

# PRODUCCIÓN DE MAÍZ DULCE CON LEGUMINOSAS DE COBERTURA Y EFECTOS ALELOPÁTICOS EN CULTIVOS AGRONÓMICOS

Por

Eliana Andrea Martínez Mera

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

MAESTRO EN CIENCIAS

en

Agronomía

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO

RECINTO DE MAYAGÜEZ

2014

Aprobado por

\_\_\_\_\_  
James S. Beaver, Ph.D.  
Miembro del Comité Graduado

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Hugo Cuevas, Ph.D.  
Miembro del Comité Graduado

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Elide Valencia Chin, Ph.D.  
Presidente del Comité Graduado

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Esbal Jiménez Cabán, Ph.D.  
Representante de Estudios Graduados

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Elvin Román Paoli, Ph.D.  
Director del Departamento

\_\_\_\_\_  
Fecha

## ABSTRACT

Sustainable agriculture requires the integration of organic matter, crop rotation and association with legumes to reduce the use of inorganic fertilizer. Therefore, three studies were conducted to compare the effects of two crimped legumes (CL), dwarf velvet bean (*Mucuna pruriens*), and sunn hemp (*Crotalaria juncea* cv. Tropic sun) vs. conventional planting (CT; plow and disk passes) on ear yield and size, insect damage and seed yield of the sweet corn (*Zea mays* L. cv. Suresweet 2011). Experiments were conducted for three planting dates: April and July 2013, and February 2014. Greater biomass and N (nitrogen) contribution found for July (summer); might be related to the photosensitive responses of CL. In fact, dwarf velvet mucuna produced 1.66 Mg ha<sup>-1</sup> and 45.54 Kg ha<sup>-1</sup> compared to sunn hemp cv. Tropic sun 0.96 Mg ha<sup>-1</sup> and 26.33 Kg ha<sup>-1</sup> of dry matter and N, respectively. Contrast analysis between CL vs. CT and dwarf velvet bean vs. sunn hemp cv. Tropic sun showed no significant differences (P>0.05) in the first planting date on ear yield. However, for the second planting, dwarf velvet bean surpassed (P<0.05) sunn hemp cv. Tropic sun yield by 4.09 Mg ha<sup>-1</sup>. CT ear yield was better (P<0.05) than the CL (difference >3.63 Mg ha<sup>-1</sup>) during the third planting. Marketable seed yield showed the same behavior as the ear yield across planting dates. Damage (1-2 cm) caused by *Helicoverpa zea* was not significantly different (P>0.05) among the three planting dates in the three systems. Despite the differences in yields with seeding systems, dwarf velvet bean yields were uniform across planting dates.

Two additional studies assessed allelopathic effects of aqueous extracts (AE; 3.3% w/v) and crushed dead mulch legumes [CDML; sunn hemp cv. Tropic sun, jack bean. (*Canavalia ensiformis*) and pigeon pea (*Cajanus cajan* cv. Lazaro) over seven tropical crops (maíz cv. Mayorbela 2011, *Sorghum bicolor*, *Phaseolus vulgaris* cv. Verano, *Glycine max*, *Vigna unguiculata* y *Lactuca sativa* cv. Nevada) in the laboratory and greenhouse, respectively. In the laboratory, tropical crop x AE interaction was found after 7 days of germination. All the crops exhibited either inhibition or stimulation on shoot or radicle growth. There was also a tropical crop x AE interaction in radicle size, characterized by higher percentages of inhibition, indicating an allelopathic effect. The AE showed effects on both inhibition and stimulation. Particularly, the AE of jack bean had higher percentages of inhibition in coleoptile, hypocotyl, and radicle growth, although the effect of pigeon pea cv. Lazaro AE was higher in radicle dicots. Sunn hemp cv. Tropic sun AE effects were mostly associated with percentages of stimulation. For the greenhouse studies, significant ( $P < 0.05$ ) CDML effects on germination index, seedling vigor, germination energy, and dry weight were observed on corn and soybean. However, no CDML effect was observed on sorghum and pigeon pea cv. Lazaro seedling development. The results showed that, both AE and CMLT had allelopathic effects on tropical crops. Therefore, adequate combination of legumes and agronomic crops can be used to reduce the use of inorganic fertilizer, however, some interference can occur which should be verified in field studies.

## RESUMEN

La agricultura sostenible requiere la integración de la materia orgánica, la rotación de cultivos y la asociación con leguminosas para reducir el uso de fertilizantes inorgánicos. Por lo tanto, se llevaron a cabo tres estudios: se comparó el efecto de dos leguminosas apisonadas (LA) mucuna enana (ME; *Mucuna pruriens*) y crotalaria (TS; *Crotalaria juncea* cv. Tropic sun) vs. siembra convencional (SC; arado y pases de disco) y su efecto sobre el rendimiento y tamaño de mazorca verde, daño por insectos y rendimiento de semilla del maíz (*Zea mays* L. cv. Suresweet 2011). Los experimentos fueron conducidos durante tres fechas de siembra: Abril y Julio 2013 y Febrero 2014. Se encontró mayor aporte de biomasa y N (nitrógeno) en Julio (verano), posiblemente relacionado con las respuestas fotosensitivas de las LA. De hecho, la ME produjo 1.66 Mg ha<sup>-1</sup> y 45.54 Kg ha<sup>-1</sup> en comparación con cv. Tropic sun 0.96 Mg ha<sup>-1</sup> y 26.33 Kg ha<sup>-1</sup> de materia seca y N, respectivamente. Análisis de contrastes entre LA vs. SC y comparaciones entre ME vs. TS, no mostraron diferencias significativas (P>0.05) en la primera siembra en el rendimiento de mazorca fresca. Sin embargo, en la segunda siembra, ME sobrepasó (P<0.05) a TS con rendimientos de 4.09 Mg ha<sup>-1</sup> de mazorca fresca. El rendimiento de SC fue mejor (P<0.05) que LA (diferencia >3.63 Mg ha<sup>-1</sup>) durante las tres fechas de siembra. El rendimiento de semilla comerciable presentó el mismo comportamiento que el rendimiento de mazorca fresca durante las tres fechas de siembra. El daño de la mazorca (1-2 cm) ocasionado por *Helicoverpa zea* no presentó diferencias significativas (P>0.05). A pesar de las diferencias en los

rendimientos con sistemas de siembra, ME proporcionó rendimientos más uniformes en las tres siembras.

Dos estudios adicionales evaluaron los efectos alelopáticos de extractos acuosos (EA; 3.3% m/v) y la cobertura muerta triturada de leguminosas [CMTL; crotalaria cv. Tropic sun, canavalia (*Canavalia ensiformis*) y gandul cv. Lázaro (*Cajanus cajan*)] en siete cultivos tropicales (maíz cv. Mayorbela 2011, *Sorghum bicolor*, *Phaseolus vulgaris* cv. Verano, *Glycine max*, *Vigna unguiculata* y *Lactuca sativa* cv. Nevada) en laboratorio e invernadero, respectivamente. En laboratorio se registró una interacción del cultivo tropical x EA en el 7-d de germinación. Todos los cultivos presentaron inhibición o estimulación en las partes aéreas de la plántula o la radícula. De igual manera, se presentó interacción entre cultivo tropical x EA en el tamaño de radícula, caracterizada por mayores porcentajes de inhibición, comprobando efecto alelopático. Los EA también mostraron efectos en inhibición o estimulación. Particularmente, el EA de canavalia presentó mayores porcentajes de inhibición en coleóptilo, hipocotiledón y radícula, aunque el efecto de gandul cv. Lázaro fue mayor en la radícula de las dicotiledóneas. El EA de crotalaria cv. Tropic sun estuvo mayormente asociado con porcentajes de estimulación. En el experimento del invernadero, los efectos de CMLT fueron significantes ( $P < 0.05$ ) en los índices de germinación, vigor de la semilla, energía de geminación y peso seco en maíz y soya. Sin embargo, los cultivos de sorgo y gandul cv. Lázaro no exhiben ninguna perturbación en desarrollo de la plántula. Los resultados mostraron que tanto los EA como la CMLT ejercen diferentes efectos alelopáticos en los cultivos tropicales. Por lo tanto, la combinación adecuada de las leguminosas y cultivos agronómicos se puede utilizar para reducir el uso de fertilizantes

inorgánicos, sin embargo, algunas leguminosas pueden producir interferencia que debería verificarse en estudios de campo.

**© Eliana Andrea Martínez Mera, 2014**

## DEDICATORIA

*Este trabajo está dedicado a las personas que con una sonrisa, una mirada, un abrazo, un consejo, un beso o el silencio lo hicieron respuesta y me han ayudado y fortalecido en mi formación como mujer y profesional.*

*Esta nueva meta es para ustedes.....Gracias!!!*



## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Elide Valencia por su apoyo incondicional durante la maestría, por sus consejos, paciencia, dedicación, acompañamiento y enseñanzas tanto en las clases como en el campo. Además de su excelente labor como advisor es un gran amigo.

A los miembros del comité Dr. James Beaver y Dr. Hugo Cuevas por hacer parte de la investigación, la disposición en aclarar las dudas y la colaboración en el desarrollo de este documento.

A la EEA Isabela especialmente a Cuco y los trabajadores por su buena disposición en colaborar durante el desarrollo del trabajo de campo.

Al Dr. Feiko Ferwerda por facilitar las instalaciones del laboratorio para desarrollar la investigación.

Al Dr. Hugo Ramírez y Nichole Cherry por su hospitalidad y colaboración en los análisis químicos en AgriLife – Texas, Stephenville.

A los estudiantes graduados: Jorge Fuentes, Johana Parreño, Yolima Arenas, Natalia Cerón y Edgar Quija por su gran ayuda tanto en campo como en laboratorio durante la investigación.

A mi familia por el apoyo incondicional y a mis compañeros extranjeros quienes compartieron muchos momentos agradables.

## TABLA DE CONTENIDO

ABSTRACT .....	ii
RESUMEN .....	iv
DEDICATORIA.....	viii
AGRADECIMIENTOS .....	ix
TABLA DE CONTENIDO .....	x
LISTA DE TABLAS.....	xii
LISTA DE FIGURAS .....	xv
1 INTRODUCCIÓN.....	1
2 OBJETIVOS.....	5
3 REVISIÓN DE LITERATURA .....	6
3.1 Importancia y beneficio de forrajes como cultivos de cobertura y abonos verdes.....	6
3.2 Efecto en la fertilización, rendimiento y calidad de cultivos tropicales utilizando plantas de cobertura.....	9
3.3 Actividad alelopática de plantas leguminosas y no leguminosas.....	13
3.3.1 Taninos.....	16
3.3.2 Efecto de alelopatía en la germinación y morfología radicular.....	17
4 EVALUACIÓN DE SISTEMAS DE SIEMBRA LEGUMINOSAS APISIONADAS Y SISTEMA CONVENCIONAL.....	24
4.1.1 Materiales y métodos.....	24
4.1.2 Análisis estadístico .....	26
4.1.3 Resultados y Discusión .....	27
4.1.4 Conclusión.....	43

5	EVALUACIÓN ALELOPÁTICA EN CULTIVOS TROPICALES UTILIZANDO EXTRACTO ACUOSO DE LEGUMINOSAS.....	44
5.1.1	Materiales y métodos.....	44
5.1.2	Análisis estadístico .....	46
5.1.3	Resultados y Discusión .....	47
5.1.4	Conclusión.....	66
6	EVALUACIÓN ALELOPÁTICA EN CULTIVOS TROPICALES UTILIZANDO COBERTURA MUERTA TRITURADA DE LEGUMINOSAS.....	68
6.1.1	Materiales y métodos.....	68
6.1.2	Análisis Estadístico.....	70
6.1.3	Resultados y Discusión .....	71
6.1.4	Conclusión.....	82
7	LITERATURA CITADA .....	84

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Temperatura y precipitación mensual total durante el año 2012, 2013 y 2014 en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.....	29
Tabla 2. Propiedades químicas de los tres suelos utilizados para las evaluaciones del sistema de maíz con leguminosas cobertoras durante el 2013 y 2014 en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico. ....	30
Tabla 3. Análisis de varianza de las leguminosas mucuna enana ( <i>Mucuna pruriens</i> ) y crotalaria ( <i>Crotalaria juncea</i> cv. Tropic sun) para la producción de biomasa y contenido de N evaluado en los meses de Marzo, Junio y Diciembre de 2013, en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico. ....	31
Tabla 4. Producción de biomasa ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) y el contenido de N ( $\text{Kg ha}^{-1}$ ) de las leguminosas mucuna enana ( <i>Mucuna pruriens</i> ) y crotalaria ( <i>Crotalaria juncea</i> cv. Tropic sun) evaluado en tres fechas de siembra durante el 2013 en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico. ....	32
Tabla 5. Interacción del rendimiento de biomasa ( $\text{Mg ha}^{-1}$ ) de las leguminosas ( <i>Mucuna pruriens</i> ) y crotalaria ( <i>Crotalaria juncea</i> cv. Tropic sun) evaluada en tres fechas de siembra durante el 2013 en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.	33
Tabla 6. Interacción N aportado ( $\text{Kg ha}^{-1}$ ) de las leguminosas mucuna enana ( <i>Mucuna pruriens</i> ) y crotalaria ( <i>Crotalaria juncea</i> cv. Tropic sun) evaluada en tres fechas de siembra durante el 2013 en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.	33
Tabla 7. Análisis de varianza para el rendimiento y tamaño de mazorca fresca, y rendimiento de semilla de maíz dulce cv. Suresweet 2011 evaluado en tres fechas de siembra con leguminosas y siembra convencional. ....	36
Tabla 8. Contrastes de la interacción fecha de siembra x sistema de siembra del maíz dulce cv. Suresweet 2011 para el rendimiento de mazorca fresca. ....	37
Tabla 9. Contrastes de la interacción fecha de siembra x sistema de siembra del maíz dulce cv. Suresweet 2011 para el tamaño de mazorca fresca. ....	39
Tabla 10. Contrastes de la interacción fecha de siembra x sistema de siembra del maíz dulce cv. Suresweet 2011 para el rendimiento de semilla comerciable. ....	40
Tabla 11. Análisis de varianza del porcentaje de germinación de los siete cultivos tropicales utilizando extracto acuoso de leguminosas.....	47

Tabla 12. Porcentajes de germinación de los siete cultivos tropicales evaluados en condiciones de laboratorio. ....	49
Tabla 13. Porcentajes de germinación en el cuarto día de los siete cultivos tropicales con cada extracto acuoso de leguminosa evaluados en condiciones de laboratorio. ...	50
Tabla 14. Porcentajes de germinación en el séptimo día de los siete cultivos tropicales con cada extracto acuoso de leguminosa evaluados en condiciones de laboratorio. ...	51
Tabla 15. Porcentajes de germinación en los extractos acuosos de leguminosas y agua destilada evaluados en condiciones de laboratorio.....	53
Tabla 16. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición o estimulación en el crecimiento de radícula, coleóptilo e hipocotiledón para gramíneas y leguminosas en extracto acuoso de leguminosa.....	54
Tabla 17. Porcentajes de inhibición de los extractos acuosos de leguminosas en monocotiledóneas y cotiledóneas. ....	55
Tabla 18. Porcentaje de taninos condensados (ECT, PBT, FBT, TTC) y proteína precipitable (PPP) de tanino condensado de leguminosas con seis semanas después de plantadas.....	65
Tabla 19. Índices de germinación evaluados para determinar efectos alelopáticos en cultivos tropicales.....	70
Tabla 20. Análisis de varianza de los porcentajes de germinación de los siete cultivos tropicales utilizando cobertura muerta triturada de leguminosas. ....	72
Tabla 21. Promedios de los porcentajes de germinación sin cobertura y las cobertoras muertas trituradas de leguminosas evaluadas en invernadero. ....	73
Tabla 22. Porcentajes de germinación de los siete cultivos tropicales evaluados en invernadero. ....	74
Tabla 23. Análisis de varianza de los índices para evaluar fitotoxicidad en los cultivos tropicales comparados con el tratamiento control. ....	75
Tabla 24. Contrastes de la cobertura muerta triturada de leguminosa vs. el tratamiento control (sin cobertura) en el índice de germinación (IG) para los cultivos tropicales evaluados.....	76

Tabla 25. Contrastes de la cobertura muerta triturada de leguminosa vs. el tratamiento control (sin cobertura) en la energía de germinación (EG) para los cultivos tropicales evaluados.....	77
Tabla 26. Contrastes de la cobertura muerta triturada de leguminosa vs. el tratamiento control (sin cobertura) en el índice de vigor de la semilla (IVS) en el séptimo día para los cultivos tropicales evaluados. ....	78
Tabla 27. Contrastes de la cobertura muerta triturada de leguminosa vs. el tratamiento control (sin cobertura) en el peso seco (PS) (g) para los cultivos tropicales evaluados.	79
Tabla 28. Porcentaje de taninos condensados (ECT, PBT, FBT, TTC) y proteína precipitable (PPP) de tanino condensado de leguminosas con seis semanas después de plantadas.....	82

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Porcentaje de inhibición (+) o estimulación (-) en el coleóptilo de las gramíneas maíz (*Zea mays* cv. Mayorbela 2011) y sorgo (*Sorghum bicolor*) en tres extractos acuosos de leguminosas. .... 56
- Figura 2. Porcentaje de inhibición (+) o estimulación (-) en la radícula de las gramíneas maíz (*Zea mays* cv. Mayorbela 2011) y sorgo (*Sorghum bicolor*) en tres extractos acuosos de leguminosas. .... 57
- Figura 3. Porcentaje de inhibición (+) o estimulación (-) en el hipocotiledón de las dicotiledóneas en extracto acuoso de leguminosas soya (*Glycine max*), gandul (*Cajanus cajan* cv. Lázaro) habichuela (*Phaseolus vulgaris* cv. Verano), caupí (*Vigna unguiculata*) y lechuga [*Lactuca sativa* cv. Nevada]. .... 59
- Figura 4. Porcentaje de inhibición (+) o estimulación (-) en la radícula de las dicotiledóneas en extracto acuoso de leguminosas soya (*Glycine max*), gandul (*Cajanus cajan* cv. Lázaro) habichuela (*Phaseolus vulgaris* cv. Verano), caupí (*Vigna unguiculata*) y lechuga (*Lactuca sativa* cv. Nevada). .... 61

# 1 INTRODUCCIÓN

En el trópico las condiciones ambientales para la agricultura incluyen lluvias potencialmente fuertes donde el suelo está expuesto a altos niveles de erosión y combinado con las altas temperaturas dificulta la conservación de residuos sobre la superficie del suelo y consecuentemente el mantenimiento de materia orgánica (MO). Malezas, deficiencia de nutrientes, nemátodos y plagas se pueden desarrollar sin interrupción en este ambiente (Teasdale et al., 2007) disminuyendo el rendimiento de los cultivos.

Durante los últimos 40 años las aplicaciones de fertilizantes minerales y pesticidas han aumentado. Aproximadamente 80 millones de toneladas de N comercial se utiliza en la agricultura mundial cada año, y sólo entre el 50-75% se cosecha en el cultivo, mientras el resto se pierde por la erosión, lixiviación y volatilización (Pimentel, 1996). Ciertamente el N un contaminante del medio ambiente de la industria agrícola el cual incrementa el contenido de sal en el suelo donde puede contaminar tanto la superficie como aguas subterráneas (Heichel, 1987). Similarmente el estiércol también es considerado como una importante fuente de contaminación del agua (EPA, 1992). El uso de pesticidas tanto en número y cantidades se ha incrementado de un millón a casi seis millones de toneladas métricas en los últimos 20 años (Carvalho, 2006). La identificación de fuentes alternas de fertilización y manejo de suelos es imperativo para el desarrollo sustentable de la agricultura.

Los cultivos de cobertura pueden jugar un rol importante en el manejo de estos problemas (Teasdale et al., 2007). Las plantas cobertoras se han integrado con éxito



en los sistemas de agricultura de conservación en muchas partes del mundo principalmente para proporcionar la cubierta superficial, así como para mejorar la fertilidad del suelo y suprimir las poblaciones de malezas (Flower et al., 2011). En el sistema de producción, los cultivos de cobertura son económicamente viables y ecológicamente sostenibles. Morón et al. (2005) y Mubiru y Coyne (2009) reportaron que los cultivos de leguminosas mejoran la sostenibilidad de la agricultura, y sus beneficios incluyen: 1) aumento de los rendimientos en los cultivos debido a la conservación del suelo y agua manteniendo la recuperación y la fertilidad del suelo, 2) alta producción de biomasa y fijación de N que es proporcionado al siguiente cultivo, 3) la asociación simbiótica entre leguminosas y las bacterias fijadoras de N pueden aportar hasta una tercera parte del total del N necesario, promoviendo la economía de fertilizantes nitrogenados. De igual manera, un mayor equilibrio ecológico en el suelo disminuyendo los efectos de las plagas y enfermedades; así mismo, pueden colaborar en la por metales pesados (fitorremediación) (Pastor et al., 2003).

El uso de fertilizantes inorgánicos a pesar de aumentar los rendimientos en cultivos se relacionan con la polución ambiental. Por el contrario, las leguminosas de cobertura pueden producir rendimientos equivalentes al sistema convencional y el uso de labranza mínima optimiza la conservación de agua y suelo. La introducción de las plantas de cobertura con los diferentes cultivos tropicales ha cambiado las prácticas convencionales dado que el sistema de cero labranza o labranza mínima deja sobre la superficie del suelo residuos de los cultivos manteniendo una cubierta orgánica permanente o semipermanente (Roldán et al., 2007). Cualquier sistema de labranza que conserva el agua contenida en el suelo y deje al menos un 30% de la superficie

cubierta con residuos después de que el cultivo principal ha sido cultivado reduce la erosión (Krizc et al., 2000). Experimentos en el campo han demostrado que la labranza cero produce cosechas más abundantes, equivalentes a las recogidas con las prácticas convencionales; es decir, es una tecnología de doble propósito que combina la conservación y los efectos de la productividad (Erenstein, 2002). Sanclemente (2009), reportó incrementos en los rendimientos en cultivos de cereales como el maíz, arroz (*Oriza sativa*) de secano y sorgo (*Sorghum sp*).

Las malezas son consideradas como un problema en la agricultura debido a que interfieren en la producción agrícola (Inderjit and Keating, 1999). El estudio de plantas con actividad alelopática, definida como un mecanismo de interferencia mediante la supresión de la germinación y/o el crecimiento de una especie frente a otra, a través de la liberación de sustancias químicas inhibitorias (Liebman and Ohno, 1998), representa una alternativa al uso intensivo de herbicidas en los cultivos y para reducir la contaminación ambiental (Medina et al., 2011). En adición, la alelopatía ayuda en el control de nemátodos, plagas y enfermedades (Martín y Rivera, 2001). El uso de cultivos de cobertura también forma parte de un programa de manejo integrado donde se incorporan tecnologías apropiadas y buenas prácticas agrícolas para la reducción de insumos y la protección ambiental.

En Puerto Rico, el área de producción de maíz [*Zea mays* (L)] en el año 2012 alcanzó un área de 410.36 ha (USDA-National Agricultural Statistics Service, 2012). Sin embargo, el sistema de producción de maíz dulce con coberturas leguminosas no ha sido evaluado en campo. Adicionalmente, los posibles efectos alelopáticos de cultivos de cobertura sobre otros cultivos, no han sido suficientemente estudiados (Medina et

al., 2011). Resultados previos (Skinner et al., 2012) han demostrado el efecto alelopático de la leguminosa crotalaria [*Crotalaria juncea* (L)] en germinación de vegetales y malezas, por tal razón, surge la necesidad de estudiar más a fondo del potencial alelopático de plantas cobertoras en cultivos agronómicos en experimentos in vitro e invernadero. El determinar cuáles son las asociaciones adecuadas para así evitar interferencias que inhiban crecimiento y desarrollo de cultivos tropicales será de gran utilidad para el desarrollo de una agricultura más sustentable.

## 2 OBJETIVOS

- I. Contrastar los efectos de tres sistemas de siembra: abono verde de crotalaria [*Crotalaria juncea* (L) cv. Tropic sun] y mucuna enana [*Mucuna pruriens* (L) DC.] en mínima labranza versus manejo convencional sobre el rendimiento de mazorca y semilla del maíz dulce [*Zea mays* (L.) cv. Suresweet 2011] (Beaver et al., 2011).
- II. Determinar el efecto de extractos acuosos de plantas de cobertura: crotalaria cv. Tropic sun, canavalia [*Canavalia ensiformis* (L)] y gandul [*Cajanus cajan* (L) cv. Lázaro] sobre la germinación y desarrollo in vitro de maíz cv. Mayorbela 2011, sorgo granífero [*Sorghum bicolor* (L)], habichuela [*Phaseolus vulgaris* (L) cv. Verano], soya [*Glycine max* (L)], caupí [*Vigna unguiculata* (L)], lechuga [*Lactuca sativa* (L) cv. Nevada] y gandul.
- III. Evaluar el efecto de cobertura muerta triturada de crotalaria cv. Tropic sun, canavalia y gandul en la germinación de los siete cultivos agronómicos mencionados anteriormente en invernadero.

### **3 REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **3.1 Importancia y beneficio de forrajes como cultivos de cobertura y abonos verdes.**

Las plantas de cobertura pueden ser utilizadas siguiendo dos enfoques generales: coberturas vivas y coberturas muertas. En el primer sistema las plantas conviven con el cultivo principal y frecuentemente utilizado cuando no hay competencia por agua, luz o nutrimentos del suelo. En el segundo sistema, las plantas de cobertura son eliminadas mecánicamente o químicamente antes de sembrar el cultivo principal. Si se utiliza algún sistema de incorporación al suelo este cultivo de cobertura se constituye en un abono verde (Sanchol y Cervantes, 1997). Actualmente, muchas especies de plantas son utilizadas como coberturas vegetales, y su selección depende de características de clima, suelo y el sistema de producción al cual serán integradas. Para que una planta sea utilizada exitosamente como cobertura debe tener las siguientes características: facilidad de establecimiento, capacidad para formar una rápida cobertura del suelo, agresividad para controlar las malezas, ausencia de competencia por luz, agua o nutrimentos, no ser hospedera alterna de plagas o enfermedades, y mejorar la fertilidad del suelo (Sanchol y Cervantes, 1997).

Además de su función de proteger el suelo, los cultivos de cobertura juegan un papel importante en el ciclo del N y puede ser una herramienta eficaz para optimizar la administración de este nutriente (Tonitto et al., 2006). El abono verde ofrece N disponible para la planta pudiendo sustituir los fertilizantes nitrogenados; los cultivos de cobertura pueden proporcionar todo o la mayor parte de N requerido por el cultivo subsiguiente si hay suficiente cantidad de producción de biomasa de la leguminosa

(Griffin et al., 2000), ya que la acumulación de materia seca (MS) es quizá el factor más importante para determinar la cantidad de N que es capaz de abastecer para la siguiente cosecha (Balkcom y Reeves, 2005). Griffin et al. (2000) afirman que la mineralización del N, en el cual los componentes orgánicos de las plantas son degradados hasta la formación de los elementos en sus formas minerales más simples (nitratos), es aproximadamente sincronizada con la demanda del cultivo (Martín y Rivera, 2001). Coutlas et al. (1996) y Castillo et al. (2010) evaluaron las leguminosas canavalia y mucuna como coberturas asociadas con el cultivo de maíz, aunque las leguminosas produjeron suficiente biomasa, la descomposición y el aprovechamiento, estuvo en asincronía al cultivo del maíz, por consiguiente no encontraron efecto de las leguminosas en el rendimiento del grano de maíz. Por otra parte Maltas et al. (2009) afirman que los mayores efectos positivos de los cultivos de cobertura se pueden obtener cuando se siembran inmediatamente después de la recolección de la cosecha principal.

Los efectos que provocan los cultivos de cobertura en suelo son muy variables, dependen de las propiedades químicas, la especie utilizada y su producción de biomasa; la densidad de siembra, el tiempo de cobertura, la permanencia de los residuos en el suelo, las condiciones locales y la interacción entre estos factores. La familia de las leguminosas es la más utilizada en cultivos de cobertura, ya que garantiza la autosuficiencia en N, recicla macro y micronutrientes, generalmente tiene un sistema radicular profundo y extenso, es capaz de extraer nutrientes de las capas más profundas del suelo, y proporciona grandes cantidades de MO en el suelo (Almeri et al., 2012). De la Cruz et al. (1994) reportaron que la mucuna es buen extractor de

calcio del suelo, por lo que en suelos con contenidos bajos del nutriente en los horizontes superficiales, su extracción y posterior aplicación como abono verde permite un mayor reciclaje y disponibilidad del elemento. Wang et al. (2009) indica que las leguminosas como la crotalaria, mucuna y caupí y algunas gramíneas (especialmente el sorgo y el pasto sudán) son excelentes como cultivos de cobertura que al incorporarlos han demostrado ser muy eficaces en el aumento de la fertilidad del suelo.

El uso de diferentes géneros como cultivos de cobertura vegetal, es muy diverso; sin embargo los estudios muestran que en el continente Americano los géneros más usados son: *Mucuna*, *Canavalia* y *Phaseolus*. En Asia predominan los sistemas con especies leñosas como *Leucaena spp.*, *Flemingia macrophila*, *Sesbania spp.*, *Tephrosia vogelii*, *Gleichenia linearis* y *Chromolaena odorata*. El uso de los cultivos de cobertura en África, es predominantemente, para producción de alimentos tanto animal como para el ser humano; la recuperación y la fertilidad del suelo, suele ocupar un segundo lugar, es por eso que se emplean con frecuencia los géneros *Vigna*, *Mucuna* y *Cajanus* (Sanclemente, 2009).

La introducción de cultivos de cobertura en un agroecosistema ofrece oportunidades para manejo de múltiples aspectos del sistema simultáneamente. Por ejemplo, además del incremento de la disponibilidad de N por parte de las leguminosas, pueden cambiar la dinámica de las malezas suprimiendo su crecimiento. Los residuos de los cultivos de cobertura en la superficie del suelo crean condiciones similares en la profundidad del suelo: luz y temperatura baja, inhibiendo la emergencia por impedimento físico del progreso de la semilla para acceder a la luz (Teasdale et al., 2007). Por el contrario, los cultivos de cobertura vivos absorben la luz roja reduciendo

la proporción de luz lo suficiente para el fitocromo de germinación de semillas, mientras que los residuos de los cultivos de cobertura tiene un efecto mínimo en esta relación. Generalmente la supresión por los cultivos de cobertura vivos son el resultado de competencia por recursos esenciales (Teasdale and Daughtry, 1993).

### **3.2 Efecto en la fertilización, rendimiento y calidad de cultivos tropicales utilizando plantas de cobertura.**

La aplicación de cobertura vegetal combinado con labranza mínima es eficaz en el mejoramiento de la estructura y fertilidad del suelo a través de los ciclos de nutrientes (Cadavid et al., 1998). Paralelamente, el mantenimiento de los residuos vegetales en la superficie del suelo preserva y promueve balances de MO, contribuyendo al desarrollo y mantenimiento de la productividad del suelo (Mubiru y Coyne, 2009). Los cultivos de cobertura pueden ser no leguminosas o leguminosas. En el primer caso, el aporte de N para el cultivo siguiente, si se cuantifica, es el resultado de reducir las pérdidas del nutriente que ocurren durante el periodo de barbecho (Ernst, 2004).

Las bacterias fijadoras de N (nitrógeno) constituyen un grupo muy amplio y se caracterizan por compartir la presencia de la enzima nitrogenasa (Zehr et al., 1998). Los diferentes tipos de microorganismos se pueden clasificar en fijadores libres, asociados y simbióticos. Los fijadores libres fijan N atmosférico ( $N_2$ ) en sus células sin estar asociados a otros organismos. Las bacterias del género *Clostridium*, *Azotobacter* y las cianobacterias son representantes de este grupo. Igualmente, las bacterias epífitas, conocidas como fijadores asociados debido a que se encuentran asociadas a



raíces de gramíneas, tienen la capacidad de fijar  $N_2$  donde la concentración de oxígeno es muy baja. Diferentes especies de *Azospirillum sp.* asociadas a raíces de trigo y maíz colonizan la rizosfera donde aprovechan compuestos exudados por la planta y azúcares para fijar  $N_2$  que eventualmente son asimilados por las plantas. Al contrario, las bacterias *Acetobacter sp.* y *Herbaspirillum sp.* son endófitas de la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y *Azoarcus sp.* del arroz, caracterizadas por vivir en el interior de las raíces de gramíneas, colonizando espacios intracelulares y moviéndose por los vasos del xilema pero no penetran en las células, por lo tanto, no presentan simbiosis (Thiel, 1990). Por otra parte, los fijadores simbióticos presentan asociaciones con plantas. Las bacterias del género *Rhizobium* se asocian con plantas leguminosas, mientras que las del género *Frankia* son capaz de asociarse con más de 250 especies de plantas no leguminosas y por ende, de gran importancia ecológica ya que colonizan suelos pobres en N (Thiel, 1990). La fijación simbiótica de N es un proceso donde ocurre la reducción de  $N_2$  a amonio ( $NH_4^+$ ), cuando el cultivo de cobertura es una leguminosa existe un aporte adicional de N producto de dicha fijación (Molina et al., 2011). Diferentes autores coinciden en que la cantidad de N fijado está directamente relacionado a la producción de MS (materia seca) de la leguminosa, ya que en promedio, las leguminosas fijan  $30 \text{ kg ha}^{-1}$  de N. Por lo tanto, las condiciones climáticas durante el período de crecimiento de la leguminosa son determinantes (Ernst, 2004) en cuanto a la fijación total de N. Almeri et al. (2012) afirman que los cultivos más prominentes de leguminosas incluyen *Mucuna aterrima*, *Crotalaria juncea*, *C. paulina*, *C. spectabilis*, *Canavalia brasiliensis*, *C. ensiformis*, *Stylosantes quinensis* y *Cajanus*

*cajan* porque tienen un desarrollo vegetativo eficiente, y están adaptadas a condiciones de baja fertilidad y altas temperaturas.

Con la perspectiva de desarrollar tecnologías adecuadas para mantener la sostenibilidad de los sistemas de producción de maíz, De la Cruz et al. (1994) evaluaron la asociación del maíz con diferentes coberturas durante tres ciclos de siembra en Costa Rica y encontraron que el mejor efecto supresor de la maleza se obtuvo con la mucuna con valores superiores al 95%. De igual manera hubo mayores rendimientos del maíz donde la productividad en el segundo ciclo, fue muy superior a los obtenidos con el testigo absoluto (2438 kg ha<sup>-1</sup> vs 211 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente), lo que coincidió con mayores rendimientos de cobertura, mejor control de malezas y posiblemente mayor aporte de la biomasa total. En otra investigación realizada por Cervantes (1993), se estimó la producción de maíz y frijol con mucuna en sistemas de producción de ladera con ocho pequeños agricultores en diferentes localidades, los tratamientos con las plantas de cobertura no incluyeron ninguna fertilización nitrogenada. Después de dos ciclos completos de cosecha el mejor promedio fue para la asociación maíz - mucuna, donde la media general de producción de grano fue 4451 kg ha<sup>-1</sup>; mientras que con el sistema tradicional con una aplicación de 150 kg ha<sup>-1</sup> de sulfato de amonio, se logró un promedio de 3581 kg ha<sup>-1</sup>.

Para estimar la optimización de N utilizando cultivos de cobertura y aumentar el rendimiento del cultivo de maíz, Maltas et al. (2009) evaluaron dos temporadas de crecimiento con cinco tratamientos: barbecho (control), gandul (*Cajanus cajan*), millo perla (*Pennisetum glaucum*) con hierba congo (*Brachiaria ruziziensis*), gandul con millo dedo (*Eleusine coracana*) y sorgo (*Sorghum bicolor*). El rendimiento del grano de maíz

de 0.4 a 2.4 Mg ha<sup>-1</sup> mayormente con la cobertura de gandul y sorgo, concluyendo que al reemplazar el periodo de barbecho por un cultivo de cobertura se puede inducir un efecto positivo sobre la absorción de N y el rendimiento del siguiente cultivo de maíz. En Kenia, Cheruiyot et al. (2003) compararon los efectos de rotación de cinco leguminosas como garbanzo (*Cicer arietinum*), frijol, soya, arveja (*Pisum sativum*) y lablab [*Dolichos lablab* (L)] sobre el rendimiento de trigo y maíz. Los investigadores reportaron mejora en la disponibilidad de N del suelo especialmente con el tratamiento de lablab. El rendimiento promedio del maíz aumentó entre un 24% a 68%, y del trigo un 17% más alto que utilizando barbecho.

Mubiru y Coyne (2009) durante dos años realizaron estudios de rendimiento de MS y efectos sobre control de malezas con cultivos de cobertura utilizando barbechos de: mucuna, lablab (*Lablab vulgaris* Savi cv. Rongai), canavalia y crotalaria (*Crotalaria paulina* Schrank). Los barbechos fueron restablecidos en las mismas parcelas en la segunda temporada de cultivo después del maíz. Canavalia produjo significativamente mucha más MS que el resto de los barbechos, independientemente del año o sitio, por ende acumuló más N que los otros barbechos con un rendimiento promedio de 169 kg N ha<sup>-1</sup>. Igualmente, con la excepción de crotalaria, la acumulación de fósforo (P) en los barbechos con leguminosas fue mayor que en el barbecho natural. Una mejora significativa sobre las propiedades fisicoquímicas del suelo utilizando cultivos de cobertura de leguminosas podría ser posible, aunque puede requerir varios ciclos de cultivo adicionales, especialmente en suelos severamente degradados.

Caamal et al. (2001) reportó el uso de varias especies de Commelinaceae como cobertura en suelos, fertilizantes y control de malezas en cultivos de café de sombra en

plantaciones de Veracruz - México. Similarmente, *Ipomea tricolor* (Cav.) se utiliza como abono verde y control de malezas debido a su crecimiento posterior al establecimiento del cultivo de caña de azúcar. Wyland et al. (1998) encontraron que los cultivos de cobertura de centeno (*Secale cereale*) y phacelia (*Phacelia tanacetifolia*) son eficaces para retener agua y N, reduciendo >70% la lixiviación del nitrato en cultivo de brócoli (*Brassica oleracea* var. Italica). Weinert et al. (2002) afirman que debido a que las familias de plantas Poaceae y Brassicaceae exhiben resistencia al invierno, buen rebrote a principios de la primavera y pueden acumular hasta 150 kg ha<sup>-1</sup> N y son adecuadas para cultivos de cobertura en invierno.

El largo del tiempo en función de la cobertura, los cultivos y características específicas del lugar determinan el efecto sobre el rendimiento a corto plazo. Al momento, las experiencias demuestran que con el tiempo, los efectos del rendimiento tienden a pasar de neutral a positivo. De hecho, los beneficios productivos de la cobertura al acumularse con el tiempo detiene el proceso de degradación del suelo y lo mejora gradualmente en términos físicos, químicos y biológicos (Erenstein, 2002).

### **3.3 Actividad alelopática de plantas leguminosas y no leguminosas.**

La alelopatía es definida como la producción de metabolitos secundarios por plantas y microorganismos que influyen el desarrollo y crecimiento de los sistemas biológicos (Torres et al., 1996), con efectos beneficiosos o nocivos entre planta – planta, planta – insecto y/o planta – comunicación química con el herbívoro (Albuquerque et al., 2011). Algunas plantas tienen efectos inhibitorios en plantas

vecinas por liberación de sustancias alelopáticas en el suelo ya sea como exudados de los tejidos vivos o como descomposición de los residuos de la planta (Batlang and Susshu, 2007). A menudo, la liberación de estos aleloquímicos de la hojarasca en descomposición afecta la germinación, crecimiento y el desarrollo de los cultivos adyacentes en sistemas agroforestales (Kamara et al., 2000). De igual manera, los aleloquímicos tienen efectos alelopáticos en importantes partes de la planta como defensa a herbivoría (Ferguson et al., 2013).

Los efectos pueden ser debidos a una variedad de procesos que pueden incluir reducción de la división celular en las raíces, supresión de la actividad hormonal, reducción de la absorción de iones, inhibición de la síntesis de proteínas y actividad enzimática, y reducción de la permeabilidad de la membrana celular (Batlang and Susshu, 2007). La naturaleza química de los agentes alelopáticos es muy variada e incluyen grupos de sustancias como: compuestos alifáticos, lactonas no saturadas, lípidos y ácidos grasos, terpenoides, glucósidos cianogénicos y compuestos aromáticos. Los compuestos aromáticos comprenden la más extensa cantidad de agentes alelopáticos e incluyen fenoles, derivados del ácido benzoico, derivados del ácido cinámico, quinonas, cumarinas, flavonoides y taninos (Albuquerque et al., 2011). Kamara et al. (2000) observaron que los aleloquímicos se encuentran en todas las partes de la planta (flores, inflorescencias, tallos, raíces, rizomas y hojas).

Existen varios factores ecológicos que influyen enormemente la alelopatía. Las características morfológicas, fisiológicas y ecológicas de las plantas tales como: densidad, ciclo de vida, edad y hábitat, determinan un importante rol en la expresión de la alelopatía. De igual manera, los factores fisicoquímicos y biológicos del suelo afectan

la cantidad y calidad de los compuestos alelopáticos ya que tienen el potencial de modificar estos efectos. Así mismo, el hábitat y los factores climáticos pueden alterar los efectos alelopáticos por condiciones ambientales como aire, temperatura del suelo y humedad. Finalmente los factores como la herbivoría, enfermedades, interacción con herbicidas y daño por insectos pueden impactar la interacción alelopática (Inderjit and Keating, 1999).

Las leguminosas: *Sesbania sesban*, *Tephrosia vogelii*, *Crotalaria spectabilis*, *C. juncea*, *C. pumila* y *C. mucronata* utilizadas como barbechos en temporadas cortas incrementaron el rendimiento del maíz en 138% y redujeron algunas poblaciones de nemátodos (Desaeger and Rao, 2001). Adicionalmente, en cultivos intercalados de leguminosas *Crotalaria spp.*, *L. purpureus*, *Vigna unguiculata*, *Phaseolus vulgaris* y *M. pruriens* con maíz, proporcionaron una alternativa viable para el manejo de nemátodos actuando como repelentes interfiriendo en la ubicación de la planta hospedante de la plaga (McIntyre et al., 2001).

Por otra parte, plantas no leguminosas como el trébol blanco (*Trifolium repens*) es una cobertura viva que además de suprimir el crecimiento de malezas, inhibe el crecimiento de la lechuga (Brandstaetter et al., 1998). Así mismo, el girasol (*Helianthus annuus*), también poseen gran potencial alelopático e inhibe el crecimiento de plántulas de malas hierbas, incluyendo la hoja de terciopelo [*Abutilon theophrasti* (M)], manzana gloria de la mañana (familia Convolvulaceae) y la mostaza salvaje (*Brassica kaber*), entre otros. Los resultados de estudios de campo han demostrado que la biomasa de las malezas se redujo por igual en las plantas de girasol con o sin herbicidas (Marsni et al., 2011). Del mismo modo, Fujii (2001) encontró que el girasol controló el 85% del

crecimiento total de malezas en condiciones de campo, igualmente Gawronska et al. (2007) reportaron que el girasol fue altamente alelopático sobre las malezas. Sin embargo, Dhima et al. (2012) investigaron los efectos de los residuos e incorporación del girasol en el suelo de hiedra verónica (*Veronica hederifolia*) y reportaron que aunque en el laboratorio los extractos disminuyeron la germinación; en el campo, la aparición de malezas fue realizada por los residuos de girasol. Esta diferencia es explicada posiblemente porque las condiciones ambientales contribuyen a un aumento en la reducción (descomposición) de los aleloquímicos liberados por el girasol.

Los residuos de los cultivos de cobertura pueden suprimir el crecimiento de cultivos comerciales por las mismas razones que las malezas son suprimidas. Los residuos pueden interferir con el establecimiento del cultivo obstaculizando físicamente la colocación de las semillas en el suelo y el mantenimiento de suelos frescos mediante la liberación de fitotoxinas o por enfermedades de las plántulas (Dabney et al., 1996 y Gallagher et al., 2003).

### **3.3.1 Taninos**

Los taninos forman parte del grupo de compuestos aromáticos con actividad alelopática. Estos compuestos existen en la naturaleza como taninos hidrosolubles o taninos condensados (TC). Los taninos condensados son los compuestos fenólicos más abundantes producidos por las plantas, pero entre los forrajes de leguminosas, sólo pocas especies acumulan TC en niveles significantes (Wolfe et al., 2008). Las

leguminosas reportadas con altos niveles de taninos son: *Acacia sp.* (acacia); *Sesbania sp.*; *Lotus sp.* (trébol); *Onobrychis sp.* (esparceta) (Caanas, 2014).

Los TC se han definido como astringentes (actúan como defensa efectiva contra herbívoros), compuestos polifenólicos de alto peso molecular que característicamente se unen y precipitan proteínas. Tienen características complejas como variabilidad en el grado de condensación, heterogeneidad de grupos funcionales y el grado de polimerización que contribuye en dificultad para elucidar el rol y los modos de acción relacionado con actividades biológicas (Nauman, 2013).

La concentración de taninos en plantas está influenciada por muchos factores, entre estos se encuentran las especies de plantas, incluso entre individuos de la misma especie; la fisiología y las partes de la planta, ya que la síntesis de éstos se encuentra influenciada por la madurez, la exposición a fitopatógenos y herbívoros (Hervás et al., 2003), de hecho, las enfermedades desarrolladas por hongos patógenos incrementa la concentración de TC. De igual manera, las características climáticas y ambientales como temperatura y precipitación, calidad fotosintética de radiación y disponibilidad de nutrientes pueden influenciar la síntesis de TC por plantas (Nauman, 2013). En condiciones ambientales adversas, la concentración de taninos tiende a incrementarse disminuyendo la palatabilidad para no ser ingerida por herbívoros.

### **3.3.2 Efecto de alelopatía en la germinación y morfología radicular.**

Las sustancias alelopáticas son producidas naturalmente por la mayoría de especies de plantas. Estos compuestos se sintetizan habitualmente en las hojas, que



caen al suelo durante los periodos de estrés. La lluvia ayuda la lixiviación de sustancias alelopáticas en el suelo donde pueden afectar la germinación y el crecimiento de otras plantas. Los efectos de la alelopatía en la germinación pueden producirse a través de la reducción de actividad mitótica en las raíz e hipocótilo (Jefferson and Pennacchio, 2003). Muchos compuestos producidos están relacionados con el ambiente por medio de la volatilización, extractos, descomposición de residuos y exudación de la raíz (Oyun, 2006). Medina et al. (2011) reportaron que los efectos de algunos abonos verdes están relacionados con la liberación de sustancias alelopáticas durante la descomposición del residuo y pueden ocurrir durante el ciclo del cultivo y el cultivo siguiente. Mao et al. (2006) notificaron que los compuestos fenólicos han mostrado efectos inhibitorios en la germinación, crecimiento de la raíz, crecimiento de algunas especies de plantas y la nitrificación del suelo resultando en reducción del rendimiento del cultivo posterior.

Skinner et al. (2002) sugirieron que los extractos aleloquímicos de residuos de hojas de *Crotalaria juncea* puede reducir la germinación de pimiento morrón (*Capsicum annuum*) col silvestre (*Brassica oleracea*) caupí, oca (*Abelmoschus esculentus*) y nabo (*Brassica rapa*) en pruebas de campo. La diferencia en la respuesta del pepino, tomate y trébol carmesí se pueden atribuir a las diferencias en el estado de desarrollo (vegetativo vs. reproductivo) de la crotalaria donde la concentración de los aleloquímicos en las hojas se incrementa durante el estado reproductivo.

En otros experimentos con leguminosas, Caamal et al. (2001) evaluaron el efecto tóxico de mucuna (*Mucuna deeringiana*) y canavalia usando extracto acuoso al 1%. Las leguminosas exhibieron fuertes efectos tóxicos en el crecimiento radicular de

bledo (*Amaranthus hypochondriacus*), pata de gallo (*Echinochloa crusgalli*) y tomate (*Solanum lycopersicum*). Evidentemente la planta de tomate fue fuertemente inhibida por la mucuna, indicando que el uso de estas leguminosas como cobertura no debería utilizarse en este cultivo. Velu et al. (1999) encontraron que *Eucalyptus spp.* y *Acacia spp.* tienen efectos fitotóxicos en leguminosas. Hossain et al. (2012) revelaron que el extracto de diferentes partes de la planta *Moringa oleífera* en diferentes concentraciones afecta la tasa de germinación de *Vigna radiata* en condiciones de laboratorio. También Adler y Chase (2007) y, Skinner et al. (2012) reportan que los residuos secos de *Crotalaria juncea* inhibe la germinación de algunos vegetales y malezas.

Evaluaciones de extractos acuosos de gandul demostró que incrementos en las concentraciones reduce progresivamente la germinación y el crecimiento de plántulas de *V. uriculata*. Por el contrario, extractos acuosos de *V. uriculata* en bajas concentraciones estimula el crecimiento del gandul pero en altas concentraciones inhibe la germinación y el crecimiento de plántulas (Kumbhar et al.; 2012). Fujii (1999) evaluó las propiedades alelopáticas de 65 plantas incluyendo mucuna (*Mucuna pruriens* var. *utilis*) sobre lechuga (*Lactuca sativa*), maíz y frijol. La actividad alelopática de mucuna fue distintiva en campo suprimiendo el crecimiento de malezas. En la prueba de invernadero con la incorporación de hojas frescas en el suelo redujo la emergencia del frijol en un 60% aunque el efecto disminuyó dos semanas después de la incorporación, por el contrario la incorporación de hojas secas no mostraron inhibición. El maíz no fue afectado con ninguno de los dos tratamientos.

Kamara et al. (2000) evaluaron extractos de leguminosas arbustivas sobre germinación, crecimiento y rendimiento del maíz. Aumentos en la concentración del extracto, redujo significativamente la germinación. Por otra parte, *Gliricidia sepium*, *Leucaena leucocephala*, *Alchornea coordifolia*, *Pithecelobium dulce*, *Terminalia superba*, y *Tetrapleura tetraptera* afectaron el crecimiento del vástago en todas las concentraciones evaluadas. Similarmente, el crecimiento de la raíz fue reducido con bajas concentraciones de *T. superba*, *T. tetraptera*, *P. dulce*, *G. sepium*.y *Senna siamea*.

Plantas no leguminosas también se han evaluado para determinar sus efectos alelopáticos. En Vietnam y el sureste de Asia se experimentó con diecinueve especies que consistieron en hierbas, arbustos y árboles, para determinar el potencial alelopático de extractos de hojas, tallos y raíz en la germinación y el crecimiento de rábano (*Raphanus sativus*) (Huu et al., 2003). Los resultados indicaron que el efecto inhibitorio dependía de la especie y varió entre las partes de las plantas, donde las hojas presentaron el potencial inhibitorio más fuerte. Las tres especies que exhibieron mayor potencial alelopático fueron *Galactia pendula*, *Leucaena glauca* y *Melia azedarach*. Similarmente, otras cuatro especies (*Desmodium rezoni*, *Euphobia hirta*, *Manihot esculenta* y *Morus alba*) mostraron un fuerte potencial alelopático, aunque sus magnitudes fueron menores en comparación con las primeras especies mencionadas

Javaid et al. (2006) determinaron los efectos herbicidas de raíz y brotes de girasol, arroz y sorgo, sobre la germinación y el crecimiento de la maleza escoba amarga (*Parthenium hysterophorus*) utilizando extractos acuosos con concentraciones de 5%, 10%, 20% y 25% m/v. Los extractos de sorgo y girasol presentaron efectos

herbicidas significativos sobre la germinación y el crecimiento de la maleza dado que hubo supresión significativa de la biomasa de las raíces. Sin embargo, se observó variabilidad en la alelopatía tanto en las especies como en las partes utilizadas para los extractos. Por ejemplo, el sorgo presentó mayor actividad fitotóxica y sus extractos de brotes fueron más eficaces que los de raíz. El extracto del brote al 5% de girasol no redujo significativamente la germinación de la maleza, por el contrario, los extractos de raíz al 15% causaron efectos significativamente negativos en la germinación. Los extractos de raíces de arroz no inhibieron la germinación mientras que las concentraciones de 20% y 25% m/v de los extractos de brotes inhibieron significativamente la germinación de la maleza.

Batlang y Susshu (2007) reportaron que en Botswana el girasol crece intercalado con cereales como maíz y sorgo y con leguminosas como caupí, bambara groundnut (*Vigna subterranea*) y frijol. Al evaluar el potencial alelopático del girasol demostraron que los extractos o residuos incorporados en el suelo afectaron negativamente la germinación, crecimiento y desarrollo de la nodulación de bambara groundnut. Efectivamente, los experimentos de laboratorio mostraron que el extracto acuoso del girasol contiene sustancias que inhiben la germinación de semillas y el crecimiento de plántulas de bambara. La longitud y peso seco de la raíz fueron reducidas por el efecto alelopático del girasol. Igualmente, la germinación de las semillas y el crecimiento de las plántulas estuvo correlacionado con la concentración del extracto acuoso del girasol. Los resultados fueron similares a los obtenidos en investigaciones previas donde la inhibición de germinación de semillas y crecimiento de plántulas de cultivos y malezas son inhibidos con extractos de girasol (Batish et al.,

2002; Bogatek et al., 2006 y Anjum et al., 2005). Macias et al. (1996) indican que los terpenoides, específicamente los sesquiterpenos, son los compuestos envueltos con el alto potencial alelopático del girasol.

Skinner et al. (2012) evaluaron los efectos de residuos secos de hojas de cobertura de arroz y crotalaria sobre lechuga, zanahoria (*Daucus carota*) y malezas bleto suave (*Amaranthus hybridus*), raigrás anual (*Lolium multiflorum*) y sicklepod (*Senna obtusifolia*). El análisis encontró que la germinación en alguna de las especies fue retrasada durante los primeros catorce días indicando que la cobertura de arroz y crotalaria inhiben la germinación y el crecimiento de las plántulas de varios vegetales y otras plantas de cobertura. Los efectos de la crotalaria variaron para las diferentes partes de la planta, siendo las hojas las de mayor efecto alelopático. Similarmente, Laynez y Méndez (2013), evaluaron los efectos alelopáticos de extractos acuosos de hojas de botón de oro (*Tithonia diversifolia*) sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de lechuga. Los resultados encontraron que a medida que incrementa la concentración del extracto acuoso, la altura de la planta, la longitud y peso seco de la radícula, y el peso fresco y seco del vástago disminuyen, además, observaron alteraciones en el aspecto morfológico de la planta. De igual manera, los extractos acuosos de diferentes partes de la planta de ginger (rizoma, tallo y hojas) afectan la germinación y crecimiento de soya y cebollino inhibiendo la longitud del hipocotiledón, longitud de radícula y peso seco de la plántula (Hang et al., 2008). El efecto de inhibición fue mayor en cebollino y el grado de toxicidad dependió de la concentración de los extractos demostrando que los residuos del ginger liberan sustancias alelopáticas que se acumulan en concentraciones bioactivas. Los grados de

toxicidad fueron mayores en tallo, seguido de la hoja y en menor grado, el rizoma.

## **4 EVALUACIÓN DE SISTEMAS DE SIEMBRA LEGUMINOSAS APISIONADAS Y SISTEMA CONVENCIONAL.**

### **4.1.1 Materiales y métodos**

Se realizaron tres ensayos de campo en la Estación Experimental Agrícola Isabela (18° 30' latitud norte y 67° 00' longitud oeste) a 128 msnm, con precipitación pluvial de 128.2 mm y temperatura de 25.52 °C promedio anual. Los experimentos de sistemas de siembra de maíz dulce se desarrollaron durante el 2013 (Abril – Junio, Julio – Octubre) y - 2014 (Febrero – Mayo). Adicionalmente, se tomaron muestras del suelo Oxisol de la serie Coto (very fine, kaolinitic, isohyperthermic and Typic Eutruxox) aleatoriamente en los tres sitios de siembra a una profundidad de 15 cm, para realizar análisis químicos en el Laboratorio Central Analítico de Rio Piedras.

En un área de 1.080 m<sup>2</sup> (40 m X 27 m) se estableció un diseño fue en Bloques Completos Aleatorizados (DBCA) con cuatro replicas (226.8 m<sup>2</sup>) donde cada una contó con tres parcelas cada una con un área de 75.6 m<sup>2</sup> (12 m X 6.3 m). En cada parcela se establecieron tres tratamientos, dos de ellos con plantas cobertoras mucuna enana y crotalaria cv. Tropic sun, que fueron sembradas con la sembradora mecánica de dos hileras en tres fechas diferentes durante el 2013 a una distancia de 60 cm entre hileras, 9 cm entre plantas para la primera siembra (Marzo). Debido al problema de malezas y la competencia de éstas con las leguminosas en la primera siembra; para la segunda (Junio) y tercera siembra (Diciembre) se duplicó la densidad de plantas leguminosas,

por tal motivo se redujo la distancia entre plantas a 5.6 cm con un total de 10 hileras; y un tratamiento con siembra convencional, es decir sin planta cobertora. Se aplicó Fusilade® DX<sup>1</sup> (Fluazifop-p-butil Butil(R)-2-{4[[5-(trifluorometil)-2-piridinil] oxi] fenoxi] propanato) para el control de pasto johnson (*Sorghum jalapense*) en las cobertoras.

Posteriormente, a las seis semanas de crecimiento de las leguminosas, se tomaron muestras de 1.8 m<sup>2</sup> unidad experimental, se calculó la biomasa de muestras secas y para cada una de las siembras se estimó la concentración de N por el método Kjeldahl en la Estación de Investigación de Agricultura Tropical (TARS – Mayagüez). Se dejaron dos surcos de leguminosas en cada borde (filas 1-2 y 9-10) y los surcos restantes se apisonaran con un rolo (crimper) para añadir las plantas como cobertura (leguminosas apisonadas–LA). En medio de las hileras de las leguminosas se estableció el cultivo de maíz dulce cv. Suresweet 2011, con la sembradora mecánica de dos hileras a una distancia de 60 cm entre hileras y 15 cm entre plantas, para un total de seis filas y 9600 plantas en el área de estudio. En el cultivo del maíz se realizó control de malezas con la cultivadora mecánica y de insectos con Lanate® LV<sup>2</sup> (S-metil-N-[(metilcarbamoil) oxi] tio acetimidato) para el gusano elotero (*Helicoverpa zea*). En el tratamiento de siembra convencional, cinco semanas después de plantado el maíz se fertilizó con 56 kg ha<sup>-1</sup> de N [Sulfato de amonio (21% N)].

Once semanas (79 días) después de la siembra del maíz, en la fila tres y en estado fresco de la mazorca se eligieron 4.8 m<sup>2</sup> por replica y se evaluó el rendimiento

---

<sup>1</sup> Marca comercial de Syngenta (contiene 24.5% del ingrediente activo)

<sup>2</sup> Marca comercial de DuPont (contiene 29% del ingrediente activo)



(peso fresco), posteriormente se escogieron 10 mazorcas al azar y se determinó: largo de la mazorca y daño de insectos. Para esto se utilizó una escala de 0-5 donde 0= ningún daño, 1=daño de la barba solamente, 2=menos de 1cm de daño en la punta de la mazorca, 3=de 1-2 cm de daño, 4= de 2-3 cm de daño y 5= más de 3 cm de daño (Beaver et al., 2011). Igualmente se estimó la producción de semillas, para ello, 28 días después se muestrearon 4.8 m<sup>2</sup> de la hilera cuatro por réplica, para determinar el peso del grano seco.

#### 4.1.2 Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza de experimentos combinados debido a que las evaluaciones se repitieron en el tiempo. El modelo lineal para las observaciones (Macchiavelli, 2011):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \gamma_k + \delta_{ik} + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde los índices representan:  $i$  y  $j$  niveles del primer y segundo factor, respectivamente, y  $k$  las repeticiones.

$Y_{ijk}$  =observación de los factores  $ij$  con  $k$  repeticiones

$\mu$  = media de la observación

$\alpha_i$  = efecto del factor fecha de siembra

$\gamma_k$  = efecto de la repetición o bloque

$\delta_{ik}$  = efecto de la repetición  $k$  en el sistema de siembra según la fecha de siembra

$\beta_j$  = efecto del factor sistema de siembra

$\alpha\beta_{ij}$  = interacción entre los factores (fecha de siembra x sistema de siembra)

$\epsilon_{ijk}$ = error experimental (se asume que es independiente y tiene distribución normal con media cero y varianza constante)

Los efectos principales (sistema de siembra y fechas) y las interacciones entre estos efectos principales se evaluaron en las variables tamaño de mazorca, daño de insectos, rendimiento de mazorca fresca y rendimiento de semilla, utilizando un nivel de significancia del 5% ( $P < 0.05$ ). La separación de medias se realizó con Fisher LSD y contrastes, con el programa Info Stat-Statistical Software versión 2012 (Di Rienzo et al., 2012).

#### **4.1.3 Resultados y Discusión**

El maíz es esencialmente una especie  $C_4$ , por lo tanto, requiere bastante incidencia de luz solar. La germinación se ocurre entre  $15^{\circ}\text{C}$  a  $20^{\circ}\text{C}$  y su desarrollo requiere temperaturas de  $25^{\circ}\text{C}$  a  $30^{\circ}\text{C}$  para obtener niveles óptimos de fotosíntesis. Durante la formación de la inflorescencia, se consideran temperaturas óptimas de  $25^{\circ}\text{C}$  a  $30^{\circ}\text{C}$ , por el contrario, temperaturas inferiores a  $15.6^{\circ}\text{C}$  retrasan significativamente la floración y la madurez de la mazorca. Desde el periodo de floración a la madurez del grano la gramínea, requiere temperatura mínima de  $21^{\circ}\text{C}$  y máxima de  $32^{\circ}\text{C}$ , mientras que temperaturas por encima de  $38^{\circ}\text{C}$  junto con estrés hídrico durante la floración y formación de la mazorca, impiden la formación del grano (Ruíz et al., 1999). Por otra parte, el maíz es un cultivo exigente en agua donde las necesidades hídricas presentan variaciones durante el desarrollo del cultivo. En el proceso de germinación el requerimiento de agua es bajo, pero es necesario mantener la humedad constante, contrario a esto, durante el crecimiento vegetativo la planta requiere mayor cantidad de

agua. La fase de floración es el período más crítico ya que las sequías cercanas a dicha época tienen efecto en el rendimiento del grano porque reducen la formación de reservas, el número de granos por mazorca disminuyen por dificultades en la polinización o los óvulos fertilizados detienen su crecimiento. De igual manera, si ocurre déficit de agua durante el llenado del grano, la velocidad y duración del periodo del llenado decrecen a causa de reducción en la fotosíntesis y aceleración de la senescencia foliar. Para un óptimo desarrollo de la planta, normalmente se recomienda un promedio de 5 mm de agua al día (Lafitte, 2014). Las condiciones climáticas para la EEA Isabela (Tabla 1) muestran que durante el periodo de las siembras las temperaturas máximas fueron en 27<sup>0</sup>C (Septiembre) y 25<sup>0</sup>C (Mayo) para los años 2013 y 2014, respectivamente. Además, las mayores precipitaciones pluviales se presentaron en los meses de Mayo 2013 con 266 mm y Febrero 2014 con 58 mm (WxCorder III, 2014). Por consiguiente, el cultivo de maíz durante los tres experimentos contó con condiciones meteorológicas favorables para un óptimo desarrollo. De igual manera, el agua necesaria fue suplida por riego por aspersion durante los procesos de germinación, floración y llenado del grano.

Las características de los dos primeros suelos son muy similares. Ambos suelos son medianamente ácidos aunque la concentración de iones Al, no fue detectado. Las concentraciones de Mg y K son bajas, mientras que las concentraciones de Na y P son bajas en el primer suelo y medias en el segundo. Sin embargo, la concentración de Ca en ambos suelos es apropiada para el desarrollo de plantas a pesar de tener baja capacidad de intercambio catiónico. El contenido de MO es superior a 2%. Por el contrario, el tercer suelo es ácido con alta presencia de iones de Al, baja concentración

de P, Ca, K y Na. El Mg se encuentra en concentraciones medias. La baja fertilidad de este suelo se agudiza con el bajo contenido de MO (1.75%) (Doran and Parkin 1996). Evidentemente, el suelo con mejor contenido de nutrientes fue el segundo (Tabla 2).

Tabla 1. Temperatura y precipitación mensual total durante el año 2012, 2013 y 2014 en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.

Meses	Temperatura (°C)			Precipitación (mm)		
	2012	2013	2014	2012	2013	2014
Enero	23	24	23	177	54	3
Febrero	23	23	23	78	34	58
Marzo	23	24	24	190	101	46
Abril	24	25	25	193	92	10
Mayo	25	25	25	106	266	1
Junio	26	25		135	115	
Julio	26	26		87	139	
Agosto	26	26		128	151	
Septiembre	27	27		126	96	
Octubre	26	26		171	235	
Noviembre	29	25		124	89	
Diciembre	24	24		66	111	

Con relación a las exigencias edafológicas, el maíz se adapta muy bien a todos los tipos de suelos, particularmente campos con pH entre 5 a 7, aunque es muy sensible a la acidez especialmente con la presencia de iones de aluminio. Indudablemente, los suelos ligeramente ácidos (con pH 5.5 y 6.5) son óptimos para el desarrollo del cultivo. Así mismo, suelos altos en MO y profundos, son ideales por su buena percolación de agua (Lafitte, 2014). Por el contrario, las leguminosas mucuna

enana y crotalaria cv. Tropic sun son resistentes a la sequía y presentan un amplio rango de adaptación de suelos (Brunner et al., 2009 a-b).

Tabla 2. Propiedades químicas de los tres suelos utilizados para las evaluaciones del sistema de maíz con leguminosas cobertoras durante el 2013 y 2014 en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.

Variable	Abril-Junio 2013	Julio-Octubre 2013	Febrero-Mayo 2014
	1	Suelos 2	3
pH	6.74	6.46	5.28
MO (%C)	2.47	2.95	1.75
CIC (meq/100g)	9	7	4
P disponible (mg P-PO <sub>4</sub> /kg)	7	23	17
Calcio (mg Ca/kg)	1500	1152	588
Magnesio (mg Mg/kg)	91	115	77
Potasio (mg K/kg)	197	210	102
Sodio (mg Na/kg)	19	39	11
Aluminio (mg Al/kg)	ND	ND	2

ND= no detectado

Se detectaron diferencias significativas en la interacción entre fecha y sistema de siembra para la producción de biomasa y N (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de varianza de las leguminosas mucuna enana (*Mucuna pruriens*) y crotalaria (*Crotalaria juncea* cv. Tropic sun) para la producción de biomasa y contenido de N evaluado en los meses de Marzo, Junio y Diciembre de 2013, en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.

Fuente de variación	Gl	Biomasa	Nitrógeno
		P-valor	
Fecha de siembra	2	0.0001*	0.0003*
Siembra>Repetición	9	0.7430	0.7054
Sistema siembra	1	0.3993	0.6060
Fecha siembra x Sistema siembra	2	0.0216*	0.0145*
Error	9		

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

La biomasa de las leguminosas cobertoras fueron bajas y similares en las épocas de días cortos (Tabla 4). La mayor producción de biomasa se obtuvo en la segunda siembra con  $1.31 \text{ Mg ha}^{-1}$ , por el contrario, durante la primera y tercera siembra, la producción de biomasa en comparación con la segunda siembra fue menor en  $0.85 \text{ Mg ha}^{-1}$ . De igual forma, el contenido de N, fue mayor en la segunda siembra con  $35.94 \text{ Kg ha}^{-1}$ , y la producción en la primera y tercera siembra fue menor en  $21.12 \text{ Kg ha}^{-1}$  y  $19.68 \text{ Kg ha}^{-1}$ , respectivamente.

La biomasa de las leguminosas mucuna enana y crotalaria cv. Tropic sun presentaron variaciones con relación al rendimiento durante la segunda siembra (Tabla 5). En la primera siembra de leguminosas, crotalaria cv. Tropic sun produjo  $0.07 \text{ Mg}$

ha<sup>-1</sup> de biomasa superior a la mucuna enana (0.43 Mg ha<sup>-1</sup> vs. 0.50 Mg ha<sup>-1</sup>, respectivamente). El aumento de la densidad de siembra de las leguminosas en la segunda siembra y su relación con mayores rendimientos proporcionó el mejor suministro de biomasa por la mucuna enana sobrepasando a Tropic sun en 0.70 Mg ha<sup>-1</sup> de biomasa (1.66 Mg ha<sup>-1</sup> vs. 0.96 Mg ha<sup>-1</sup>). Contrario a esto, en la tercera siembra, la leguminosa mucuna, aportó la menor cantidad de biomasa, mientras la producción de crotalaria cv. Tropic sun fue mayor en 0.30 Mg ha<sup>-1</sup> (0.61 Mg ha<sup>-1</sup> vs. 0.30 Mg ha<sup>-1</sup>).

Tabla 4. Producción de biomasa (Mg ha<sup>-1</sup>) y el contenido de N (Kg ha<sup>-1</sup>) de las leguminosas mucuna enana (*Mucuna pruriens*) y crotalaria (*Crotalaria juncea* cv. Tropic sun) evaluado en tres fechas de siembra durante el 2013 en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.

Variables	Siembra			DMS	CV(%)
	Marzo	Junio	Diciembre		
Biomasa de leguminosas	0.46	1.31	0.46	0.27	40.55
Contenido de N	14.19	35.94	16.25	7.94	38.20

CV (%)= Coeficiente de variación

DMS=Diferencia Mínima Significativa (LSD Fisher)

El N aportado por las leguminosas fue determinado por la producción de biomasa y el porcentaje de N en cada parcela (75.6 m<sup>2</sup>). La cantidad de N aportado varió de acuerdo a la época de siembra (Tabla 6). El mayor aporte de N se observó en la segunda siembra por la mucuna enana (45.54 Kg ha<sup>-1</sup>) y fue superior en 19.21 Kg ha<sup>-1</sup> en comparación con crotalaria cv. Tropic sun. En cambio, las menores cantidades

de N acumulado fueron por la mucuna enana durante la primera y tercera siembra (13.23 Kg ha<sup>-1</sup> y 10.33 Kg ha<sup>-1</sup>).

Tabla 5. Interacción del rendimiento de biomasa (Mg ha<sup>-1</sup>) de las leguminosas (*Mucuna pruriens*) y crotalaria (*Crotalaria juncea* cv. Tropic sun) evaluada en tres fechas de siembra durante el 2013 en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.

Sistema de siembra	Siembras		
	Marzo	Junio	Diciembre
Mucuna enana	0.43	1.66	0.30
Crotalaria cv. Tropic sun	0.50	0.96	0.61

DMS=Diferencia Mínima Significativa 0.48 (LSD Fisher)  
CV (%)= Coeficiente de variación 40.55

Tabla 6. Interacción N aportado (Kg ha<sup>-1</sup>) de las leguminosas mucuna enana (*Mucuna pruriens*) y crotalaria (*Crotalaria juncea* cv. Tropic sun) evaluada en tres fechas de siembra durante el 2013 en la Estación Experimental Agrícola de Isabela, Puerto Rico.

N aportado	Siembras		
	Marzo	Junio	Diciembre
Mucuna enana	13.27	45.54	10.33
Crotalaria cv. Tropic sun	15.10	26.33	22.17

DMS=Diferencia Mínima Significativa 13.52 (LSD Fisher)  
CV (%)= Coeficiente de variación 38.20

La diferencia en el aporte de biomasa por las leguminosas mucuna enana y crotalaria cv. Tropic sun fue significativo (P<0.05) por las fechas de siembra, específicamente, durante el mes de junio (verano), el rendimiento de mucuna enana



fue mayor comparado con el de crotalaria cv. Tropic sun. Resultados fueron similares a los obtenidos por Dos Santos y Campelo (2003) en Brasil, donde los meses con mayor precipitación pluvial (Noviembre, Diciembre y Enero) favorecieron los rendimientos de biomasa de *Mucuna sp* y *Crotalaria sp*. Similarmente, en Puerto Rico, la mayor precipitación pluvial entre las tres fechas de siembra ocurrió en el mes de Junio, favoreciendo el mayor rendimiento de las leguminosas durante la temporada de verano. Dos Santos y Campelo (2003), Alcantara et al. (2000) y Espíndola et al. (1998) indicaron que el rendimiento de *Mucuna sp.* y *Crotalaria sp.*, se ve afectado por variaciones en el fotoperiodo. La reducción de la longitud del día resulta en menor número de días de floración y reducción de la altura de la planta. En Puerto Rico, durante la temporada de verano, los largos del día son mayores a 12 horas, lo que podría haber favorecido la producción de biomasa. Efectivamente, Santos et al. (2011) demostraron que *Crotalaria sp.* tiene buen potencial como cultivo de cobertura por su rápido crecimiento y producción de biomasa al sembrar en el verano. No obstante, al comparar la morfología de las leguminosas donde mucuna enana tiene crecimiento rastrero y crotalaria cv. Tropic sun tiene crecimiento erecto, el aporte de biomasa de mucuna en producción de follaje es mayor. Por tal razón, Carlo (2009) evaluó el cubrimiento de superficie de terreno de las leguminosas tropicales *Crotalaria juncea* y *Mucuna pruriens* var. V-90 a la fecha de floración. La evaluación determinó que, mucuna cubrió 82% en 67 días mientras que crotalaria 73% en 96 días, confirmando que esta característica morfológica puede favorecer la producción de biomasa en menor tiempo. Ciertamente, el aporte de N por parte de las leguminosas está relacionado con la época de siembra y la cantidad de biomasa de las leguminosas.

Santos et al. (2011) afirma que la biomasa acumulada y la cantidad de materia seca determinan la producción total de N por crotalaria cv. Tropic sun.

El crecimiento de los cultivos de cobertura, por ende la producción de biomasa de las leguminosas, es también afectado por el tipo de suelo. En el occidente de Kenya se evaluó el efecto de la lluvia y el tipo de suelo en leguminosas cobertoras demostrando que la producción de biomasa depende de las características del suelo como el contenido de P, el pH y la disponibilidad de humedad (Ngome et al., 2011). Suelos con bajos contenidos de P (<6 ppm) presentaron menor productividad puesto que el P es esencial para la nodulación, y subsiguiente fijación biológica de N. El análisis de los tres tipos de suelos donde se realizaron las siembras (Tabla 2) determinó que el suelo de la segunda siembra presentó las mejores características (2.95% MO y 23 ppm de P) que favorecieron el desarrollo de las leguminosas y la producción del cultivo de maíz.

Un ANOVA combinado indica diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre fecha de siembra x sistema de siembras en el maíz dulce cv. Suresweet 2011 (Tabla 7). Las variables de rendimiento y tamaño de la mazorca fresca, al igual que el rendimiento de semilla y daño de insectos no mostraron diferencias entre fechas de siembra evaluadas. El cultivo del maíz no fue afectado por la fecha de siembra debido a que es no fotosensible. En Puerto Rico el largo del día y los cambios de temperatura no son un factor limitante para el rendimiento de mazorca fresca. Por el contrario, el rendimiento de mazorca y semilla comerciable presentan efectos principales de acuerdo al sistema de siembra ( $P < 0.05$ ). No obstante, el tamaño de mazorca y el rendimiento de semilla son influenciados por la interacción fecha de siembra x sistema de siembra.

Tabla 7. Análisis de varianza para el rendimiento y tamaño de mazorca fresca, y rendimiento de semilla de maíz dulce cv. Suresweet 2011 evaluado en tres fechas de siembra con leguminosas y siembra convencional.

Fuente de variación	Gl	Rendimiento mazorca fresca	Tamaño mazorca fresca	Rendimiento Semilla
			P-valor	
Fecha de siembra	2	0.2523	0.8742	0.6386
Siembra>Repetición	9	0.0017*	0.0044*	0.0778
Sist. de siembra	2	0.0067*	0.0691	0.0328*
Fecha siembra x Sist. siembra	4	0.0868	0.0027*	0.0037*
Error	18			

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

El rendimiento y tamaño de mazorca fresca, y el rendimiento de semilla comerciable de maíz dulce cv. Suresweet 2011 cultivado con leguminosas apisonadas o siembra convencional se compararon con contrastes para cada una de las fechas de siembra. Se realizaron comparaciones para determinar el efecto de cada una de las leguminosas con el sistema convencional (TS vs. SC y, ME vs. SC), el promedio de las dos leguminosas con el sistema convencional (LA vs. SC) y entre las leguminosas: mucuna enana y crotalaria cv. Tropic sun (ME vs. TS) en el maíz dulce cv. Suresweet 2011.

Tabla 8. Contrastes de la interacción fecha de siembra x sistema de siembra del maíz dulce cv. Suresweet 2011 para el rendimiento de mazorca fresca.

Contraste	Siembras					
	Abril-Junio 2013		Julio-October 2013		Febrero-Mayo 2014	
	P-valor	Rendimiento Mg ha <sup>-1</sup>	P-valor	Rendimiento Mg ha <sup>-1</sup>	P-valor	Rendimiento Mg ha <sup>-1</sup>
ME vs SC	0.3297	8.69 vs 10.51	0.5405	8.93 vs 7.92	0.1733	8.64 vs 12.93
TS vs SC	0.1369	7.63 vs 10.21	0.0830	4.84 vs 7.92	0.3346	9.97 vs 12.93
LA vs SC	0.0711	8.30 vs 10.51	0.4067	6.88 vs 7.92	0.0082*	9.30 vs 12.93
ME vs TS	0.4619	8.69 vs 7.63	0.0096*	8.93 vs 4.84	0.3572	8.64 vs 9.97

ME= mucuna enana, TS= Tropic sun, LA= leguminosas apisionadas, SC= siembra convencional.

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

El rendimiento de las mazorcas frescas en el primer experimento no presenta diferencias significativas ( $P > 0.05$ ), el rendimiento promedio de los tres sistemas evaluados alcanzó  $8.95 \text{ Mg ha}^{-1}$ . Por el contrario, en la segunda siembra el sistema LA ostentó mejores rendimientos ya que ME ( $P < 0.05$ ) con  $8.93 \text{ Mg ha}^{-1}$  superando a SC ( $7.92 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) y TS ( $4.84 \text{ Mg ha}^{-1}$ ); además, no se presentaron diferencias significativas entre los sistemas ME vs SC, TS vs SC y LA vs SC. En cambio, en la tercera siembra, los rendimientos fueron superiores en comparación con las otras dos siembras. El SC exteriorizó mejor rendimiento ( $12.93 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) comparado con TS ( $9.97 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) y ME ( $8.64 \text{ Mg ha}^{-1}$ ), únicamente se presentaron diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ) en el sistema LA vs SC. A pesar de las diferencias en los rendimientos en los sistemas de

siembra en las tres fechas evaluadas, la ME proporcionó rendimientos uniformes en el sistema de siembra de LA en comparación con los otros dos sistemas.

El tamaño de mazorca verde varió significativamente en las tres siembras (Tabla 9). En la primera siembra, el sistema de SC ( $P < 0.05$ ) expuso mayores tamaños (15.6 cm) comparado con las leguminosas LA (14.14 cm) y TS (13.75 cm), además, no se presentaron diferencias significativas entre los sistemas ME vs SC, TS vs SC y, ME vs TS. Contrario a esto, en la segunda el sistema de ME ( $P < 0.05$ ) exhibió mayores tamaños para la mazorca fresca con 15.51 cm, de igual manera, no se presentaron diferencias entre los sistemas ME vs SC, TS vs SC y, LA vs SC. En la tercera siembra, el sistema de TS exhibió mazorcas de 14.83 cm ( $P < 0.05$ ) en comparación con los sistemas SC (14.45 cm) y ME (13.58 cm), al igual que en la segunda siembra, no se presentaron diferencias estadísticas entre los sistemas ME vs SC, TS vs SC y, LA vs SC. A pesar de la variabilidad en el tamaño de la mazorca, el SC fue el más constante en tamaño de mazorca el cual osciló entre 14 – 15 cm. La consistencia en tamaño probablemente está relacionada con la uniformidad de fertilizante nitrogenado en las tres fechas de siembra.

Similarmente, el rendimiento de semilla comerciable presentó el mismo patrón que el rendimiento de mazorca fresca (Tabla 10). En la primera siembra no se presentaron diferencias en el rendimiento de semilla comerciable comparando los tres sistemas de siembra, el promedio del rendimiento de semilla en los tres sistemas fue  $2.48 \text{ Mg ha}^{-1}$ . Por el contrario, en la segunda siembra, el sistema de ME exhibió el mejor rendimiento de semilla con  $3.58 \text{ Mg ha}^{-1}$ , el cual fue superior a SC ( $3.04 \text{ Mg ha}^{-1}$ ) y TS ( $1.01 \text{ Mg ha}^{-1}$ ), presentando diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ) al comparar los

sistemas ME vs TS, además no se presentaron diferencias entre los sistemas ME vs SC, TS vs SC y, LA vs SC. En la tercera siembra, el SC produjo mayor cantidad de semilla ( $3.73 \text{ Mg ha}^{-1}$ ), mostrando rendimientos superiores a  $2.90 \text{ Mg ha}^{-1}$  y  $1.87 \text{ Mg ha}^{-1}$  en el sistema de TS y ME, respectivamente, de igual manera que en la segunda siembra exhibió diferencias estadísticas al comparar los sistemas LA vs SC y ME vs SC, con los otros dos sistemas de siembra (TS vs SC y ME vs TS) no se presentaron diferencias estadísticas.

Tabla 9. Contrastes de la interacción fecha de siembra x sistema de siembra del maíz dulce cv. Suresweet 2011 para el tamaño de mazorca fresca.

Contraste	Siembras					
	Abril-Junio 2013		Julio-Octubre 2013		Febrero-Mayo 2014	
	P-valor	Tamaño cm	P-valor	Tamaño cm	P-valor	Tamaño cm
ME vs SC	0.1373	14.53 vs 15.60	0.0840	15.51 vs 14.33	0.4219	13.58 vs 14.45
TS vs SC	0.0205*	13.75 vs 15.60	0.1978	13.48 vs 14.33	0.7260	14.83 vs 14.45
LA vs SC	0.0065*	14.14 vs 15.60	0.7267	14.49 vs 14.33	0.6071	14.20 vs 14.45
ME vs TS	0.1750	14.53 vs 13.75	0.0016*	15.51 vs 13.48	0.0355*	13.58 vs 14.45

ME= mucuna enana, TS= crotalaria cv. Tropic sun, LA= leguminosas apisonadas, SC= siembra convencional.

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

Tabla 10. Contrastes de la interacción fecha de siembra x sistema de siembra del maíz dulce cv. Suresweet 2011 para el rendimiento de semilla comerciable.

Contraste	Siembras					
	Abril-Junio 2013		Julio-Octubre 2013		Febrero-Mayo 2014	
	P-valor	Rendimiento Mg ha <sup>-1</sup>	P-valor	Rendimiento Mg ha <sup>-1</sup>	P-valor	Rendimiento Mg ha <sup>-1</sup>
ME vs SC	0.1162	2.02 vs 3.04	0.2329	3.58 vs 2.48	0.0180*	1.87 vs 3.73
TS vs SC	0.2869	2.38 vs 3.04	0.1186	1.01 vs 2.48	0.2312	2.90 vs 3.73
LA vs SC	0.1201	2.2 vs 3.04	0.7176	2.29 vs 2.48	0.0184*	2.38 vs 3.73
ME vs TS	0.5579	2.02 vs 2.38	0.0004*	3.58 vs 1.01	0.1018	1.87 vs 2.90

LA= leguminosas apisonadas, SC= siembra convencional, ME= mucuna enana, TS= Tropic sun

\*Significativamente diferentes P<0.05.

Diferentes investigaciones corroboran que los rendimientos en cultivo de maíz son equivalentes o superiores al sistema convencional utilizando leguminosas cobertoras. Cervantes (1993), estimó la producción de maíz y frijol con mucuna en sistemas de producción de ladera. Los resultados después de dos ciclos completos de cosecha determinó que el mejor promedio (4451 kg ha<sup>-1</sup>) fue para la asociación maíz - mucuna, mientras que con el sistema tradicional (150 kg ha<sup>-1</sup> de sulfato de amonio) se logró un promedio de 3581 kg ha<sup>-1</sup>. De la Cruz et al. (1994) evaluaron la asociación del maíz con diferentes coberturas durante tres ciclos de siembra en Costa Rica y encontraron que el mejor efecto supresor de la maleza y los mayores rendimientos del maíz se obtuvieron con la mucuna. El efecto sobre la productividad (2438 kg ha<sup>-1</sup>) fue muy superior a los obtenidos con el testigo absoluto (211 kg ha<sup>-1</sup>), lo que coincidió con mayores

rendimientos de cobertura, mejor control de malezas y posiblemente mayor aporte de la biomasa total. Fischler and Wortmann (1999) evaluaron *Crotalaria sp.* y *Mucuna sp.* en el rendimiento de maíz, encontrando que la asociación con *Crotalaria sp.* fue superior a 41% comparado con dos temporadas de barbecho. De igual manera, con *Mucuna sp.* el rendimiento fue 60% mayor en comparación con dos temporadas de maíz. Vidal et al. (2014) en Timor evaluaron cinco ciclos rotacionales en el rendimiento del porcentaje de maíz cultivado con *Mucuna sp.*, el cual incrementó en 132% con una media de 2.19 Mg ha<sup>-1</sup> en comparación con el sistema sin *Mucuna sp.* 0.94 Mg ha<sup>-1</sup>. En esta investigación, el mejor rendimiento de maíz lo presentó la segunda siembra (temporada de verano) para el sistema de la leguminosa ME. Aunque el aporte de N por parte de la ME fue menor comparado con el sistema convencional (45.54 Kg ha<sup>-1</sup> vs 56 Kg ha<sup>-1</sup> respectivamente) las condiciones climáticas y edáficas contribuyeron a maximizar los procesos de aporte de N por parte de las leguminosas. Maltas et al. (2009) afirman que el proceso de mineralización se encuentra determinado por factores como: la calidad de los residuos, tipo de suelo, temperatura, humedad, entre otros. En los residuos de leguminosas, la relación C/N es baja por lo tanto la liberación del N es rápida y se encuentra disponible inmediatamente para absorción por el siguiente cultivo. No obstante, la eficiencia en la transferencia de N al cultivo se encuentra determinada por la sincronía entre la liberación del N aportado y la absorción de N por el cultivo, siendo esta última la posible respuesta a un mejor rendimiento de mazorca en el sistema de la leguminosa ME comparado con el sistema convencional. Por el contrario, en la primera y tercera siembra, aunque el cultivo se estableció en suelos con menores nutrientes de acuerdo a los análisis químicos, el SC presentó mejores rendimientos por la aplicación



del fertilizante nitrogenado ya que el aporte de N por parte de las leguminosas en comparación con éste fue mayor (56 Kg ha<sup>-1</sup> en SC vs 14.19 Kg ha<sup>-1</sup> y 116.25 Kg ha<sup>-1</sup> de N por parte de leguminosas para la primera y tercera siembra, respectivamente), Estos resultados comprueban que el bajo aporte de N por leguminosas y suelos pobres no son aptos para mejorar rendimientos en el cultivo de maíz. De igual manera, la presencia de malezas en medio de las filas donde no hay leguminosas es un factor que puede reducir la población o interferir en el desarrollo de maíz dulce al momento de sembrarla y consecuentemente afectar el rendimiento del maíz.

El daño de la mazorca fresca ocasionado por insectos durante las tres fechas de siembra evaluadas con los tres sistemas de siembra no se presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), el valor promedio de daño en la escala de evaluación fue 3, éste corresponde entre 1-2 cm de daño en la mazorca. Los resultados obtenidos en el experimento fueron acordes con Beaver et al. (2011) donde evaluaron la tolerancia a pestes y enfermedades de 20 líneas de Suresweet 2011 durante dos ciclos de selección. En el primer ciclo de selección (Febrero 2007) la media de daño fue 3.7 cm, mientras que en el segundo ciclo (Diciembre 2009) fue equivalente a 1.1 cm en Suresweet 2011, considerando a Suresweet 2011 resistente al gusano elotero. Durante el experimento no se presentaron diferencias significativas en el daño de la mazorca en las tres fechas de siembra debido a que las aplicaciones del insecticida fueron iguales para los sistemas de siembra evaluados.

#### **4.1.4 Conclusión**

La producción de biomasa y N con ME fue mejor en la temporada de verano debido a la morfología de la planta, un fotoperiodo más largo y las condiciones climáticas más favorables. Así mismo, el rendimiento y tamaño mazorca fresca y semilla comerciable del maíz dulce se favoreció con el sistema LA. Esta práctica además de maximizar el rendimiento del maíz disminuye los costos de aplicación de fertilizantes nitrogenados y mejora las propiedades físicas y químicas del suelo. Aunque las investigaciones para mejorar el rendimiento de maíz utilizando asociaciones con leguminosas se han realizado en dos o más ciclos, basado en este estudio de un ciclo, se puede sugerir la utilización del sistema de LA durante la temporada de verano y recomendando a ME como leguminosa cobertora porque proporciona rendimientos uniformes de mazorca.

## **5 EVALUACIÓN ALELOPÁTICA EN CULTIVOS TROPICALES UTILIZANDO EXTRACTO ACUOSO DE LEGUMINOSAS.**

### **5.1.1 Materiales y métodos**

Las plantas de cobertura a evaluar se sembraron en un suelo ultisol en cajas cementeras en la Finca Alzamora de la Universidad de Puerto Rico - Mayagüez. Seis semanas después de la siembra, se colectó material vegetativo (tallos y hojas) de crotalaria cv. Tropic sun, canavalia y gandul cv. Lázaro.

El material colectado se secó al sol y se trituró en un molino (Willey mill a un tamaño de 1 mm) para preparar una solución al 3.3% m/v (5 g de material vegetal con 150 ml de agua destilada). La concentración de solución fue determinada de acuerdo a Skinner et al. (2012), la cual redujo significativamente el porcentaje de germinación y el crecimiento de plántulas de vegetales y algunas malezas. La solución se agitó por 16 horas a temperatura ambiente en un agitador orbital a 100 rpm. Posteriormente el extracto acuoso (EA) se almacenó toda la noche a 4<sup>0</sup>C (Skinner et al., 2012). Se asignaron cuatro tratamientos: control (agua destilada), EA crotalaria cv. Tropic sun, gandul cv. Lázaro y canavalia.

Se realizaron dos pruebas de germinación en el laboratorio del Edificio Piñero del Recinto Universitario de Mayagüez con semillas de cultivos tropicales: maíz cv. Mayorbela 2011, sorgo granífero, habichuela cv. Verano, soya, gandul, caupí y lechuga cv. Nevada. En un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA) con seis repeticiones por tratamiento (N=336), se incubaron 10 semillas de cada cultivo tropical en platos petri, las cuales fueron tratadas con 10 ml de los respectivos EA y agua destilada. Los

experimentos se desarrollaron en una germinadora modelo VWR™ a 29.5°C y 28.7°C, para el primer y segundo experimento, respectivamente.

Se determinó el porcentaje de germinación al cuarto y séptimo día, considerado semilla germinada cuando hubo ruptura por parte del embrión en la cubierta de la semilla. El efecto de los tratamientos se determinó comparando la germinación con el control (agua destilada). De igual manera, en el séptimo día se evaluó el desarrollo de la plántula midiendo la longitud de la radícula y el coleóptilo en las semillas monocotiledóneas (maíz cv. Mayorbela 2011 y sorgo granífero), y la longitud de la radícula y del hipocotiledón para las semillas de las dicotiledóneas (habichuela cv. Verano, soya, gandul cv. Lázaro, caupí y lechuga cv. Nevada) con la fórmula =  $(1 - \text{longitud (mm) en EA de leguminosa} / \text{longitud (mm) en control}) * 100$  (Islam and Kato, 2013-b).

Se realizaron análisis químicos de los taninos condensados (TC - tanino condensado extraíble, proteína unida a los taninos condensados y fibra unida a los taninos condensados) siguiendo el análisis simplificado de butanol-HCl (Wolfe et al., 2008) y proteína fenólica precipitable (PPP) siguiendo la metodología de Naumann et al. 2014, en el laboratorio de AgriLife – Texas, Stephenville. Los resultados obtenidos de TC son expresados como equivalentes de sericiea lespedeza (*Lespedeza cuneata*) utilizada como estándar. Igualmente PPP se obtuvo de la purificación del extracto de TC 1 mg 1ml<sup>-1</sup> de metanol más agua y se leyó a una absorbancia de 510 nm.

### 5.1.2 Análisis estadístico

Se realizó análisis de varianza de experimentos combinados debido a que las evaluaciones se repitieron en el tiempo. El modelo lineal para las observaciones (Macchiavelli, 2011):

$$Y_{ijmk} = \mu + \alpha_i + \gamma_k + \delta_{ik} + \beta_j + \psi_m + \alpha\beta_{ij} + \alpha\psi_{im} + \beta\psi_{jm} + \alpha\beta\psi_{ijm} + \epsilon_{ijmk}$$

Donde los índices representan:  $i$ ,  $j$  y  $m$  niveles del primer, segundo y tercer factor, respectivamente, y  $k$  las repeticiones.

$Y_{ijmk}$  = observación de los factores  $ijm$  con  $k$  repeticiones

$\mu$  = media de la observación

$\alpha_i$  = efecto del factor fecha de siembra

$\gamma_k$  = efecto de la repetición

$\delta_{ik}$  = efecto de la repetición  $k$  en el EA de leguminosas según la fecha de siembra

$\beta_j$  = efecto del factor EA

$\psi_m$  = efecto del factor del cultivo tropical

$\alpha\beta_{ij}$  = interacción entre los factores fecha de siembra x EA de leguminosas

$\alpha\psi_{im}$  = interacción entre los factores fecha de siembra x cultivo tropical

$\beta\psi_{jm}$  = interacción entre los factores EA de leguminosas x cultivo tropical

$\alpha\beta\psi_{ijm}$  = interacción entre los factores fecha de siembra x EA de leguminosas x cultivo tropical

$\epsilon_{ijmk}$  = error experimental (se asume que es independiente y tiene distribución normal con media cero y varianza constante)

Los análisis estadísticos se desarrollaron con Info Stat-Statistical Software versión 2012 (Di Rienzo et al., 2012). Se utilizó un nivel de significancia del 5% ( $P < 0.05$ ) y separación de medias con la prueba LSD Fisher.

### 5.1.3 Resultados y Discusión

Los diferentes cultivos tropicales evaluados, para las dos fechas presentaron diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en los porcentajes de germinación para cultivo tropical, en el séptimo día de germinación, así mismo, para la variable EA de leguminosa y siembra > repetición (Tabla 11). No obstante, en el séptimo día las diferencias se presentaron ( $P < 0.05$ ) en la interacción entre el cultivo tropical y el EA de leguminosa.

Tabla 11. Análisis de varianza del porcentaje de germinación de los siete cultivos tropicales utilizando extracto acuoso de leguminosas.

Fuente de variación	Gl	% Germinación (días)	
		4	7
		P-valor	
Siembra >Repetición	10	0.0001*	0.0065*
Cultivo tropical	6	0.0001*	0.0001*
EA de leguminosa	3	0.0603	0.0107*
Cultivo tropical x EA	18	0.3363	0.0086*
Error	270		

EA= Extracto Acuoso

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

Se presentaron variaciones a medida que aumentaron los días de evaluación. Independientemente del EA empleado, los porcentajes de germinación difieren entre los cultivos (Tabla 12). En el cuarto día, habichuela cv. Verano y sorgo mostraron los mejores porcentajes de germinación (88% y 79%, respectivamente) en comparación con los otros cultivos; gandul cv. Lázaro fue menor en 17% y maíz cv. Mayorbela 2011 24% con relación a habichuela cv. Verano. Los valores más bajos los presentaron lechuga cv. Nevada, sorgo y caupí ya que no superaron el 50% en germinación. En el séptimo día, se observó el mismo patrón en germinación a excepción de caupí que aumentó en comparación con soya. El 96% de germinación lo obtuvo habichuela cv. Verano, así mismo, sorgo, gandul cv. Lázaro y maíz cv. Mayorbela 2011 ostentaron porcentajes menores en 10%, 12% y 13%, respectivamente con relación a habichuela. Los porcentajes de lechuga cv. Nevada, caupí y soya fueron los más bajos, con diferencias en 33%, 34% y 35% con habichuela, respectivamente.

En los porcentajes de germinación en el cuarto día de cada cultivo tropical en cada extracto evaluado (Tabla 13) se observó que el cultivo de habichuela cv. Verano obtuvo porcentajes de germinación altos (90%) con el EA de gandul cv. Lázaro y control, de igual manera, con los EA de crotalaria cv. Tropic sun (84%) y canavalia (85%). Contrario a esto, los valores más bajos en germinación los presentó el cultivo de soya con los EA de gandul cv. Lázaro, crotalaria y control (40%, 14% y 42%, respectivamente). A excepción del EA de canavalia con el cultivo de soya, el cultivo de caupí ostenta porcentaje de germinación bajo (34%).

Tabla 12. Porcentajes de germinación de los siete cultivos tropicales evaluados en condiciones de laboratorio.

Cultivo Tropical	Día	
	4	7
	% Germinación	
Habichuela cv. Verano	88	96
Sorgo	79	86
Gandul cv. Lázaro	71	84
Maíz cv. Mayorbela 2011	64	83
Lechuga cv. Nevada	45	63
Soya	40	61
Caupí	37	62
DMS	9.94	7.28
CV(%)	40.95	23.67

DMS= Diferencia Mínima Significativa (LSD Fisher)

CV(%)= Coeficiente de Variación

En el séptimo día los porcentajes de germinación (Tabla 14) continuaron altos para habichuela cv. Verano, con el tratamiento control alcanzó 98% seguido por los EA de canavalia (97%), gandul cv. Lázaro (95%) y crotalaria cv. Tropic sun (94%). A diferencia del cuarto día, con excepción del tratamiento control donde el cultivo de soya obtuvo el porcentaje más bajo (59%); el cultivo de lechuga cv. Nevada presentó los valores más bajos en germinación con los EA de canavalia (47%), gandul cv. Lázaro (60%) y crotalaria cv. Tropic sun (61%).



Tabla 13. Porcentajes de germinación en el cuarto día de los siete cultivos tropicales con cada extracto acuoso de leguminosa evaluados en condiciones de laboratorio.

Extracto acuoso	Cultivo tropical	% Germinación
Control	Lechuga cv. Nevada	68
	Gandul cv. Lázaro	67
	Soya	42
	Maíz cv. Mayorbela 2011	67
	Caupí	42
	Habichuela cv. Verano	90
	Sorgo	90
Gandul cv. Lázaro	Lechuga cv. Nevada	69
	Gandul cv. Lázaro	65
	Soya	40
	Maíz cv. Mayorbela 2011	62
	Caupí	35
	Habichuela cv. Verano	90
	Sorgo	85
Crotalaria cv. Tropic sun	Lechuga cv. Nevada	40
	Gandul cv. Lázaro	75
	Soya	41
	Maíz cv. Mayorbela 2011	67
	Caupí	84
	Habichuela cv. Verano	36
	Sorgo	66
Canavalia	Lechuga cv. Nevada	38
	Gandul cv. Lázaro	78
	Soya	37
	Maíz cv. Mayorbela 2011	59
	Caupí	85
	Habichuela cv. Verano	34
	Sorgo	71

Tabla 14. Porcentajes de germinación en el séptimo día de los siete cultivos tropicales con cada extracto acuoso de leguminosa evaluados en condiciones de laboratorio.

Extracto acuoso	Cultivo tropical	% Germinación
Control	Lechuga cv. Nevada	87
	Gandul cv. Lázaro	78
	Soya	59
	Maíz cv. Mayorbela 2011	87
	Caupí	68
	Habichuela cv. Verano	98
	Sorgo	96
Gandul cv. Lázaro	Lechuga cv. Nevada	60
	Gandul cv. Lázaro	82
	Soya	63
	Maíz cv. Mayorbela 2011	79
	Caupí	59
	Habichuela cv. Verano	95
	Sorgo	92
Crotalaria cv. Tropic sun	Lechuga cv. Nevada	61
	Gandul cv. Lázaro	86
	Soya	62
	Maíz cv. Mayorbela 2011	85
	Caupí	63
	Habichuela cv. Verano	94
	Sorgo	79
Canavalia	Lechuga cv. Nevada	47
	Gandul cv. Lázaro	90
	Soya	58
	Maíz cv. Mayorbela 2011	82
	Caupí	56
	Habichuela cv. Verano	97
	Sorgo	77

El porcentaje de germinación total es un índice que depende de las mediciones finales al evaluar emergencia de plántulas y comúnmente se utiliza para determinar efectos alelopáticos. Sin embargo, este índice no ofrece información sobre inhibición o efecto retardado en la germinación. Por esta razón, el porcentaje de germinación se considera adecuado para estudios ecológicos y no para procesos fisiológicos como la germinación, aunque es el bioensayo más utilizado para determinar efectos fitotóxicos en las plántulas (Islam and Kato, 2014). Laynez y Méndez (2013) aseveran que en estudios de alelopatía es común no observar efectos alelopáticos sobre germinación, pero sí sobre los parámetros de crecimiento. Esta investigación es acorde con las afirmaciones de los investigadores mencionados anteriormente ya que los porcentajes de germinación utilizando los EA de leguminosas fueron altos en comparación con el control (agua destilada).

La evaluación de los efectos principales en los porcentajes de germinación con relación al EA utilizado indicando que hay un factor que influencia en la germinación de los cultivos tropicales (Tabla 15). La germinación alcanzó 82%, por el contrario, con los EA de gandul cv. Lázaro y crotalaria cv. Tropic sun, estos valores bajaron en 6%, y en canavalia 9%, en comparación con el control.

Tabla 15. Porcentajes de germinación en los extractos acuosos de leguminosas y agua destilada evaluados en condiciones de laboratorio.

Tratamiento	Día	
	4	7
	% Germinación	
Agua destilada	67	82
Gandul cv. Lázaro	59	76
Crotalaria cv. Tropic sun	58	76
Canavalia	58	73
DMS	7.52	5.51
CV(%)	40.95	23.67

DMS= Diferencia Mínima Significativa (LSD Fisher)

CV(%)= Coeficiente de Variación

Islam and Kato (2014) afirman que posterior a la emergencia, el crecimiento de las plántulas es reportado como el parámetro más sensitivo para probar fitotoxicidad. Por tal razón, se analizaron las diferencias en el crecimiento longitudinal de la radícula, coleóptilo e hipocotiledón para gramíneas y leguminosas, respectivamente. Las partes aéreas de las plántulas, como el coleóptilo y el hipocotiledón para las gramíneas y leguminosas respectivamente, mostraron efectos principales ( $P < 0.05$ ) con el EA de la leguminosa (Tabla 16). En los diferentes cultivos tropicales, la interacción doble de cultivo tropical x EA de leguminosa no presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). Por el contrario, la radícula de los dos grupos de plantas evaluados mostraron diferencias estadísticas ( $P < 0.05$ ) en la interacción doble de cultivo tropical por EA de leguminosa. Similarmente las variables del cultivo tropical y EA ostentaron efectos principales.

Tabla 16. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición o estimulación en el crecimiento de radícula, coleóptilo e hipocotiledón para gramíneas y leguminosas en extracto acuoso de leguminosa.

Fuente de variación	GI	Monocotiledóneas		GI	Dicotiledóneas	
		Coleóptilo	Radícula		Hipocotiledón	Radícula
		P-valor		P-valor		
Siembra>Repetición	10	0.0068*	0.1515	10	0.0003*	0.0053*
Cultivo tropical	1	0.9696	0.0001*	1	0.0969	0.0001*
EA de leguminosa	3	0.0045*	0.0001*	3	0.0034*	0.0001*
Cultivo tropical x EA	3	0.4885	0.0001*	3	0.7566	0.0018*
Error	69			173		

EA= extracto acuoso

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

Los efectos de los EA de leguminosas presentaron variabilidad en el porcentaje de inhibición (Tabla 17). El mayor efecto en el porcentaje de inhibición se presentó en la radícula tanto en las monocotiledóneas como las dicotiledóneas, el cual explica las diferencias significativas que se encontraron en el análisis de varianza. En el coleóptilo y la radícula de las monocotiledóneas al igual que en el hipocotiledón de las dicotiledóneas, el mayor efecto en inhibición lo exhibe el EA de canavalia, seguido por el EA de gandul cv. Lázaro. En las dicotiledóneas, para la radícula se presentaron variaciones con relación a los porcentajes de inhibición de los EA de leguminosas. El mejor efecto lo ostenta gandul cv. Lázaro seguido por canavalia. Sin embargo, el EA de crotalaria cv. Tropic sun demostró menores porcentajes de inhibición para las gramíneas y leguminosas.

Tabla 17. Porcentajes de inhibición de los extractos acuosos de leguminosas en monocotiledóneas y cotiledóneas.

Extracto acuoso	Monocotiledóneas		Dicotiledóneas	
	Coleóptilo	Radícula	Hipocotiledón	Radícula
	% de inhibición			
Canavalia	28.20	46.38	29.87	22.56
Gandul cv. Lázaro	23.11	35.30	25.28	25.04
Crotalaria cv. Tropic sun	0.11	28.64	6.80	10.35
DMS	19.55	12.49	18.86	12.49

DMS= Diferencia Mínima Significativa (LSD Fisher)

En las gramíneas se muestra la inhibición en el crecimiento del coleóptilo (Figura 1). El cultivo de sorgo ostenta menor efecto por los EA de leguminosas, mientras que en el cultivo de maíz cv. Mayorbela 2011 el EA de crotalaria cv. Tropic sun estimuló el crecimiento del coleóptilo. Para maíz el EA de canavalia ejerció mayor efecto disminuyendo en 34% la longitud del coleóptilo, de igual manera, el EA de gandul cv. Lázaro inhibe en menor proporción (9% menos en comparación con el EA de canavalia). Por el contrario, el EA de crotalaria cv. Tropic sun no afectó el crecimiento del coleóptilo, ya que la respuesta fue positiva con 8.1% en crecimiento. En sorgo, el crecimiento del coleóptilo expone inhibición con los tres EA de las leguminosas. Los mejores porcentajes de inhibición lo presentaron los EA de canavalia y gandul cv. Lázaro con 22%, de igual manera, crotalaria cv. Tropic sun ejerció inhibición pero 13.6% menor que los dos EA anteriores.

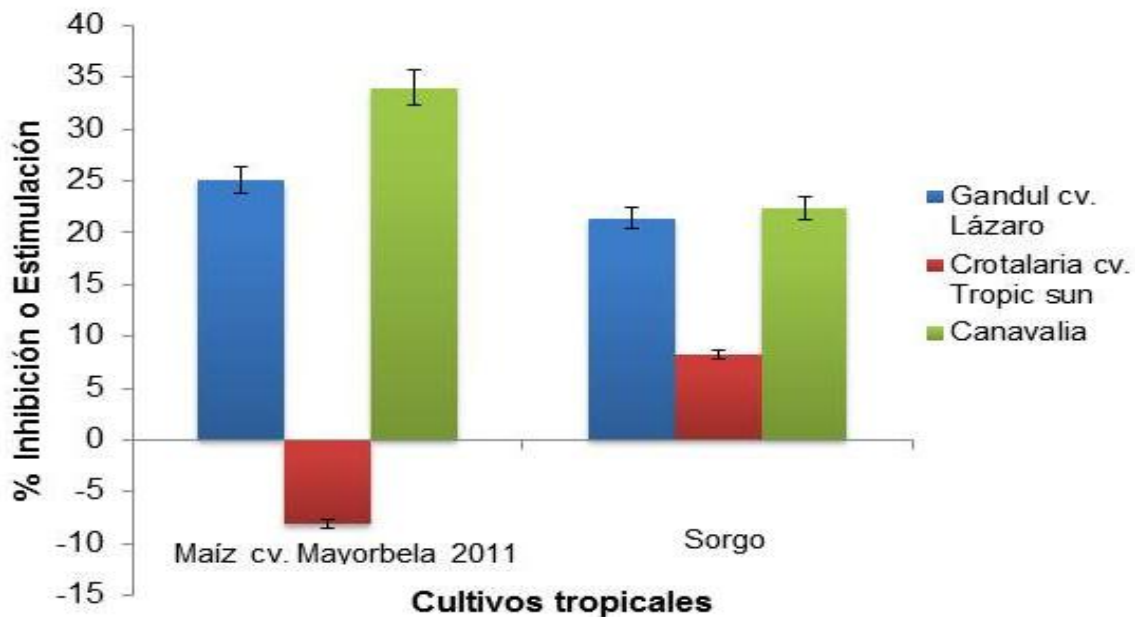


Figura 1. Porcentaje de inhibición (+) o estimulación (-) en el coleóptilo de las gramíneas maíz (*Zea mays* cv. Mavorbela 2011) y sorgo (*Sorghum bicolor*) en tres extractos acuosos de leguminosas.

El porcentaje de inhibición en el crecimiento de la radícula en las gramíneas fue mayor en sorgo que en maíz cv. Mavorbela 2011 (Figura 2). Para maíz cv. Mavorbela 2011, el mejor porcentaje de inhibición lo presentó el EA de gandul cv. Lázaro (27.8%), seguido por el EA de canavalia (16.7%). Al igual que en la longitud del coleóptilo, en la radícula, el EA de crotalaria cv. Tropic sun produjo estimulación en el crecimiento en un 9.2%. Por el contrario, en sorgo, los tres EA inhibieron el crecimiento de la radícula siendo el efecto más inhibitorio el EA de canavalia con 76%. El EA de crotalaria cv. Tropic sun produjo efecto diferente en el sorgo y en el maíz cv. Mavorbela 2011. En sorgo a que inhibió el crecimiento de la radícula en 63.3% mientras que en el maíz cv. Mavorbela 2011 estimuló el crecimiento en 10%. El EA de gandul cv. Lázaro produjo

menor efecto en comparación con los otros dos EA de leguminosas, sin embargo, inhibió el crecimiento de la radícula de sorgo y maíz cv. Mayorbela 2011 en 42.7% y 27.8% respectivamente.

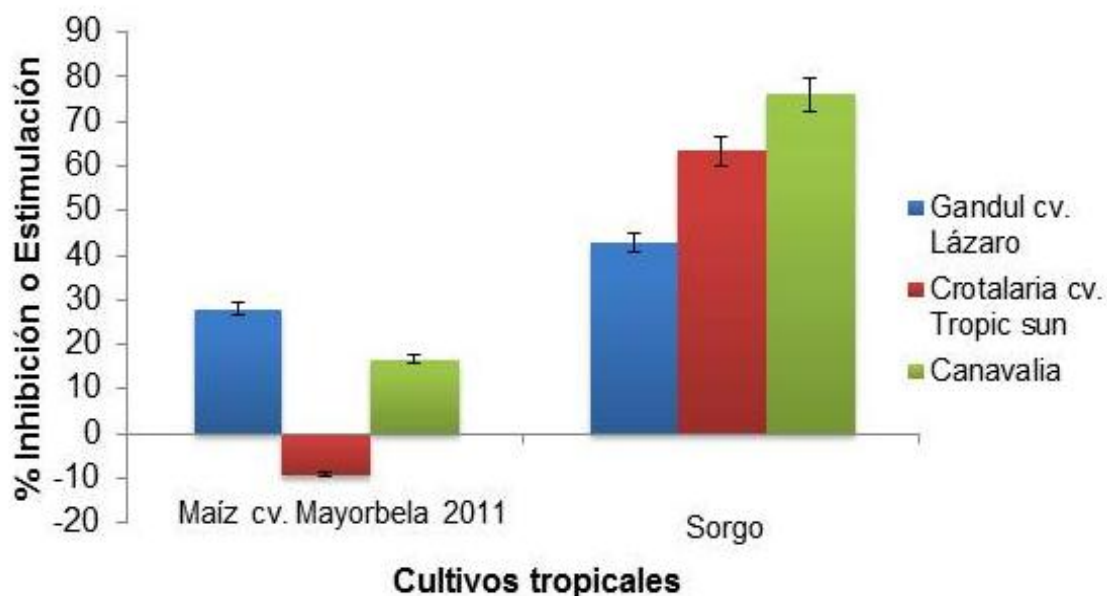


Figura 2. Porcentaje de inhibición (+) o estimulación (-) en la radícula de las gramíneas maíz (*Zea mays* cv. Mayorbela 2011) y sorgo (*Sorghum bicolor*) en tres extractos acuosos de leguminosas.

En las dicotiledóneas al igual que en las monocotiledóneas el porcentaje de inhibición en la parte aérea de la plántula, el hipocotiledón en este caso, muestra variaciones de acuerdo al EA de leguminosa (Figura 3). En general, los EA de gandul cv. Lázaro y canavalia inhibieron crecimiento del hipocotiledón en los cultivos tropicales, por el contrario, el EA de Tropic sun a excepción del cultivo de lechuga cv. Nevada estimuló el crecimiento del hipocotiledón. Con respecto a cada cultivo tropical, soya presentó menor porcentaje de inhibición en el crecimiento del hipocotiledón, con



14.2% de inhibición el EA de canavalia ejerció mayor efecto, seguido por el EA de gandul cv. Lázaro con 8.15% de inhibición. El EA de crotalaria cv. Tropic sun no causó daño en el crecimiento del hipocotiledón, por el contrario, tuvo desarrollo de 11.4%. El cultivo de gandul cv. Lázaro fue la segunda planta con menor inhibición, la mayor inhibición la expone el EA de canavalia con 23.9% y el EA de gandul cv. Lázaro afecta en menor proporción con 15.49%. El EA de crotalaria cv. Tropic sun favoreció el crecimiento del hipocotiledón en 3.17%.

En los cultivos de habichuela y caupí, los efectos de los EA de leguminosas cambiaron en comparación con soya y gandul cv. Lázaro, el EA de gandul cv. Lázaro expone mayor efecto inhibitorio seguido por el EA de canavalia. En el cultivo de habichuela cv. Verano, el EA de gandul cv. Lázaro afecta el crecimiento del hipocotiledón en 28.3% y el EA de canavalia manifiesta un menor efecto en 4.4% comparado con el EA de gandul cv. Lázaro. El EA de crotalaria cv. Tropic sun revela estimulación en 2.08%. La expresión de los EA de leguminosas fueron mayores en caupí comparado con habichuela cv. Verano. El EA de gandul cv. Lázaro perjudica el crecimiento del hipocotiledón en 38.7% seguido por el EA de canavalia con un valor similar (34.7%). Aunque el EA de crotalaria cv. Tropic sun favorece el crecimiento del hipocotiledón en 0.15%, el porcentaje es muy bajo y probablemente una concentración mayor de esta leguminosa afecta el crecimiento de caupí.

La lechuga cv. Nevada además de ser el cultivo que exhibió mayor efecto en el crecimiento del hipocotiledón, los tres EA afectaron el crecimiento del hipocotiledón. El mayor efecto lo ejerce el EA de canavalia con 64.3%, seguido por el EA de crotalaria

cv. Tropic sun con efecto 6.7% menor y el EA de gandul cv. Lázaro, el cual disminuye la inhibición con 30.24% menos con relación al EA de canavalia.

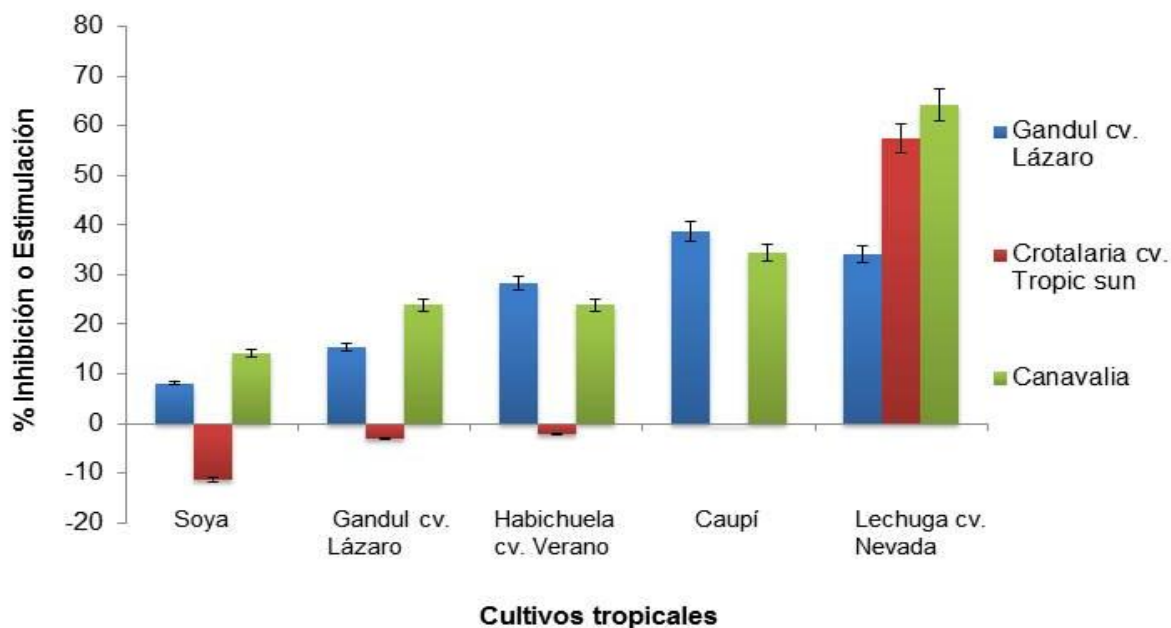


Figura 3. Porcentaje de inhibición (+) o estimulación (-) en el hipocotiledón de las dicotiledóneas en extracto acuoso de leguminosas soya (*Glycine max*), gandul (*Cajanus cajan* cv. Lázaro) habichuela (*Phaseolus vulgaris* cv. Verano), caupí (*Vigna unguiculata*) y lechuga [*Lactuca sativa* cv. Nevada).

El efecto en el crecimiento de la radícula en EA de leguminosas al igual que en el hipocotiledón presenta variaciones (Figura 4). En esta parte de la planta fue más notorio la inhibición con el EA, en comparación con el hipocotiledón. El cultivo de soya nuevamente se encontró entre los cultivos con menor efecto ante los EA de leguminosas. El EA de gandul cv. Lázaro inhibió el crecimiento del coleóptilo en 20.7% y el EA de canavalia en 11.8%. Contrario a la estimulación del EA de crotalaria cv. Tropic sun en el hipocotiledón, en la radícula la inhibición es 3.9%. Del mismo modo, el

cultivo de gandul cv. Lázaro muestra comportamiento opuesto con los EA en el desarrollo de la radícula. Los EA de gandul cv. Lázaro y canavalia estimulan el crecimiento de la radícula en 4% y 13.9%, respectivamente, en contraste crotalaria cv. Tropic sun inhibe en 4%. La radícula del gandul cv. Lázaro se caracterizó por ser la planta con menor inhibición ante los otros cultivos tropicales evaluados.

En el cultivo de habichuela cv. Verano, los EA de leguminosas en la radícula presentaron el mismo comportamiento que en el coleóptilo. El EA de gandul cv. Lázaro ejerce mayor inhibición en 31.8% y el EA de canavalia desarrolla menor inhibición con 16.8% comparado con el EA de gandul cv. Lázaro. Por el contrario, el EA de crotalaria cv. Tropic sun estimula el crecimiento de la radícula en 9.4%. El cultivo de caupí, aunque los EA de gandul cv. Lázaro y canavalia inhibieron el crecimiento de la radícula, se comportaron de manera opuesta que en el coleóptilo, ya que el EA de canavalia afecta en mayor proporción el crecimiento de la radícula con 43.5% seguido por el EA de gandul cv. Lázaro con 25.4%. El EA de crotalaria cv. Tropic sun también favorece el desarrollo de la radícula al igual que el hipocotiledón pero en mayor porcentaje 2.87%.

El cultivo de la lechuga cv. Nevada, al igual que en el coleóptilo la radícula fue afectada por todos los EA en mayores porcentajes comparado con los otros cultivos tropicales evaluados. Sin embargo, el grado de inhibición por parte de los EA es diferente. El EA de gandul cv. Lázaro ejerce mayor efecto (60.43%) comparado con el EA de crotalaria cv. Tropic sun (57.3%), mientras que el EA de canavalia continúa afectando en mayor porcentaje el crecimiento de la radícula (67.3%) al igual que en el hipocotiledón.

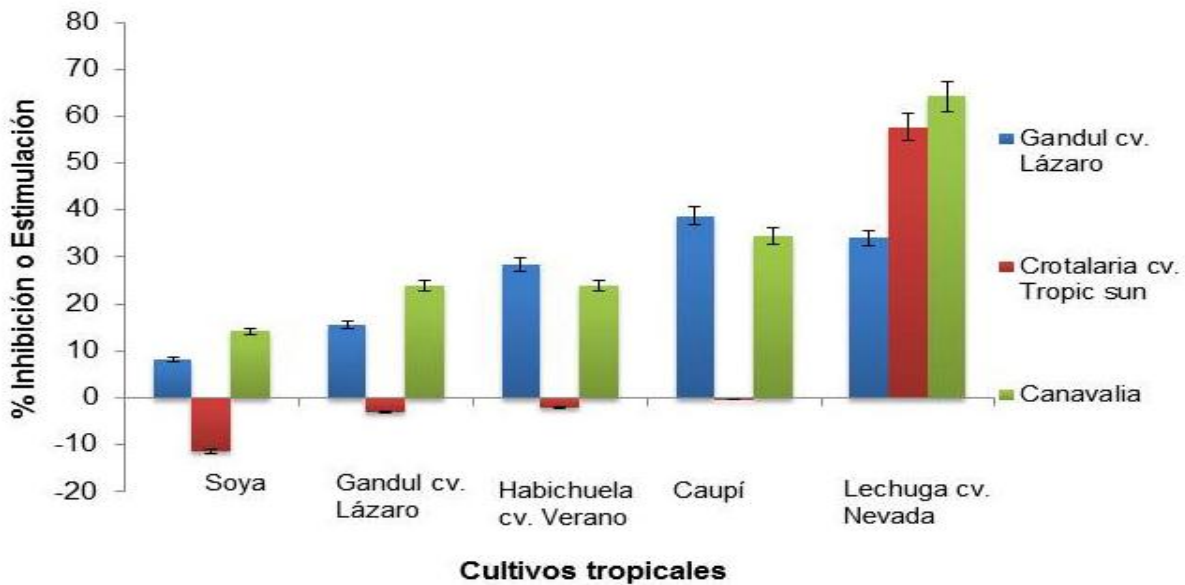


Figura 4. Porcentaje de inhibición (+) o estimulación (-) en la radícula de las dicotiledóneas en extracto acuoso de leguminosas soya (*Glycine max*), gandul (*Cajanus cajan* cv. Lázaro) habichuela (*Phaseolus vulgaris* cv. Verano), caupí (*Vigna unguiculata*) y lechuga (*Lactuca sativa* cv. Nevada).

Tanto en las gramíneas como en las leguminosas el efecto del EA fue más influyente en el crecimiento de la radícula concordando con los resultados obtenidos por Islam and Kato (2013 a-b). La mayor inhibición del crecimiento de la raíz en comparación con las partes aéreas de las plántulas puede deberse a que en el desarrollo inicial, el coleóptilo y el hipocotiledón para las gramíneas y leguminosas, respectivamente, dependen mayormente de la expansión de células que son relativamente insensibles a los aleloquímicos. Por el contrario, el proceso de rizogénesis está íntimamente asociado a la división celular que es sensible a los aleloquímicos ejerciendo inhibición de crecimiento de la radícula más alto que en el coleóptilo y el hipocotiledón. Probablemente que la reducción de la división celular en

presencia de los aleloquímicos pueda inhibir la giberelina y/o la función de ácido indolacético u hormonas promotoras del crecimiento vegetal. De igual manera las raíces ejercen mayor contacto con los aleloquímicos debido a que son el primer órgano en absorber sustancias del medio ambiente (Islam and Kato. 2013-b), en este caso, los EA de las leguminosas. Debido a esto, la longitud de las plántulas es el parámetro más utilizado para evaluar efectos alelopáticos (Islam and Kato. 2013-a). Los resultados obtenidos en la investigación indican que los EA de canavalia y gandul cv. Lázaro ejercen mayor inhibición en el desarrollo de las plántulas; aunque el EA de crotalaria cv. Tropic sun también afecta las plántulas de lechuga cv. Nevada y sorgo, en los otros cultivos se observó estimulación de hipocotiledón, coleóptilo o radícula.

Los estudios de potencial alelopático reconocen problemas de autotoxicidad para la especie cultivada debido a acumulación de fitotoxinas producidas por la descomposición de los residuos del cultivo. La continua producción de forrajes tropicales como la alfalfa y el re-establecimiento en el mismo lugar, ha demostrado actividad alelopática autotóxica y heterotóxica. La importancia de la alfalfa en la industria pecuaria ha hecho que sea uno de los forrajes más estudiados respecto a la autotoxicidad y se ha reportado que las condiciones ambientales y la edad de la planta influyen en los efectos alelopáticos (Seguin et al., 2002). Sin embargo, no hay evidencia científica que indique si el EA de gandul cv. Lázaro actúa como autotóxico en el desarrollo del hipocotiledón de la misma planta. Laynez y Méndez (2013) afirman que la lechuga se considera la especie modelo más utilizada en bioensayos alelopáticos debido a su rápida germinación y alta sensibilidad a aleloquímicos. Los

resultados obtenidos en esta investigación confirman los obtenidos por Skinner et al. (2012) que el EA de *Tropic sun* tiene un efecto inhibitorio sobre la lechuga.

Diferentes investigaciones reportan leguminosas que inhiben o estimulan el crecimiento de cultivos o malezas. Kumbhar et al. (2012) exponen que el efecto alelopático de *Cajanus cajan* (gandul) en diferentes concentraciones (10%, 25%, 50% y 100%) inhiben significativamente la germinación y el crecimiento de *Vigna unguiculata*. Por el contrario, los extractos acuosos de *V. unguiculata* (caupí) tienen un efecto estimulador en la germinación y desarrollo de la plántula de gandul. De igual manera, concentraciones (1%, 5% y 10%) de extractos acuosos de *Ocimum sanctum* y *Teophrosia purpurea* favorecen la germinación de gandul y caupí; sin embargo la concentración de 1% no causa daño en crecimiento de la radícula y el hipocotiledón (Purohit and Pandya, 2013). Skinner et al. (2002) sugirieron que los extractos aleloquímicos de residuos de hojas de *Crotalaria juncea* al 3.3% reducen la germinación y el crecimiento de amaranto (*Amaranthus hybridus* L.), lechuga y *Lolium perenne* (ryegrass). Sin embargo los EA de raíces y tallos de *C. juncea* no tienen efecto sobre estas plantas. Incluso en la leguminosa *Senna obtusifolia* (sicklepod) el EA de hojas, tallo y raíces no desarrolla inhibición en la planta. De igual manera, al evaluar sólo porcentajes de germinación en maíz dulce y caupí con EA de hojas de *C. juncea juncea* y *Secale cereale* (centeno) en la misma concentración mencionada anteriormente, la germinación de maíz dulce no es significativamente reducida por el EA de *C. juncea* pero si por centeno, por el contrario, caupí presenta reducción con los dos extractos evaluados. Igualmente, Oyun (2006) evaluó el efecto de EA de hojas de leguminosas *Gliricidia sepium* y *Acacia auriculiformis* a 3%, 6% y 12% sobre

germinación y desarrollo de la plántula. Las concentraciones de 6% de *G. sepium* y 12% de *A. auriculiformis* inhiben la germinación del maíz; paralelamente al incrementar las concentraciones de las leguminosas disminuyen significativamente el desarrollo del maíz, pero el mayor efecto se observó con *G. sepium*. Hang et al. (2008) evaluaron efectos alelopáticos de extractos de hojas, tallo y rizoma de gengibre en concentraciones de 1%, 2%, 4% y 8% en soya. Las concentraciones de 2% del rizoma tienen efecto estimulador en la germinación, por el contrario, concentraciones de 8% de tallos y hojas inhiben la germinación. Igualmente, la longitud del hipocotiledón es inhibido por todas las concentraciones de todos los extractos y en la radícula el extracto del rizoma es estimulador en bajas concentraciones e inhibe en altas concentraciones.

Evidentemente las investigaciones sobre efectos alelopáticos en diferentes cultivos ha sido extensamente evaluada con diferentes parámetros como: especies y partes de plantas donde se obtienen los extractos, concentraciones de los extractos, edades de cosecha de la planta para el extracto acuoso, metodologías para preparar extractos acuosos, fechas de evaluación de germinación y fechas de evaluación de desarrollo de la plántula. Ciertamente, los resultados positivos para inhibición o estimulación de germinación y desarrollo de plántulas son muy extensos. El parámetro más utilizado para evaluar los efectos alelopáticos de los extractos de plantas en el desarrollo y/o el crecimiento de la especie utilizada es la longitud de las plántulas (Islam and Kato. 2013-b) en este caso radícula, coleóptilo e hipocotiledón. Por tal razón, esta investigación indica que los EA de canavalia, gandul cv. Lázaro y crotalaria cv. Tropic sun al 3.3% tienen efectos de inhibición y estimulación en el desarrollo de cultivos tropicales.

El análisis químico determinó la baja concentración TC y PPP en las plantas de canavalia, gandul cv. Lázaro y crotalaria cv. Tropic sun (Tabla 18). La cantidad de taninos en gandul cv. Lázaro presentó una subestimación debido a la metodología.

Tabla 18. Porcentaje de taninos condensados (ECT, PBT, FBT, TTC) y proteína precipitable (PPP) de tanino condensado de leguminosas con seis semanas después de plantadas.

Leguminosa	% ECT	%PBCT	%FBCT	%TTC	PPP
Canavalia	0.1943	0.8105	0.0397	1.044	0.12
Crotalaria	-0.1217	0.2531	0.0057	0.1371	0.18
Gandul	2.1703	6.7725	1.9668	10.9096	0

ECT= Tanino condensado extraíble, PBCT= Proteína adherida a tanino condensado, FBCT= Fibra adherida a tanino condensado, TTC= Taninos condensados totales, PPP= Proteína fenólica precipitable.

Los TC en los tejidos de las plantas existen en tres fracciones: ECT, PBCT y FBCT. La concentración de TC en cada fracción es dependiente de muchos factores entre estos se encuentran el clima, nutrientes, niveles de estrés, edad y origen anatómico del tejido de la planta. La abundancia de estas tres fracciones puede afectar la actividad biológica de TC (Naumann, 2013). Wolfe et al. (2008) reportaron altas concentraciones de TC en plantas herbáceas ya que las plantas invierten sus recursos en hojas de larga vida. Por el contrario, sólo pocas especies de forrajes de leguminosas acumulan TC en niveles significantes. Un estudio de leguminosas herbáceas y no herbáceas en Texas, reveló que las concentraciones de TC fue nula y variaron considerablemente entre las especies analizadas. Entre las leguminosas de ramoneo, la presencia de TC fue más uniforme pero generalmente con niveles más bajos



comparado con las leguminosas herbáceas. Entre estas especies, *Cajanus cajan* (gandul) reportó porcentajes de TC de 2.1% (Muir et al., 2009), lo cual difieren grandemente en los resultados obtenidos en este estudio. La metodología butanol - HCl que es específica para TC mide el número total de residuos de flavanoides presentes e implica la despolimerización catalizada por HCl de TC en butanol para producir un producto de antocianidina rojo que se puede detectar espectrofotométricamente. El problema de la metodología resulta en que los polímeros de tanino se dividen en dímeros o trímeros en lugar de monómeros y esto lleva a una subestimación del contenido de tanino ya que no todos los pigmentos rojos se disuelven (Caanas, 2014). Sin embargo, los valores obtenidos con canavalia concuerdan con los reportados por Sridhar and Seena (2006). Nagaraju et al. (2012) encontró que no hay presencia de taninos en tres especies de crotalaria (*C. retusa*, *C. prostra* y *C. medicaginea*) notablemente el contenido de taninos para *C. juncea* en esta investigación fue casi nulo.

#### **5.1.4 Conclusión**

Los EA de canavalia, crotalaria cv. Tropic sun y gandul cv. Lázaro influyen en procesos fisiológicos en el crecimiento (radícula, hipocotiledón y coleóptilo) y no en la germinación. En general, el EA de canavalia presentó mayor porcentaje de inhibición en crecimiento, el cual podría estar fundamentado con el mayor contenido de TC, este compuesto alelopático está asociado con defensa a herbivoría, por lo tanto, es importante profundizar acerca de la fitoquímica de esta leguminosa para determinar el compuesto que inhibe germinación de otros cultivos. El EA de crotalaria cv. Tropic sun

mostró estimulación en el desarrollo de las plántulas de maíz cv. Mayorbela 2011, soya y habichuela cv. Verano, probablemente la concentración utilizada de los EA muy baja para inhibir crecimiento o los compuestos alelopáticos no afectan dichos cultivos, por lo tanto, se presenta estimulación en el desarrollo de la plántula.

## **6 EVALUACIÓN ALELOPÁTICA EN CULTIVOS TROPICALES UTILIZANDO COBERTURA MUERTA TRITURADA DE LEGUMINOSAS.**

### **6.1.1 Materiales y métodos**

En un ultisol de Mayagüez se sembraron las plantas de cobertura crotalaria cv. Tropic sun, canavalia, y gandul cv. Lázaro transcurridos tres meses, se colectó material vegetativo (tallos y hojas), se secó al sol y trituró con una podadora mecánica en trozos de aproximadamente 5 cm. El residuo seco se utilizó como cobertura muerta de leguminosa triturada (CMLT). En una maceta de 20 cm se adicionó una mezcla de 550 g de suelo (10% perlita y 90% suelo orgánico) más 10 g de CMLT (Schomberg et al. 2006).

El experimento se estableció en el invernadero del Edificio Piñero de la Universidad de Puerto Rico - Mayagüez. En un Diseño en Bloques Completos Aleatorizados (DBCA) se establecieron cuatro tratamientos: uno sin residuos de planta de cobertura y tres tratamientos con cada una de las plantas de cobertura, con seis repeticiones y diez semillas por tratamiento de acuerdo con los experimentos de Batlang y Shushu (2007) y Skinner et al. (2012). Los cultivos tropicales evaluados fueron maíz cv. Mayorbela 2011, sorgo granífero, habichuela cv. Verano, soya, gandul cv. Lázaro, caupí y lechuga cv. Nevada. La CMLT se mezcló manualmente en los primeros 5 cm en la superficie del suelo y cubierta con una capa de suelo orgánico,

transcurrida una semana se sembraron las semillas. Las plantas fueron humedecidas cada tres días.

Debido a que muchos investigadores han propuesto varios índices para estudiar la actividad fitotóxica de sustancias en germinación en plantas, se evaluaron los siguientes índices (Tabla 19): porcentaje de germinación (PG), definido como la medida del tiempo de germinación en relación con la capacidad germinativa de cada cultivo tropical; índice de germinación (IG) determinado en base a la fórmula de las semillas germinadas entre el primer conteo hasta la cantidad de semillas germinadas en el último conteo (Islam and Kato, 2014), el índice de vigor de la semilla (IVS), importante parámetro de calidad que ofrece información complementaria sobre la germinación y viabilidad para determinar el rendimiento de un grupo de semillas (Gupta and Shahi, 1998), y la energía de germinación (EG), que corresponde al porcentaje de semillas de un grupo de semillas que germinan en el lapso de un período, denominado período de energía en óptimas condiciones. Este último índice representa la velocidad de germinación y el vigor de la semilla ya que sólo las semillas que germinan con rapidez y vigor en condiciones favorables, serán capaces de producir plántulas vigorosas (Willan, 2014). Los índices se utilizaron para determinar actividad alelopática de la CMTL en la germinación a los cuatro, siete y catorce días. Únicamente el IVS se evaluó en el séptimo día debido a que las plantas estaban creciendo en macetas y el espacio para el desarrollo era limitado. En adición se evaluó el peso seco (PS) de los cultivos tropicales en los diferentes tratamientos.

Tabla 19. Índices de germinación evaluados para determinar efectos alelopáticos en cultivos tropicales.

Índice	Fórmula
Porcentaje de germinación (PG)	(Número de semillas germinadas al final del conteo/Número total de semillas)*100
Índice de germinación (IG)	(Número de semillas germinadas/Días del primer contero) +.....+ (Número de semillas germinadas/Días del ultimo contero)
Índice de vigor de la semilla (IVS)	(Longitud de la plántula en mm*Porcentaje de germinación/100)
Energía de germinación (EG)	(Porcentaje de semillas germinadas a partir del primer día de germinación/Total de semillas germinadas)*100

Se realizaron análisis químicos de los taninos condensados (tanino condensado extraíble, proteína unida a los taninos condensados y fibra unida a los taninos condensados) siguiendo el análisis simplificado de butanol-HCl (Wolfe et al., 2008) y proteína fenólica precipitable siguiendo la metodología de Naumann et al. (2014), en el laboratorio de AgriLife – Texas, Stephenville. . Los resultados obtenidos de TC son expresados como equivalentes de sericiea lespedeza (*Lespedeza cuneata*) utilizada como estándar. Igualmente PPP se obtuvo de la purificación del extracto de TC 1 mg 1ml<sup>-1</sup> de metanol más agua y se leyó a una absorbancia de 510 nm.

### 6.1.2 Análisis Estadístico

Se realizó análisis de varianza en un modelo Factorial 7 x 4. El modelo lineal para observaciones (Macchiavelli, 2011):

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Donde los índices representan:  $i$  y  $j$  niveles del primer y segundo factor, respectivamente, y  $k$  las repeticiones.

$Y_{ijk}$  =observación de los factores  $ij$  con  $k$  repeticiones

$\mu$  = media de la observación

$\alpha_i$  = efectos de cobertura muerta triturada de leguminosa

$\beta_j$  = efectos de cultivos tropicales

$\alpha\beta_{ij}$  = interacción entre cobertura muerta triturada de leguminosa x cultivo tropical

$\varepsilon_{ijk}$  = error experimental (se asume que es independiente y tiene distribución normal con media cero y varianza constante).

Los análisis estadísticos se desarrollaron con Info Stat-Statistical Software versión 2012 (Di Rienzo et al., 2012). Se utilizó un nivel de significancia del 5% ( $P < 0.05$ ) y separación de medias con la prueba LSD Fisher. De igual manera, los tratamientos se compararon con contrastes con el mismo nivel de significancia.

### **6.1.3 Resultados y Discusión**

El análisis de varianza ostenta diferencias significativas en la evaluación de los porcentajes de germinación en las tres fechas de germinación (Tabla 20). Se presentaron efectos principales para los siete cultivos tropicales y la CMLT, sin embargo, no se presentó interacción entre el cultivo tropical y la CMLT.

Tabla 20. Análisis de varianza de los porcentajes de germinación de los siete cultivos tropicales utilizando cobertura muerta triturada de leguminosas.

Fuente de variación	Gl	PG (días)		
		4	7	14
		P-valor		
Cultivo tropical	6	0.0001*	0.0001*	0.0001*
CMLT	3	0.0304*	0.0016*	0.0016*
Cultivo tropical x CMLT	18	0.6578	0.2585	0.1284
Error	140			

CMLT= Cobertura muerta de leguminosa triturada

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

Durante las tres fechas de evaluación de germinación de acuerdo a la CMLT, se pudo observar incremento en las germinaciones (Tabla 21). En el cuarto día no se presentaron diferencias significativas ( $P > 0.05$ ). Los PG en la cobertura gandul cv. Lázaro y sin cobertura (control) fueron similares, con diferencia numérica entre ellos de 6%. Así mismo, entre las coberturas canavalia y crotalaria cv. Tropic sun, las variaciones en los PG fueron 5% y 1%, respectivamente, con relación a Lázaro. Entre el cuarto y séptimo día aumentaron las germinaciones en 35% sin cobertura, 36% canavalia, 33% gandul cv. Lázaro y 29% crotalaria cv. Tropic sun. Para el día catorce, el tratamiento sin cobertura muestra diferencias significativas con relación a la CMLT, aunque entre éstas no hubo diferencias estadísticas, los PG fueron iguales entre canavalia y crotalaria cv. Tropic sun con 78%, mientras la cobertura de gandul cv. Lázaro presentó un 8% menos en germinación comparado con las otras leguminosas.

Tabla 21. Promedios de los porcentajes de germinación sin cobertura y las cobertoras muertas trituradas de leguminosas evaluadas en invernadero.

Tratamiento	Día		
	4	7	14
		PG	
Sin cobertura	45	80	87
Gandul cv. Lázaro	39	72	78
Canavalia	34	70	78
Crotalaria cv. Tropic sun	33	62	70
DMS	8.49	8.76	8.11
CV(%)	52.02	28.58	24.09

DMS= Diferencia Mínima Significativa (LSD Fisher)

CV(%)=Coeficiente de Variación

A medida que aumentaron los días de evaluaciones se incrementaron los PG de los cultivos tropicales (Tabla 22). Independientemente de la CMLT utilizada, en el día cuatro, el mayor PG fue para lechuga cv. Nevada (84%), seguido por habichuela cv. Verano y soya con diferencias en 23% y 50%, respectivamente. Caupí y maíz presentaron diferencias en 51% y, los PG más bajos fueron para sorgo y gandul cv. Lázaro con un 64 y 82% menos germinación en comparación con lechuga cv. Nevada. Entre el día cuatro y siete, los PG acrecentaron principalmente en los cultivos que presentaron bajos valores en la primera evaluación, de este modo, lechuga cv. Nevada aumentó en 1%, soya 6%, habichuela cv. Verano 32%, caupí 40%, maíz cv. Mayorbela 2011 43%, gandul cv. Lázaro 55% y sorgo 56%. En el día catorce, el mayor PG lo presentó habichuela cv. Verano (98%), seguida con diferencias entre 15% y 12% por



los cultivos de maíz, caupí, sorgo y lechuga cv. Nevada. Gandul cv. Lázaro exhibió 27% menos en germinación y el valor más bajo lo presentó la soya con 56% menos comparados con la habichuela cv. Verano.

Tabla 22. Porcentajes de germinación de los siete cultivos tropicales evaluados en invernadero.

Cultivo Tropical	Día		
	4	7	14
	PG		
Habichuela cv. Verano	61	93	98
Lechuga cv. Nevada	84	85	86
Maíz cv. Mayorbela 2011	33	76	83
Sorgo	20	76	85
Caupí	33	73	84
Soya	34	40	42
Gandul cv. Lázaro	2	57	71
DMS	11.23	11.60	10.73
CV(%)	52.02	28.58	24.09

DMS= Diferencia Mínima Significativa (LSD Fisher)

CV(%)=Coeficiente de Variación

El PG indica la germinación total de un grupo de semillas después de un periodo de tiempo cuando la germinación se hace constante. Sin embargo, dicho índice no puede explicar la germinación retardada (Islam and Kato, 2014), específicamente para el cultivo de soya que fue estadísticamente diferente de los otros cultivos tropicales por presentar el porcentaje más bajo en germinación. Por el contrario, los índices IG, IVS, y

EG son utilizados para evaluar alelopatía, valores altos, en comparación con el control, indican poca inhibición (Islam and Kato, 2014). El análisis de varianza para cada uno de los índices comparados con el respectivo tratamiento control no presentó interacción entre el cultivo tropical y CMLT a excepción del PS (Tabla 23).

Tabla 23. Análisis de varianza de los índices para evaluar fitotoxicidad en los cultivos tropicales comparados con el tratamiento control.

Fuente de variación	Gl	IG	IVS	EG	PS
		P-valor			
Cultivo tropical	6	0.0001*	0.0001*	0.0001*	0.0001*
CMLT	3	0.0014*	0.0052*	0.0304*	0.0008*
Cultivo tropical x CMLT	18	0.2633	0.6819	0.6587	0.0507*
Error	140				

CMLT= Cobertura muerta de leguminosa triturada

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$ .

El IG al ser contrastado con el tratamiento control (sin cobertura) con cada uno de los cultivos tropicales presenta diferencias significativas (Tabla 24). Los cultivos de maíz cv. Mayorbela 2011 con CMTL de canavalia y, el cultivo de soya con CMTL crotalaria cv. Tropic sun y gandul cv. Lázaro, presentan mayores IG en 0.63, 1.26 y 0.33, respectivamente, indicando que hay un efecto positivo en la germinación debido al incremento del índice. De igual manera sucede con lechuga cv. Nevada con la CMTL de crotalaria cv. Tropic sun, aumentando en 0.15. Por el contrario, los cultivos de maíz cv. Mayorbela 2011 con CMTL gandul y, soya con CMTL canavalia, los IG son menores en comparación con el control en 0.02 y 0.36, respectivamente, demostrando que

afecta el IG de estos cultivos cuando están expuestos a las leguminosas mencionadas anteriormente.

Tabla 24. Contrastes de la cobertura muerta triturada de leguminosa vs. el tratamiento control (sin cobertura) en el índice de germinación (IG) para los cultivos tropicales evaluados.

Cultivo Tropical	Cobertura muerta triturada de leguminosa						
	Control IG	Crotalaria cv. Tropic sun		Canavalia		Gandul cv. Lázaro	
		IG	P-valor	IG	P-valor	IG	P-valor
Maíz cv. Mayorbela 2011	2.12	3.03	0.5308	2.75	0.0376*	2.10	0.0427*
Sorgo	2.48	2.30	0.7691	2.17	0.2208	1.76	0.6890
Soya	1.40	2.66	0.0004*	1.04	0.0388*	1.73	0.0053*
Habichuela cv. Verano	3.69	3.77	0.3510	3.36	0.2690	3.28	0.8518
Gandul cv. Lázaro	1.51	1.47	0.1791	0.87	0.883	1.54	0.9256
Caupí	2.73	2.77	0.1510	2.13	0.2258	2.23	0.9362
Lechuga cv. Nevada	4.02	4.17	0.0483*	3.29	0.9256	4.21	0.7387

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$

Similarmente la EG de los cultivos evaluados con la CMLT al compararlos con el tratamiento control presentó diferencias significativas (Tabla 25), resultando en un efecto positivo ya que hubo aumento en el índice. El maíz cv. Mayorbela 2011 con la CMLT de canavalia y, el cultivo de soya con las CMLT de crotalaria cv. Tropic sun y gandul cv. Lázaro, no son afectados cuando son expuestos a las leguminosas cobertoras es decir, las velocidades de germinación y el vigor de las semillas aumentan en 133.33, 233.34 y 66.67, respectivamente.

Tabla 25. Contrastes de la cobertura muerta triturada de leguminosa vs. el tratamiento control (sin cobertura) en la energía de germinación (EG) para los cultivos tropicales evaluados.

Cultivo Tropical	Cobertura muerta triturada de leguminosa						
	Control	Crotalaria cv. Tropic sun		Canavalia		Gandul cv. Lázaro	
	EG	EG	P-valor	EG	P-valor	EG	P-valor
Maíz cv. Mayorbela 2011	266.67	450.00	0.6608	400.00	0.0295*	200.00	0.1091
Sorgo	250.00	250.00	0.5586	183.33	0.2429	116.67	0.9999
Soya	283.33	516.67	0.0061*	200.00	0.1449	350.00	0.0420*
Habichuela cv. Verano	633.33	666.67	0.3806	566.67	0.3066	550.00	0.7698
Gandul cv. Lázaro	33.33	16.67	0.8837	0.00	0.8837	0.00	0.8837
Caupí	416.67	350.00	0.5586	283.33	0.4648	266.67	0.5586
Lechuga cv. Nevada	866.67	883.33	0.1091	700.00	0.8837	900.00	0.8837

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$

El IVS evaluado en el séptimo día al compararlo con el tratamiento control mostró diferencias significativas (Tabla 26), resultando en un efecto positivo ya que hubo incremento del índice. El cultivo de maíz cv. Mayorbela 2011 con la CMTL de canavalia y gandul cv. Lázaro aumentan en 12.90 y 5.85, respectivamente. De igual manera, los cultivos de soya y caupí son con la CMTL de crotalaria cv. Tropic sun, presentan mayor vigor con 21.06 y 4.87, respectivamente, cuando el suelo contiene la CMTL.

Tabla 26. Contrastes de la cobertura muerta triturada de leguminosa vs. el tratamiento control (sin cobertura) en el índice de vigor de la semilla (IVS) en el séptimo día para los cultivos tropicales evaluados.

Cultivo Tropical	Cobertura muerta triturada de leguminosa						
	Control	Tropic sun		Canavalia		Lázaro	
	IVS	IVS	P-valor	IVS	P-valor	IVS	P-valor
Maíz cv. Mayorbela 2011	50.76	79.79	0.1547	63.66	0.0416*	56.61	0.0111*
Sorgo	40.68	29.22	0.8546	27.15	0.4934	21.48	0.3108
Soya	11.78	32.84	0.0427*	9.78	0.1155	14.98	0.0638
Habichuela cv. Verano	94.78	103.40	0.0717	82.95	0.0660	82.51	0.4459
Gandul cv. Lázaro	30.18	31.38	0.2043	17.00	0.9259	30.33	0.9150
Caupí	46.25	51.12	0.0379*	27.50	0.5601	44.54	0.6662
Lechuga cv. Nevada	13.26	14.01	0.6767	9.30	0.9550	13.37	0.9475

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$

Al realizar comparaciones del PS de los tratamientos con el control se observan mayores diferencias con los controles al igual que el IVS en comparación con los otros índices (Tabla 27). Esta correlación podría deberse a que las dos variables están relacionadas con el crecimiento de la planta, ya que el IVS tiene en cuenta la longitud de la planta y el PS depende de la longitud que la planta alcanzó. El PS presenta diferencias al ser comparado con el control. La CMLT de crotalaria cv. Tropic sun favoreció el PS de los cultivos de maíz cv. Mayorbela 2011 en 2.95 g, soya en 0.75 g y caupí en 0.25 g. Del mismo modo, la CMLT de gandul cv. Lázaro aumentó el PS del cultivo de soya en 0.02 g, sin embargo, disminuyó en 0.48 g el PS del maíz cv.

Mayorbela 2011. La CMLT de canavalia disminuyó el PS de los cultivos de soya en 0.13 g y habichuela en 0.45 g, no obstante, aumentó el PS del maíz cv. Mayorbela 2011 en 0.38 g.

Tabla 27. Contrastes de la cobertura muerta triturada de leguminosa vs. el tratamiento control (sin cobertura) en el peso seco (PS) (g) para los cultivos tropicales evaluados.

Cultivo Tropical	Cobertura muerta triturada de leguminosa						
	Control	Tropic sun		Canavalia		Lázaro	
	PS	PS	P-valor	PS	P-valor	PS	P-valor
Maíz cv. Mayorbela 2011	2.95	4.08	0.0259*	3.33	0.0001*	2.47	0.0009*
Sorgo	0.55	0.42	0.7760	0.52	0.7380	0.53	0.7760
Soya	0.43	1.18	0.0097*	0.30	0.0309*	0.45	0.0263*
Habichuela cv. Verano	3.18	3.48	0.1491	3.00	0.0229*	2.72	0.3694
Gandul cv. Lázaro	0.81	0.97	0.1516	0.49	0.8809	1.02	0.6425
Caupí	1.32	1.57	0.0294*	0.83	0.5865	1.39	0.4543
Lechuga cv. Nevada	0.13	0.06	0.9284	0.03	0.9379	0.03	0.8323

\*Significativamente diferentes  $P < 0.05$

Los índices evaluados ofrecen información sobre los efectos alelopáticos, sin embargo, también se debe tener en cuenta que la germinación de semillas depende de factores como la constitución genética, la calidad de la semilla, factores ambientales para el desarrollo y vulnerabilidad a agentes patógenos. Al igual que las investigaciones en alelopatía utilizando EA los resultados de efectos alelopáticos empleando CMLT son variables. Lertmongkol et al. (2011) evaluaron el efecto

alelopático de *Vigna radiata* (judía) en soya y lechuga colectando el suelo donde la leguminosa había sido cosechada y el residuo estuvo en descomposición por un mes. Los resultados mostraron que la germinación de las plantas fue severamente inhibida por los aleloquímicos de la leguminosa en el suelo. En esta investigación se demuestra que durante catorce días el proceso de descomposición de la cobertura y la producción de sustancias alelopáticas para los cultivos de sorgo, soya, caupí, gandul cv Lázaro y lechuga cv. Nevada no son suficientes para afectar el desarrollo de la plántula.

Ramamoorthy and Paliwal (1993) evaluaron el efecto alelopático de follaje de *G. sepium* sobre la germinación del sorgo. Los extractos de *G. sepium* inhibieron la germinación del sorgo, sin embargo, al evaluar diferentes cantidades de cobertura hubo buen control de malezas y mejoró el rendimiento. Teniendo en cuenta que las CMLT de crotalaria cv. Tropic sun, canavalia y gandul cv. Lázaro no presentaron efectos alelopáticos en los cultivos de sorgo, soya, caupí, gandul cv Lázaro y lechuga cv. Nevada mientras que los EA demostraron inhibir el desarrollo de las plántulas, es probable que los EA desarrollan efectos más fuertes inhibiendo la germinación debido a que la concentración de aleloquímicos es más elevada y la cobertura no afecta el desarrollo del cultivo. Ciertamente, el proceso de descomposición de la cobertura requiere más tiempo y las sustancias fitotóxicas se encuentran en menor cantidad mientras la plántula se va desarrollando sin ser afectada. Por el contrario hay reportes que las leguminosas mejoran los rendimientos no sólo por el control de malezas sino por el aporte de N orgánico. De hecho, el cultivo de maíz en campo con las leguminosas mucuna enana y crotalaria cv. Tropic sun generalmente está asociado con incremento en los rendimientos, no obstante, en esta evaluación los índices

demonstraron que el desarrollo de la plántula es afectado por la CMLT de gandul. Esta diferencia probablemente se relacionada con la cantidad de CMLT en la maceta ya que la descomposición es más lenta y el suelo puede retener compuestos aleloquímicos que interfiriendo con en el desarrollo de la plántula, compuestos que en el campo pueden haberse perdido por lixiviación.

El análisis químico determinó bajo contenido de TC y proteína fenólica precipitable (PPP) para las plantas de canavalia, crotalaria cv. Tropic sun y gandul cv. Lázaro (Tabla 28). La cantidad de taninos en gandul cv. Lázaro presentó una subestimación debido a la metodología ya que los polímeros de tanino se dividen en dímeros o trímeros en lugar de monómeros y esto lleva a una subestimación del contenido de tanino ya que no todos los pigmentos rojos se disuelven (Caanas, 2014).. Comparando los resultados de TC obtenidos entre plantas de seis semanas y tres meses, la variabilidad en el %TC fue muy baja para las leguminosas crotalaria cv. Tropic sun y canavalia.



Tabla 28. Porcentaje de taninos condensados (ECT, PBT, FBT, TTC) y proteína precipitable (PPP) de tanino condensado de leguminosas con seis semanas después de plantadas.

Leguminosa	% ECT	%PBCT	%FBCT	%TTC	PPP
Canavalia	0.2504	0.9780	0.1176	1.3460	0.12
Tropic sun	-0.1123	0.2175	0.0265	0.1317	0.18
Lázaro	8.2820	17.8293	1.7866	27.897	0

ECT= Tanino condensado extraíble, PBCT= Proteína adherida a tanino condensado, FBCT= Fibra adherida a tanino condensado, TTC= Taninos condensados totales, PPP= Proteína fenólica precipitable.

#### 6.1.4 Conclusión

En los sistemas de producción agroecológicos la incorporación de MO, el mantenimiento de cobertura en el suelo, las rotaciones de cultivos y las asociaciones con leguminosas desempeñan un papel muy importante para mejorar la calidad del suelo y disminuir el uso de fertilizantes inorgánicos. Las leguminosas proporcionan cantidades adecuadas de N orgánico a los cultivos, no obstante, las interacciones alelopáticas pueden afectar el desarrollo y productividad de los cultivos.

En esta investigación se demostró que aunque los PG con las CMLT presentaron diferencias con el control entre 9% y 17%, los otros índices comprobaron que estas diferencias se deben a factores alelopáticos que interfieren o favorecen en la germinación y desarrollo de la plántula. De los índices evaluados, el IG fue afectado en los cultivos tropicales de maíz cv. Mayorbela 2011 y soya, con la CMLT de gandul cv. Lázaro y canavalia, respectivamente. Así mismo, en el PS de los cultivos de soya y

habichuela cv. Verano con la CMLT de canavalia, hubo efectos alelopáticos en el desarrollo de la planta. Este mismo efecto sucedió con el maíz cv. Mayorbela 2011 con la CMLT de gandul en PS. Por el contrario, la CMLT de crotalaria cv. Tropic sun no presentó efectos alelopáticos, por el contrario, favoreció el IG, EG, IVS y PS en soya, de igual manera, ocurrió con los cultivos de lechuga cv. Nevada en el IG, caupí con el IVS y maíz cv. Mayorbela con el PS. La CMTL de gandul cv. Lázaro también aumentó el IG, PS y EG en el cultivo de soya, el IVS en maíz cv. Mayorbela 2011. Sin embargo, esta última CMTL afectó el PS de maíz cv. Mayorbela 2011. La CMLT de canavalia tuvo efecto positivo en el cultivo de maíz cv. Mayorbela 2011 aumentando IG, EG, IVS y PS.

Por lo tanto, los efectos inhibitorios de la CMLT canavalia en los cultivos de soya y habichuela cv. Verano, y maíz cv. Mayorbela 2011 con la CMLT de gandul cv. Lázaro, comprobados en invernadero, se deben experimentar en campo con diferentes cantidades de CMLT para determinar si estas asociaciones afectan la producción de los cultivos tropicales.

## 7 LITERATURA CITADA

Adler, M., and Chase, C. 2007. Comparison of the allelopathic potential of leguminous summer cover crops: cowpea, sunnhemp and velvetbean. *HortScience* 42: 289-293.

Albuquerque, M., Dos Santos, R., Lima, L., Melo, P., Nogueira, J., Camara, C. and Ramos, A. 2011. Allelopathy an alternative tool improve cropping system. A review. *Agron. Sustain. Dev.* 31:379-375.

Alcantara, F.; Furtini, A., Paula, M., Mezquita, H., Muniz, J. 2000. Fertilización verde en la restauración de la fertilidad de un Ferralsol degradado. *Rev. Bras. Invest. Agrop.* 35(2):277-288.

Almeri, L., Viera, M., Heredia, N., Ramos da Silva, L., Farias, W., Pilecco, M., Nazari, A., Pereira, R. and Parrón, M. 2012. Cover crops and their effects on the biomass yield of *Serjania marginata* plants. *Cienc. Rural.* Santa Maria 42(4): 614-620.

Anjum, T., Stevenson, P., Hall, D. and Bajwa, R. 2005. Allelopathic potential of *Helianthus annuus* L. (sunflower) as natural herbicide. In: Proceedings of the 4<sup>th</sup> World Congress on Allelopathy. Charles Sturt University, Wagga, NSW, Australia.

Balkcom, K. and Reeves, D. 2005. Sunn Hemp utilized as a legume cover crop for corn production. *Agron. J.* 97:26-31.

Batish, D., Tung, P., Singh, H. and Kohli, R., 2002. Phytotoxicity of sunflower residues against some summer season crops. *J. Agron. Crop Sci.* 188:19-24.

Batlang, U. and Shushu, D. 2007. Allelopathic activity of sunflower (*Helianthus annuus* L.) on growth and nodulation of Bambara groundnut (*Vigna subterranean* (L) Verdc). *J. Agron. J.* 6 (4):541-547.

Beaver, J., Brunner, B. and Armstrong, A. 2011. Release of sweet corn (*Zea mays* L.) open –pollinated cultivar “Suresweet 2011”. *J. Agric. Univ. P.R.* 951 (1-2):105-110.

Bogatek, R., Gniazdowska, A., Zakrzewska, W., Oracz, K. and Gawronski, S. 2006. Allelopathic effects of sunflower extracts on mustard seed germination and seedling growth. *Biol. Plant.* 50 (1):156-158.

Brandstaetter, L., Netland, J. and Meadw, R. 1998. Yields, weeds, pests and soil nitrogen in a white cabbage-living mulch system. *Biological, Agriculture and Horticulture* 16:291-309.

Brunner, B., Martínez, S., Florez, L. y Morales, P. 2009a. Crotalaria. Proyecto de agricultura orgánica, Estación Experimental Lajas. <http://proorganico.info/crotalaria.pdf>. Acceso 24 Junio 2014.

Brunner, B., Martínez, S., Florez, L. y Morales, P. 2009b. Mucuna. Proyecto de agricultura orgánica, Estación Experimental Lajas. <http://proorganico.info/mucuna.pdf>. Acceso 25 Junio 2014.

Cadavid, L., El-Sharkawy, M., Acosta, A. and Sanchez, T. 1998. Long-term effects of mulch, fertilization and tillage on cassava grown in sandy soils in northern Colombia. *Field Crop Res.* 57:45–56.

Carlo, S. 2009. Promoting the use of tropical legumes as cover crops in Puerto Rico. Tesis de Maestría. Universidad de Puerto Rico – Recinto Universitario de Mayagüez. 67p.

Carvalho, F. 2006. Agriculture, pesticides, food security and food safety. A Review. *Environ. Sci. Policy.* 9:685-692

Castillo, F., Caamal, J., y Jimenez, M. 2010. Evaluación de tres leguminosas como coberturas asociadas con maíz en el trópico subhúmedo. *Agron. Mesoam.* 21(1):39-50.

Caamal, J., Jiménez, J., Torres, A. and Anaya, A. 2001. The use of allelopathic legume cover crops and mulch species for weed control in cropping systems. *Agron. J.* 93:27-36.

Caanas, A. 2014. Tannins: fascinating but somethings dangerous molecules. Department of Animal Science – Plants Poisonous to Livestock. <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/tannin.html>. Accessed 10<sup>th</sup> July 2014.

Cervantes, C. 1993. Introducción de frijol de abono (*Mucuna deeringianum*) en sistemas de cultivo de maíz y frijol en Pérez Zeledón, Costa Rica. *En IX Congreso Agronómico y de Recursos Naturales.*

Coultas, C., Post, T., Jones, J. and Hsieh, Y. 1996. Use of velvet bean to improve soil fertility and weed control in corn maize production in Northern Belize. *Commun. Soil Sci. Plan. Anal.* 27:2171-2196.

Cheruiyot, E., Mumera, L., Nakhone, L. and Mwonga, S. 2003. Effect of legume-managed fallow on weeds and soil nitrogen in following maize (*Zea mays* L.) and wheat (*Triticum aestivum* L.) crops in the Rift Valley highlands of Kenya. *Aust. J. Exp. Agric.* 43:597–604.

Dabney, S., Schreiber, J., Rothrock, C. and Johnson, J. 1996. Cover crops affect sorghum seedling growth. *Agron. J.* 88:961-970.

De la Cruz, R., Rojas, E. y Merayo, A. 1994. Manejo de la caminadora (*Rotboellia cochinchinensis*) en el cultivo de maíz y el periodo de barbecho con leguminosas de cobertura. *Manejo integrado de plagas* 31:29-35.

Desaeger, J. and Rao, M. 2001. The potential of mixed covers of *Sesbania*, *Tephrosia* and *Crotalaria* to minimize nematode problems on subsequent crops. *Field Crop Res.* 70:111–125

Dhima, K., Vasilakoglou, I., Paschalidis, K., Gatsis, T. and Keco, R. 2012. Productivity and phytotoxicity of six sunflower hybrids and their residues effects on rotated lentil and ivy-leaved speedwell. *Field Crop Res.* 136:42–51.

Di Rienzo, J., Casanoves F., Balzarini M., Gonzalez L., Tablada M. y Robledo C. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

Doran, J. and Parkin, T. 1996. Quantitative indicators of soil quality: a minimum data set. In Doran, J. and Jones, A. (Eds). *Methods for Assessing Soil Quality* (pp 25-37). Wisconsin: SSSA, Inc.

Dos Santos, V. y Campelo, J. 2003. Influencia de los elementos meteorológicos en la producción de abonos verdes en diferentes fechas de siembra. *Rev. Bras. Ing. Agrí. Ambient.* 17(1):91-98.

EPA, 1992. U.S. Environmental Protection Agency. Annual needs survey. USEPA, Office of Water. Washington, D.C.

Erenstein, 2002. Crop residue mulching in Tropical and semi-Tropical countries: An evaluation of residue availability and other technological implications. *Soil Till. Res.* 67:115–133.

Ernst, O. 2004. Leguminosas como cultivos de cobertura. *Informaciones agronómicas del Cono Sur - Facultad de Agronomía, Universidad de República, Uruguay* 21:1-9.

Espíndola, J., Almeida, D.; Guerra, J.; Silva, E. y Souza, F. 1998. Influencia de los abonos verdes en la micorrización y el rendimiento de la batata. Rev. Bras. Invest. Agrop. 33(3):339-347.

Ferguson, J., Rathinasabapathi, B. and Chase, C. 2013. Allelopathy: How plants suppress other plants. <http://edis.ifas.ufl.edu>. Accessed 23<sup>rd</sup> March 2014.

Fischler, M and Wortmann, C. 1999. Green manures for maize – bean systems in eastern Uganda: Agronomic performance and farmer's perceptions. Agrofor. Syst. 47:123-138.

Fujii, Y. 1999. Allelopathy of velvetbean: determination and identification of L-DOPA as a candidate of allelopathic substances. In Culter, H. and Culter, S (Eds), Biologically active natural products: Agrochemicals (pp 33-48). USA: CRC Press LLC.

Fujii, Y. 2001. Screening and future exploitation of allelopathic plants as alternative herbicides with special reference. J. Crop Prod. 4:257–276.

Flower, K., Cordingley, N., Ward, P. and Week, C. 2011. Nitrogen, weed management and economics with cover crops in conservation agriculture in a Mediterranean climate. Field Crop Res. 132:63–75.

Gallagher, R., Cardina, J. and Loux, M. 2003. Integration of cover crops with postemergence herbicides in no-till corn and soybean. Weed Sci. 51:995-1001.

Gawronska, H., Ciarka, D., Bernat, W. and Gawronski, S. 2007. Sunflower desirable allelopathic crop for sustainable and organic agriculture? In Fujii, Y. and Hiradate, S. (Eds.). New Concepts and Metrology in Allelopathy (pp 185-210). Science Publishers, Inc.

Gupta, S. and Shahi, A. 1998. Seed germination behavior of *Ocimum* species under different environmental conditions. J. Med. Arom. Plant Sci. 20:1045–1047.

Griffin, T., Liebman, M. and Jemison, J. 2000. Cover crops for sweet corn production in a short season environment. Agron. J. 92:144-151.

Hang, C., Pan, K., Wu, N., Wang, J. and Li, W. 2008. Allelopathic effect of ginger on seed germination and seedling growth of soybean and chive. Sci. Hortic-Amsterdam. 16: 330-336.

Heichel, G. 1987. Agricultural chemicals in ground water: Extent and implications. Amer. J. Alt. Agr. 2:3-15.

- Hervás, G.; Mandaluniz, N.; Orregui, L., Mantecón, A. y Frutos, P. 2003. Evolución anual del contenido de taninos del Brezo (*Erica vagans*) y relación con otros parámetros indicativos de su valor nutritivo. ITEA. 99 (1):69–84.
- Hossain, M., Miah, G., Ahamed, T. and Sarmin, N. 2012. Allelopathic effect of *Moringa oleifera* on the germination of *Vigna radiate*. Intl. J. Agri. Crop Sci. 4 (3):114-121.
- Huu, N., Dang, T., Eiji, T., Hiroyuki, T., Mitsuhiro, M. and Dang, T. 2003. Screening for allelopathic potential of higher plants from Southeast Asia. Crop Prot. 22:829–836.
- Inderjit, K. and Keating, I. 1999. Allelopathy: Principles, procedures, processes and promises for biological control. Adv. Agron. 67:141-231. Academic Press.
- Islam, A. and Kato, H. 2014. Phytotoxic activity of *Ocimum tenuiflorum* extracts on germination and seedling growth of different plant species. Hindawi Publishing Corporation. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/676242>. Accessed 2<sup>nd</sup> July 2014.
- Islam, A. and Kato, H. 2013-a. Allelopathic potential of five Labiatae plant on barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*). AJCS 7 (9): 1369-1374.
- Islam, A. and Kato, H. 2013-b. *Mentha sylvestris*: A potential allelopathic medicinal plant. Int. J. Agric. Biol., 15:1313-1318.
- Javaid, A., Shafique, S., Bajwa, R and Shafique, S. 2006. Effect of aqueous extracts of allelopathic crops on germination and growth of *Parthenium hysterophorus* L. S. Afr. J. Bot. 72:609-612.
- Jefferson, L. and Pennacchio, M. 2003. Allelopathic effects of foliage extracts from four Chenopodiaceae species on seed germination. J. Arid Environ. 55:275-283.
- Kamara, A., Akobundu, I., Sanginga, N. and Jutzi, S. 2000. Effect of mulch from selected multipurpose trees (MPTs) on growth, nitrogen nutrition and yield of maize (*Zea mays* L.). J. Agron. Crop Sci. 184:73–80.
- Kumbhar, B., Dabgar, B. and Patel, G. 2012. Allelopathic effects of aqueous extracts of *Cajanus cajan* L. (pigeon pea) and *Vigna uriculata* (black gram) on each other's seedling growth and seed germination. <http://www.lifesciencesleaflets.ning.com>. Accessed 10<sup>th</sup> July 2014.
- Krizc, M., Fortin, M. and Bomke, A. 2000. Short-term responses of soil physical properties to corn tillage-planting systems in a humid maritime climate. Soil Till. Res. 54:171-178.

Lafitte, H. 2014. El maíz en los trópicos: estreses bióticos que afectan al maíz. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). [http:// http://www.fao.org/](http://www.fao.org/). Acceso 16 Junio 2014.

Layne, J. y Méndez, J. 2013. Efectos alelopáticos de extractos acuosos de hojas de botón de oro [*Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray.] sobre la germinación de semillas y crecimiento de plántulas de lechuga (*Lactuca sativa* L). *Sci. Agropecu.* 4: 229-241.

Lertmongkol, S., Sarobol, E. and Premasthira, C. 2011. Allelopathic effects of mungbean (*Vigna radiata*) on subsequent crops. *Nat. Sci.* 45:773-779.

Liebman, M. and Ohno, T. 1998. Crop rotation and legume residue effects on weed emergence and growth: Applications for weed management. In Hatfield, J., Buhler, D. and Stewart, B. (Eds.). *Integrated Weed and Soil Management* (181-221). Michigan: Ann Arbor Press.

Macias, F., Torres, A., Molinillo, J., Varela, R. and Castellano, D. 1996. Potential allelopathic sesquiterpenes lactones from sunflower leaves. *Phytochemistry.* 43:1205-1215.

Macchiavelli, R. 2011. Notas de clase Biometría Avanzada. <http://academic.uprm.edu/rmacchia/agro6600/agro6600.pdf>. Acceso 30 Septiembre 2013.

Maltas, A., Corbeels, M., Scopel, E., Wery, J. and Macena, S. 2009. Cover crop and nitrogen effects on maize productivity in no tillage systems of the Brazilian. *Agron. J.* 101 (5):1036-1046.

Mao, J., Yang, L., Shi, Y., Hu, J., Piao, Z., Meind, L. and Yin, S. 2006. Crude extracts of *Asparagus mongholicus* root inhibits crop seed germination and soil nitrifying activity. *Soil Biol. Biochem.* 38:201-208.

Marsni, A., Casas, L., Mantella, C., Rodríguez, M., Torres, A., Macias, F., Martínez, E., Molinillo, J. and Vera, R. 2011. Potential allelopathic of the fractions obtained from sunflower leaves using supercritical carbon dioxide. *J. of Supercritical Fluids* 60:28–37.

Martín, G. y Rivera, R. 2001. Mineralización del nitrógeno incorporado con los abonos verdes y su participación en la nutrición de cultivos de importancia económica -Revisión bibliográfica. *Cultivos Tropicales* 22(3):89-96.



Medina, D., Pereira, L., Piccolo, G., Mauli, M. and Machado, R. 2011. Action of dwarf mucuna, pigeon and stylosanthes on weed under field and laboratory conditions. *Interciencia* 36 (11):841-847.

Muir, J., Terril, T., Valencia, E., Weiss, S., Jones, P., Mosjidis, J. and Wolfe, R. 2009. The wide range of condensed tannins. *In* Caribbean Basin plants and their applicability to rumian production systems. Proceedings Caribbean Food Crops Society 43<sup>rd</sup> Annual Meeting, St Kitts.

Molina, Y., Mora, A., Ramos, N. and Parra, N. 2011. Evaluation of two legume species as green manure. Upper watershed of Cachama River, Merida, Venezuela. *Rev. Forest. Venez.* 552(2):183-192.

Morón, B., Soria, M., Ault, J., Verrolos, G., Noreen, S., Rodriguez, D., Gil, A., Oates, J., Megias, M. and Sousa, C. 2005. Low pH changes the profile of nodulation factors produces by *Rhizobium Tropici* CIAT899. *Chem. Biol.* 12: 1029-1040.

Mubiru, D. and Coyne, M. 2009. Legume cover crops are more beneficial than natural fallows in minimally tilled Uganda soils. *Agron. J.* 101:644-652.

McIntyre, B., Gold, C., Kashajja, I., Ssali, H., Night, G. and Bwamiki, D. 2001. Effects of legume inter-crops on soil-borne pests, biomass, nutrients and soil water in banana. *Biol. Fert. Soils* 34:349–356.

Nagaraju, B., Srinivas, N. and Sandeep, K. 2012. A comparative pharmacological and phytochemical analysis of *in vivo* & *in vitro* propagated *Crotalaria* species. *Asian Pac. J. Trop. Med.* 37-41.

Naumann, H., Hagerman, A., Lambert, B., Muir, J., Tedeschi, L. and Kothmann, M. 2014. Molecular weight and protein-precipitating ability of condensed tannins from warm-season perennial legumes. *Journal of Plant Interactions* 9(1):212-219.

Naumann, H. 2013. Molecular weight of condensed tannins from warm – season perennial legumes and its effect on condensed tannin biological activity. Ph. D. Thesis. Texas A&M University. Texas.

Ngome, A., Becker, M. and Mtei, K. 2011. Leguminous cover crops differentially affect maize yields in three contrasting soli types of Kakamega, Western Kenya. *J. Agr. Rural Dev. Trop.* 112(1):1-10.

- Oyun, M. 2006. Allelopathic potentialities of *Gliricidia sepium* and *Acacia auriculiformis* on the germination and seedling vigor of Maize (*Zea mays* L.). AJABS. 1 (3):44-47.
- Pastor, J., Hernández, A., Prieto, N., & Fernandez, M. 2003. Accumulating behavior of *Lupinus albus* L. growing in a normal and a decalcified calcic luvisol polluted with Zn. J. Plant Physiol. 160(12):1457 - 1465.
- Pimentel, D. 1996. Green revolution agricultural and chemical hazards. The Science of the Total Environment 188:86-98.
- Purohit, S. and Pandya, N. 2013. Allelopathic activity of *Ocimum sanctum* (L.) and *Tephrosia purpurea* (L.) leaf extracts on few common legumes and weeds. IRJPS. 3(1):5-9.
- Ramamoorthy, M. and Paliwal, K. 1993. Allelopathic compounds in leaves of *Gliricidia sepium* (Jacq.) kunth ex walp. and its effect on *Sorghum vulgare* L. J. Chem. Ecol. 19(8):1691-1701.
- Roldán, A., Salinas, J., Alguacil, M. and Caravaca, F. 2007. Soil sustainability indicators following conservation tillage practices under subtropical maize and bean crops. Soil Till. Res. 93:273-282.
- Ruíz, J., Medina, G., González, I., Ortiz, C., Flores, H., Martínez, R. y Byerly, K. 1999. Requerimientos agroecológicos de cultivos. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).
- Sanclemente, O. 2009. Efecto del cultivo de cobertura: *Mucuna pruriens*, en algunas propiedades físicas, químicas y biológicas de un suelo *Typic Haplustalfs*, cultivado con maíz (*Zea Mays* L.) en zona de ladera del municipio de Palmira, Colombia. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia. Sede – Palmira. Colombia.
- Sanchol, F. y Cervantes, C. 1997. El uso de plantas de cobertura en sistemas de producción de cultivos perennes y anuales en Costa Rica. Agron. Costarric. 21(1):111-120.
- Santos, A., Valencia, E., Román, E. y Ramos-Santana, R. 2011. Época de siembra y fecha de cosecha afectan el rendimiento de materia seca de *Crotalaria juncea* L. “Tropic Sun” en el noreste de Puerto Rico. J. Univ. P.R. 95 (3-4): 179-191.
- Schomberg, H., Endale, D., Calegari, A, Peixoto, R., Miyazawa, M. and Cabrera, M. 2006. Influence of cover crops on potential nitrogen available to succeeding crops in a southern piedmont soil. Biol. Fertil. Soils. 42:299-307.

Seguin, P., Sheaffer, C., Schmitt, M., Russelle, M., Randall, G., Peterson, P., Hoverstad, T., Quiring, S. and Swanson, D. 2002. Alfalfa autotoxicity: Effects of reseeding delay, original stand age and cultivar. *Agron. J.* 94:775-781.

Skinner, E., Díaz, J., Phatak, S., Schomberg, H., and Vencil, W. 2012. Allelopathic effects of sunnhemp (*Crotalaria juncea* L.) on germination of vegetables and weeds. *HortScience* 47 (1):138-142.

Sridhar, K. and Seena, S. 2006. Nutritional and antinutritional significance of four unconventional legumes of the genus *Canavalia* – A comparative study. *Food Chem.* 99:267-288.

Teasdale, J., Brandstaetter, L., Calegari, A. and Skora, F. 2007. Cover crops and weed management. Upadhyaya, M and Blackshaw, R. (Eds.). *Non – chemical weed Management: Principles, concept and technology* (pp 49-64). U.K.: Colums Design Ltd.

Teasdale, J. and Daughtry, C. 1993. Weed suppression by live and desiccated hairy vetch. *Weed Sci.* 41:207-212.

Tonitto, C., David, M. and Drinkwater, L. 2006. Replacing bare fallows with cover crops in fertilizer-intensive cropping systems: A meta-analysis of crop yield and N dynamics. *Agric. Ecosyst. Environ.* 112:58-72.

Torres, A., Olivia, R., Castellano, D. and Cross, P. 1996. In: *Proceedings of the First World Congress on Allelopathy: A Science of Future (SAI)*. University Cadiz Spring Cadiz, pp:278.

Thiel, T. 1990. Nitrogen fixing organisms: pure and applied aspects. Sprent, J. and Sprent, P. *Biochemical systematics and ecology*. p. 700. Chapman & Hall, New York.

USDA-National Agricultural Statistics Service. 2012. *Census of Agriculture-Puerto Rico Data*. Accessed 10<sup>th</sup> June 2014.

Velu, G., Srinivasan, P., Ali, A. and Nurwal, S. 1999. Phytotoxic effect of tree crops on germination and radicle extension of legumes. *Intl. Cont. Alle.* 1:299-302.

Vidal, M., Pererira, L., De Almeida, L., Williams, R., Freach, J., Nesbitt, H. and Erskine, W. 2014. Maize – mucuna (*Mucuna pruriens* (L.) DC) relay intercropping in the lowland Tropics of Timor – Leste. *Field Crop Res.* 156:272-280.

Wang, Q., Klassen, W., Li, Y. and Codallo, M. 2009. Cover crops and organic mulch to improve tomato yields and soil fertility. *Agron. J.* 101:345-351.

Weinert, T., Pan, W., Moneymaker, M., Santo, G., and Stevens, R. 2002. Nitrogen recycling by nonleguminous winter cover crops to reduce leaching in potato rotations. *Agron. J.* 94:365-372.

Willan, R. 2014. Guía para la manipulación de semillas forestales. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). <http://www.fao.org/>. Acceso 15 Julio 2014.

Wolfe, R., Terril, T. and Muir, J. 2008. Drying method and origin of standard affect condensed tannin (CT) concentrations in perennial herbaceous legumes using simplified butanol – HCl CT analysis. *J. Sci. Food Agric* 88:1060-1067.

WxCoder III. <http://wxcorder.org>. Accessed 10<sup>th</sup> May 2014.

Wyland, L., Jackson, L., Chaney, W., Klonsy, K., Koike, S., and Kimple, B. 1998. Winter cover crops in a vegetable cropping system: Impacts on nitrate leaching, soil water, crop yield, pests and management costs. *Agric. Ecosyst. Environ.* 59:1-17.

Zehr, P., Mellon, T. and Zani, S. 1998. New nitrogen-fixing microorganisms detected in oligotrophic oceans by amplification of nitrogenase (*nifH*) genes. *Appl. Microbiol.* 64:3444-3450.