el uso de GA_3 a 50 mg/L en litchi tuvo los mejores resultados en la retención del fruto, tamaño y cuaje del fruto cuando los comparó con otros

reguladores de crecimiento como ácido naftoxiacético, hidrazida maléica y etefón. Reguladores como 2, 4, 5-T a 25 mg/L y clormequat a 2,000 mg/L también aumentaron cuaje y tamaño del fruto de litchi (Thakur, 1990). Se ha reportado que los bioestimulantes a base de extractos de alga marina y los aminoácidos han reducido el aborto de frutos y/o el peso de frutos comerciales en varias especies de cultivos frutales (Khan et al., 2009; Morales-Payan, 2010), pero no se conocen reportes de efectos de bioestimulantes en la retención de frutos y/o peso de frutos en pulasán.

4.2 Objetivo

1. Determinar el efecto de bioestimulantes en: retención de frutos, productividad y atributos selectos de calidad de la fruta de pulasán.

4.3 Materiales y métodos

La investigación de campo se llevó a cabo en el año 2013 en una finca privada situada en el barrio Limón, carretera 105 Km. 14.4, Mayagüez, Puerto Rico. El predio de pulasán fue plantado en el año 2006. El pH del suelo entre 0-20 cm (0-8") de profundidad es de 6.01 y entre 20-40 cm (8-16") de profundidad es de 6.08 (Apéndice A). El promedio de la precipitación anual es de 54 a 96 pulgadas, el suelo predominante es un 65% de arcilla Consumo y un 35% de arcilla Humatas (Natural Resources Conservation Service, 2015), característicos de suelos Oxisoles. El cultivo de pulasán prospera en ese ambiente, al igual que el rambután, una especie frutal botánicamente muy relacionada con el pulasán. En Puerto Rico, se ha reportado la producción de rambután en suelo Oxisol (con un pH de 6.0) en el municipio de Isabela y en suelo Ultisol (con

un pH de 4.2) en el municipio de Corozal; siendo la producción mayor en un 60% en el suelo Ultisol (Goenaga & Jenkins, 2011).

El manejo del predio experimental fue orgánico, excepto en algunas parcelas que se aplicó el bioestimulante Aminoquelant K, que no tiene registro orgánico.

El experimento tuvo un diseño completamente aleatorio con 8 árboles por tratamiento. Se evaluaron 4 tratamientos, de los cuales tres fueron bioestimulantes y uno fue el control o referencia; el extracto de alga *Ascophyllum nodosum* (EAN) (Stimplex™[5], Acadian Seaplants, Nova Scotia, Canadá) y el cóctel de aminoácidos libres (MAA) (Aminoquelant K™[5], BioIberica, Barcelona, España) se aplicaron en dosis de 2 L/ha cada 14 días durante la fase de fructificación del cultivo, comenzando al momento de la floración (10 veces en total durante el experimento). El extracto de plantas de las familias Caryophyllaceae y Fabaceae (ECF) (ComCat™[5], AgroForum, Alemania) se aplicaron cada 28 días a una dosis de 100 g/ha comenzado al momento de la floración (5 veces en total durante el experimento). Las aplicaciones de los bioestimulantes se realizaron foliarmente usando un atomizador manual de 1.75 L. Todas las dosis de aplicaciones fueron usadas según la recomendación del fabricante. En cada aplicación de los bioestimulantes se utilizó 2 ml/L de surfactante no iónico (Nu-Film P™, Miller Chemical & Fertilizer Corporation, Pennsylvania, USA). Al tratamiento de referencia no se le hizo ninguna aplicación de bioestimulante.

El control de malezas se hizo manual, usando una podadora mecánica de cordel (*trimmer*) cada 3 meses, rebajando la altura de la maleza a 5 cm sobre el suelo. Los árboles se

[5] La mención de productos comerciales, instrumentos y equipos específicos no implica un endoso particular de los investigadores o de la Universidad a esos productos o equipos o fabricantes. Se mencionan solamente para especificar cuáles fueron y las formulaciones comercialmente disponibles de las sustancias activas.

abonaron 2 veces al año; después de la cosecha en agosto y en enero, utilizando abono orgánico BioFlora *Dry Crumbles*[6] 6-6-5-8Ca® (Global Organics, 2012) a una dosis de 3.4 kg por árbol en cada fecha.

El número de frutos durante el proceso de fructificación fue tomado desde el momento de la primera aplicación de bioestimulantes hasta la semana antes de la cosecha (22 semanas). Las primeras 14 semanas fueron consecutivas y las restantes se tomaron los datos cada 2 semanas. Para esto, se seleccionó un árbol por tratamiento en el predio completo, para un total de 4 árboles. En cada árbol se seleccionaron 3 ramas al azar y se contaron los frutos en cada rama por separado en el periodo descrito anteriormente. Además se le tomó el diámetro a una muestra de 20 frutos de cada rama usando un compás de calibre digital o "caliper" (Ultimate Solution Tools[6], California, USA). El diámetro se tomó en los mismos frutos durante todo el periodo de evaluación.

Al momento de la cosecha (en el campo) se tomaron las variables del peso individual y diámetro del fruto individual. En el caso del peso se tomaron 62 frutos al azar de toda la cosecha de cada árbol y se pesaron por separado utilizando una balanza OHAUS[7]® Serie CS portable de 200 gramos (OHAUS Corporation, New Jersey, USA). A esos mismos frutos se les tomó el diámetro utilizando un compás de calibre digital. De esos 62 frutos se tomaron 22 frutos al azar y se evaluó el peso del pericarpio, pulpa y semilla. Se tomaron 26 frutos al azar para evaluar la concentración de sólidos solubles. Estos parámetros fueron evaluados en el laboratorio alrededor de 4 horas después de cosechar. En el caso del peso de las partes de las frutas se comenzó

[6] La mención de productos comerciales, instrumentos y equipos específicos no implica un endoso particular de los investigadores o de la Universidad a esos productos o equipos o fabricantes. Se mencionan solamente para especificar cuáles fueron y las formulaciones comercialmente disponibles de las sustancias activas.

pesando individualmente cada fruta completa, luego se abrió y se pesó el pericarpio, y luego con una cuchilla se le hizo un corte a la pulpa, se despegó de la semilla y se procedió a pesar la semilla. Luego se determinó el peso de la pulpa por diferencia del peso total de la fruta menos la sumatoria del pericarpio y la semilla. La concentración de sólidos solubles se tuvo con una muestra del jugo de la pulpa, utilizando un refractómetro digital ATAGO[7]® PAL-1 Pocket (ATAGO, Tokyo, Japón).

Los resultados fueron sometidos a pruebas de normalidad (Shapiro-Wilks) y de varianzas homogéneas (Prueba de Levene), seguidos por análisis de varianza y prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD, p=0.05), usando el paquete estadístico InfoStat[7] de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina (Di Rienzo, 2010).

4.4 Resultados y discusión

Tiempo a primera cosecha y distribución de la cosecha en el tiempo. Se puede observar en la Figura 4 que los árboles tratados con ECF fueron los primeros en ser cosechados, 21 días antes que los árboles sin tratamiento o control. Las frutas de los árboles tratados con MAA adelantaron la cosecha en 7 días respecto a los árboles control. Los árboles tratados con ECF y MAA adelantaron la cosecha significativamente comparado con el control. Los árboles tratados con EAN comenzaron el periodo de cosecha igual que los árboles control, pero la duración de la cosecha a lo largo del tiempo se redujo en 7 días respecto al control.

La cosecha duró un periodo de 5 semanas en cada tratamiento, excepto en los árboles tratados con EAN que la cosecha duró 4 semanas. El tratamiento ECF tuvo 2 picos de cosecha a lo largo del periodo de cosecha, comenzando a los 179 días después de la floración y terminando

a los 191 días de la floración. Durante ese periodo se cosechó el 53% de la producción total de frutas de ECF. El tratamiento MAA tuvo su pico de cosecha entre los días 189-200 después de la florecida, cosechando el 52% de su producción de frutas total. Los árboles tratados con EAN tuvieron 2 picos de cosecha resultando en la totalidad del periodo de cosecha, además de reducir en 7 días el periodo de cosecha comparado con los árboles control. Los árboles sin tratar (control) tuvieron su periodo de mayor cosecha entre los 205-214 días después de la florecida, resultando en el 37% del total de la producción.

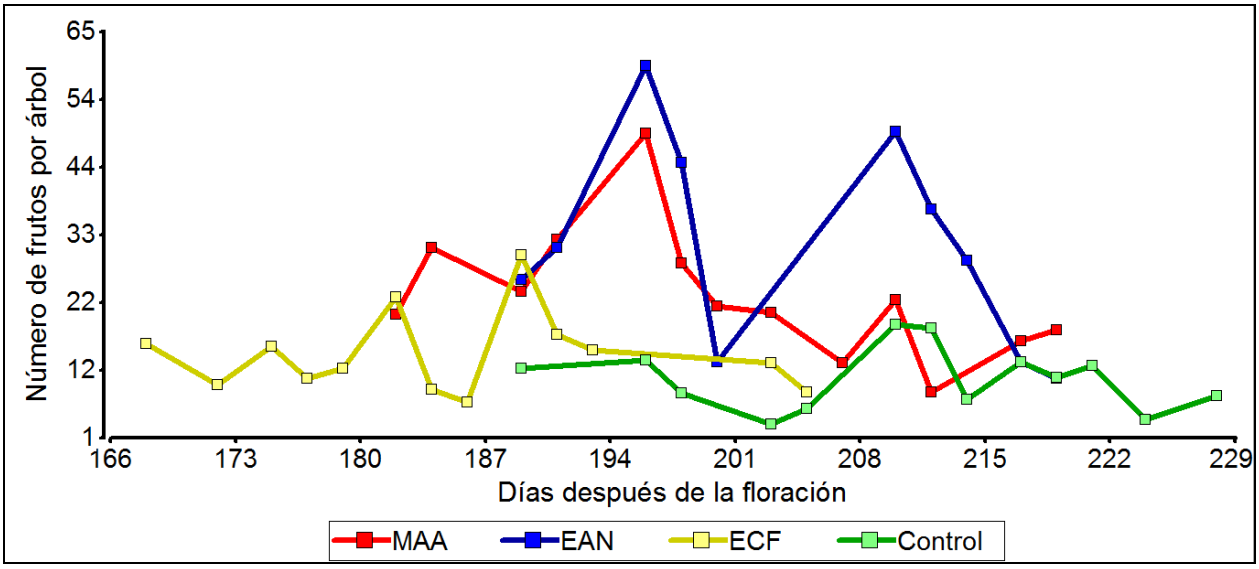

Figura 4. Cosecha realizada en el experimento de bioestimulantes en el año 2013. Mayagüez, Puerto Rico, 2013. Se muestra la cosecha por árbol después de la floración según el tratamiento. El día 168 representa el 22 de julio de 2013 y el día 228 representa el 20 de septiembre de 2013. MAA= mezcla de amino ácidos libres; EAN= extracto de *Ascophyllum nodosum*; ECF = extracto de plantas Cariophyllaceae y Fabaceae.

Diámetro de la fruta a través del tiempo. En la Figura 5 se puede observar como aumentó el diámetro de las frutas a través del tiempo según el tratamiento. El crecimiento de las frutas presentó una curva lineal. En comparación, el longán, perteneciente a la familia Sapindaceae tiene un crecimiento con una curva sigmoidal (Huang, 1995).

En árboles tratados con el cóctel de aminoácidos libres, las frutas se mantuvieron con un diámetro mayor a través del tiempo hasta las 22 semanas después de la floración, cuando el diámetro de las frutas control tuvo un diámetro con una diferencia menor de 0.85 mm respecto con las frutas del tratamiento del cóctel de aminoácidos libres. La diferencia entre las frutas tratadas con el extracto de alga y el cóctel de aminoácidos libres a las 22 semanas fue de 10.1 mm a favor de las frutas tratada con el cóctel de aminoácidos. No se encontró diferencia significativa en cuanto al diámetro de las frutas entre tratamientos al momento de la cosecha. Salakpetch (2000) encontró que el fruto de mangostán (*Garcinia mangostana*) acumuló 36 gramos aproximadamente de materia seca a través del tiempo durante 14 semanas, con una crecimiento sigmoidal.

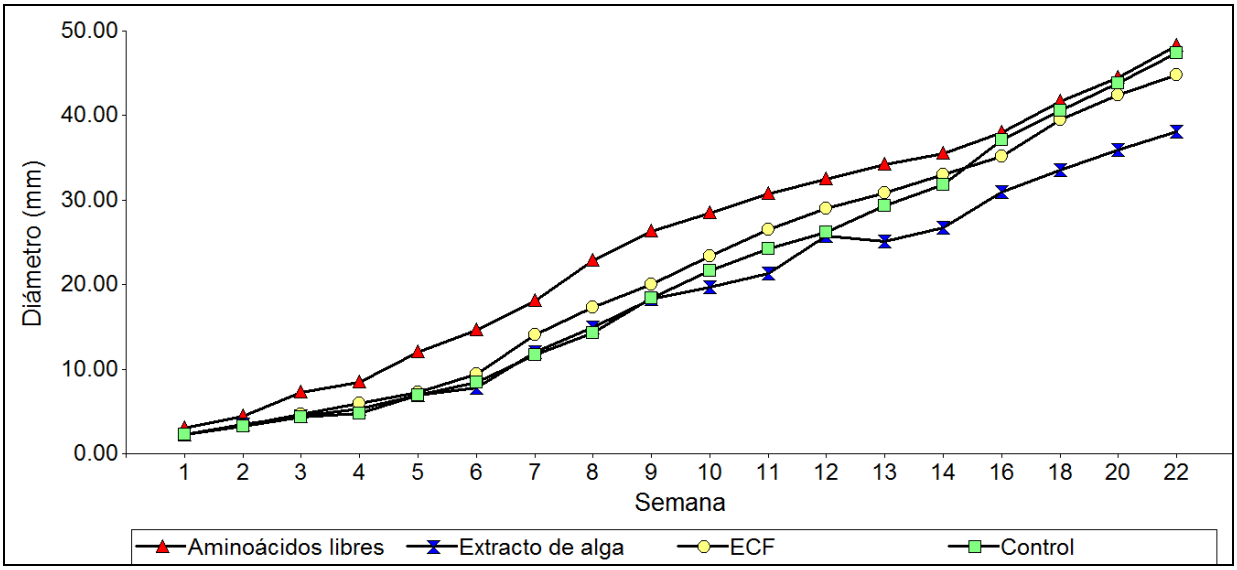

Figura 5. Efecto de bioestimulantes en el diámetro del fruto de pulasán a través de las semanas. Mayagüez, Puerto Rico, 2013. El triángulo (color rojo) representa el extracto de aminoácidos libres, el reloj de arena (color azul) representa el extracto del alga, el ECF (círculo color amarillo) representa el extracto de Cariophyllaceae y Fabaceae y el cuadrado (color verde) representa el control.

Número de frutos retenidos en el tiempo. En la Figura 6 se puede ver como en las primeras semanas de fructificación fue cuando hubo mayor cantidad de aborto de frutos. Entre la primera y segunda semana de fructificación, el árbol abortó gran parte de los frutos: los árboles control perdieron un 30% de sus frutos, los árboles tratados con el extracto de alga perdieron el 22%, los árboles tratados con el cóctel de aminoácidos perdieron un 42% y finalmente los árboles tratados con ECF perdieron el 27% de sus frutos.

Se puede observar que la mayor pérdida de frutos fue hasta la semana 5 después de la floración, luego se comenzó a estabilizar la cantidad de frutos perdidos y por ende los frutos retenidos en el árbol. Entre la primera y la quinta semana luego del cuaje del fruto hubo diferencia significativa en el mismo tratamiento entre los frutos cuajados originalmente y los frutos retenidos a la quinta semana. Los árboles control retuvieron el 16% de sus frutos originales, los árboles tratados con el extracto de alga retuvieron un 26%, los árboles tratados con el cóctel de aminoácidos retuvieron un 5% y los árboles tratados con ECF retuvieron un 7% de sus frutos cuajados originalmente.

Por último, al final de la temporada, y antes de la cosecha (semana 22), los árboles control retuvieron un 4% de sus frutos cuajados originalmente, el cual fue significativamente mayor que los tres bioestimulantes. Los árboles tratados con el extracto de alga retuvieron un 2% de sus frutos, los árboles tratados con el cóctel de aminoácidos retuvieron el 1% de sus frutos y los árboles tratados con ECF retuvieron el 1% de sus frutos cuajados originalmente. Por lo tanto, en promedio el uso de bioestimulantes promueve una retención promedio de 1.33% de los frutos cuajados originalmente, mientras que no usar bioestimulantes en los árboles de pulasán promueve una retención de 4% de los frutos originalmente cuajados.

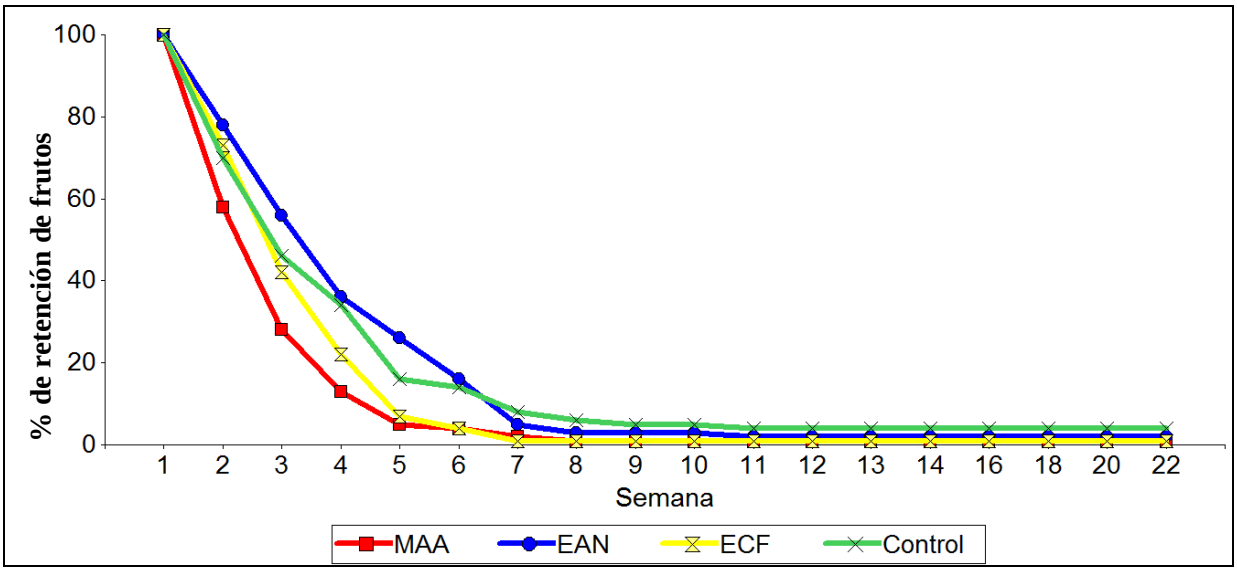

Figura 6. Efecto de bioestimulantes en el porcentaje de frutas de pulasán retenidas por árbol a través del tiempo entre floración y cosecha. Mayagüez, Puerto Rico, 2013. El cuadrado (color rojo) representan el cóctel de aminoácidos libres (MAA), el circulo (color azul) representa el extracto de alga (EAN), el reloj de arena (color amarillo) representa el extracto de brasinoesteroides (ECF) y la estrella (color verde) representa los árboles control.

Reddi et al. (1983) encontraron que el polen de *Sapindus emarginatus*, una Sapindaceae, reduce su capacidad de germinar a medida que pasa el tiempo. Durante las primeras 24 horas, el polen germina en un 100% *in vitro*, aun así solo cuajó frutos en un 65% de las flores polinizadas. A las 48 horas de almacenado el polen solo germinó un 63% *in vitro* y un 15% de las flores polinizadas cuajaron fruto. Finalmente, a las 72 horas de haber almacenado el polen germinó un 23% *in vitro*, pero al polinizar las flores ninguna cuajó fruto. Adam & Williams (2001) encontraron en un estudio de polinización en un bosque subtropical en Australia que las variedades de árboles pertenecientes a la familia Sapindaceae cuajaron entre 0-19.8% de flores en la polinización abierta y entre 0-9.2% de cuaje de flores cuando era por medio de autopolinización. Ruiz-Zapaya & Kalin-Arroyo (1978) lograron identificar la ecología reproductiva de árboles en un bosque tropical de Venezuela e identificaron que la planta *Urvillea*

ulmacea perteneciente a la familia Sapindaceae, un 23.66% de sus flores formaron frutos por medio de la polinización natural por abejas. McConchie & Batten (1991) encontraron que el litchi cv. Bengal solo cuaja el 9.2% de sus flores en frutos y que cada panícula no sobrepasa los 28 frutos.

Núñez-Elisea (1985) encontró que la retención de frutos varía dependiendo de la variedad de mango (*Mangifera indica*) y del tratamiento que se le aplique para inducir la floración. La variedad Haden tuvo una retención del 5% de los frutos por panícula cuando no se le aplicó ningún tratamiento. En el caso de los árboles tratados con nitrato de potasio a una dosis de 80 g/L retuvieron 5%, los árboles tratados solo con la poda apical no retuvieron frutos, pero los árboles que fueron podados apicalmente y además se le aplicó KNO_3 retuvieron un 7% del total de las frutas. En cuanto a los árboles de la variedad Manila retuvieron un 12% de las frutas cuando no se le aplico ningún tratamiento. Cuando se podó apicalmente retuvo un 11% de las frutas, cuando se aplicó KNO_3 retuvo un 18% de las frutas y cuando se podó apicalmente y se le aplicó KNO_3 retuvo un 13% de las frutas.

Asif et al. (2002) encontraron que en mango el cultivar Anwar Rataul perdió el 96.25% de las frutas cuajadas en los primeros 15 días luego de haberse cuajado, seguido por el cultivar Langra que perdió el 90.34% del total de los frutos. Además encontraron que el cultivar Dasehari tuvo al final de la cosecha una retención del 1.60% del total de los frutos cuajados. Malik & Singh (2006) encontraron que la retención de frutos en mango cultivar Kensington Pride al final de la cosecha era de 2.3 ± 1.1% en el año 1999 y 0.8 ± 0.3% en el año 2000. Además encontraron que la aplicación de poliaminas como espermina, espermidina y putrescina a una dosis de 0.01, 0.1 y 1mM al final del cuaje de frutos (cuando todas las flores han cerrado y

cuajado, pero permanecen pegadas a la panícula) no tuvieron diferencia significativa en la retención de frutos cuando se comparó con los árboles control.

Diámetro de la fruta comercial individual al cosechar. La variable de diámetro de la fruta individual tuvo distribución normal y homogeneidad de varianzas. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al diámetro de fruta comercial individual al momento de cosechar. El diámetro promedio individual fue de 54.8 mm (Cuadro 2).

Peso de la fruta comercial individual al cosechar. La variable de peso de la fruta individual tuvo distribución normal y homogeneidad de varianzas. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al peso de la fruta comercial individual. En promedio, las frutas individuales comerciales de pulasán pesaron 67.2 g (Cuadro 2).

Peso del pericarpio. La variable de peso del pericarpio tuvo distribución normal y homogeneidad de varianzas. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al peso del pericarpio. En promedio, el peso del pericarpio fue de 44.0 g (Cuadro 2).

Peso de la pulpa. La variable de peso de la pulpa tuvo distribución normal y homogeneidad de varianzas. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al peso de la pulpa. En promedio, el peso de la pulpa fue de 20.2 g (Cuadro 2).

Peso de la semilla. La variable de peso de la semilla tuvo distribución normal y homogeneidad de varianzas. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al peso de la semilla. En promedio, el peso de la semilla fue de 2.80 g (Cuadro 2).

Total de sólidos solubles. La variable de los sólidos solubles totales tuvo distribución normal y homogeneidad de varianzas. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en

cuanto a la concentración de sólidos solubles totales. En términos generales y en promedio, la concentración de sólidos solubles fue de 20.0˚ Brix (Cuadro 2).

Número de frutas comerciales cosechadas por árbol. El número de frutas comerciales tuvo distribución normal y homogeneidad de varianzas. La producción de frutas comerciales en los árboles tratados con MAA fue significativamente mayor (62%) que cuando no se trató con bioestimulantes (control) (Cuadro 2).

Número de frutas no comerciales cosechadas por árbol. Los datos originales no tenían distribución normal de las varianzas por lo que fueron transformados logarítmicamente para conformarlos a la normalidad y homogeneidad de varianzas. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto al número de frutas no comerciales producidas por árbol. En promedio, el número de frutas no comerciales fue de aproximadamente 13 frutas por árbol (Cuadro 2).

Cuadro 2. Resultados del experimento con bioestimulantes en el año 2013

Tratamiento	**Parámetros evaluados**							
	Diámetro (mm)	Peso (g)	Peso exócarpio (g)	Peso pulpa (g)	Peso semilla (g)	Frutas comerciales	Frutas No comerciales	Brix (grados)
A. nodosum	52.74^{A}	63.34^{A}	40.45^{A}	17.52^{A}	2.71^{A}	268.00^{AB}	10.67^{A}	19.7^{A}
ECF	54.37^{A}	63.05^{A}	43.21^{A}	19.25^{A}	2.82^{A}	176.88^{AB}	8.29^{A}	19.8^{A}
MAA	54.34^{A}	66.84^{A}	42.48^{A}	20.50^{A}	2.78^{A}	293.75^{B}	21.67^{A}	20.3^{A}
Control	57.92^{A}	75.39^{A}	49.92^{A}	23.38^{A}	2.89^{A}	112.47^{A}	12.17^{A}	20.4^{A}
Promedio	54.84	67.15	44.02	20.16	2.80	-----	13.20	20.0

*Letras diferentes representa diferencia significativa. (LSD p = 0.05). ECF= extracto de plantas Cariophyllaceae y Fabaceae; MAA= mezcla de aminoácidos

Análisis económico. En este estudio se determinó que el cóctel de aminoácidos libres tuvo su efecto aumentando significativamente el número de frutos comerciales por árbol cuando se comparó con el control. Aunque este tratamiento no aumentó significativamente el tamaño ni el diámetro de los frutos, un aumento en la cantidad de frutos pudiera redundar en un aumento en ganancias para el productor. A continuación se realizó un análisis económico para validar este argumento.

El costo del cóctel de aminoácidos libres según el fabricante es de $0.008 por ml y se aplicaron 7.43 ml/árbol. El costo del surfactante fue de $81.60 el galón (incluyendo el manejo y envío a Puerto Rico) y se aplicaron 2 ml/L. El salario mínimo federal en agricultura para Puerto Rico en el año 2014 es de $5.25/hora según la Ley Núm. 185 del año 2008. El precio de venta de la fruta a nivel de finca para el año 2013 era de $6.60/kg. Por lo tanto:

- Un empleado tarda 3.5 horas (210 minutos) en aplicar 24 árboles
    - 210 minutos/24 árboles= 8.75 minutos/árbol
- Salario de $5.25/hora
    - $5.25/60 minutos = $0.0875/minuto
- Costo del cóctel de amino ácidos
    - $0.008/ml
- Costo del surfactante $81.60/galón
    - $81.60/3,785ml = $0.022/ml

Costo de empleado por árbol.

- $0.0875/min * 8.75min/árbol = **$0.77 centavos/árbol**

Costo de mezcla del cóctel de aminos ácidos y surfactante

- $0.008 centavos/ml * 7.43ml/árbol = $0.06 centavos/árbol
- $0.022 centavos/ml * 1 ml/árbol = $0.022 centavos/árbol
- Total= $0.06 + $0.02 centavos = **$0.08 centavos/árbol**

Costo de aplicar mezcla de bioestimulante con surfactante por árbol en una aplicación

- $0.77 + $0.08 centavos/árbol = **$0.85 centavos/árbol**

Costo de aplicar bioestimulante a un árbol en un ciclo de cosecha

- $0.85 centavos/árbol * 10 veces/ciclo = **$8.50/ciclo de cosecha por árbol**

Por lo tanto, la producción promedio de frutos comerciales por árbol cuando se aplicó el bioestimulante fue de 384 frutos y el peso promedio de cada fruto fue de 66.84 gramos. En el caso de los árboles sin tratamiento (control), la producción promedio de frutos comerciales por árbol fue de 134.17 frutos y el peso promedio de cada fruto fue de 75.39 gramos.

- Peso total de la cosecha de árboles tratados con el bioestimulante
    - 384 frutos/árbol * 66.84 gramos/fruto = 25,666.56 gramos = **25.67 kg**
- Peso total de la cosecha de árboles sin tratar o control
    - 134.17 frutos/árbol * 75.39 gramos/fruto = 10,115.08 gramos = **10.12 kg**

Ingreso bruto obtenido de la producción

- Árboles tratados con bioestimulante – 25.67kg/árbol * $6.60/kg = **$169.42/árbol**
- Árboles sin tratar o control- 10.12kg/árbol * $6.60/kg = **$66.79/árbol**

Ingreso neto de árboles tratado con bioestimulante al descontar costo de aplicación

- $169.42/árbol - $8.50/ciclo de aplicación por árbol = **$160.92/árbol por ciclo**

Diferencia en ingreso de árboles tratados con bioestimulantes versus árboles sin tratar

- $160.92 - $66.79 = **$94.13**

De tal manera, en términos económicos hay una posible ganancia de ingresos para el productor potencialmente de **$94.13** por árbol tratado con el bioestimulante del cóctel de aminoácidos comparado con árboles sin aplicar ningún bioestimulante. Estos costos son basados en aplicaciones en la montaña donde se debe aplicar manualmente el bioestimulante. En lugares llanos donde se pueda mecanizar el proceso, la aplicación debería disminuir el costo de $8.50 por árbol. Para corroborar esta posible ganancia hace falta estudios más abarcadores y que tomen en consideración otros gastos y procesos para poder confirmarlo.

Además es importante evaluar aplicaciones directamente al suelo y observar si tienen resultados comercialmente interesantes. En términos prácticos en la zona montañosa de Puerto Rico, debido a las fuertes inclinaciones del terreno es más fácil hacer aplicaciones a los árboles directamente al suelo que foliarmente.

Por lo tanto, siguiendo toda la metodología realizada en este estudio se recomienda el uso del bioestimulante del cóctel de aminoácidos libres a partir de la floración para aumentar la producción de frutas comerciales, y a su vez la ganancia económica para el agricultor. El mismo caso se reportó en frutales de papaya cuando el rendimiento de producción aumentó en un 22% cuando se aplicó una mezcla de aminoácidos libres siete veces después de la floración hasta la cosecha (Morales-Payan & Stall, 2003), también aumentó los rendimiento de cosecha en pimientos (*Capsicum annuum*) en 5.67 kg/planta al aplicar aminoácidos libres cada 10 días desde el trasplante, no más de 4 veces (Paradikovic, 2011). Esto se debe a que los aminoácidos están

envueltos en varias funciones en la planta como el ciclo del nitrógeno (Lam et al., 1996), tolerancia a distintos tipos de estrés, síntesis y actividad enzimática, expresión genética y reacciones redox-homeostasis (Rai, 2002). Al estar proveyéndole cadena de péptidos pequeñas a la planta para las distintas funciones fisiológicas, esta puede invertir su energía en la producción de frutos y no en la síntesis de aminoácidos y pequeñas cadenas de péptidos, lo que se traduce posiblemente en una mayor producción de frutos.

5. EVALUACION DE PRACTICAS DE MANEJO ORGANICO DE MALEZAS COMO ALTERNATIVAS A HERBICIDAS SINTETICOS

5.1 Introducción

El manejo o control de malezas se cree que ha existido desde los comienzos de la agricultura. Desde el año 6000 AC en el antiguo Egipto y Mesopotamia se utilizaban implementos en la agricultura parecidos a la azada moderna, lo cual se cree que se usaba para eliminar las plantas que no querían que crecieran. Luego en la era moderna a mediados del siglo 18 comenzó la industrialización de implementos agrícolas y a comienzos del siglo 20 comenzó la era química en el control de malezas (Timmons, 2005).

Las malezas compiten con los cultivos por agua, nutrientes, luz, además pueden servir de hospederos para insectos plagas, enfermedades y pueden interferir con la labranza del suelo, irrigación y cosecha, por lo que incrementan los costos de operación. Actualmente, debido al uso excesivo de agroquímicos potencialmente peligrosos que pueden afectar la biodiversidad, la calidad del medioambiente, la seguridad alimentaria y la salud de los agricultores, ha aumentado el interés en sistemas de producción sustentables y fincas orgánicas (Linares et al., 2008). El control de malezas se puede hacer mediante control físico, mecánico, biológico y químico.

Entre coberturas orgánicas pueden estar pedazos de madera, y papel de periódico (Merwin et al., 1995), trazos de papel, plásticos biodegradables en combinación con almidón y látex sintético (biodegradable), y plásticos fotodegradables (Greer & Dole, 2003). El uso de coberturas puede ayudar a mejorar los rendimientos de los frutales, aumenta la retención de humedad del suelo, puede proveer o aumentar disponibilidad de nutrientes a las plantas, ayuda a controlar las malezas (Merwin et al., 1995) y mejora la estructura del suelo (Granatstein &

Mullinix, 2008; Grassbaugh, 2004). Pullaro et al. (2006) encontraron que el uso de cobertura de centeno (*Secale cereale* var. *sativa*) en pimientos (*Capsicum annuum*) suprimió significativamente las malezas cuando se comparó con el uso de plástico más bromuro de metilo.

Fuentes (2012) encontró que el uso de cobertura de polietileno gris aumentó significativamente la producción, el diámetro y la longitud de sandias (*Citrullus lanatus*) cuando se comparó con el control y con coberturas orgánicas; esto debido a que la cobertura de polietileno gris no permitió el paso de agua, luz ni el crecimiento de malezas evitando la competencia. Fuentes (2012) también encontró que las coberturas orgánicas con yerba de elefante (*Cenchrus purpureus*) triturada o con hojas trituradas de coco (*Cocos nucifera*) mejoraron significativamente la producción de sandías, el diámetro y la longitud de la fruta cuando se comparó con las parcelas sin ninguna cobertura y enmalezadas durante el ciclo de producción.

Entre los controles mecánicos se encuentra el uso de cortadoras mecanizadas de cordel (*trimmer*) manual. Donald (2000) encontró que en maíz (*Zea mays*) y soya (*Glycine max*) aumentaron los rendimientos cuando se controlaron las malezas con un *trimmer* manual; además observó que no hubo diferencia significativa en el rendimiento de maíz cuando se usó el *trimmer*, motocultor (*rototiller*), azada o cortadora manual para controlar las malezas. En el caso de la soya el control total de malezas fue significativa menor cuando se utilizó el *rototiller* con respecto a los otros equipos. Ward & Mervosh (2012) encontraron que el uso de la cortadora mecánica de cordel durante los meses de julio y agosto redujo en un 90% la producción de semillas de la maleza *Microstegium vimineum*, una maleza invasiva en el este de los Estados Unidos de América, mientras que Flory & Lewis (2009) reportaron que al usar el *trimmer* para

controlar esta maleza, se redujo la cobertura de la misma en un 70% y la biomasa decreció en un 95% cuando la compararon con el control.

Otra manera de controlar las malezas es mediante los plaguicidas verdes, plaguicidas de origen natural que sean biodegradables y que contribuyan a la reducción de la contaminación ambiental y aumenten los rendimientos de los cultivos. Entre estos, los aceites esenciales usados como herbicidas son una alternativa para los agricultores orgánicos (Koul, 2008). Estos herbicidas actúan por contacto, no son selectivos, pueden tener alta eficacia, pero el efecto suele ser poco duradero.

El aceite esencial de hierba de limón o limoncillo (*Cymbopogon citratus*) ha sido usado desde el 1924 para el control de malezas (Dayan et al., 2009). Poonpaiboonpipat et al. (2013) encontraron que el ingrediente principal del aceite de limoncillo es el monoterpeno citral (76%), y que a concentraciones de 8 µL/platillo de plato Petri del monoterpeno citral, la germinación de *Echinochloa crus-galli* fue de 9.25%, mientras que las semillas sin aplicarle el monoterpeno germinaron en un 85% en el plato Petri. En un estudio de invernadero con la maleza *E. crus-galli*, se encontró que a medida que aumentaba la concentración aplicada de citral hasta llegar a 10%, iba disminuyendo la concentración de la clorofila *a*, clorofila *b* y carotenoides en la maleza. Finalmente, Poonpaiboonpipat et al. (2013) encontraron que a mayores concentraciones del aceite esencial las cantidades de TBARS, un producto secundario de la peroxidación de lípidos, incrementaron también, lo cual sugiere que hay una destrucción de las membranas; al igual que hay una destrucción significativa de los pigmentos de clorofila y carotenoides, lo cual convierte este aceite esencial en un potencial herbicida orgánico.

Otra alternativa para controlar las malezas orgánicamente es con la aplicación de vinagre (ácido acético). El vinagre proviene de la oxidación bacterial aeróbica de etanol de granos fermentados, jugo de frutas o algún otro líquido que contenga alcohol. La eficacia del vinagre como herbicida depende de diferencias anatómicas y fisiológicas como lo son la composición de la cutícula, desarrollo y edad de las hojas, ángulo y posición de la hoja y el número de tricomas y estomas (Evans, 2009). El vinagre, es un herbicida de contacto, controla las partes de la planta creciendo sobre el suelo, no así el sistema radicular. El costo de usar este herbicida puede ser hasta 10 veces más alto que el de usar el herbicida sintético no selectivo más utilizado, que es glifosato [(*N*-phosphonomethyl)(glycine)] (Dayan, 2009).

Young (2004) encontró que 2 aplicaciones de vinagre controlaron la maleza Poaceae *Taeniatherum caput-medusae* hasta en un 73% a los 21 días después de aplicarse ácido acético al follaje de la maleza. Evans & Bellinder en el 2009 encontraron que el uso de vinagre puede reducir hasta 41% la biomasa de las malezas grandes (más de 6 hojas verdaderas) cuando se aplica 20% a 318 L/ha y 86% de la biomasa de las malezas pequeñas (6 hojas verdaderas o menos) a la misma dosis. Sin embargo, cuando aplicaron vinagre al 20% a 636 L/ha, la biomasa se redujo un 55% en las malezas grandes y un 93% en las pequeñas, mostrando que para la eficacia de este herbicida, además de la dosis de vinagre es necesario tomar en cuenta el volumen de aplicación.

Desde el año 2001, el herbicida más usado en Estados Unidos ha sido el glifosato, utilizándose entre 180 y 185 millones de libras de ingrediente activo en el 2007 (United States Environmental Protection Agency, 2011). El glifosato fue introducido como herbicida en la década del 1970. Es un herbicida de amplio espectro, no selectivo, sistémico y costo relativamente bajo. El glifosato inhibe la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato (Carvalho et

al., 2012), bloqueando el metabolismo de aminoácidos en la ruta de ácido shikímico (Stella & Ryan, 2004). Su modo de acción es lento comparado con otros herbicidas como paraquat y no controla las malezas que germinan luego de la aplicación (Baylis, 2000).

El glifosato es un herbicida eficaz contra muchas malezas. Young (2004) encontró que con una sola aplicación de glifosato a 0.86 kg ae/ha controló el 100% de las malezas anuales *Vulpia myuros*, *Bromus diandrus*, *Vicia villosa*, *Hordeum leporinum*, *Avena barbata*, *Taeniatherum caput-medusae*, *Bromus mollis* y *Centaurea solstitialis* por un periodo de 59 días luego de la aplicación del herbicida. Además en ese estudio el control de malezas fue significativamente mayor comparado con herbicidas orgánicos.

Esqueda-Esquivel et al., 2010 encontraron que el uso de glifosato a 0.71 Kg/ha en un cultivo de guanábana (*Annona muricata*) controló la maleza gramínea *Dactyloctenium aegyptium* en un 76% a los 60 días después de aplicarlo, y un 73% a los 90 días después de la aplicación, además de controlar las malezas de hoja ancha en un 65% a los 60 días luego de la aplicación y un 63% a los 90 días luego de haberlo aplicado. Bogantes y Mora (2004) encontraron que el glifosato aplicado a 1 kg ia/ha para controlar las malezas en el cultivo de papaya (*Carica papaya*) controló más efectivamente las malezas de hoja fina, que las de hoja ancha. En el caso de las malezas pertenecientes a la Familia Poaceae tuvieron un porcentaje de cobertura de las malezas mediante estimación visual de 0.87% a los 60 días luego de haberlo aplicado, en el caso de las malezas de hoja ancha el porcentaje de cobertura de la maleza fue de un 60% y en las Ciperáceas fue de 1.81%. Esta estimación visual la realizaron utilizando un cuadrante de 0.25 m^2, el cual arrojaron 2 veces al predio en evaluación.

A nivel mundial se había reportado que 182 especies de malezas tienen resistencia a uno o más herbicidas (Culpepper et al., 2006; Reddy et al., 2005). Para el año 2010 se habían reportado 18 especies de malezas resistentes al glifosato (Nandula, 2010). En el Caribe, un caso de resistencia al glifosato fue registrado en República Dominicana en el año 2014, donde la maleza *Parthenium hysterophorus* mostró resistencia debido al uso prolongado del herbicida en los campos de cítricas, mientras que la leguminosa *Phaseolus lathyroides* mostró resistencia natural al glifosato (Jiménez et al., 2014). Debido al incremento significativo en el uso de este herbicida, ha aumentado la preocupación sobre el efecto que pueda tener en los herbívoros, mamíferos, aves, seres humanos y en la biodiversidad en sistemas agro-ecológicos con manejos sustentables para proteger al medio ambiente (Sullivan & Sullivan, 2003). Aunque el glifosato es un herbicida muy eficiente su uso está prohibido en la agricultura orgánica. Por lo tanto, que en este proyecto se evaluarán otras alternativas para que agricultores orgánicos y productores convencionales tengan otras opciones y puedan escoger cual se adapta mejor a sus necesidades y preferencias.

5.2 Objetivo

1. Determinar la eficacia de métodos orgánicos y convencionales para controlar las malezas en árboles de pulasán.

5.3 Materiales y métodos

La investigación de campo se llevó a cabo en una finca privada situada en el barrio Limón, carretera 105 Km. 14.4, Mayagüez, Puerto Rico. Este experimento de control de malezas constó de un ciclo de estudio (enero-septiembre 2013). El pH del suelo entre 0-20 cm (0-8") de

profundidad era de 5.56 y entre 20-40 cm (8-16”) de profundidad era de 5.62 (Apéndice A). El promedio de la precipitación anual es de 54 a 96 pulgadas, el suelo predominante es un 65% de arcilla Consumo y un 35% de arcilla Humatas (Natural Resources Conservation Service, 2015), característicos de suelos Oxisoles.

El predio de pulasán usado para este experimento fue plantado en el 2006. El manejo del predio se hizo siguiendo prácticas de la agricultura convencional como el uso de herbicidas y fertilizantes sintéticos durante el periodo del experimento. Se aplicó fertilizante 15-5-25 en dosis de 1 kg/árbol en enero y 1 kg/árbol después de la temporada de cosecha en agosto, siguiendo las prácticas regulares de la finca, basadas en análisis de suelo y recomendaciones de laboratorio.

Por su abundancia, las malezas predominantes en el predio experimental fueron arrocillo (*Echinochloa colona*), fosforito (*Kyllinga brevifolia*), yerba Johnson (*Sorghum halepense*), coquí (*Cyperus rotundus*), pendejuelo (*Digitaria sanguinalis*) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Frecuencia relativa (%) y promedio del número de malezas por metro cuadrado predominantes en el predio en Mayagüez, Puerto Rico, durante el año 2013. Las malezas se presentan por su nombre común de Puerto Rico y por su nombre científico.
FR/m^2 (%) = frecuencia relativa por metro cuadrado presentado en porcentaje.

Nombre común	Nombre científico	Promedio plantas/m^{2*}	FR/m^2 (%)**
Arrocillo	*Echinochloa colona*	763	35.79
Fosforito	*Kyllinga brevifolia*	537	25.19
Yerba Johnson	*Sorghum halepense*	214	10.03
Coquí	*Cyperus rotundus*	202	9.46
Pendejuelo	*Digitaria sanguinalis*	145	6.79
Achicoria azul	*Launaea intybacea*	90	4.23
Trebolillo amarillo	*Oxalis corniculata*	38	1.76
Quinino del pobre	*Phyllantus niruri*	32	1.50
Dormilona	*Senna obtusifolia*	28	1.29
Leche vana	*Euphorbia heterophylla*	27	1.27
Lechecillo	*Euphorbia hirta*	15	0.70
Pata de gallina	*Eleusine indica*	8	0.35
Coniza	*Conyza canadensis*	7	0.33
Helecho	*Nephrolepis exaltata*	6	0.26
Oseille-marrón	*Oxalis barrelieri*	6	0.26
Habichuela parada	*Macroptilium lathyroides*	5	0.21
Paragüita morada	*Chloris barbata*	3	0.14
Yerba socialista	*Emilia fosbergii*	3	0.12
Cerrillo	*Sporobulus indicus*	2	0.09
Yerba de cabra	*Melanthera nivea*	2	0.09
Bledo	*Amaranthus dubius*	2	0.07
Kudzú tropical	*Pueraria phaseoloides*	1	0.02
Lechera	*Euphorbia hyssopifolia*	1	0.02
Mata de gallina	*Solanum americanum*	1	0.02
TOTAL		**2130**	**100**

*El promedio de plantas por metro cuadrado se determinó tirando 4 veces al azar el cuadrante de 0.25 m^2 en la unidad experimental al inicio del experimento en cada tratamiento en los 4 bloques.
** El porciento de la frecuencia relativa por metro cuadrado se calculó haciendo la sumatoria total del promedio de plantas por metro cuadrado y dividiendo por la cantidad de maleza correspondiente.

El experimento tuvo un diseño en bloques completos aleatorios con cuatro bloques y 5 tratamientos por bloque. Cada tratamiento consistió de 2 árboles por bloque en una unidad experimental de 12 m x 3 m (40'x 10') para un total de diez (10) árboles en experimento por bloque. Los cinco tratamientos de manejo de malezas fueron:

(1) glifosato (Roundup ULTRA[7]®, Monsanto Company, St. Louis, Missouri, Estados Unidos de América; concentración de 41%) en una solución de 1% de formulación comercial en agua.

(2) d-limoneno (GreenMatch EX[7]®, Marrone Bio Innovations, Davis, California, Estados Unidos de América; concentración de 55%) en una solución de 10% de formulación comercial en agua.

(3) ácido acético 20% (vinagre) (Weed Pharm Ready to Use[7] ™, Pharm Solutions, Inc., Salinas, California, Estados Unidos de América; concentración de 20%).

(4) cobertura de saco de fibra de yute (*Corchorus olitorius*).

(5) control mecánico usando una cortadora de hilo manual de eje recto de 2 tiempos, 26 cc, utilizando mezcla de gasolina y aceite (*trimmer*) (Ryobi[7], TTI North America, Anderson, Carolina del Sur, Estados Unidos de América).

La aplicación de los herbicidas y el *trimmer* se hizo cuando la maleza alcanzó los 30 cm (12") de altura sobre el suelo, imitando la práctica de control del productor en la finca donde se hizo el experimento, a los 30 días después de la floración. Los herbicidas se aplicaron usando

[7] La mención de productos comerciales, instrumentos y equipos específicos no implica un endoso particular de los investigadores o de la Universidad a esos productos o equipos o fabricantes. Se mencionan solamente para especificar cuáles fueron y las formulaciones comercialmente disponibles de las sustancias activas.

una bomba de aspersión de espalda, con una capacidad de 15 litros (4 galones), a una razón de 538 L/ha. Los sacos de yute se colocaron en el suelo sin malezas, cubriendo toda la superficie del suelo de la unidad experimental en cada bloque.

Para determinar el efecto de los tratamientos en las malezas, cada 4 semanas se tiró al azar un cuadrante de 0.25 m^2 al azar en el suelo dentro de la unidad experimental de 12 m x 3 m (40'x 10'), repitiéndose el proceso cuatro veces por tratamiento. Del área dentro del cuadrante se tomaron la biomasa fresca (kg/m^2), la cual se secó en un horno a 65º C (149˚F) por 48 horas y una vez se tuvo la biomasa seca se le tomó el peso. Antes de tomar la biomasa se determinó la densidad poblacional (número de plantas por especie/m^2). Además, se estimó el daño causado por los herbicidas en la maleza, usando como referencia una escala del 1-9 adaptada de Robles et al. 2010 (Cuadro 4). El daño a la maleza se tomó al momento de la aplicación (tiempo 0), 4 horas después de la aplicación (0.17 días después de la aplicación [dda]), 1, 2, 7, 14, 28 y 48 dda.

Cuadro 4. Escala visual con sus descripciones que se utilizó para evaluar el daño en la planta que causó el herbicida en la maleza a las 4 horas, 1 día, 2 días, 7 días, 14 días, 1 mes y 2 meses después de la aplicación. Adaptada de Robles et al., 2010.

Escala	Descripción
1	No tiene efecto visible; verde, tejidos saludables.
2	Síntomas muy leves; cambio de color muy leves (a amarillo o marrón claro); con el tiempo las plantas se recuperan.
3	Síntomas moderados; tejidos de plantas sin color; descoloración más severa que la escala número 2.
4	Síntomas visibles; probablemente no resulte en la muerte de la planta
5	Síntomas visibles; posible daño permanente a los tejidos de la planta; resultará en una disminución de la biomasa.
6	Daño en el 25% del tejido de la planta (pero menos del 50%)
7	Daño severo en el 50% del tejido de la planta (pero menos del 75%)
8	Daño muy severo; 75% del tejido es afectado (pero menos del 100%)
9	Necrótico, tejido colapsado; daño en el 100% de la planta; destrucción total de la planta.

En el pulasán se determinó el número y peso de frutos comerciales (frutos con peso mayor de 30 g y con una semilla bien formada) producidos por árbol y el número de frutos no comerciales (frutos con menos de 30 g y semilla malformada) por árbol de cada árbol cosechado de cada tratamiento. Además se tomó una muestra al azar de 30 frutos en cada árbol de cada tratamiento y se les tomó el peso y el diámetro individualmente. Para esto se usó una balanza (OHAUS[8]® Serie CS portable) y un compás de calibre digital o "caliper" respectivamente.

Los resultados fueron sometidos a análisis de normalidad y homogeneidad de varianzas, y fueron transformados cuando fue necesario para cumplir con los supuestos del análisis de varianza. Se hizo análisis de varianza, separación de medias utilizando LSD Fisher y contrastes según fuera apropiado para determinar efectos de tratamientos y comparación de promedios cuando hubiera diferencia significativa. Los análisis de varianza se hicieron con el programa estadístico Infostat[8] (Di Rienzo, 2010).

5.4 Resultados y discusión

Cuadro 5. Resultados del experimento de control de malezas en pulasán en el año 2013.

Tratamiento	**Parámetros evaluados**			
	Diámetro (mm)	Peso (g)	Frutas comerciales	Frutas No comerciales
Glifosato	56.05^{A}	70.79^{A}	318.02^{A}	38.99^{A}
Trimmer	56.39^{A}	75.14^{AB}	152.49^{AB}	23.74^{A}
Ácido acético	56.71^{A}	72.78^{A}	262.72^{AB}	26.17^{A}
Lemoneno	57.09^{AB}	71.55^{A}	253.34^{AB}	33.88^{A}
Saco	60.76^{B}	90.51^{B}	116.67^{B}	13.33^{A}

*Letras diferentes representa diferencia significativa. (LSD p = 0.05).

[8] La mención de productos comerciales, instrumentos y equipos específicos no implica un endoso particular de los investigadores o de la Universidad a esos productos o equipos o fabricantes. Se mencionan solamente para especificar cuáles fueron y las formulaciones comercialmente disponibles de las sustancias activas.

Diámetro promedio de la fruta comercial. Esta variable tuvo distribución normal y homogeneidad de varianza. Los árboles en los que se controló la maleza con la cobertura de saco produjeron estadísticamente una fruta con un diámetro promedio 8% mayor que los árboles tratados con glifosato, *trimmer* y ácido acético (Figura 7) (Cuadro 5). Esa diferencia se sugiere a que la cobertura de saco de yute se descompone a medida que pasa el tiempo por lo cual le provee a los árboles materia orgánica por lo que puede mejorar la fertilización del árbol de una manera natural. Además, el saco de yute crea un micro clima manteniendo al árbol con una humedad constante proveyéndole el agua necesaria para su funcionamiento óptimo.

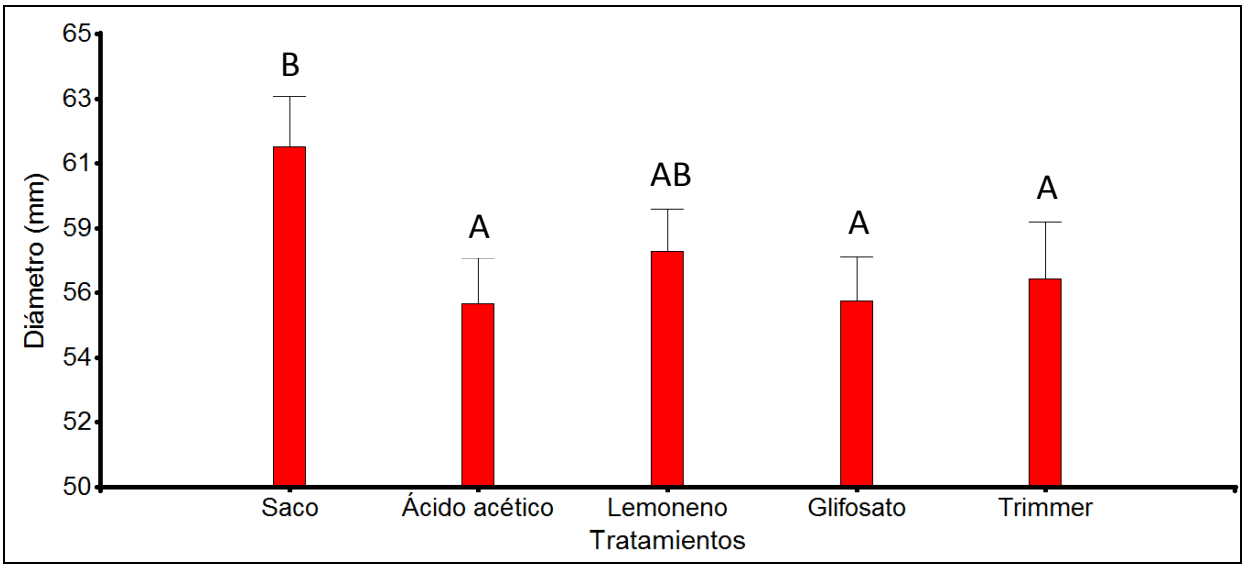

Figura 7. Diámetro promedio de la fruta de pulasán en el momento de la cosecha en el predio del experimento con malezas. Mayagüez, Puerto Rico, 2013. Letras diferentes representan diferencia significativa (LSD 5%).

Peso promedio individual de la fruta comercial. Esta variable tuvo distribución normal, pero no tuvo homogeneidad de varianzas según la prueba de Levene. La gráfica de residuos vs predicho muestra una leve homogeneidad (no mostrada). En la Figura 8 se puede observar que el peso de las frutas producidas en el tratamiento de saco fueron significativamente mayor (21% más pesadas), pero no diferente al *trimmer*, que las frutas producidas bajo los tratamientos de los herbicidas glifosato, lemoneno y ácido acético (Cuadro 5).

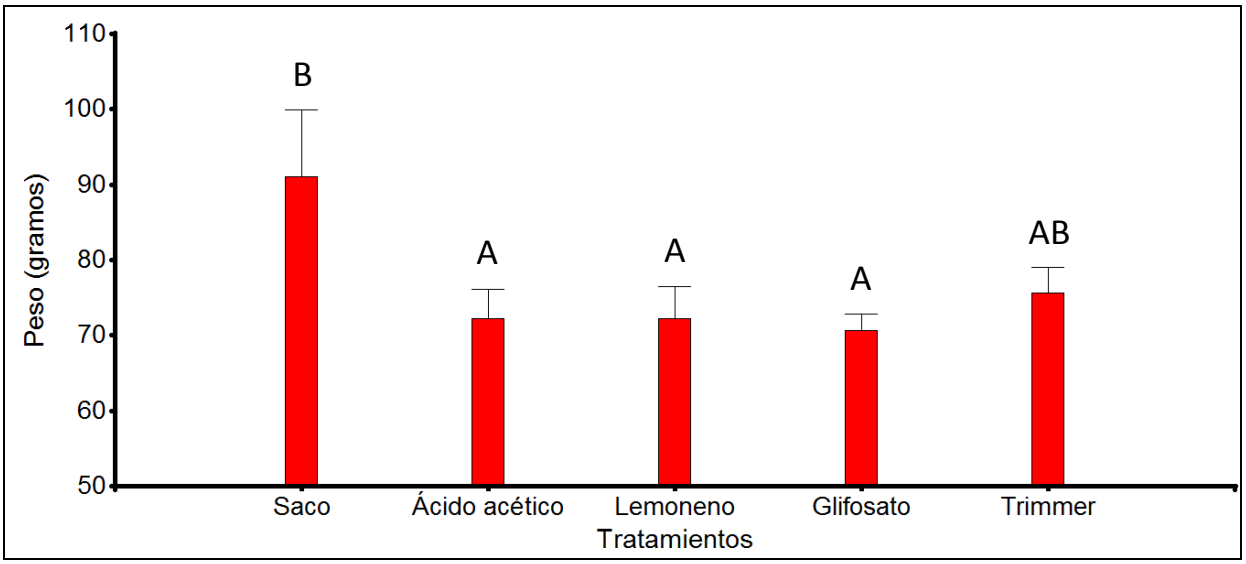

Figura 8. Peso promedio de la fruta de pulasán en el momento de la cosecha en el predio del experimento con malezas. Mayagüez, Puerto Rico, 2013. Letras diferentes representan diferencia significativa (LSD 5%).

Número de frutos comerciales por árbol. Esta variable tuvo distribución normal y homogeneidad de varianzas mediante la transformación logarítmica de los datos. Los árboles que se controlaron las malezas con los sacos de yute produjeron significativamente 201 (63%) frutas comerciales menos que los árboles tratados con glifosato (Figura 9). La producción de frutas

comerciales por árbol fue igual para los árboles que se controlaron las malezas con glifosato, *trimmer*, lemoneno o vinagre. Lo único distinto a glifosato fue el uso de sacos. El que los árboles tratados con sacos para controlar las malezas produjeron menos frutas comerciales se puede deber a que el tratamiento de sacos produjo significativamente las frutas con mayor diámetro (Figura 7) y mayor peso (Figura 8), por lo que afectó su producción de frutas comerciales.

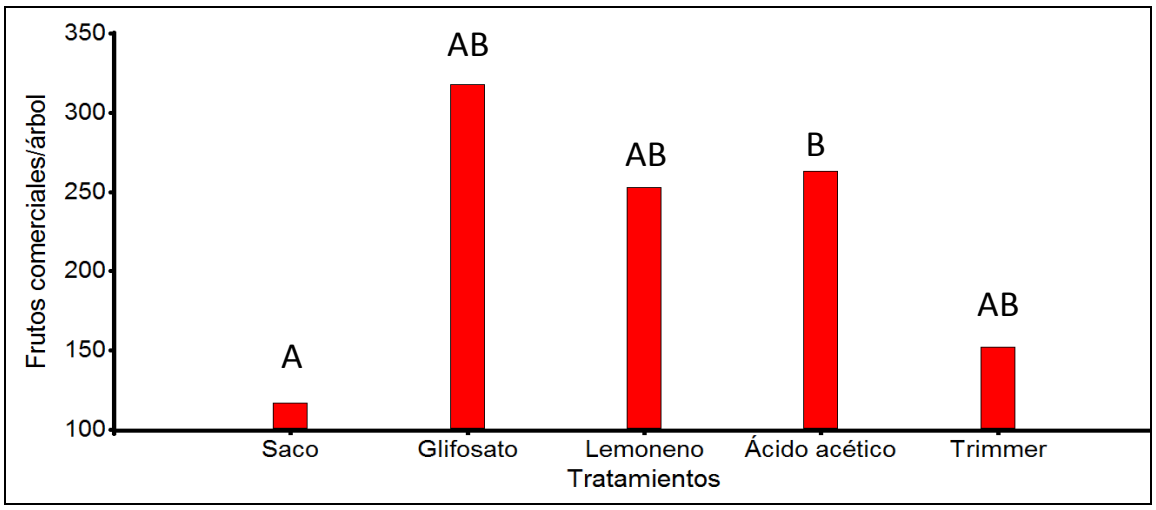

Figura 9. Número de frutos comerciales de pulasán por árbol al momento de la cosecha en el predio del experimento con malezas. Mayagüez, Puerto Rico, 2013. Letras diferentes representan diferencia significativa (LSD 5%).

Número de frutos no comerciales por árbol. Esta variable tuvo distribución normal y homogeneidad de varianzas mediante la transformación logarítmica de los datos. No se encontró diferencia significativa entre los tratamientos. En promedio, cada árbol produjo 27 frutas no comerciales. En el caso de los árboles tratados con los sacos de yute para controlar las malezas esto corresponde al 12% de su cosecha total por árbol, en el caso de los árboles tratados con glifosato para controlar las malezas representa el 10% de la cosecha total por árbol.

Daño causado por los herbicidas a la maleza. En la Figura 10 se muestra que en las malezas tratadas con glifosato se comenzó a observar daño en el follaje a los 14 días de la aplicación del herbicida, con un máximo de daño observado a los 48 días después de la aplicación del glifosato (nivel de daño de 9 en la escala). En cambio, el daño pico de daño de los herbicidas orgánicos fue a los 2 días de la aplicación (nivel de daño de 7 según la misma escala, equivalente a daño en 50-75% de la planta), pero luego, al pasar el tiempo, las malezas se recuperaron. Esto se debe a que los herbicidas orgánicos son de contacto y efecto rápido, pero las malezas grandes se pueden recuperar del daño que causado por el herbicida (Copping & Duke, 2007). En cambio, el glifosato es un herbicida sistémico, con efecto más lento pero más prolongado (Nandula, 2010).

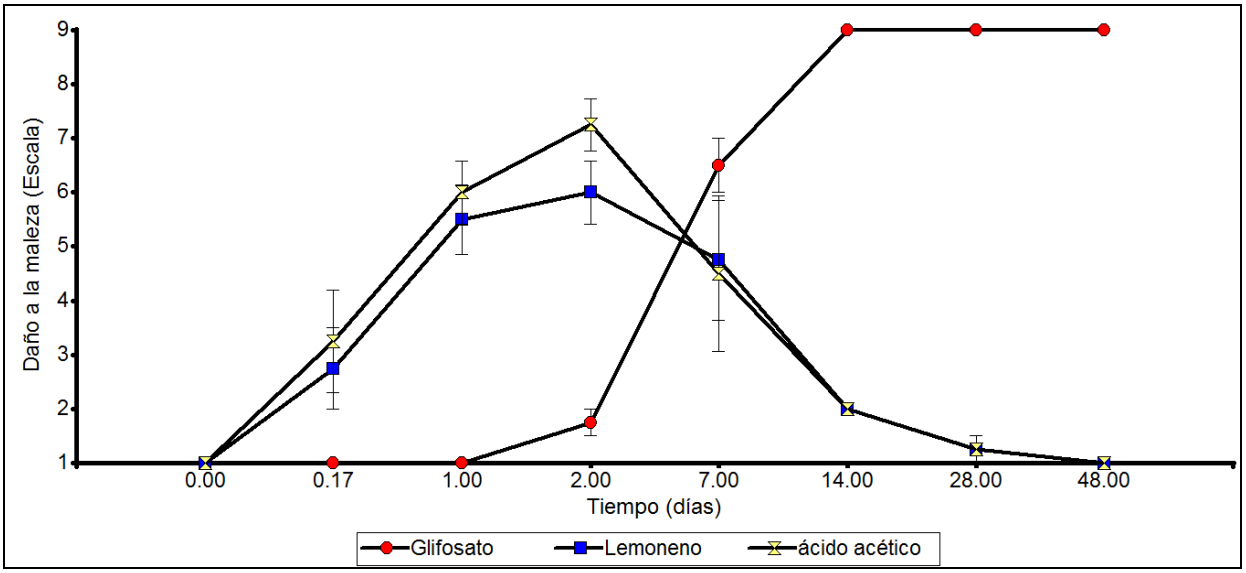

Figura 10. Daño en las malezas alrededor de árboles adultos de pulasán tratadas con los herbicidas glifosato, lemoneno y ácido acético en Mayagüez, Puerto Rico, 2013. El tiempo cero (0) representa el estado de la maleza al momento de aplicar el tratamiento. Se utilizó una escala visual del 1-9 adaptada de Robles et al. (2010). El tiempo 0.17 días = 4 horas después de aplicación.

Acumulación de biomasa seca de las malezas. Esta variable tuvo distribución normal y homogeneidad de varianzas. A los 28 días de haber aplicado los herbicidas, no hubo diferencia significativa entre el peso seco de la biomasa de malezas acumulada sobre el suelo en las parcelas tratadas con los tratamientos orgánicos a base de lemoneno o a base de ácido acético. Las malezas a las cuales se les aplicó glifosato acumularon significativamente menos biomasa seca (en promedio, 47 g menos por m^2) que las malezas a la que se les aplicó lemoneno o ácido acético. A los 28 días de aplicar los tratamientos no se encontró diferencia significativa en la acumulación de biomasa seca de malezas entre parcelas tratadas con el glifosato y las parcelas manejadas con los controles físicos; *trimmer* y uso del saco respectivamente.

Cuando se aplicó glifosato se redujo la acumulación de biomasa durante todo el período evaluado (Figura 11). En cambio, en parcelas con saco de yute disminuyó la biomasa seca a los 28 días y aumentó de nuevo hasta los 48 días, resultando así que a los 48 días las parcelas tratadas con glifosato y las cubiertas de saco tenían estadísticamente la misma cantidad de biomasa (Figura 11). El incremento en la biomasa en parcelas con sacos de yute se debió a que la maleza creció entre los sacos, además de que las semillas de las malezas germinaron encima del saco, el cual le proveía un ambiente favorable porque retenía la humedad. No hubo nunca reducción de biomasa seca de maleza al aplicarse lemoneno o ácido acético, sino que por el contrario la biomasa de maleza aumentó a través del tiempo (Figura 11). El uso del *trimmer* redujo la biomasa seca a los 28 días, pero había aumentado a los 48 días después de haberlo, resultando en una acumulación biomasa seca de maleza estadísticamente igual a la de parcelas con saco de yute o con aplicación de glifosato.

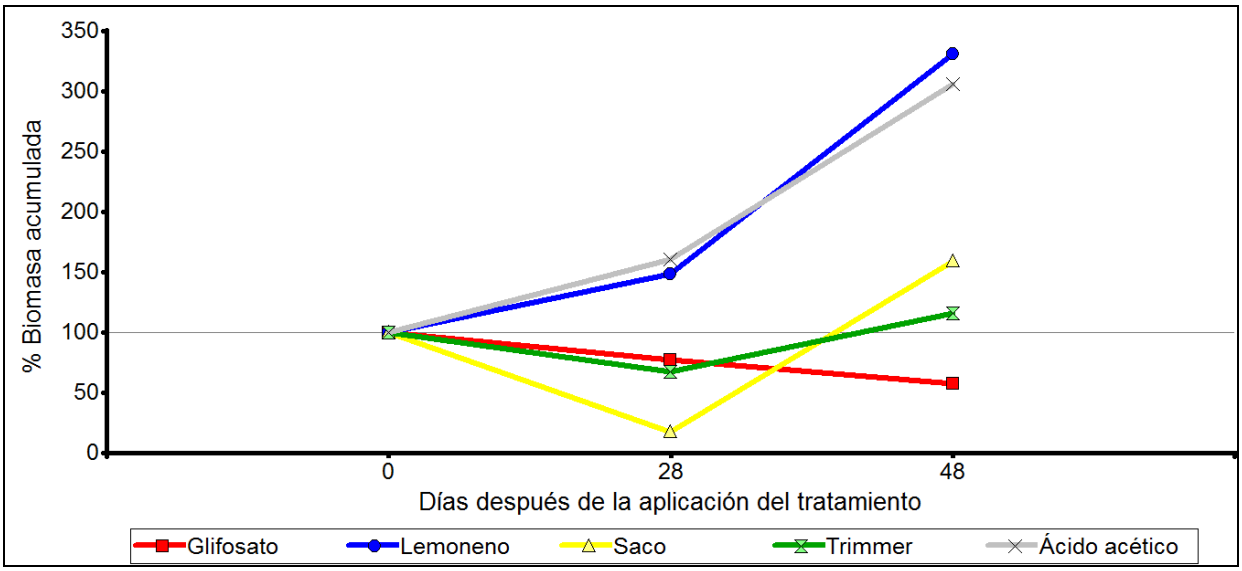

Figura 11. Porcentaje de la biomasa acumulada de las malezas bajo la copa de árboles adultos de pulasán, desde el momento de aplicar el tratamiento hasta 48 días después de la aplicación. Mayagüez, Puerto Rico, 2013.

Con los datos obtenidos en este estudio y siguiendo estas mismas prácticas, no se recomienda el uso de los herbicidas orgánicos en las dosis, frecuencias y condiciones de las malezas, ya que por su corto efecto en las malezas conseguir un control sostenido en el tiempo conllevaría un uso muy intensivo de los herbicidas, con alta inversión y posible daño ambiental. Las malezas se recuperan fácilmente.

Se demostró que a las 6 horas de ser aplicado a malezas, el lemoneno al 10% redujo la concentración de clorofila *a* en un 87.94%, la clorofila *b* en un 83.84% y los carotenoides en un 89.42% (Poonpaiboonpipata et al., 2013); ese efecto en la clorofila está asociado a la decoloración y daño visible en las hojas a las pocas horas luego de haberse aplicado herbicidas con lemoneno. Aun así, las plantas no son destruidas en su totalidad y generalmente plantas adultas pueden recuperarse. En nuestro experimento, el lemoneno tuvo efecto visible moderado en las malezas desde las 4 horas después de la aplicación ya las hojas de las malezas y 24 horas

después de la aplicación los síntomas eran marcados. El mayor efecto de daño del limoneno fue observado a las 48 horas después de la aplicación, cuando los daños en la maleza estaban entre 25 y 50%. Sin embargo, después de 2 días de la aplicación, las malezas comenzaron a recuperarse (Figura 10).

Abouziena et al. (2009), en un experimento en invernadero, encontraron que el uso del ácido acético al 5% en la yerba Johnson no controló la maleza en ninguna etapa de crecimiento; en cambio, cuando se aplicó ácido acético al 30% a plantas con 2-4 hojas verdaderas, controló el 95% de la yerba hasta 4 semanas después. Cuando se aplicó el ácido acético a plantas de yerba Johnson de 4-6 hojas verdaderas, controló un 40% en la primera semana luego de aplicarse pero las plantas se habían recuperado a la cuarta semana de haberse aplicado el producto.

Abouziena et al. (2009) también evaluaron el ácido acético en bledo; cuando se aplicó el herbicida al 5%, no controló las malezas con 2 a 6 hojas verdaderas. Sin embargo, a una concentración de 30% en plantas con 2-4 hojas verdaderas, a las 4 semanas de haber aplicado el control fue de 100%, mientras que en plantas de 4-6 hojas verdaderas el control a las 4 semanas fue de 52%. Estos resultados de Abouziena et al. (2009) muestran que las malezas monocotiledóneas suelen ser menos susceptibles a los herbicidas orgánicos que las malezas dicotiledóneas. En nuestro experimento se puede observar que el ácido acético al 20% no controló las malezas (predominantemente monocotiledóneas), ya que a los 28 días después de aplicarlo la biomasa seca de las malezas aumentó en un 60% y a los 48 días después de aplicarlo había aumentado en un 205% con respecto al día de la aplicación (Figura 11).

Evans & Bellinder (2009) encontraron que el uso del ácido acético a una concentración al 20% en una dosis de 636 l/ha tuvo un 91% de control en las malezas con 2 hojas verdaderas y

83% de control en las malezas cuando tenían 6 hojas verdaderas. Además observó que con la misma concentración al 20%, pero en una dosis de 318 l/ha se redujo el control de las malezas al 62%. Por lo tanto se puede observar que en el caso de herbicidas orgánicos la dosis y la altura de maleza afecta el control y eficacia del herbicida. La reducción de la eficacia del herbicida a consecuencia del tamaño de la maleza ha sido reportada anteriormente (Chandran et al., 2003; Coffman et al., 2005; Curran et al., 2003; Georgis, 2003; Radhakrishnan et al., 2002). En la Figura 10 se puede observar que en las malezas tratadas con los herbicidas orgánicos el daño ocurrió rápidamente, pues 4 horas había descoloración (degradación de pigmentos), pero a medida que pasó el tiempo las malezas se recuperaron. Además se demostró que las malezas continuaron su crecimiento y acumulación de biomasa, aun después de haber aplicado el herbicida orgánico (Figura 11).

En términos económicos en Puerto Rico, en el año 2015 el herbicida a base de limoneno con 50% ingrediente activo tiene un costo de $12.43 por litro, el ácido acético listo para usarse al 20% tiene un costo $14.81 por litro, mientras una formulación con 41% de glifosato tiene un costo de $7.01 por litro. Utilizando esos costos de herbicidas y aplicando 538 L de solución de herbicida/ha (sin tomar en consideración el costo de mano de obra ni el de equipo de aplicación), el costo de usar la formulación de limoneno al 55% (disolviendo 100 ml por litro de agua) sería de $668 por hectárea, usar ácido acético en su concentración original de 20% tendría un costo de $7,960 por hectárea, y usar glifosato (solución formulación comercial al 41% de ingrediente activo, disolviendo 10 ml de formulación comercial por litro de agua) costaría $38 por hectárea. Es decir, el costo de usar ácido acético sería 12 veces mayor que el de usar limoneno y 210 veces mayor que el de usar glifosato.

En Mississippi, Estados Unidos de América, Dayan (2009) reportó que el costo de aplicar ácido acético era 10 veces mayor que el glifosato. En Puerto Rico ese costo es considerablemente mayor, debido al costo de importación del ácido acético a la isla en formulación líquida que viene lista para aplicar (no en concentrado para dilución).

El uso de la cortadora de hilo resultó en una acumulación de biomasa de 16% a los 48 días después de haber aplicado el tratamiento. Este tratamiento resultó más eficaz que los herbicidas orgánicos (lemoneno y ácido acético, con acumulación de biomasa de maleza de 230 y 205% en ese mismo tiempo, respectivamente). En el caso del saco de yute, la acumulación de biomasa de maleza fue de 59% a los 48 días luego de haber colocado los sacos sobre el suelo. Por último, en parcelas asperjadas con glifosato se redujo la cantidad de biomasa seca de malezas en 42% desde su aplicación hasta los 48 días de después del tratamiento.

Según estos resultados, el tratamiento orgánicamente admisible más eficaz para control las malezas bajo la copa de pulasán fue el uso de sacos de yute. En términos de la fruta de pulasán, se encontró que en los árboles en los que se controló la maleza con sacos de yute produjeron frutas con un diámetro y un peso significativamente mayor que los árboles tratados con glifosato (Figuras 7 y 8), posiblemente porque mantiene un micro clima de humedad y no permite el crecimiento de malezas en los primeros 28 días después de colocarlo, reduciendo la interferencia de las malezas con el cultivo. Sin embargo, en los árboles que se controlaron las malezas con los sacos de yute produjeron 20% menos frutas que los árboles tratados con glifosato. En términos económicos, ese 20% menos en producción de frutas comerciales en el tratamiento del uso de sacos pudiera representar una diferencia de $10 menos al productor en posibles ganancias por árbol. Esto se debe al peso de la fruta, ya que comercialmente esta fruta se mercadea por su peso como fruta fresca. Para el año 2015, el precio promedio a nivel de finca

para el pulasán producido bajo los parámetros de agricultura convencional era de $6.45/Kg ($3.00/lb). Asumiendo que se cultiva el pulasán bajo condiciones orgánicas y controlando las malezas con sacos se pudiera aumentar el valor de la fruta para poder compensar la disminución en la producción. Con ese aumento en el valor se obtienen las mismas ganancias que producir bajo condiciones convencionales y se tiene una fruta producida bajo estándares orgánicos.

Por lo tanto, se recomienda el saco de yute ya que aunque acumula significativamente igual biomasa de malezas que el glifosato y el *trimmer*, su acumulación es significativamente menor comparada con los herbicidas orgánicos. Además de que utilizando el saco de yute se demostró que produjo las frutas de un mayor tamaño y peso. En términos económicos, los sacos de yute se pueden conseguir gratuitamente por lo exportadores de café a Puerto Rico, aunque pudiera reducir los ingresos en $10 por árbol comparado con utilizar glifosato, pudiera compensarse con que el agricultor pueda recibir la certificación de agricultor orgánico y el precio de su producto sea mayor y pueda generar más ingresos.

El que el tratamiento con sacos de yute haya producido las frutas con un diámetro y peso mayor a los demás tratamientos se puede deber a varios factores; primero, a que controla muy bien las malezas en los primeros 28 días luego de la colocación del mismo, lo cual elimina la competencia por nutrientes, agua y otros factores, ayudando en el desarrollo de la fruta; y finalmente, provee humedad necesaria para que el árbol lleve a cabo sus funciones fisiológicas sin pasar por estrés hídrico. Cabe señalar que en las observaciones de campo, el saco de yute a los 5 meses de haber sido colocado en el suelo para controlar las malezas el deterioro es bastante ya que se descompone y es degradado por los insectos, por lo que se debe reemplazar 2 veces al año.

Adicionalmente, según este estudio y siguiendo esta metodología, además de recomendar el uso de sacos de yute, se pudiera recomendar a agricultores con prácticas orgánicas el uso del *trimmer* para controlar las malezas ya que se demostró que la acumulación de biomasa con este tratamiento fue la menor de todos los tratamientos orgánicos.

6. LITERATURA CITADA

Abdel-Mawgoud, A., Tantaway, A., Hafez, M. M., & Habib, H. A. (2010). Seaweed Extract Improves Growth, Yield and Quality of Different Watermelon Hybrids. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 6(2): 161-168.

Abouziena, H. F., Omar, A. A., Sharma, S. D., & Singh, M. (2009). Efficacy Comparison of Some New Natural-Product Herbicides for Weed Control at Two Growth Stages. *Weed Technology*, 23:431-437.

Acadian Seaplants. (s.f.). *Products for plants.* Recuperado el 17 de octubre de 2014, de http://www.acadianseaplants.com/plant-growth-development-products/soil

Adam, P., & Williams, G. (2001). Dioecy, self-compatibility and vegetative reproduction in Australian subtropical rainforest trees and shrubs. *Cunninghamia*, 7(1): 89-100.

Agroforum UK. (s.f.). *Comcat.* Recuperado el 16 de octubre de 2014, de http://www.agraforumuk.org/product-information-data/

Asif, M., Usman, M., Fatima, B., Jaskani, M., & Khan, M. (2002). Fruit set and drop behaviour of three commercial cultivars of mango. *Pakistan Journal of Agricultural Science*, 39(2).

Baylis, A. D. (2000). Why glyphosate is a global herbicide: strengths, weaknesses and prospects. *Pest Management Science*, 56: 299-308.

Becker, M., & Johnson, D. (1998). Legumes as dry season fallow in upland rice-based systems of West Africa. *Biology and Fertility of Soils*, 27: 358-367.

BioIberica. (21 de May de 2014). *Amino Quelant K*. Recuperado el 24 de May de 2014, de http://www.bioiberica.com/Health_solutions/Bioavailable_nutrition/AminoQuelant_K/Plant_stress.html

Bogantes, A., & Mora, E. (2004). Factibilidad técnica de la utilización de cobertura vegetal en papaya (*Carica papaya* L.) mediante la aplicación localizada de herbicidas . *Agronomía Mesoamericana*, 15(2): 193-199.

Bozorgi, H. R. (2012). Effects of Foliar Spraying with Marine Plant Ascophyllum nodosum Extract and Nano Iron Chelate Fertilizer on Fruit Yield and Several Attributes of Eggplant (*Solanum melongena* L.). *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 7(5): 357-362.

Carlo, S. (2009). *Promoting the Use of Tropical Legumes as Cover Crops in Puerto Rico.* Mayaguez: University of Puerto Rico.

Carmen, J.D., Gernat, A., Myhrman, R., & Carew, L. (1999). Evaluation of Raw and Heated Velvet Beans (*Mucuna pruriens*) as Feed Ingredients for Broilers. *Poultry Science*, 78:866–872.

Carvalho, L. B., Alves, P. L., Bianco, S., & Prado, R. D. (2012). Physiological dose-response of Coffee (*Coffea arabica* L.) plants to glyphosate depends on growth stage. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(2): 182-187.

Chandran, R., Stenger, M., & Mandal, M. (2003). Effect of vinegar on potato weed control. *(Abstract) Proc. Northeast Weed Science Society*, 58:82.

Clouse, S. D., & Sasse, J. M. (1998). Brassinosteroids: Essential Regulators of Plants Growth and Development. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49: 427-451.

Coffman, C., Radhakrishnan, J., & Teasdale, J. (2005). Corn and soybean responses to basal applications of vinegar . *(Abstract) Proc. Northeast Weed Science Society*, 59:79.

Copping, L. G., & Duke, S. O. (2007). Review: Natural Products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Management Science*, 63: 524-554.

Cronje, R., & Mostert, P. (2010). Evaluation of Maxim® (3,5,6-TPA) for increase in yield, fruit size and retention in Litchi, cv HLH Mauritius, in South Africa. *Acta Horticulturae*, 863: 425-432.

Culpepper, A. S., Grey, T. L., Vencill, W. K., Kichler, J. M., Webster, T. M., Brown, S. M., y otros. (2006). Glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) confirmed in Georgia . *Weed Science*, 54: 620-626.

Cultivos Ecológicos y Protección Ambiental. (2011). *Comcat*. Recuperado el 20 de abril de 2013, de Biocatalizador Inductor de Resistencia: http://www.cepasa.cl/index.php?option=com_content&view=article&id=14&Itemid=26

Cultivos Ecológicos y Protección Ambiental. (s.f.). *ComCat*. Recuperado el 24 de May de 2014, de http://www.cepasa.cl/index.php?option=com_content&view=article&id=14&Itemid=26&showall=1

Curran, W., Lingenfelter, D., & Muse, C. (2003). Vinegar and clove oil for non-selective control of annual weeds. *(Abstract) Proc. Northeast Weed Science Society*, 88:21.

D.M., A. E.-F., Mohamed, S. A., & Ismail, O. M. (2008). Effect of Biostimulants, Ethrel, Boron and Potassium Nutrient on Fruit Quality of "Costata" Persimmon. *Australian Journal of Basic and Applied Science*, 2(4): 1432-1437.

D.M., A. E.-F., Mohamed, S. A., & Ismail, O. M. (2008). Effect of Biostimulants, Ethrel, Boron and Potassium Nutrient on Fruit Quality of "Costata" Persimmon. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(4): 1432-1437.

Dayan, F. E., Cantrell, C. L., & Duke, S. O. (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17: 4022–4034.

Dayan, F. E., Howell, J., Marais, J. P., Ferreira, D., & Koivunen, M. (2011). Manuka Oil, A Natural Herbicide with Preemergence Activity. *Weed Science*, 59: 464-469.

Departamento de Agricultura de Puerto Rico. (9 de abril de 2012). *Estadistícas*. Recuperado el 15 de abril de 2013, de Resumen Consumo 2010 Preliminar (abril 2012): http://www.agricultura.gobierno.pr/

Departamento de Agricultura de Puerto Rico. (julio de 2013). *Compendio Estadístico 2011*. Recuperado el 7 de mayo de 2014, de http://www2.pr.gov/agencias/Agricultura/estad%C3%ADsticas/Documents/Estad%C3%ADsticas/Compendio%20Estadistico%202011.pdf

Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M., González, L., Tablada, M., & Robledo, C. W. (2010). *InfoStat Software Estadístico*. Recuperado el 24 de May de 2014, de http://www.infostat.com.ar/index.php?mod=page&id=15

Dill, G. M., CaJacob, C. A., & Padgette, S. R. (2008). Glyphosate-resistant crops: adoption, use and future considerations. *Pest Management Science*, 64: 326-331.

Donald, W. W. (2000). Alternative Ways to Control Weeds Between Rows in Weeded Check Plots in Corn (Zea mays) and Soybean (*Glycine max*) . *Weed Technology*, 14:36-44.

Esqueda-Esquivel, V., Rosas-González, X., & Becerra-Leor, E. (2010). Evaluación de herbicidas residuales para el control de malezas en guanábana (*Annona muricata* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* , 16(1):5-12.

Evans, G. J., Bellinder, R. R., & Goffinet, M. C. (2009). Herbicidal Effects of Vinegar and a Clove Oil Product on Redroot Pigweed (*Amaranthus retroflexus*) and Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Weed Technology*, 23:292–299.

Fathy, M., Gabr, M., & Shall, S. E. (2010). Effect of Humic Acid Treatments on 'Canino' Apricot Growth, Yield and Fruit Quality. *New York Science Journal*, 3(12): 109-115.

Fernandez-Cornejo, J., Nehring, R., Osteen, C., Wechsler, S., Martin, A., & Vialou, A. (2014). *Pesticide Use in U.S. Agriculture: 21 Selected Crops, 1960-2008.* Economic Research Service: U.S. Department of Agriculture.

Flory, S. L., & Lewis, J. (2009). Nonchemical Methods for Managing Japanese Stiltgrass (*Microstegium vimineum*). *Invasive Plant Science and Management* , 2(4): 301-308.

Fujioka, S., & Yokota, T. (2003). Biosynthesis and Metabolism of Brassinosteroids. *Annual Review of Plant Biology*, 54: 137-164.

Fuentes, J. L. (2010). Efectos de bioestimulantes y coberturas de suelo en el rendimiento de sandía y supresión de malezas en un sistema con manejo orgánico. *Universidad de Puerto Rico*, 86.

Georgis, R. (2003). *Efficacy and speed of control of Matran 2 with Humasol and Stylet oil against eight weed species under field conditions.* Elmhurst, IL: AgroSci Advanced Agricultural Technologies. Report 866 p.7.

Global Organics. (2012). *BioFlora Nature Knows Best*. Recuperado el 24 de May de 2014, de http://www.bioflora.com/

Goenaga, R., & Jenkins, D. (2011). Yield and Fruit Quality Traits of Rambutan Cultivars Grafted onto a Common Rootstock and Grown at Two Locations in Puerto Rico. *HortTechnology*, 21(1) 136-140.

Granatstein, D., & Mullinix, K. (2008). Mulching Options for Northwest Organic and Conventional Orchards. *HortScience*, 43(1): 45-50.

Grassbaugh, E. M., Regnier, E. E., & Bennett, M. A. (2004). Comparison of Organic and Inorganic Mulches for Heirloom Tomato Production. *Acta Horticulturae*, 638: 171-176.

Greer, L., & Dole, J. M. (2003). Aluminium Foli, Aluminium-painted, Plastic and Degradable Mulches Increase Yields and Decrease Insect-verctored Viral Diseases of Vegetables. *Hort Technology*, 13(2): 276-284.

Hairiah, K., Noordwijk, M. V., & Setijono, S. (1993). Tolerance to acid soil conditions of the velvet beans *Mucuna pruriens* var. utilis and *M. deeringiana*. *Plant and Soil*, 152: 175-185.

Hauser, S., & Nolte, C. (2002). Biomass production and N fixation of five *Mucuna pruriens* varieties and their effects on maize yields in the forest zone of Cameroon. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165: 101-109.

Huang, H. (1995). Advances in fruit physiology of the arillatefruits of litchi and longan. *Annual Review Horticultural Science*, 1: 107-120.

Hüster, T. (2011). Growth and Yields Response of Selected Crops to Treatment With Comcat . *University of the Free State, Bloemfontein 9300, Republic of South Africa*, 1-157.

Jiménez, F., Fernández, P., Rosario, J., Gonzales, F., & Prado, R. D. (2014). Primer caso de resistencia al glifosato en la República Dominicana. *Revista Agropecuaria y Forestal APF*, (3)1: 17-22.

Johnson, W. G., Li, J., & Wait, J. D. (2003). Johnsongrass Control, Total Nonstructural Carbohydrates in Rhyzomes, and Regrowth After Application of Herbicides Used in Herbicide-Resistant Corn (*Zea mays*). *Weed Technology*, 17:36-41.

Kauschmann, A., Jessop, A., Koncz, C., Szekeres, M., Willmitzer, L., & Altmann, T. (1996). Genetic evidence for an essential role of brassinosteroids in plant development. *The Plant Journal*, 9(5): 701-713.

Khan, W., Rayirath, U. P., & Subramanian, S. (2009). Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28:386–399.

Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G.S. (2008). Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. *Biopesticides International*, 4(1): 63–84.

Kumar, M., Kumar, R., & Singh, R. (2009). Effect of micronutrients and plant growth regulators on fruiting of litchi. *International Journal of Agricultural Science*, 5(2): 521-524.

Kunicki, E., Grabowska, A., Sękara, A., & Wojciechowska, R. (2010). The effect of cultivar type, time of cultivation, and biostimulant treatment on the yield of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Folia Horticulturae*, 22/2: 9-13.

Lam, H., Coschigano, K., Oliveira, I., Melo-Oliveira, R., & Corruzzi, G. (1996). The Molecular-Genetics of Nitrogen Assimilation Into Amino Acids in Higher Plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular*, 47: 569-593.

Landrigan, M., Morris, S. C., & McGlasson, B. W. (1996). Postharvest Browing of Rambutan is a Consequence of Water Loss. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 121(4): 730-734.

Landrigan, M., Sarafis, V., Morris, S., & McGlasson, W. (1994). Structural aspects of rambutan fruits and their relation to postharvest browning. *Journal of Horticultural Science*, 69: 571-579.

Linares, J., Scholberg, J., Boote, K., Chase, C. A., Ferguson, J. J., & McSorley, R. (2008). Use of the Cover Crop Weed Index to Evaluate Weed Suppression by Cover Crops in Organic Citrus Orchards. *HortScience*, 43(1).

Lovatt, C. J. (1990). Factors Affecting Fruit Set/Early Fruit Drop in Avocado. *California Avocado Society 1990 Yearbook*, 74: 193-199.

Malik, A. U., & Singh, Z. (2006). Improved fruit retention, yield and fruit quality in mango with exogenous application of polyamines. *Scientia Horticulturae*, 110: 167-174.

Más, E. G., & Lugo-Torres, M. d. (2013). *Malezas Comunes en Puerto Rico e Islas Vírgenes Americanas/ Common Weeds in Puerto Rico and U.S. Virgin Islands* . USDA Servicio de Conservación de Recursos Naturales/ Natural Resources Conservation Service. Área del Caribe/Carribbean Area: Universidad de Puerto Rico/ University of Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayaguez/Mayaguez Campus.

McConchie, C., & Batten, D. (1991). Fruit set in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.). Variation between flowers, panicles and tress. *Australian Journal of Agricultural Research* , 42(7): 1163-1172.

Melkamu, M., Seyoum, T., & Woldetsadik, K. (2008). Effects of pre- and post harvest treatments on changes in sugar content of tomato. *African Journal of Biotechnology*, 8 (5): 860-872.

Merwin, I., Rosenberger, D., Engle, C., Rist, D., & Fargione, M. (1995). Comparing Mulches, Herbicides, and Cultivation as Orchard Groundcover Management Systems. *Hort Technology*, 5(2): 151-158.

Mladenova, Y., Maini, C., Mallegni, P., Goltsev, V., Vladova, R., Vinarova, K., y otros. (1998). An amino-acid based biostimulant reducing osmostress metabolic changes in maize. *Agro-food Industry. Hi-Tech*, 9:18-22.

Morales-Payan, J. P. (2010). Exploring the Unexplored in the Caribbean: Traditional and Emerging Fruit Crops in Puerto Rico, the Dominican Republic, and Haiti. *Journal of the American Pomological Society*, 64(1): 14-23.

Morales-Payan, J. P., & Stall, W. (2004). Passion Fruit (*Passiflora edulis*) Transplant Production is Affected by Selected Biostimulants. *Proc. Fla. State Hort. Soc.*, 117: 224-227.

Morales-Payan, J. P., & Stall, W. M. (2003). Papaya (*Carica papaya*) response to foliar treatments with organic complexes of peptides and amino acids . *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 116: 30-32.

Nandula, V. K. (2010). *Glyphosate Resistance in Crops and Weeds: History, Development, and Management.* New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.

Nandula, V. K., Reddy, K. N., Duke, S. O., & Poston, D. H. (2005). Glyphosate-Resistant Weeds: Current Status and Future Outlook. *Outlooks on Pest Management*, 183-187.

National Weather Service. (19 de February de 2013). *Mayaguez Normals*. Recuperado el 7 de May de 2014, de http://www.srh.noaa.gov/sju/?n=climo_mayaguez

National Weather Service. (5 de November de 2013). *Mean Annual Rainfall 1981-2010- Puerto Rico*. Recuperado el 7 de May de 2014, de http://www.srh.noaa.gov/sju/?n=mean_annual_precipitation2

Natural Resources Conservation Service. (2015). *Custom Soil Resource Report for Mayaguez Area, Puerto Rico Wester Part.* Mayaguez, Puerto Rico: United States Department of Agriculture.

Nuñez-Elisea, R. (1985). Flowering and Fruit Set of a Monoembryonic and a Polyembryionic Mango as Influenced by Potassium Nitrate Sprays and Shoot Decapitation. *Proceedings of Florida State Horticultural Society*, 98: 179-183.

Organic Crop Protectants. (2011). *Biostimulants*. Recuperado el 24 de May de 2014, de http://www.ocp.com.au/products.aspx?id=26

Paradikovic, N., Vinkovic, T., Vrcek, I. V., Zuntar, I., Bojic, M., & Medic-Saric, M. (2011). Effect of natural biostimulant on yield and nutritional quality: an example of sweet yellow pepper (*Capsicum annuum* L.) plants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 2146-2152.

PEREZ, A., & KOGAN, M. (2003). Glyphosate-resistant *Lolium multiflorum* in Chilean orchards. *European Weed Research Society*, 43: 12–19.

Pérez-Nieto, J., Valdez-Velarde, E., Roman, M. H.-S., & Ordaz-Chaparro, V. (2005). Rain, runoff, and soil erosion in shaded coffee agroforestry sustems. *Agrociencia*, 39: 409-418.

Pimentel, D., Zuniga, R., & Morrison, D. (2005). Update on the environmental and economic costs associated with allien-invasive species in the United States. *Ecological Economics* , 52: 273-288.

Poonpaiboonpipata, T., Pangnakorna, U., Suvunnamek, U., Teerarakb, M., Charoenyingc, P., & Laosinwattana, C. (2013). Phytotoxic effects of essential oil from *Cymbopogon citratus* and its physiological mechanisms on barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*). *Industrial Crops and Products*, 403-407.

Pullaro, T. C., Marino, P. C., Jackson, D. M., Harrison, H. F., & Keinath, A. P. (2006). Effects of Killed cover crop mulch on weeds, weed seeds, and herbivores. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 97-104.

Radhakrishnan, J., Teasdale, J., & Coffman, C. (2002). Vinegar as a potencial herbicide for organic agriculture. *(Abstract) Proc. Northeast Weed Science Society*, 57:63-64.

Rai, V. (2002). Role of amino acids in plant responses to stresses. *Biologia Plantarium* , 45(4): 481-487 .

Reddi, C. S., Reddi, E., Reddi, N., & Reddi, P. (1983). Reproductive Ecology of Sapindus emarginatus Vahl. (Sapindaceae). *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 49B(1): 57-72 .

Reddy, K. N., Nandula, V. K., Duke, S. O., & Poston, D. H. (2005). Glyphosate-resistant weeds: Current Status and Future Outlook. *Outlooks on Pest Management*, 183-187.

Rivero, J. A., & Brunner, B. R. (2007). Pulasán. En J. A. Rivero, & B. R. Brunner, *Arboles frutales exóticos y poco conocidos en Puerto Rico* (págs. 294-296). San Juan: La Editorial Universidad de Puerto Rico.

Robles, W., Madsen, J. D., & Wersal, R. M. (2010). Potencial for Remote Sensing to Detect and Predict Herbicide Injury on Waterhyacinth (*Eichhornia crassipes*). *Invasive Plant Science and Management*, 3:440-450.

Ruiz-Zapata, T., & Kalin-Arroyo, M. T. (1978). Plant Reproductive Ecology of a Secondary Deciduous Tropical Forest in Venezuela. *Biotropica*, 10(3): 221-230.

Salakpetch, S. (2000). Mangosteen Production in Thailand. *Tenth Annual International Tropical Fruit Conference* (págs. 18-24). Hilo, Hawaii: Mike A. Nagao.

Sarojnee, D. Y., Navindra, B., & Chandrabose, S. (2009). Effect of naturally occurring amino acid stimulants on the growth and yield of hot peppers (*Capsicum annum* L.). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 5(1): 414 - 424.

Schnabl, H., Roth, U., & Friebe, A. (2001). Brassinosteroid-induced stress tolerances of plants. *Phytochemistry*, 169-183.

Shrestha, A., Moretti, M., & Mourad, N. (2012). Evaluation of Thermal Implements and Organic Herbicides for Weed Control in a Nonbearing Almond (*Prunus dulcis*) Orchard. *Weed Technology*, 26(1): 110-116.

Spann, T. M., & Little, H. A. (2011). Applications of a Commercial Extract of the Brown Seaweed *Ascophyllum nodosum* Increases Drought Tolerance in Container-grown 'Hamlin' Sweet Orange Nursery Trees. *Hort Science*, 46(4): 577-582.

Stella, J., & Ryan, M. (2004). Glyphosate herbicide formulation: A potentially lethal ingestion. *Emergency Medicine Australasia*, 16, 235–239.

Sullivan, T. P., & Sullivan, D. S. (2003). Vegetation management and ecosystem disturbance: impact of glyphosate herbicide on plant and animal diversity in terrestrial systems. *Environmental Reviews*, 11: 37–59.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology, Third Edition.* Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc.

Thakur, S., Kumar, R., Brahmachari, V., & Sharma, R. (1990). Effect of different growth regulators on fruit-set, retention and size of litchi. *Indian Journal of Horticulture*, 47(3): 305-308.

Timmons, F. L. (2005). A History of Weed Control in the United States and Canada. *Weed Science*, 53:748–761.

Tindall, H. (1994). *Rambutan cultivation.* Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Trevisan, R., Goncalves, E., Goncalves, R., Antunes, L., & Herter, F. (2008). Influencia do Plastico Branco, Poda Verde e Amino Quelant-K na Qualidade de Pessegos 'Santa Aurea'. *Bragantia*, 67(1): 243-247.

United States Environmental Protection Agency. (2011). *Pesticide Industry Sales and Usages; 2006 and 2007 Market Estimates.* Washington D.C., USA: Office of Pesticide Programs.

USDA Organic. (2 de enero de 2009). *Reglamento Nacional Orgánico.* Recuperado el 14 de agosto de 2014, de http://apps.ocia.org/ResourceCenter/Training/NOP_SP/8_NOP_Norma_09_SP.pdf

Valles, B., & Castillo, E. (2006). Experiencias en el establecimiento de *Arachis pintoi* Krapov & W.C. Greg. como cobertura en cítricos de Veracruz, México. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 10(1): 55-72.

Viti, R., & Bartolini, S. (1998). Effets de certains biostimulants sur la nouaison de l'amandier. *Almond and Pistacio Mediterranean Res. Group*, 10:35-40.

Viti, R., Bartolini, S., & Vitagliano, C. (1989). Growth regulators on pollen germination in olive . *Acta Horticulturae*, 286: 227-230.

Volz, A. (2000). Isolierung und identifizierung aktiver verbindungen aus *Lychnis viscaria*. *Unpublished PhD dissertation*, Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universitat Bonn, Germany.

Ward, J. S., & Mervosh, T. L. (2012). Nonchemical and Herbicides Treatments for Management of Japanese Stiltgrass (*Microstegium vimineum*). *Invasive Plant Science and Management*, 5(1): 9-19.

Workneh, T. S., Osthoff, G., & Steyn, M. S. (2009). Integrated agrotechnology with preharvest ComCat® treatment, modified atmosphere packaging and forced ventilation evaporative cooling of tomatoes. *African Journal of Biotechnology*, 8 (5): 860-872.

Workneh, T. S., Osthoff, G., & Steyn, M. S. (2011). Physiological and chemical quality of carrots subjected to pre-and postharvest treatments. *African Journal of Agricultural Research*, 6(12): 2715-2724.

Young, S. L. (2004). Natural Product Herbicides for Control of Annual Vegetation Along Roadsides. *Weed Technology*, 18:580-587.

Zapata, T. R., & Arroyo, M. T. (1978). Plant Reproductive Ecology of Secondary Deciduous Tropical Forest in Venezuela. *Biotropica*, 10(3): 221-230.

Zodape, S. T., Gupta, A., Bhandari, S. C., Rawat, U. S., Chaudhary, D. R., Eswaran, K., y otros. (2011). Foliar application of seaweed sap as biostimulant for enhancement of yield and quality of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Scientific & Industrial Research*, 70: 215-219.

7. APENDICE

A. Análisis de suelo de predio del experimento

Muestra	pH H_2O	pH $CaCl_2$	$NH4^+$ (ug/g)	$NO3^-$ (ug/g)	P (ug/g)	K (ug/g)	Ca (ug/g)	Mg (ug/g)	Fe (ug/g)	Mn (ug/g)	Zn (ug/g)	Al (ug/g)	%CO	%MO
1	5.56	5.06	ND	ND	5.049	101.36	1570.39	453.5	59.76	87.92	3.009	10.149	0.77	1.33
2	5.62	5.04	ND	7.65	7.209	72.62	1608.39	483.9	48.51	62.57	1.564	13.579	0.59	1.02
3	6.01	5.4	ND	15.3	0	62.83	2289.39	457.2	55.43	127.6	2.424	4.587	1.06	1.83
4	6.08	5.35	ND	7.65	0	41.38	2125.39	475	49.86	80.27	2.376	4.745	0.87	1.5

Análisis realizado por el laboratorio de química de la Estación Experimental de Agricultura Tropical (USDA-TARS) en Mayagüez, Puerto Rico

Leyenda:

Muestra 1- Predio de malezas 0-20 cm (0-8”) profundidad

Muestra 2- Predio de malezas 20-40 cm (8-16”) profundidad

Muestra 3- Predio de bioestimulantes 0-20 cm (0-8”) profundidad

Muestra 4- Predio de bioestimulantes 20-40 cm (8-16”) profundidad