

UCLV
Universidad Central
"Marta Abreu" de Las Villas



FCA
Facultad de
Ciencias Agropecuarias

TRABAJO DE DIPLOMA

UCLV
Universidad Central
"Marta Abreu" de Las Villas



FCA
Facultad de
Ciencias Agropecuarias

Departamento de Agronomía

TRABAJO DE DIPLOMA

Título del trabajo: Efectos alelopáticos de *Tagetes erecta* L. y *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray, en el control de plantas arvenses asociadas al cultivo del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.)

Autor del trabajo: Ramón Bello Boente

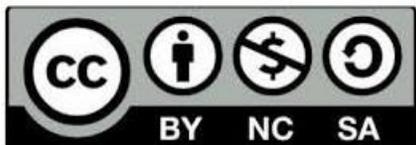
Tutores del trabajo: Elier Mora Pérez

Santa Clara, junio, 2018
Copyright©UCLV

Este documento es Propiedad Patrimonial de la Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, y se encuentra depositado en los fondos de la Biblioteca Universitaria “Chiqui Gómez Lubian” subordinada a la Dirección de Información Científico Técnica de la mencionada casa de altos estudios.

Se autoriza su utilización bajo la licencia siguiente:

Atribución- No Comercial- Compartir Igual



Para cualquier información contacte con:

Dirección de Información Científico Técnica. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Carretera a Camajuaní. Km 5½. Santa Clara. Villa Clara. Cuba. CP. 54 830
Teléfonos.: +53 01 42281503-1419

Pensamiento

“La agricultura es igual que la guerra, para ganar la batalla hay que conocer el terreno”

Fidel Castro Ruz

Dedicatoria

A mis padres Nancy y Ramón (Flore) por darme la vida, por haberme proporcionado siempre los mayores apoyos emocionales y materiales porque me enseñaron a ser niño, adolescente, joven y un hombre muy preparado para la vida; por haberme educado en esos valores con los cuales me siento tan orgulloso, por su sacrificio, por colaborar en mi desarrollo profesional. y sobre todo por tenerlos juntos a mi lado.

A mis hermanos Narelys y Bárbaro por darme todo su cariño y apoyo, por sus sabios consejos, para mí es un honor compartir mis éxitos con ellos ya que siempre están ahí cuando los necesito.

Agradecimientos

Son muchas las personas que me han acompañado en esta difícil y linda aventura que comenzó hace algunos años. Gracias a ellas, en parte, soy lo que soy. Ahora ha llegado el momento de cerrar un capítulo muy importante en mi vida, de pasar página, y no puedo hacerlo sin antes agradecerles a:

- *Mis padres por la vida, mis hermanos por la alegría.*
- *Todos mis familiares tíos, tías y primos especialmente a mi tía Daysi por todo su apoyo a mis estudios, a todos que de una u otra forma contribuyeron a la realización del presente trabajo y me han preparado para la vida.*
- *Mi tutor M Sc. Elier Mora Pérez por su dedicación, paciencia y sobre todo por su tiempo dedicado a mi tesis.*
- *La técnica de laboratorio Anisley Blanco por su ayuda en el laboratorio de Fisiología Vegetal.*
- *Todos mis compañeros y amigos que he tenido durante estos años en la universidad, por seguir regalándome su amistad y apoyo.*
- *A todo aquel que de una u otra forma colaboró con la realización de este trabajo.*

A todos muchas gracias.....

Resumen

La investigación se desarrolló en la UBPC “Jesús Menéndez Larrondo”, perteneciente a la Empresa Agropecuaria “Valle del Yabú” de Santa Clara provincia Villa Clara y en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias perteneciente a la Universidad Central Marta Abreu de la Villas para determinar las arvenses predominantes en el cultivo del frijol común, cultivar Buenaventura en el periodo comprendido de septiembre de 2017 a mayo de 2018. Por secado a la sombra y sometido a extracción acuosa y etanólica por maceración en agitación durante 24 h y sin agitación o reposo por períodos de 24; 48 y 72 horas y se midió su influencia sobre el Total de Sólidos Disueltos. Se evaluó en condiciones semicontroladas los efectos alelopáticos de los extractos acuosos y etanólicos en material vegetal de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre las plantas arvenses predominantes en el cultivo y sobre el propio frijol común. Los resultados mostraron que las arvenses más predominantes en el cultivo fueron la Cebolleta (*Cyperus rotundus* L.) , el Don Carlos (*Sorghum halepense* L.) y el Bledo (*Amaranthus viridis* L.) que la maceración en reposo por 48 h, en los dos tipos de extractos, resultó tener valores más altos de concentración de Sólidos Solubles Disueltos. Finalmente, los extractos y material vegetal molidos de *T. erecta* y *T. diversifolia*, no inhibieron la germinación del frijol común mientras que mostraron en altas dosis efectos inhibitorios en la germinación de semillas y en la brotación de propágulos en arvenses en condiciones *in vitro* y semicontroladas.

Palabras clave: *Amaranthus viridis*, *Cyperus rotundus*, cultivar, extractos acuosos, extractos etanólicos, *in vitro*, *Sorghum halepense*.

Índice

1. Introducción.....	1
2. Revisión bibliográfica.	4
2.1 Importancia del frijol común	4
2.2 Clasificación taxonómica y descripción botánica del frijol	4
2.2.1 Sistema radicular	5
2.2.2 Tallo	5
2.2.3 Inflorescencia.....	5
2.2.4 Fruto	6
2.2.5 Semilla	6
2.3 Principales factores que afectan el cultivo del frijol en Cuba	6
2.3.1 Época de siembra	6
2.3.2 Atenciones culturales.....	7
2.3.3 Fertilización.....	7
2.3.4 Principales plagas y enfermedades	7
2.3.5 Principales arvenses.....	8
2.4 Generalidades de la alelopatía.....	8
2.5 Naturaleza química de los compuestos alelopáticos.....	9
2.6 Modo de liberación de las sustancias alelopáticas.....	10
2.7 La Alelopatía. Alternativa sólida en el control de arvenses.	11
2.7.1 La Alelopatía y el efecto herbicida.	13
2.8 Descripción botánica y taxonómica de las plantas en estudio.	15
2.8.1 <i>Tagetes erecta</i> L.....	15
Ubicación taxonómica.....	15
2.8.2 <i>Tithonia diversifolia</i>	16
Ubicación taxonómica.....	16
3. Materiales y Métodos	18
Características del cultivar	18
3.1 Determinación de arvenses predominantes en el cultivo del frijol.....	18
3.1.1 Abundancia relativa (Ar)	18
3.1.2 Frecuencia relativa (Fr).....	19
3.2 Colecta y secado del material vegetal para la extracción de extractos de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> en función del Total de Sólidos Disueltos (TSD). ...	19
3.2.1 Recolección de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i>	19

3.2.2 Tipo de secado empleado.....	19
3.2.3 Obtención de los extractos vegetales de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> por Maceración	20
3.2.4 Determinación del Total de Sólido Disuelto (TSD).....	21
3.3 Cuantificación de fenoles totales en <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i>	21
3.4 Cuantificación de flavonoides totales en <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i>	22
3.5 Efecto alelopático <i>in vitro</i> de los extractos de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> sobre la germinación de los órganos de propagación de plantas arvenses en el cultivo y el propio frijol común.	23
3.5 Efecto alelopático <i>in vitro</i> de los extractos de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> sobre la germinación de semillas del frijol común.....	23
3.5.1 Tratamiento con extracto de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> sobre la germinación y brotación de los órganos de propagación de plantas arvenses.	23
3.6 Efecto alelopático del material vegetal de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> sobre la germinación de semillas de plantas arvenses predominantes en el cultivo y en el propio frijol común en condiciones semicontroladas.	24
4. Resultados y Discusión	25
4.1 Determinación de arvenses predominantes en el cultivo del frijol común.	25
4.2 Colecta y secado del material vegetal para la extracción de extractos de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> en función del Total de Sólidos Disueltos (TSD). ..	26
4.2.1 Determinación del Total de Sólido Disuelto (TSD) en <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i>	26
4.3 Cuantificación de fenoles totales en <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i>	27
4.4 Cuantificación de flavonoides en <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i>	29
4.5 Efecto alelopático <i>in vitro</i> de los extractos de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> sobre la germinación de los órganos de propagación de plantas arvenses en el cultivo y el propio frijol común.	30
4.5.1 Efecto alelopático <i>in vitro</i> de los extractos de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> sobre la germinación de las semillas del frijol común.	31
4.5.2 Tratamiento <i>in vitro</i> con extracto de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> sobre la germinación de los órganos de propagación de plantas arvenses.	34

4.5.3 Efecto alelopático del material vegetal de <i>T. erecta</i> y <i>T. diversifolia</i> sobre la germinación de semillas de plantas arvenses predominantes en el cultivo y en el propio frijol común en condiciones semicontroladas.	38
Conclusiones.....	42
Recomendaciones.....	43
Bibliografía	

1. Introducción

El frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) constituye, dentro de las leguminosas alimenticias, la especie más importante para el consumo humano por el elevado contenido de nutrientes que posee. En América Latina es un componente esencial de la dieta, ya que sus semillas son una gran fuente de proteínas, vitaminas y minerales (Socorro y Martín, 1998).

Según Quintero (2004) en Cuba el frijol es un producto de alta demanda en la sociedad, por tradición y por necesidades nutricionales, pues constituye la principal fuente proteica de origen vegetal al alcance de las mayorías.

Las plantas arvenses pueden llegar a producir pérdidas significativas en los cultivos, estimándose entre 40-45 % en vegetales de hojas, 35-40 % en chile, 30-35 % en okra, 25-35 % en tomate, 25-30 % en berenjena, 15-25 % en coliflor, 15-20 % en caupí y cucurbitáceas. Se llega a invertir más del 40 % del tiempo laboral, fundamentalmente a través del desyerbe; donde las mujeres y niños de familias cubren la mayor parte de estas labores y dejan de ir regularmente a la escuela (Labrada, 1996; Singh *et al.*, 2014).

Uno de los principales problemas para controlar las arvenses es el mal empleo de plaguicidas químicos sintéticos, donde se daña el medio ambiente y se registran intoxicaciones anuales superiores al medio millón de personas. Sin embargo, no se explota más que el 2 % de los 200 mil metabolitos secundarios que poseen las plantas, como herbicidas y biorreguladores naturales (Narwal, 1999).

Ciertas plantas cultivadas son muy sensibles a su competencia, sin embargo, esta no siempre puede explicar el porqué de la supresión de la germinación y/o el crecimiento de las plantas en los agroecosistemas; se manifiestan además interacciones bioquímicas (Alelopatía) entre las plantas.

La alelopatía ha sido definida actualmente como cualquier proceso que provoque un efecto dañino o beneficioso, ya sea directa o indirectamente e involucre metabolitos secundarios producidos y liberados por plantas, microorganismos, virus y hongos (Blum *et al.*, 1992). Se afirma por tanto que la alelopatía es un proceso biológico presente tanto en los ecosistemas naturales como en los agroecosistemas y puede constituir una alternativa potencial en el

manejo de los componentes de este último, entre ellos, las arvenses (Alan y Barrantes, 1988).

Los metabolitos que actúan en el fenómeno alelopático se llaman aleloquímicos y son liberados por lixiviación, volatilización, exudación radicular y descomposición. Su toxicidad depende de la concentración, tasas de flujo, edad, estado metabólico de la planta, condiciones climáticas, estación del año y condiciones ambientales. Blum (1995) destaca que los aleloquímicos actúan de forma sinérgica, como mezclas complejas, de modo que los efectos inhibitorios se observan a concentraciones muy por debajo de sus niveles inhibitorios individuales.

Tagetes erecta L. y *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray pertenecientes a una de las familias vegetales de la clase *Magnoliopsida* con mayor número de especies alelopáticas, *Asteraceae*, la cual se ubica como una de las más abundantes, con aproximadamente 30000 especies distribuidas en 1100 géneros (Rai y Acharya, 1998). Muchas arvenses de la familia de las asteráceas presentan efecto alelopático sobre diferentes especies cultivadas y arvenses, bioactividad que en casi todos los casos se ha asociado directamente con la síntesis de sesquiterpenlactonas, las cuales afectan el DNA, el RNA e inhiben la germinación y el crecimiento de las plántulas (Dayan *et al.*, 1999; Wen *et al.*, 2002).

Existe un gran número de especies arvenses que afectan el cultivo del frijol y constituyen uno de los factores que más interfieren en el crecimiento, desarrollo y producción, compiten por luz, agua y nutrientes, lo cual se refleja en la reducción cuantitativa y cualitativa de la producción, además de incrementar los costos operacionales de la cosecha y beneficio del producto agrícola. Así mismo, liberan sustancias alelopáticas perjudiciales, sirven de hospedantes de plagas y enfermedades comunes a las especies cultivadas e interfieren en la cosecha (Freitas *et al.*, 2004). **Entonces:** ¿Cómo influyen las sustancias alelopáticas producidas por *T. erecta* y *T. diversifolia* en el control de las principales plantas arvenses asociadas al cultivo del frijol común?

En relación a la problemática planteada se estableció la siguiente **hipótesis de trabajo:**

Es posible reducir la germinación de especies arvenses, predominantes en el cultivo del frijol común, utilizando el potencial alelopático de extractos obtenidos de *T. erecta* y *T. diversifolia*.

Para cumplimentar la hipótesis planteada se define como **objetivo general**:
Evaluar el efecto de extractos y material vegetal obtenidos de plantas de *T. erecta* y *T. diversifolia*, sobre la germinación de semillas y la brotación de propágulos de especies arvenses predominantes en el cultivo del frijol común.

Objetivos específicos:

1. Determinar especies arvenses predominantes asociadas al cultivo del frijol común.
2. Determinar la forma adecuada de extracción de metabolitos en plantas de *T. erecta* y *T. diversifolia* en función del Total de Sólidos Disueltos (TSD) en soluciones etanólicas y acuosas y la cuantificación de fenoles y flavonoides totales.
3. Evaluar *in vitro* el efecto de los extractos de plantas de *T. erecta* y *T. diversifolia* en soluciones acuosas sobre la germinación de semillas de arvenses y del frijol común y de la brotación de los órganos de propagación de plantas arvenses.
4. Evaluar el efecto del material vegetal de especies de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación de semillas de plantas arvenses predominantes en el cultivo y sobre el propio frijol común en condiciones semicontroladas.

2. Revisión bibliográfica.

2.1 Importancia del frijol común

Para Latinoamérica el frijol común (*P. vulgaris*) es uno de los alimentos básicos en la dieta de sus pueblos por su hábito arraigado y por estar al alcance de las mayorías, siendo precedido en ocasiones solamente por el maíz (*Zea mays* L.) (Grolleaud, 1997; Morales, 2000; Quintero *et al.*, 2002).

La importancia del frijol también está concebida por su gran contenido de nutrientes, siendo así, que Socorro y Martín (1998) exponen que esta fabácea presenta un alto contenido de vitaminas del tipo tiamina y riboflavina y un adecuado porcentaje de vitaminas. También se pueden encontrar aminoácidos como isoleucina, leucina, lisina, fenilalanina y triptófano; además las semillas poseen un alto valor energético.

Por otro lado, Moreno (1983), Bliss (1993) y Amurrio (1999) dan a conocer que una de las propiedades más importantes de *P. vulgaris*, es que posee acción fertilizante debido a la fijación de nitrógeno atmosférico por la simbiosis con la bacteria del género *Rhizobium* que forma nódulos en sus raíces.

En Cuba se cultivan aproximadamente 52 000 hectáreas de frijol, sin incluir las áreas dedicadas al autoabastecimiento. La producción total solo cubre el 5 % de la demanda, lo que exige la importación de 120 000 toneladas anuales de este grano, equivalente a 40 millones de dólares. La baja productividad de este cultivo está asociada a diversos factores como son el bajo uso de insumos, la falta de asistencia técnica, el mercado y los problemas fitosanitarios (Morales, 2000).

2.2 Clasificación taxonómica y descripción botánica del frijol

Según Socorro y Martín (1989) y Carravedo y Mallor (2008) la posición jerárquica de la familia de las leguminosas (también denominadas fabáceas) es la siguiente:

Reino: *Plantae*
División: *Magnoliophyta*
Clase: *Magnoliopsida*
Orden: *Fabales*
Familia: *Fabaceae*

Género: *Phaseolus*

Especie: *Phaseolus vulgaris*

Según Socorro y Martín (1998) El frijol propiamente dicho es una planta herbácea de carácter anual, de tamaño y hábitos variables, ya que hay variedades que emiten guías trepadoras, y otras en forma de arbustos pequeños.

Cuando la semilla de frijol germina se origina una plántula que posee una raíz principal vigorosa y un hipocotilo cilíndrico de color verde, en cuyo extremo están los cotiledones. Las dos primeras hojas que crecen no son las típicas del frijol, ya que no son compuestas y además tienen forma acorazonada.

2.2.1 Sistema radicular

El sistema radical está compuesto por una raíz principal, así como de un gran número de raíces secundarias y raicillas. Es de crecimiento rápido, su mayor desarrollo se produce cerca de la superficie del suelo (de 20 a 40 cm de profundidad y de 15 a 30 cm laterales). Una característica importante es la formación en el sistema radical de nódulos más o menos abundantes, formados por la simbiosis con la bacteria del género *Rhizobium* y que tiene como función principal la fijación de nitrógeno atmosférico. Por esto realiza un importante aporte de sustancias orgánicas y sobre todo de nitrógeno al suelo.

2.2.2 Tallo

El tallo está formado por nudos y entrenudos que tienen un tamaño variable en dependencia de la variedad. Las variedades enrame tienen entrenudos largos y las de crecimiento determinado como es el caso tienen entrenudos cortos. De cada nudo emerge una hoja.

2.2.3 Inflorescencia

La inflorescencia se presenta en racimos que pueden ser terminales y axilares. El número de flores por inflorescencias es variable, pudiendo llegar hasta treinta. Los órganos masculinos lo componen un total de diez estambres, uno de ellos está independiente de los nueve restantes que están unidos o soldados por sus filamentos. El ovario es de forma tubular y veloso en su parte inferior; el estilo es largo, filiforme y el sistema está colgado en posición oblicua con respecto al estilo, en la parte interna de este. La fecundación del frijol es cruzada.

2.2.4 Fruto

Es una legumbre conocida comúnmente como vaina; es de forma alargada y puede alcanzar desde 6 hasta 22 cm de largo. Por la forma del perfil, la vaina puede ser recta, arqueada o recurvada. Puede terminar en una fina prolongación en forma arqueada o recta.

2.2.5 Semilla

Las semillas o granos del frijol son generalmente reniformes aunque también pueden ser oblongos u ovalados, lo que está en dependencia de la relación entre el largo y el ancho.

2.3 Principales factores que afectan el cultivo del frijol en Cuba

2.3.1 Época de siembra

Para su normal desarrollo, el frijol necesita que su ciclo vital trascorra en un período con temperaturas y precipitaciones moderadas durante las fases vegetativas y sus primeras fases reproductivas, un período seco durante las fase de la maduración y cosecha del grano y que la humedad del aire no permanezca con valores superiores a 80-85% por varios días consecutivos durante su período vegetativo, ya que se pueden presentar enfermedades fungosas o bacterianas capaces de destruir la cosecha, o al menos, disminuir los rendimientos (Quintero, 2000).

Quintero *et al.* (2002), en trabajos realizados con un grupo de variedades en diferentes épocas de siembra constataron que con disponibilidad de riego, se obtienen los mayores rendimientos cuando la siembra se realiza en noviembre y diciembre (época intermedia). La época temprana (septiembre y octubre) aporta rendimientos inferiores a la intermedia debido, fundamentalmente, a la pérdida de plantas por exceso de humedad del suelo, a la mayor incidencia de enfermedades fungosas del pie de la planta (*Rhizoctonia* y *Sclerotium*) y a la mayor incidencia de tizones bacterianos. En las siembras tardías (enero y febrero) los rendimientos también decrecen producto de la incidencia de roya (*Uromyces phaseoli*) y la elevación de la temperatura en la fase reproductora de la planta, impidiendo los procesos de fecundación y retención de las legumbres.

De acuerdo con las condiciones climáticas de Cuba los meses más apropiados para la siembra son los comprendidos desde septiembre hasta enero en

dependencia de la disponibilidad de riego, por ello es que la época de siembra se puede dividir en siembra de secano y siembra de riego.

El frijol requiere un detallado análisis de las fechas de siembra y del manejo de las variedades, por ello cada zona productora debe tener en cuenta las características del suelo, clima y posibilidades de riego para establecer sus fechas óptimas de siembra dentro de los meses establecidos.

2.3.2 Atenciones culturales

De todas las prácticas agrotécnicas, el manejo adecuado de las variedades es, posiblemente, la que reporta los incrementos más notables en la producción de una región o país sin ocasionar gastos adicionales de consideración por concepto de su introducción, pues simplemente se limita a la sustitución de unas variedades por otras (Quintero, 1985). El uso de unas o pocas variedades en los cultivos ha conducido a varios fracasos en la agricultura. No es posible ni conveniente reunir, en una misma variedad, resistencia o tolerancia a las adversidades, lo más razonable es contar con una estructura varietal en el cultivo lo suficientemente amplia que minimice el efecto de las adversidades, manejándose adecuadamente. (Quintero *et al.*, 2002).

2.3.3 Fertilización

Para la aplicación de fertilizantes en el cultivo de frijol, se deben tener en cuenta las dosis a utilizar, la cual está determinada por la respuesta de las variedades y por el contenido de elementos nutritivos del suelo. En las áreas donde se disponga de riego se recomienda hacer dos aplicaciones de fertilizantes, la primera de fórmula completa antes de la siembra y la segunda de fertilizante nitrogenado durante el desarrollo del cultivo. En siembras de secano se realiza solo una aplicación con fórmula completa antes de la siembra. Los fertilizantes se aplicarán prudencialmente, en forma de bandas distanciadas de las semillas con la aplicación de la fórmula completa y de igual forma en el caso de la urea aunque este último debe ser a mayor distancia y luego de aplicada debe ser tapada. La siembra debe realizarse en un plazo no mayor de tres días después de aplicado el fertilizante (Quintero *et al.*, 2007).

2.3.4 Principales plagas y enfermedades

En Cuba el descenso de los rendimientos de este grano se origina fundamentalmente por la incidencia de plagas y enfermedades. Según la

Dirección Nacional de Sanidad Vegetal, las plagas que más afectan al cultivo del Frijol en Cuba son *Empoasca* spp, *Bemisia tabaci* Genn., *Aphis carccivora* Koch., como principales transmisores virus del mozaico dorado. Según Hohmann y Martínez (2000) y Martínez *et al.* (2007) citan a los crisomélidos *Diabrotica balteata* Leconte y *Cerotoma ruficornis* Oliver, como plagas que ocasionan graves daños al cultivo del frijol, así como también *Bemisia tabaci* Genn. principal vector del virus del mosaico dorado y *Aphis craccivora* Koch. que además del daño directo que ocasionan los adultos y las ninfas al alimentarse, se conocen más de 110 virus vegetales que son transmitidos por este insecto, así como la excreción de sustancias azucaradas que favorecen el crecimiento de hongos del genero fumago sobre las plantas. El minador común (*Liriomyza trifolii* Burgess.), el Thrips de los melones (*Thrips palmi* Karny.), las chinches *Nezara viridula* (L.), *Euchistus* spp. y *Piezodorus gildinii* (West.) y *Empoasca kraemeri* Ross y Moore como otros insectos-plagas que atacan al cultivo además del ácaro blanco (*Polyphagotarsonemus latus* Banks.).

Entre las enfermedades más importantes son las de origen viral, la Roya causada por *Uromyces phaseoli* y la Pudrición del Pie causada por *Sclerotium rolffii* y *Rhizoctonia Solani* (Mora, 1997; Santos, 2005).

2.3.5 Principales arvenses

De la Cruz *et al.* (2015) señalan que las plantas arvenses predominantes en frijol son: *Amaranthus* spp., *Baltimora recta* L., *Bidens pilosa* L., *Melampodium dívaricatum* DC., *Tridax procumbens* L., *Chamaesyce hirta* (L.) Milisp., *Euphorbia heterophylla* L., *Mimosa pudica* L., *Portulaca oleracea* L., *Parthenium hysterophorus* L., *Solanum nígrum* L. entre otras. Las Poaseas y Ciperáceas incluyen *Cenchrus* spp., *Digitaria* spp., *Eleusine indica* (L.) Gaertn., *Echinochloa colona* (L.) Link, *Setaria* spp., *Ixophorus unisetus* (Presl) Schlecht., *Rottboellia cochinchinensis* (Lour.) W.D. Clayton, *Sorghum halepense* (L.) Pers, *Cynodon dactylon* (L.) Pers., y *C. rotundus* (L.).

2.4 Generalidades de la alelopatía

El fenómeno de la alelopatía ha sido plasmado en documentos que datan unos cuantos siglos A.C. Un documento tan antiguo como del año 300 a.C. relata que muchas plantas cosechadas (chícharo, cebada, frijol forrajero) destruyeron malas hierbas e inhibieron el crecimiento de otras cosechas (Silva, 2008).

Alelopatía se refiere a cualquier proceso donde haya metabolitos secundarios producidos por plantas, microorganismos, virus y hongos que influyen en el desarrollo de la agricultura y los sistemas biológicos (Narwal, 1999).

Las estrategias alelopáticas apuntan a la reducción de la contaminación ambiental y a mantener un balance ecológico en la flora y la fauna, con la disminución en el uso de pesticidas (insecticidas, fungicidas, nematocidas y herbicidas) sustituyendo estos por compuestos naturales (plantas y microorganismos); los aleloquímicos y fitoquímicos están libres de todos estos problemas asociados con la presencia de pesticidas.

La alelopatía es un fenómeno biológico por el cual un organismo produce uno o más compuestos que influyen en el crecimiento, supervivencia o reproducción de otros organismos. Estos compuestos son conocidos como aleloquímicos pueden conllevar a efectos benéficos (alelopatía positiva) o efectos perjudiciales (alelopatía negativa) a los organismos receptores (Sampietro, 2003).

El empleo de plantas alelopáticas resulta ser unas de las alternativas agroecológicas para combatir las plagas, enfermedades y elevar el rendimiento de cultivos. Esta se define como el efecto perjudicial o estimulador que pueden ejercer microorganismo y plantas sobre otras, mediante la liberación al medio de sustancias químicas, llamadas alelo químicos (Sampietro, 2001),

Las Asteraceas son muy ricas en productos metabólicos, la mayoría de estos son producidos y almacenados en sistemas secretorios especiales. Entre estos se encuentran, terpenos, diterpenos, triterpenos, sesquiterpenos, ácidos grasos, aminoácidos, alcaloides, flavonoides, cumarinas, y otros (Danos, 1988).

2.5 Naturaleza química de los compuestos alelopáticos

Los metabolitos secundarios (agentes alelopáticos) tienen una naturaleza química muy variada (Narwal, 1999; Pineda, 2003).

Estos pueden ser divididos en 3 grandes grupos, con base en sus orígenes biosintéticos:

Terpenoides: Todos los terpenoides, tanto los que participan del metabolismo primario como los más de 25.000 metabolitos secundarios, son derivados del Isopentenildifosfato (IPP) que se forman en la vía del ácido mevalónico. Es un grupo grande de metabolitos con actividad biológica importante. Están

distribuidos ampliamente en las plantas y muchos de ellos tienen funciones fisiológicas primarias. Unos pocos, como los que forman los aceites esenciales, están restringidos a solo algunas especies.

Compuestos fenólicos y sus derivados: Los más de 8.000 compuestos fenólicos que se conocen están formados o por la vía del ácido shikímico o por la vía del malonato/acetato. Entre ellos se encuentran gran cantidad de compuestos alelopáticos. Los fenoles simples con el cumárico, caféico y felúrico presentan diferentes acciones desde la inhibición de la germinación de semillas Hernández (2015) hasta la mortalidad de nematodos. Otros de mayor complejidad como los taninos y flavonoides se encuentran en gran cantidad de plantas y sus efectos alelopáticos son muy variables, dependen de la concentración y tolerancia del organismo receptor.

Alcaloides y compuestos nitrogenados: Los alrededores de 12.000 alcaloides que se conocen, que contienen uno o más átomos de nitrógeno, son biosintetizados principalmente a partir de aminoácidos. Los alcaloides poseen una gran diversidad de estructuras químicas (Espinosa, 2012). Son fisiológicamente activos en los animales, aún en bajas concentraciones, por lo que son muy usados en medicina. Ejemplos conocidos son la cocaína, la morfina, la atropina, la colchicina, la quinina, y la estrocnina.

2.6 Modo de liberación de las sustancias alelopáticas

Harborne (1999) y Sampietro (2003), coinciden en que los aleloquímicos (agentes alelopáticos) sintetizados y almacenados en células de las plantas son liberados al entorno en respuesta al estrés biótico o abiótico que se imponga. La forma en que se libera un agente alelopático depende de su naturaleza química, existiendo cuatro formas fundamentales de liberación de los aleloquímicos:

Volatilización: La liberación de agentes alelopáticos por volatilización está frecuentemente confinada a plantas que producen terpenoides. Los géneros que comúnmente liberan compuestos volátiles incluyen *Artemisia*, *Salvia*, *Parthenium*, *Eucalyptus* y *Brassica*. Estas sustancias han demostrado también actividad insecticida y como disuasivos alimenticios. La toxicidad de los compuestos volátiles es prolongada, debido a su adsorción a las partículas del suelo, lo cual les permite permanecer varios meses en él. En ecosistemas de

desierto y mediterráneos, se observa con frecuencia la liberación de compuestos alelopáticos por esta vía, lo cual es debido al predominio de altas temperaturas que van a influir como factor abiótico determinante en la liberación de los compuestos.

Lixiviación: La lixiviación es la remoción de sustancias presentes en la planta por efecto de la lluvia, nieve, niebla o rocío. El grado de lixiabilidad depende del tipo de tejido vegetal, la edad de la planta y la cantidad y naturaleza de la precipitación. De esta manera se liberan una gran variedad de agentes alelopáticos de diferente naturaleza tales como compuestos fenólicos, terpenos y alcaloides.

Exudados radicales: La reducción en rendimiento observada en algunos cultivos en varios casos se ha atribuido a toxinas liberadas por otros y malezas adyacentes. Los exudados radiculares comprenden únicamente entre el 2-12 % del total de fotosintatos de la planta. La mayoría de los agentes alelopáticos conocidos son exudados radiculares. Factores tales como la edad del vegetal, nutrición, luz y humedad influyen cualitativa y cuantitativamente la liberación de sustancias por las raíces.

Descomposición de los residuos vegetales: Los residuos en descomposición de la planta liberan una gran cantidad de agentes alelopáticos. Los factores que influyen este proceso incluyen la naturaleza del residuo, el tipo de suelo, y las condiciones de descomposición. Eventualmente las sustancias alelopáticas liberadas por los residuos vegetales en el suelo entran en contacto con las raíces de plantas presentes en el mismo, ejerciendo su acción. Los compuestos liberados por la planta al suelo sufren frecuentemente transformaciones realizadas por la microflora del mismo, que pueden originar productos con actividad biológica mayor que sus precursores. Investigaciones utilizando extractos acuosos vegetales han demostrado que los inhibidores solubles en agua presentes en la planta de cultivo pueden ser rápidamente liberados durante el proceso de descomposición.

2.7 La Alelopatía. Alternativa sólida en el control de arvenses.

El interés mundial por los problemas del medio ambiente, su racional utilización para satisfacer las necesidades humanas y preservarlo para las generaciones futuras ha crecido continuamente en los últimos años (García, 1996).

La tecnología de producción actual de cultivos depende de los insecticidas sintéticos, herbicidas y los agroquímicos en general. El incremento de los pesticidas para el control de las enfermedades crea serios problemas en nuestra salud y en el ambiente, porque algunos productos en su degradación son absorbidos por el suelo y persisten por largos períodos de tiempo. Otra faceta en el control químico de las malezas es el desarrollo de biotipos altamente resistentes a los herbicidas. Las plantas tienen su propio mecanismo de defensa, los aleloquímicos, que son de hecho herbicidas naturales. Las plantas ya sean cultivadas o silvestres muestran estos efectos, sin embargo, las plantas cultivadas son más interesantes porque pueden ser utilizadas como material para la producción de herbicidas naturales (Macias *et al.*, 1996).

Sampietro (2001) corrobora lo planteado anteriormente por este autor y señala que la agricultura moderna utiliza extensivamente agroquímicos, los cuales tienen un fuerte impacto ambiental y en muchos casos constituyen un serio riesgo a la salud humana. Las investigaciones en alelopatía en algunos casos permiten plantear estrategias orientadas a una mayor sustentabilidad de los sistemas de producción agrícola, con un menor consumo en insumos contaminantes.

En los cultivos intercalados se desarrollan interferencias entre plantas asociadas o entre estas y el ambiente en el cual están también presentes las arvenses, microorganismos e insectos. Los aleloquímicos por ellos liberados se concentran e inhiben el desarrollo de otras especies, mientras que cuando son enterrados se adicionan o se liberan durante la descomposición del material vegetal, o producidos por los microorganismos envueltos en el proceso. También ha sido usada desde hace siglos para aumentar la fertilidad de los suelos y para reducir la infestación de algunas especies (Puentes, 1998).

El uso de restos de plantas como cobertores en cultivos tiene una amplia aceptación entre los agricultores del mundo, pues mejoran la fertilidad del suelo, minimizan la erosión de estos y a través de los aleloquímicos liberados pueden ofrecer un control sobre la germinación y crecimiento de arvenses (Dilday *et al.*, 1997).

Altieri (1997) plantea que la alelopatía puede llegar a ser un medio real para controlar las arvenses si estas características se manifiestan en tipos silvestres

de plantas cultivadas, y puedan transferirse a los cultivos deseados. De forma general expresa que existen diversas alternativas para explotar la alelopatía en la agricultura:

- Sintetizar estos productos, o sus análogos, para usarlos como herbicidas, aislando e identificando los productos tóxicos naturales.
- Incorporar el mecanismo tóxico, en los cultivos, mediante una manipulación genética.
- Utilizar, residuos y cultivos de cobertura alelopáticos.
- Manipular el comportamiento de las semillas de arvenses usando los componentes de las plantas para adelantar la germinación de estas semillas.

2.7.1 La Alelopatía y el efecto herbicida.

Es reconocido el efecto nocivo que provocan las plantas arvenses sobre las producciones a nivel mundial, las cuales por demás ocupan un 40 % del tiempo laboral de pequeños agricultores (Labrada *et al.*, 1996).

Aunque no todas las plantas indeseables son arvenses, algunas de estas son capaces de causar grandes pérdidas en nuestros agroecosistemas. Por ejemplo, *Lantana camara* L., planta perteneciente a la familia de las *Verbenaceae*, constituye una maleza en el trópico y el subtrópico, e infesta más de 14 cultivos en 47 países, siendo fuertemente invasiva al punto de reducir la biodiversidad de los ecosistemas naturales. A pesar de esto, los aleloquímicos encontrados en esta planta entre los que se encuentran los ácidos cafeico, ferúlico, hidroxibenzoico, salicílico, cumárico, vanílicico, protocatético, la esculetina entre otros, promueven o inhiben el crecimiento de las especies probadas, dependiendo de su concentración y de la especie blanco (Ambika *et al.*, 2003).

Este mismo autor en los estudios de laboratorio ha revelado el efecto alelopático de esta especie, inhibiendo diferentes partes o promoviendo el crecimiento de plantas como maíz, frijol, etc. Sin embargo, aclaran que el grado de inhibición o estimulación depende de la concentración empleada y de la especie blanco. Al ser evaluado el efecto sobre el crecimiento de las plantas, fue determinante la concentración de los aleloquímicos, concretando que las concentraciones más altas (1:10), de hojas maceradas de esta *Verbenacea*

inhibió el crecimiento de las plantas testigo, mientras que concentraciones más bajas estimularon el crecimiento de los testigos.

Mirabilis jalapa L. en bioensayos llevados a efecto sobre la germinación y el crecimiento radicular en diferentes especies, tales como maíz, pepino, rábano entre otras, no produjeron afectación significativa sobre la germinación de tales cultivos (Anaya y Pelayo-Benavides, 1997). Sin embargo se confirmó lo que varios autores refieren acerca de la susceptibilidad de la especie blanco, pues al utilizar los extractos *M. jalapa* L. sobre pepino, obtuvieron una inhibición del crecimiento radicular hasta un 74 %, considerablemente mayor respecto a las demás especies de las cuales algunas ni siquiera fueron inhibidas, lo que llevó a los autores a plantear al pepino como una especie de alta sensibilidad a ciertos extractos, siendo probablemente una adecuada planta testigo. En este mismo sentido, Aguilar (2003) al aplicar restos de tabaco a parcelas de pepino, hace referencia a la reducción del desarrollo radicular de éste cultivo que fue hasta un 25 % inhibido.

Por otra parte, García (1996) ha señalado que algunas plantas se estimulan, mientras que otras se deprimen, como *Portulaca oleracea* L., que ejerce una influencia positiva sobre maíz y pepino, mientras que daña el desarrollo del arroz, lo cual muestra que los efectos de la interacción negativa o positiva entre las especies no deben generalizarse.

Respecto a esto, Puerto (2002) evaluó el efecto alelopático de *Ipomoea batata* (L.) Lam., obteniendo resultados alentadores, pues estimuló notablemente el crecimiento de tallos y raíces del maíz y el pepino, a la vez que aumentó la producción de masa seca y fresca en los diferentes cultivos estudiados (maíz, sorgo, melón, pepino y rábano), excepto en el frijol, en el cual obtuvo menores pesos en correspondencia con las dosis aplicadas.

Se han realizado numerosos trabajos en aras de encontrar plantas que puedan constituir materia prima para formular eficientes y sostenidos herbicidas naturales.

En tal sentido, Rodríguez (1990) y Labrada y García (1990), han reconocido el efecto alelopático de extractos acuosos de follaje de caña y plátano sobre malezas económicamente importantes, como *Cyperus rotundus*, *Sorghum halepense*, *Rottboelia cochinchinensis*, entre otras.

Por otra parte, Narwal y Tauro (1994) en estudios realizados en la India con extractos acuosos de tallos de *Echinops echinatus* y *Solanum surretense* mostraron una fuerte inhibición sobre la germinación de semillas de *Argemone mexicana*. Mientras que, *Crotun bonplandianum*, *Ploygonum orientale* y *Chenopodium album* son reportadas por sus efectos inhibitorios de la germinación y crecimiento sobre otras malezas.

Ha sido reportado el Centeno como planta alelopática que interfiere en el crecimiento de *Digitaria* spp., *Ambrosia* spp. y *Chenopodium album* al reducir la biomasa producida en un 42, 90 y 98% respectivamente, comparado con el testigo donde no se aplicó el residuo.

Estos trabajos y tantos otros constituyen pasos en el camino de la producción integrada de cultivos sin afectar la vida de los agroecosistemas, sino más bien maneándolos para obtener de ellos lo que realmente ellos pueden aportar.

2.8 Descripción botánica y taxonómica de las plantas en estudio.

2.8.1 *Tagetes erecta* L.

El género *Tagetes* se compone de aproximadamente 30 especies, entre las cuales, cerca de la mitad está en México (Turner, 1996). Las especies más conocidas son la *T. erecta* L., *T. patula* L., *T. lunulata* Ortega y *T. tenuifolia* Cav., siendo la primera la más utilizada (Serrato y Miranda, 1998). *T. erecta*, conocida como "flor del muerto", se caracteriza por su coloración y su contenido de carotenoides (Delgado *et al.* 2000).

Es una planta anual de tipo herbáceo, pero de flores mucho mayores de unos 10 a 15 centímetros de diámetro. Son unas plantas que requieren una exposición a pleno sol para que crezcan compacta y con abundancia de flores. Estas plantas poseen tallos bastante robustos y muy ramificados, sus hojas son compuestas con foliolos lanceolados y dentados con un cierto olor muy característico. Las flores de *T. erecta* son inflorescencias de tonos naranjas, amarillos y rojos. Las inflorescencias tienen capítulos con numerosas flores individuales (de 60 a 400). Estas flores pueden o no tener lígulas o pétalos (Villareal y Villaseñor, 2004).

Ubicación taxonómica

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Asterales*

Familia: *Asteraceae*

Género: *Tagetes*

Especie: *T. erecta*

2.8.2 *Tithonia diversifolia*.

El Árbol maravilla, el Girasol mexicano, el Falso girasol (Nash, 1976; Cairns, 1996) son algunos de los nombres con los que se identifica a *T. diversifolia*, la cual se encuentra en las áreas tropicales y subtropicales del Planeta y posee casi 1500 especies distribuidas por todo el mundo. En el caso del género *Tithonia*, posee 10 especies en Centroamérica y es comúnmente aceptado que su centro de origen es América Central o México (Nash, 1976), aunque no se descarta que lo sea América del Sur.

En el medio rural cubano se conoce como Margaritona o Árnica de la tierra (Roig, 1974), pero en los últimos tiempos, dada su distribución acelerada, se identifican otros nombres como Girasolillo y el propio Titonia.

Ubicación taxonómica

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Eudicotyledoneae*

Orden: *Asterales*

Familia: *Asteraceae*

Género: *Tithonia*

Especie: *T. diversifolia*

Según Nash y Williams (1976) la *T. diversifolia* es una planta herbácea o arbustiva robusta, su altura oscila entre 1,5 y 4,0 m; su tallo es erecto, ramificado, las ramas tiernas cubiertas de pelillos, que con la edad se pierden. Posee hojas alternas, pecioladas, de hasta 20 cm de largo y de ancho, generalmente divididas en tres a cinco lóbulos, con dientes redondeados en el margen, con la base a veces algo truncada pero muy angosta a lo largo del pecíolo, en cuya base se amplía en dos lóbulos pequeños; la cara superior cubierta de pelos, de base hinchada, con abundantes pelillos (a veces sin pelillos) y con puntos glandulares en la cara inferior.

Las flores, en número de 12 a 14, son liguladas, ubicadas en la periferia de la cabezuela; la corola de hasta 6 cm de largo, es un tubo en la base y a manera de cinta hacia el ápice, semejando un pétalo de una flor sencilla, de color amarillo brillante o anaranjado, con dos o tres dientes en el ápice. Las flores del disco son numerosas, hermafroditas, ubicadas en la parte central; la corola, de hasta 8 mm de largo, es un tubo delgado que hacia la parte superior se ensancha (garganta) y se divide en cinco lóbulos, de color amarillo; los estambres alternos con los lóbulos de la corola; sus filamentos libres e insertos sobre el tubo de la corola; las anteras soldadas entre sí formando un tubo alrededor del estilo, con la base aflechada; el ovario ínfero.

En un análisis de metabolitos secundarios realizado por Rosales, (1992) no se hallaron fenoles ni taninos; mientras que Vargas, (1994) reportó un bajo contenido de fenoles y ausencia de saponinas. Mungarulire *et al.* (1993) encontraron el compuesto citotóxico tagitinin; mientras que Dutta *et al.* (1993), además del compuesto tagitinin, detectaron hispidulin, a los cuales se les atribuyen efectos repelentes contra los insectos.

3. Materiales y Métodos

Ubicación de los ensayos

El presente trabajo se llevó a cabo en condiciones de campo, en la Unidad Básica de Producción Cooperativas (UBPC) “Jesús Menéndez Larrondo” perteneciente a la Empresa Agropecuaria “Valle del Yabú” de Santa Clara provincia, Villa Clara, para determinar las arvenses predominantes en el cultivo del frijol común cultivar Buenaventura y en el laboratorio de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Agropecuarias (FCA) perteneciente a la Universidad Central Marta Abreu de la Villas en el periodo comprendido de septiembre de 2017 a mayo de 2018.

Características del cultivar

El cultivar empleado fue la Buenaventura, obtenida de la Empresa de semilla de Villa Clara con un 97% de germinación, presenta granos de color rojo, un potencial de rendimiento de 2.7 t ha⁻¹, hábito de crecimiento tipo II y un ciclo de cosecha corto de 77 a 82 días. Por sus características, es una variedad preferente por productores y consumidores.

Procesamiento estadístico

Los resultados fueron analizados mediante el paquete estadístico STATGRAPHICS versión 5.0 sobre Windows 10 y Microsoft Office, Excel 2016.

3.1 Determinación de arvenses predominantes en el cultivo del frijol

En la fase de campo se determinó las arvenses predominantes en el cultivo del frijol común sembrado en la época de enero - febrero, utilizando la metodología de fijar puntos en diagonales (12 puntos) para abarcar toda el área (0.5 ha), se contabilizaron las especies y su aparición mediante la utilización del método cuadrático con un marco de 0.50 m x 0.50 m, para determinar los índices ecológicos siguientes (Aleman, 2004).

3.1.1 Abundancia relativa (Ar)

$$Ar = \frac{n}{\sum N} \times 100$$

n- números de individuos de una especie

N- número total de individuos de todas las especies

Según Masson y Brysnt (1974) las especies se agruparon por la abundancia relativa calculada en las siguientes clases:

Muy abundante: si $Ar > 30$

Abundante: $\geq 10 Ar \leq 30$

Poco abundante: $Ar < 10$

3.1.2 Frecuencia relativa (Fr)

Se determinó la frecuencia relativa según Curtis y McIntosh (1951); Mueller y Ellenberg (1974); Magurran (2004).

$$Fr = \frac{A}{B} \times 1$$

Donde:

A- número de veces que aparece la especie en la muestra

B- número de muestras totales

Según Masson y Bryssnt, (1974) las especies se agruparon por la frecuencia relativa calculada en las siguientes clases:

Muy frecuente: si $F > 30$

Frecuente: $\geq 10 F \leq 30$

Poco frecuente: $F < 10$

Después de determinar las arvenses predominantes, se recolectó los órganos de propagación de las mismas (semillas o propágulos) para las posteriores pruebas de laboratorio.

3.2 Colecta y secado del material vegetal para la extracción de extractos de *T. erecta* y *T. diversifolia* en función del Total de Sólidos Disueltos (TSD).

3.2.1 Recolección de *T. erecta* y *T. diversifolia*

Se colectaron plantas con crecimiento al sol, en el horario comprendido entre las 12 m y 4:00 pm, en los meses de noviembre y diciembre de 2016 (horarios en las que las plantas tienen el menor contenido de agua posible). Se tomaron todos los órganos de la planta (hojas, tallos, raíces e inflorescencias).

3.2.2 Tipo de secado empleado

Las muestras se secaron completamente a la sombra en condiciones semicontroladas a temperatura ambiente (no sobrepasó los 25°C) iluminación difusa y humedad relativa del 40%. Posteriormente el material vegetal seco fue molido en un molino de cuchillas (Retsch- SM 2000) con un tamaño de tamiz de 0,5 mm.

3.2.3 Obtención de los extractos vegetales de *T. erecta* y *T. diversifolia* por Maceración

Se empleó extracción por maceración en reposo (MR) durante 24, 48, y 72 h; así como la extracción por maceración con agitación (MA) por 24 h.

Tipos de extractos: se obtuvieron extractos etanólico y acuoso para de esta forma conocer en función de la polaridad los mejores grupos de metabolitos con efectos alelopáticos.

Para la obtención de los extractos se tomó la razón $\Delta 1/20$ g/ml, utilizando 0,5 g del material vegetal seco y triturado, y se le añadieron 10 ml del disolvente (agua destilada y etanol) y se sometieron al proceso de extracción. El macerado se filtró dos veces empleando gasa doble, papel de filtración media (Bright, China) acoplado a un sistema de bomba de vacío cada 24 h para obtener el extracto.

En los tratamientos de 48 y 72 h se preservaron los residuos vegetales y se les adicionaron, nuevamente, 10 ml del solvente para mantenerlos en maceración hasta completar su tiempo de extracción. En ambos casos de extracción las condiciones de temperatura e iluminación fueron controladas, las muestras se mantuvieron durante el proceso, en cámaras oscuras a 25°C. La extracción se realizó por triplicado utilizando los dos tipos de extractos, etanólico (E) y acuoso (A).

Los tratamientos se relacionan en la (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos para la determinación del Total de Sólido Disuelto (TSD).

Tipo de extracción	Tiempo de extracción
MRE	24, 48 y 72 h
MRA	24, 48 y 72 h
MAE	24 h
MAA	24 h
MRE	24 h
MRA	24 h

3.2.4 Determinación del Total de Sólido Disuelto (TSD)

Se empleó el método Gravimétrico para obtener el TSD. Se realizó el pesaje inicial en placas de Petri marcadas, vertiéndose 1 ml de extracto filtrado de cada variante y se colocó en una estufa a 105°C por una hora, se dejó enfriar a 25°C en una desecadora con CaCO₃ y se realizó nuevamente el pesado para determinar la diferencia de peso (TSD). El procedimiento se repitió por triplicado hasta peso constante.

3.3 Cuantificación de fenoles totales en *T. erecta* y *T. diversifolia*

Los fenoles totales se determinan mediante el método espectrofotométrico de FolinCiocalteu usando el ácido gálico como material de referencia (Gutierrez *et al.*, 2008). Se preparó una disolución patrón de ácido gálico de 0,25 g L⁻¹ (250 mg por Litro (250 ppm), disolviendo 25 mg de ácido gálico en agua destilada en un matraz aforado hasta 100 ml. De esta se tomaron 3 mL y se enrazaron a 25 mL obteniéndose diluciones del patrón de 5, 10, 15 y 20 mg L⁻¹.

Las muestras se prepararon a partir de 0.5 g de material vegetal pulverizado en 10 mL agua destilada (1:20 p/v), se mantuvo en reposo por 48 horas y posteriormente se filtraron al vacío según Xuan *et al.*, 2004. Se determinó la concentración como sigue:

La determinación del contenido de fenoles totales se realizó por triplicado y se expresó en porcentaje través de la fórmula:

$$C(\%) = \frac{Abs.M \cdot C(P) \cdot 4000}{Abs.P \cdot Psm}$$

Donde:

C (%) = Concentración porcentual total de fenoles.

Abs.M = Absorbancia de la muestra.

C (P) = Concentración del patrón (mg L⁻¹).

Abs.P = Absorbancia del patrón.

Psm = Peso seco de la muestra (mg)

Los resultados se expresaron en porcentaje de la muestra y en mg de ácido gálico equivalente (AGE) por gramos de material seco (M.S.) de *T. erecta* y *T. diversifolia* (mg AGE g⁻¹ M.S.).

La cuantificación de fenoles totales se realizó según Silva y Espinoza *et al.* (2012). A 1ml de extracto de *T. diversifolia* y *T. erecta* respectivamente, se les adicionó 80 µL de FolinCiocalteu 1N (Merck, Alemania), se dejó reposar 5 min

y se añadió 800 µL de Na₂CO₃ a una concentración de 0,2 g.mL⁻¹ (UniChem, China). La mezcla se dejó reposar durante 90 min a 25 °C. Posteriormente, se midió la absorbancia a 750 nm en el espectrofotómetro ultravioleta-visible (Génesis 6, EUA). La concentración de fenoles totales se determinó mediante extrapolación en una curva de calibración con ácido gálico (Sigma-Aldrich, Alemania) como patrón y se expresó en mg de equivalentes de ácido gálico.mL⁻¹ de extracto (mg EAG.mL⁻¹). Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente mediante la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0,05$), complementada con un test de Mann Whitney ($p < 0,01$).

3.4 Cuantificación de flavonoides totales en *T. erecta* y *T. diversifolia*

La cuantificación de este metabolito se realizó por espectrofotometría ultravioleta visible mediante el método del NaNO₂ -AlCl₃ para desarrollar el color en las muestras (Liu y Zhu, 2007).

A 1 mL de extracto de *T. diversifolia* y *T. erecta* respectivamente, se les adicionó 60 µL de una solución de NaNO₂ 5% (UniChem, China), se disolvió durante 6 min. Seguidamente, se añadió 60 µL de AlCl₃ 5% (Panreac, España), se mezcló en vortex y se dejó reposar durante 6 min. Posteriormente, se adicionó 400 µL de NaOH 1 M (UniChem, China), se dejó en reposo durante 10 min y se midió la absorbancia a 410 nm en el espectrofotómetro de ultravioleta-visible (Génesis 6, EUA) antes de 30 min.

La determinación del contenido de flavonoides totales se realizó por triplicado y se expresó en % de flavonoides en base a quercetina en el material vegetal a través de la fórmula:

$$C(\%) = \frac{AbsM * C(P) * 0,76}{AbsP * Pms}$$

Dónde:

C (%) = Concentración de flavonoides totales expresada en porcentaje.

AbsM = Absorbancia de la muestra.

C (P) = Concentración del patrón (ppm)

AbsP = Absorbancia del patrón.

La concentración de flavonoides totales se determinó mediante extrapolación en una curva de calibración con quercetina (Sigma-Aldrich, Alemania) como patrón y se expresó en mg equivalentes de quercetina por ml de extracto (mg

EQ.mL⁻¹). Las determinaciones se realizaron por triplicado. Los datos obtenidos se procesaron estadísticamente mediante la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0,05$), complementada con un test de Mann Whitney ($p < 0,01$).

3.5 Efecto alelopático *in vitro* de los extractos de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación de los órganos de propagación de plantas arvenses en el cultivo y el propio frijol común.

El ensayo se realizó con los extractos obtenidos mediante el método de extracción de mejores resultados según el TDS.

Se tomaron las concentraciones de 0 % (testigo) 25 %, 50 % y 100 % de esta forma ayuda a cubrir un mayor rango de efecto del extracto.

Utilizando placas de Petri humedecidas con papel de filtro se colocaron los órganos de propagación (semillas o propágulos) de las arvenses predominantes en el cultivo y también del propio frijol a razón de 10 semillas o propágulos por placa de Petri para evaluar el efecto de los extractos sobre la germinación a cada placa se vertió 1 ml de extracto ya preparado con la concentración adecuada. Se le realizaron muestreos por 24 h durante cinco días (96 h) donde se utilizó el método de análisis porcentual para mostrar los resultados.

3.5 Efecto alelopático *in vitro* de los extractos de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación de semillas del frijol común.

Para este ensayo se tomaron diez semillas por cada tratamiento más el testigo donde se le realizaron los respectivos muestreos cada 24 h por cinco días. Este ensayo nos brinda la capacidad de germinación del frijol bajo la acción de las diferentes concentraciones de extracto ya que el mismo constituye la especie que tratamos de reducirle la incidencia de arvenses.

3.5.1 Tratamiento con extracto de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación y brotación de los órganos de propagación de plantas arvenses.

En este ensayo se tomaron los órganos de propagación (semillas y propágulos) de Cebolleta y Bledo manso respectivamente a razón de diez órganos reproductivos por cada tratamiento incluyendo el control. Donde se le realizaron los respectivos muestreos cada 24 h por cuatro días (96 h),

tomándose los resultados y analizándolo mediante el método de análisis porcentual.

3.6 Efecto alelopático del material vegetal de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación de semillas de plantas arvenses predominantes en el cultivo y en el propio frijol común en condiciones semicontroladas.

Para el desarrollo del experimento el suelo empleado fue el tipo Pardo Mullido medianamente lavado (Hernández *et al.*, 2015), el sustrato procedió del Campo 30 de la UBPC “Jesús Menéndez Larrondo” perteneciente a la Empresa Agropecuaria “Valle del Yabú” que se encontraba en la fase de roturación, este se esterilizó en autoclave por 1 h a 1,2 atm de presión. El proceso se realizó 2 veces con intervalo de 3 días.

Tratamientos a utilizar: El experimento se desarrolló en bandejas de 24 cm de largo, 18 cm. de ancho y 3 cm. de alto, con un volumen de 1296 cm³ de suelo (desinfestado) y un peso de 600 g. Montado sobre un diseño completamente aleatorizado (DCA) con cuatro tratamientos y tres replicas con dosis empleadas de forma sólida representando los diferentes tratamientos; (5 g representando (100 %), 2,5 g representando (50 %), 1,25 g representando (25%) y sin aplicación (0 %) el control, de material vegetal de *T erecta* y *T. diversifolia* en cada caso. Las bandejas se regaron con agua hasta capacidad de campo. Se mantuvo el riego todos los días aplicando 200 mL de agua por bandeja cada vez, con estas condiciones se depositaron 50 semillas de *Amaranthun viridis*, la arvense predominante, por bandeja. El frijol se sembró al cabo de los tres días a razón de 10 semillas por bandejas.

Evaluaciones realizadas: La primera evaluación se realizó a los siete días de sembrado el frijol y la segunda y tercera a los 15 y 22 días respectivamente haciendo un conteo de germinación al cultivo y a las arvenses, mostrando los datos mediante una desviación estándar.

4. Resultados y Discusión

4.1 Determinación de arvenses predominantes en el cultivo del frijol común.

El inventario de plantas arvenses realizado en cultivo del frijol, mediante el método de muestreos en diagonal para abarcar toda el área (0,5 ha) y un marco metálico de 50 cm x 50 cm para ver el porcentaje de distribución de dichas plantas por metro cuadrado (Aleman, 2004), que se llevó a cabo en el mes de marzo de 2016 a los 45 días de sembrado el cultivo (Tabla 2). La cebolleta (*Cyperus rotundus* L.), resulto ser la especie según la escala de Masson y Bryssnt, (1974) la de mayor abundancia mientras que el Don Carlos *Sorghum halepense* (L.) Pers. y el Bledo (*Amaranthus viridis* L.) fueron abundantes y el resto de las especies resultaron ser poco abundantes. Atendiendo a la frecuencia relativa se pudo determinar que todas las especies, exceptuando el bledo fueron muy frecuentes, siendo este de la clase frecuente según Masson y Bryssnt (1974) datos que coinciden con De la Cruz *et al.*, 2015.

Posteriormente se escogieron los órganos de propagación (semillas y propágulos) de cebolleta y de Bledo respectivamente para probar los efectos de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación por ser los de mayor incidencia en el área evaluada y los de mejor manejo y tratamientos para dichos experimentos.

Tabla 2. Inventario de arvenses en el cultivo del frijol

Especies	Nombre científico	Abundancia relativa (%)	Frecuencia relativa (%)
Cebolleta	<i>Cyperus rotundus</i> L.	37.8	91
Don Carlos	<i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers.	29.4	75
Bledo	<i>Amaranthus viridis</i> L.	10	50
Mete Bravo	<i>Echinochloa colona</i> (L.) Link.	8.4	33,3
Guizaso de caballo	<i>Xanthium strumarium</i> L.	7.5	33,3
Lechoza	<i>Euphorbia heterophylla</i> L.	6.7	25

4.2 Colecta y secado del material vegetal para la extracción de extractos de *T. erecta* y *T. diversifolia* en función del Total de Sólidos Disueltos (TSD).

4.2.1 Determinación del Total de Sólido Disuelto (TSD) en *T. erecta* y *T. diversifolia*.

En esta etapa de la investigación, el análisis del efecto del método de extracción, (Figuras 1 y 2), logró determinar la extracción donde se obtuvieron el mayor número de metabolitos en *T. erecta* y *T. diversifolia* en función del Total de Sólidos Disueltos fue el método de maceración en reposo por 48 h (MR 48 h) para las dos formas de tratamiento en los dos tipos de material vegetal, siendo mayor para la extracción etanólica por el tipo de polaridad que permitió estos resultados, difiere con Espinosa, (2007) donde no existe diferencia significativa de la concentración de TSD entre MR 48 h y MA 24 h.

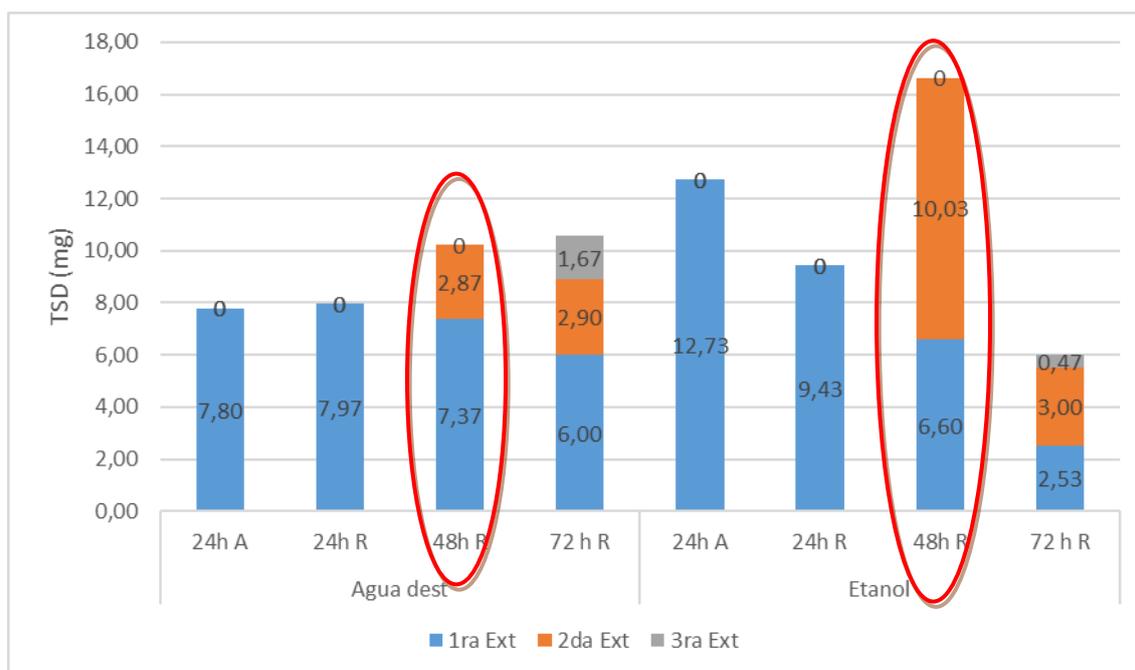


Figura 1. Cuantificación del Total de Sólidos Disueltos en los extractos acuosos de *T. erecta* utilizando diferentes polaridades etanólico y acuoso.

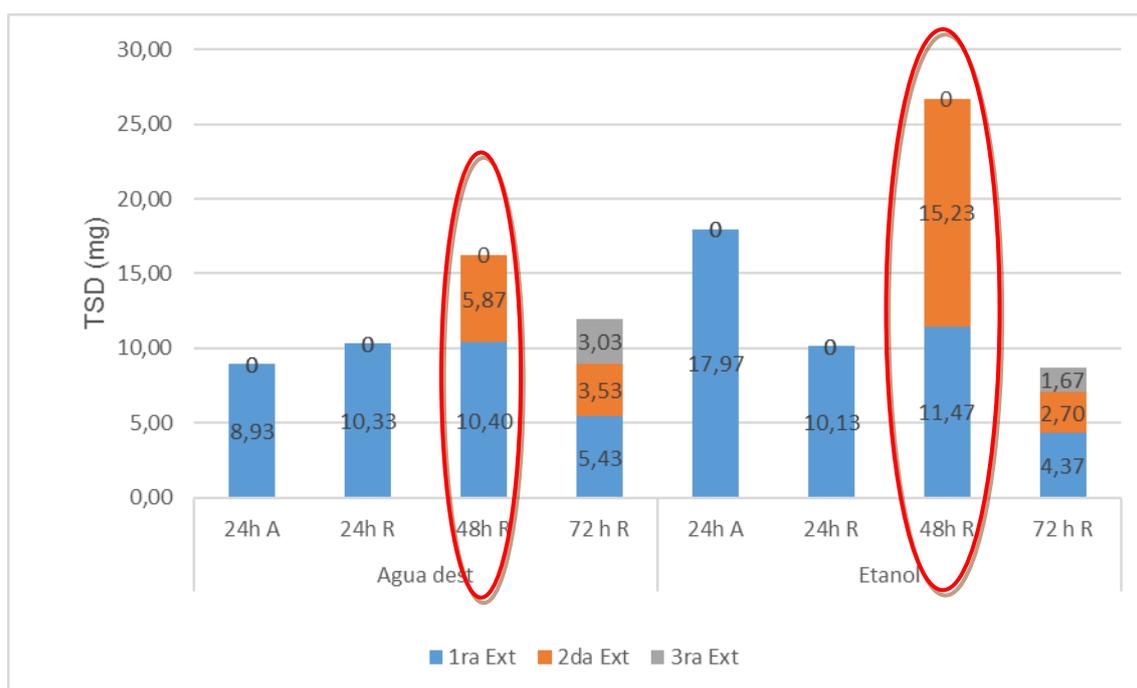


Figura 2. Cuantificación del Total de Sólidos Disueltos en los extractos acuosos de *T. diversifolia* utilizando diferentes polaridades etanólico y acuoso.

4.3 Cuantificación de fenoles totales en *T. erecta* y *T. diversifolia*.

La cuantificación del contenido de metabolitos presentes en las plantas constituye una herramienta eficaz para realizar ensayos in vitro, orientados a la determinación de actividades biológicas (Mujica *et al.*, 2009).

La cuantificación de compuestos fenólicos en las plantas está influenciada por la naturaleza química, método de extracción, tamaño de partícula de la muestra, condiciones y tiempo de almacenamiento, así como el método de comprobación, la selección de estándares y la presencia de compuestos de interferencia e.g. ceras, grasas, terpenos y clorofilas (Palma *et al.*, 2013).

Uno de los factores que puede influir en la concentración de los metabolitos, incluyendo los compuestos fenólicos, es el disolvente empleado durante la extracción (Ajila *et al.*, 2011). Esto se debe a que la solubilidad de los fenoles es afectada por la polaridad de los disolventes. Por lo tanto, es difícil desarrollar un procedimiento de extracción para la obtención de todos los compuestos fenólicos de la planta (Palma *et al.*, 2013).

La (figura 7) demuestra que la curva es lineal y cumple de modo apropiado con la Ley de Bouguer-Lambert-Beer, lo cual indica que se puede usar la absorbancia como magnitud adecuada para determinar a partir de ella la concentración de metabolito presente en las muestras. En el caso de la *T. diversifolia* la absorbancia media de las tres repeticiones fue de 556 nm por lo que indica que tiene una concentración de 13,1 mg/L de fenoles totales como indica la (Figura 3).

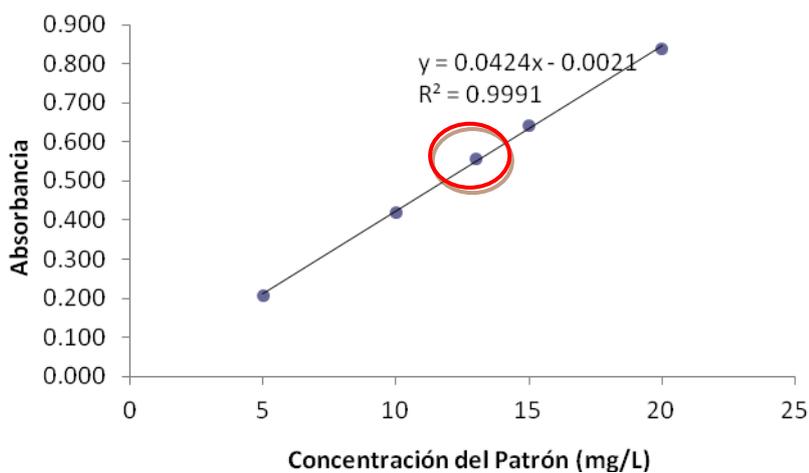


Figura 3. Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales en *T. diversifolia*.

En el caso de *T. erecta* la absorbancia media de las tres repeticiones fue de 0.657 nm, lo que indica que la concentración de compuestos fenólicos fue de 15.4 mg/L como indica la (Figura 4).

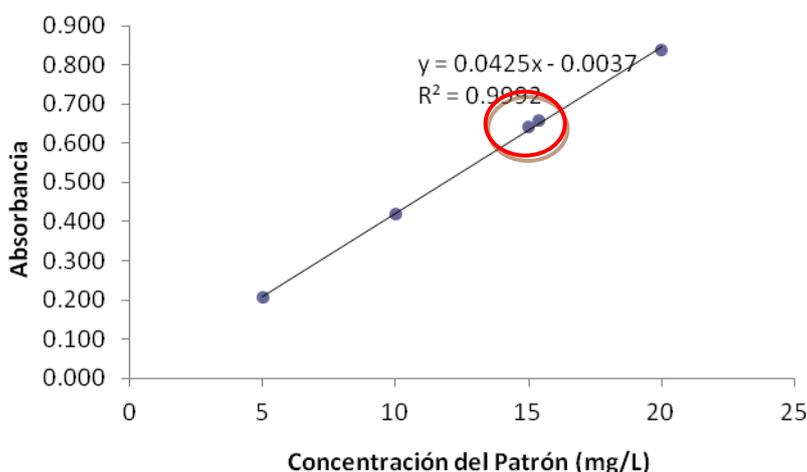


Figura 4. Curva de calibración para la cuantificación de fenoles totales en *T. erecta*.

4.4 Cuantificación de flavonoides en *T. erecta* y *T. diversifolia*.

Los flavonoides se cuantificaron en base a quercetina a partir de 1 g del material vegetal. La figura 7 muestra la curva de calibración desarrollada con este patrón para conocer el contenido del metabolito.

El coeficiente de correlación por encima de 0,99 demuestra que existe una buena relación entre las absorbancias obtenidas y la concentración del patrón en el intervalo de 10 – 50 ppm.

En el caso de la *T. diversifolia* la absorbancia media de las tres repeticiones fue de 727 nm por lo que indica que tiene una concentración de más de 50 mg L⁻¹ metabolitos totales, lo cual no solo se corresponde con flavonoides sino también con clorofila ya que se midió la absorbancia en el rango de 415nm donde también pudo dar valores de este pigmento por lo que se recomienda para esta especie hacerle una separación previa de clorofila antes de medir absorbancia.

En el caso de *T. erecta* la absorbancia media de las tres repeticiones fue de 0.316 lo que indica que la concentración de flavonoides fue de 15.4 mg/L como indica la (Figura 5).

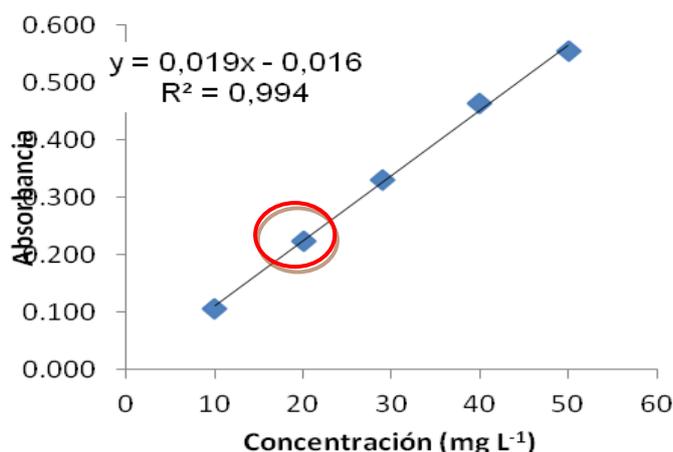


Figura 5. Curva de calibración para la cuantificación de flavonoides totales en *T. erecta*.

Para verificar la linealidad se determinó el coeficiente de variación de los factores de respuesta (CVf), la desviación estándar relativa de la pendiente (Sbrel (%)) y el intervalo de confianza del intercepto (i). Según las normas establecidas para este tipo de estudio, el primero de estos parámetros debe ser inferior al 5%, el segundo no debe sobrepasar el 2% y dentro del intervalo de i debe encontrarse el cero (ICH 1996; CECMED 2007). Se demuestra que la curva es lineal y cumple de modo apropiado con la Ley de Bouguer-Lambert-Beer, lo cual indica que se puede usar la absorbancia como magnitud adecuada para determinar a partir de ella la concentración de metabolito presente en las muestras.

4.5 Efecto alelopático *in vitro* de los extractos de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación de los órganos de propagación de plantas arvenses en el cultivo y el propio frijol común.

Los estudios de los mecanismos de la interferencia biótica entre los componentes del cultivo y los que no lo son, especialmente a través de interacciones alelopáticas, serán cada vez más importantes a medida que las limitaciones económicas y ecológicas sobre las prácticas de control de arvenses modernas se hagan más restrictivas, ofreciéndose con la alelopatía una alternativa potencial (Gliessman, 1982).

Lovettl (1992) y Putnam (1998), citados por An *et al.* (2000), coinciden en que la utilización de residuos alelopáticos, como una herramienta de manejo en las plantas, puede ser uno de los usos más prácticos aplicables de la alelopatía en los agroecosistemas. De todas las estrategias posibles de desarrollo de la alelopatía para el control de arvenses, el manejo de residuos tóxicos es el de resultados disponibles más exitosos y reales.

Para el ensayo biológico *in vitro* se pusieron a germinar propágulos y semillas de arvenses tales como cebolleta y bledo manso, las cuales fueron las predominante en el muestreo de campo (Tabla 2), así como semillas de frijol para comprobar el efecto de los extractos de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre las mismas y de esta forma conocer su efecto para poder aplicarlas como control biológico sin afectar al cultivo.

4.5.1 Efecto alelopático *in vitro* de los extractos de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación de las semillas del frijol común.

Dentro de los principales resultados obtenidos se pudo comprobar que para el frijol el porcentaje de germinación bajo el efecto del extracto de *T. erecta* se mantuvo con valores altos, 96.7 % de germinación para el extracto a las 96 horas, que según Xuan *et al.*, (2004) plantea que el porcentaje de germinación (>70 %) es el adecuado que deben tener las semillas.

Debemos puntualizar que en comparación con el testigo existió una pequeña demora menor de un 35 % en la germinación de las semillas a las 48 h con el tratamiento de *T. erecta*. En las 96 h ya el porcentaje de germinación es del 100% excepto para el tratamiento con 100% de concentración de extracto, donde se obtuvo un 90 % de germinación promediando a un 96.7 % de germinación total en el tratamiento (Figura 6).

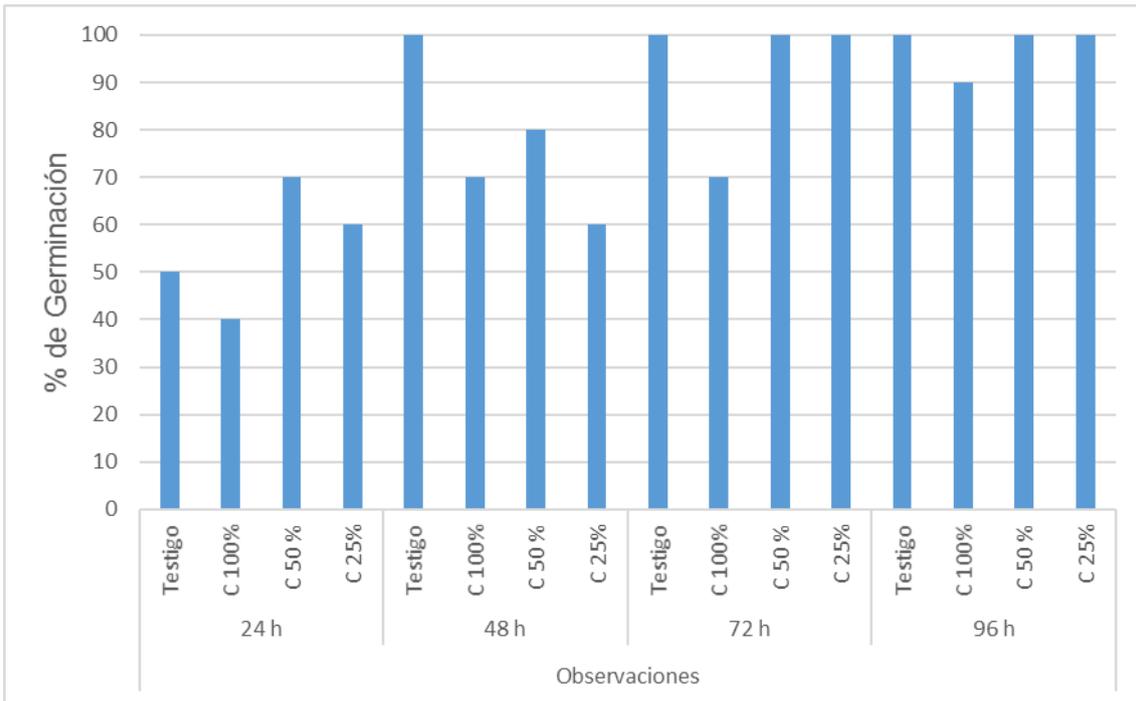


Figura 6. Tratamiento de *T. erecta* sobre la germinación de semillas de frijol común.

El porcentaje de germinación del frijol bajo el efecto del extracto de *T. diversifolia* no se vio inhibido ni retardado comparado con el control ya que existió un 100 % de germinación en todos los tratamientos a partir de las 48 h (Figura 7).

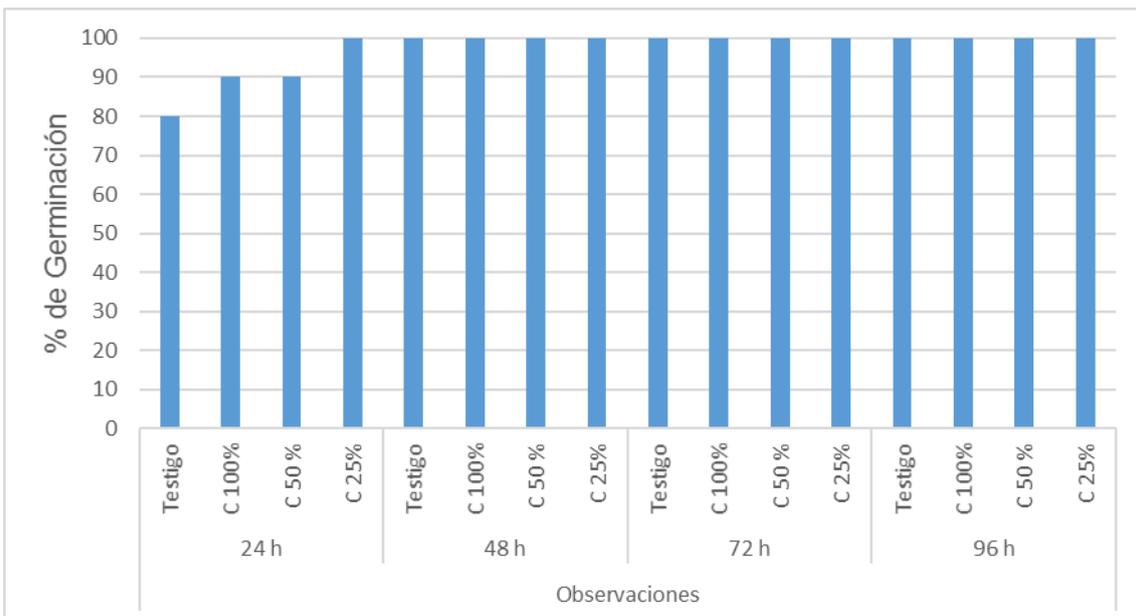


Figura 7. Tratamiento de *T. diversifolia* sobre la germinación de semillas de frijol común.

La (Figura 8) muestra el estado de la germinación en el frijol a las 24 h y 96 h de tratamiento donde no se aprecia inhibición por parte de los dos tipos de extractos, resultados que coinciden con Xuan *et al.*, (2004) en sus trabajos metodológicos más actuales aborda más profundamente las formas de proceder metodológicamente para obtener resultados adecuados según los objetivos propuestos. En las mismas puntualiza, por ejemplo, el porcentaje de germinación (>70 %) adecuado que deben tener las semillas que se vayan a utilizar como blanco para detectar el efecto alelopático.

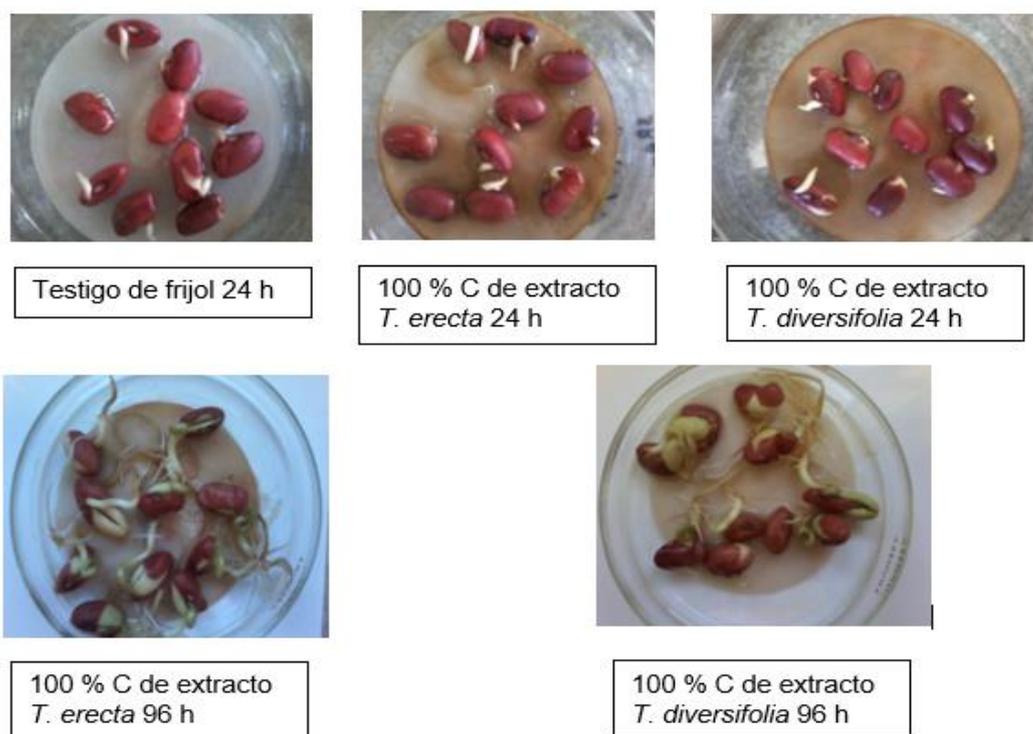


Figura 8. Estado de la germinación del frijol a las 24 h y 96 h, un testigo junto a las mayores concentraciones de extracto de *T. erecta* y *T. diversifolia* (C 100%)

Xuan *et al.* (2004) en sus trabajos metodológicos más actuales aborda más profundamente las formas de proceder metodológicamente para obtener resultados adecuados según los objetivos propuestos. En las mismas puntualiza, por ejemplo, el porcentaje de germinación (>70 %) adecuado que deben tener las semillas que se vayan a utilizar como blanco para detectar el efecto alelopático. En este mismo sentido plantea las características que debe presentar la planta blanco, siendo especies como lechuga (*Lactuca sativa* L.),

rábano (*Raphanus sativus* L.) o *Lepidium sativum* L. son especies muy sensibles a los efectos alelopáticos y por tanto pueden servir eficazmente como blanco en los bioensayos normales.

4.5.2 Tratamiento *in vitro* con extracto de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación de los órganos de propagación de plantas arvenses.

Los extractos de *T. erecta* y *T. diversifolia* y cada una de las dosis empleadas causaron fitotoxicidad en las malezas impidiendo su normal germinación (Figura 9 y 10). Para el caso de la cebolleta la brotación a las 96 horas fue de 100% para el testigo y para los tratamientos de 50 % y 25 % de concentración de extracto de *T. erecta*, siendo de 50 % para el tratamiento de 100 % de concentración de extracto, todo esto indica que a pesar de ser un propágulos con abundante reserva, en concentraciones altas de extracto (100 %) se dificulta la germinación.

La respuesta alelopática inhibitoria en las malezas puede variar en el tiempo con las diferentes especies y su durabilidad depende en primer lugar de la dosis de residuos aplicada, así como de la velocidad con que se descomponen los residuos y la acumulación de los aleloquímicos liberados (Anaya y Espinosa, 2006).

En el bleado manso que se empleó semilla botánica, a las 96 horas había germinado el 50% de las semillas en el testigo, siendo de 0 % a concentración de 100 % de extracto y en los tratamientos donde se utilizaron las concentraciones 50 y 25 % respectivamente solo existió un 40 % de germinación en total, lo que indica que este extracto dificulta la germinación de esta planta arvense (Figura 9).

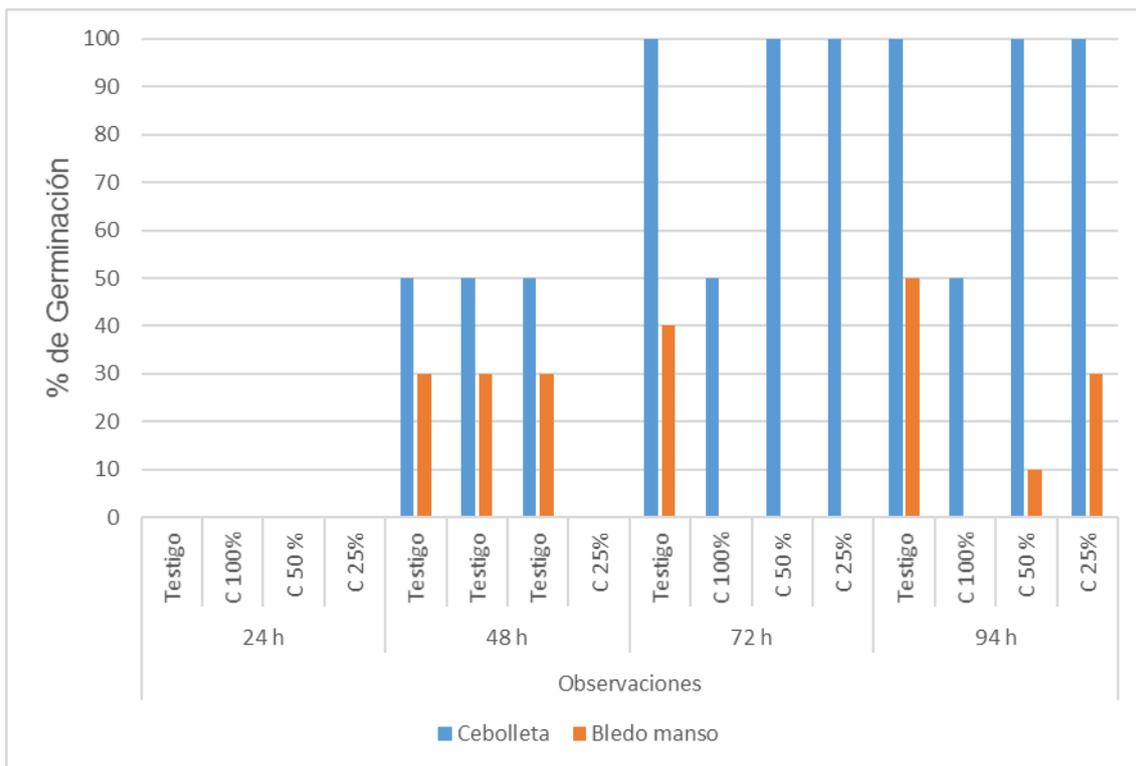


Figura 9. Tratamiento de *T. erecta* sobre la germinación de los órganos de propagación de plantas arvenses

En el ensayo donde se empleó extracto de *T. diversifolia* se pudo comprobar que para el tratamiento a las 96 horas se obtuvo como resultados que la cebolleta germinó el 100 % de sus propágulos en el testigo y en el tratamiento de 25% de concentración de extracto, siendo solo del 50 % en los tratamientos con extractos al 100 % y 50% de concentración respectivamente, todo parece indicar que estas concentraciones retardan la germinación de esta especie.

En el ensayo con bledo manso se pudo apreciar que a las 96 horas que solo había germinado el 50 % de las semillas en el tratamiento testigo y el 20 % en el tratamiento al 25 % de concentración de extracto, en el tratamiento de 100 % y 50 % de concentración de extracto no hubo germinación de semilla de esta especie, lo que nos indica que también el extracto de *T. diversifolia* retarda o no permite la germinación en esta planta arvense (Figura 10).

En virtud de su estructura, los metabolitos secundarios son químicamente reactivos, es decir, son aptos para ingresar en los sistemas vivos, interactuar y cambiar las estructuras de los receptores o blancos moleculares y penetrar en

la célula donde pueden afectar varios procesos fisiológicos, como la respiración, fotosíntesis, germinación y el nivel hormonal (Anaya y Espinosa, 2006).

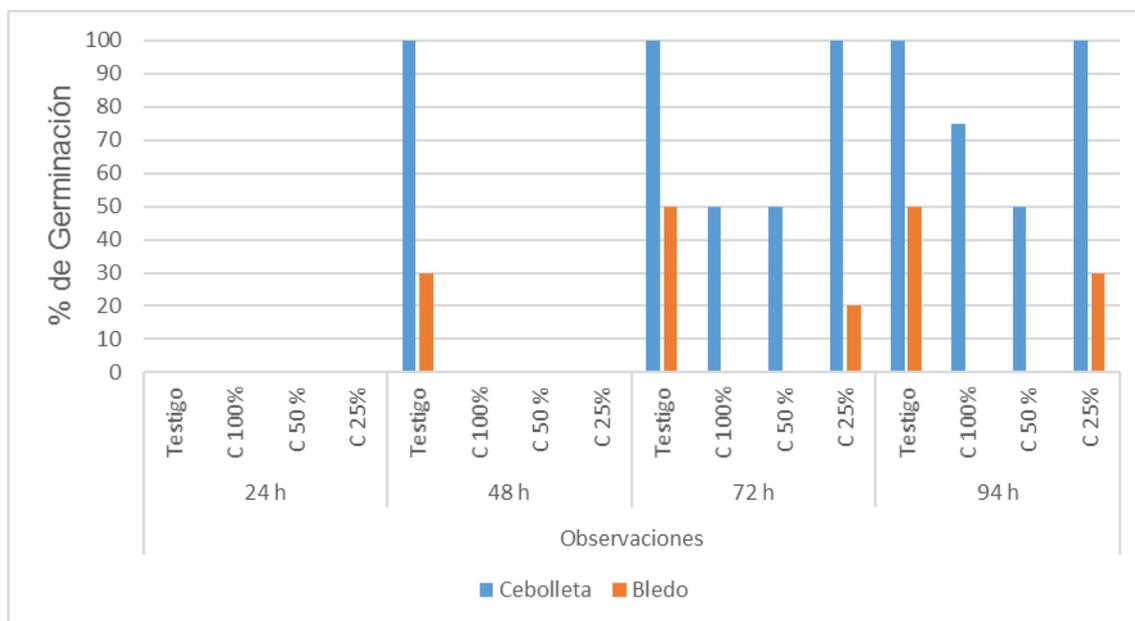


Figura 10. Tratamiento de *T. diversifolia* sobre la germinación de los órganos de propagación de plantas arvenses y frijol

Se encontró mayor actividad inhibitoria sobre la especie dicotiledónea, lo cual incluso puede variar entre especies dentro de un mismo grupo de plantas. Este resultado concuerda con los obtenidos por Blum *et al.* (2002), quienes demostraron un mayor efecto inhibitorio de residuos de *Triticum aestivum* L. (Trigo) sobre las especies de malezas dicotiledóneas. También Torres *et al.* (2003) encontraron que los residuos de *I. batatas* inhibían mayormente las especies de malezas dicotiledóneas (*P. oleracea*, *A. crassipes* y *Euphorbia heterophylla* L.), que la monocotiledónea *Echinochloa colona* (L.) Link.

La (Figura 11) muestra el estado de germinación de Bledo manso (Dicotiledónea) bajo tratamiento con extracto de *T. erecta* a 100 % de concentración donde la germinación de esta especie de arvense se inhibió completamente.

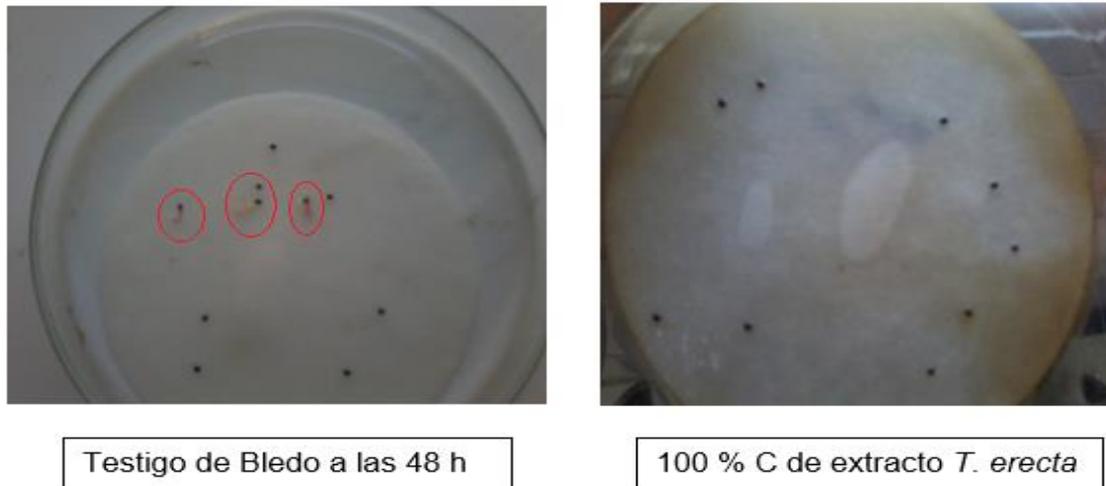


Figura 11. Estado de la germinación del Bledo manso a las 48 h y 96 h, un testigo junto a un tratamiento de 100 % de concentración de extracto *T. erecta*.

Con la realización de este ensayo se pudo comprobar que las altas dosis de extractos de *T. erecta* y *T. diversifolia* pueden influir o inhibir la germinación de propágulos y semillas arvenses en condiciones *in vitro* viéndose con mayor porcentaje de inhibición en plantas arvenses y menor afectación en la germinación del frijol el extracto de *T. diversifolia*. Esto coincide con lo estudiado por Calabrese y Baldwin (2003) quienes, al estudiar el efecto de la concentración en la manifestación de la actividad alelopática, destacaron que la inhibición a concentraciones altas es un fenómeno ampliamente observado en respuesta a las altas concentraciones de los aleloquímicos liberados por las plantas.

Los resultados confirman la capacidad alelopática de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre plantas arvenses, demostrando alta capacidad inhibitoria, la cual puede ser empleada en el control de estas malezas en escala semicontroladas y posteriormente de campo. Estos resultados confirman los obtenidos por Gnanavel (2015), el cual demostró la posibilidad de emplear las especies vegetales para controlar las malezas, como alternativa más amigable con el ambiente. Gnanavel encontró 18 especies, entre cultivos y arvenses, capaces de inhibir en la práctica, la germinación y crecimiento de 19 especies de malezas. El autor refiere que estas plantas pueden emplearse de diversas

maneras, pero en esencia, ejercen un control a través de los aleloquímicos liberados en el medio.

El rango de respuesta inhibitoria para la totalidad de las malezas no ha sido explicado suficientemente en trabajos científicos. No obstante, los estudios revelan una gran diversidad de respuestas, sobre todo en función de la sensibilidad entre especie receptora y especie donante de aleloquímicos. De esta manera, Imatomi *et al.* (2013) reportaron un índice de respuesta alelopática (IR) inhibitorio sobre la germinación de *Solanum lycopersicum* L. (-0,9 a -1,0) con iguales dosis de *Eugenia bimarginata* O. Berg, *E. puniceifolia* (Kunth) DC., *Myrcia multiflora* DC., *M. splendens* DC., comparado con una menor respuesta (-0,5 a -0,7) con *E. myrcianthes* Nied., *M. lengua* (O. Berg) Mattos y *P. cinereum* Mart., demostrando una alta sensibilidad en las especies donadoras de aleloquímicos.

4.5.3 Efecto alelopático del material vegetal de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación de semillas de plantas arvenses predominantes en el cultivo y en el propio frijol común en condiciones semicontroladas.

El efecto herbicida de otras especies ha sido observado con extractos acuosos de follajes de plátano y caña, los cuales al incorporarse al suelo afectaron considerablemente malezas económicamente importantes, como *Cyperus rotundus*, *Sorghum halepense*, *Rottboelia cochinchinensis*, entre otras (Rodríguez, 1990; Labrada y García, 1990).

Montado sobre un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA), se realizaron cuatro tratamientos con tres réplicas en cada caso a las diferentes dosis de aplicación de material vegetal de *T. erecta* y *T. diversifolia*.

La (Figura 12) se observa el efecto inhibitorio y persistente que resultó de la aplicación del material vegetal de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación del bleado, en comparación con el testigo se puede apreciar la desviación estándar en los diferentes tratamientos utilizados donde se aprecia el efecto nulo de inhibición al frijol común ya que todos los tratamientos a la tercera evolución se encontraban a un 100 % de germinación en comparación con los altos grados de inhibición a mayores dosis de aplicación en el bleado siendo superior para *T. diversifolia* datos que coincide con Hernández (2015)

donde el prueba que a mayor concentración de residuos de Orozuz fue más inhibitorio en el control de plantas arvenses.

También puede observarse que el factor dosis influye significativamente en la diferencia de inhibición de la germinación del bledo mientras que en el frijol común no sucede de esa forma datos que nos ayudan afirmar que estos materiales vegetales no nos afectan el cultivo de interés.

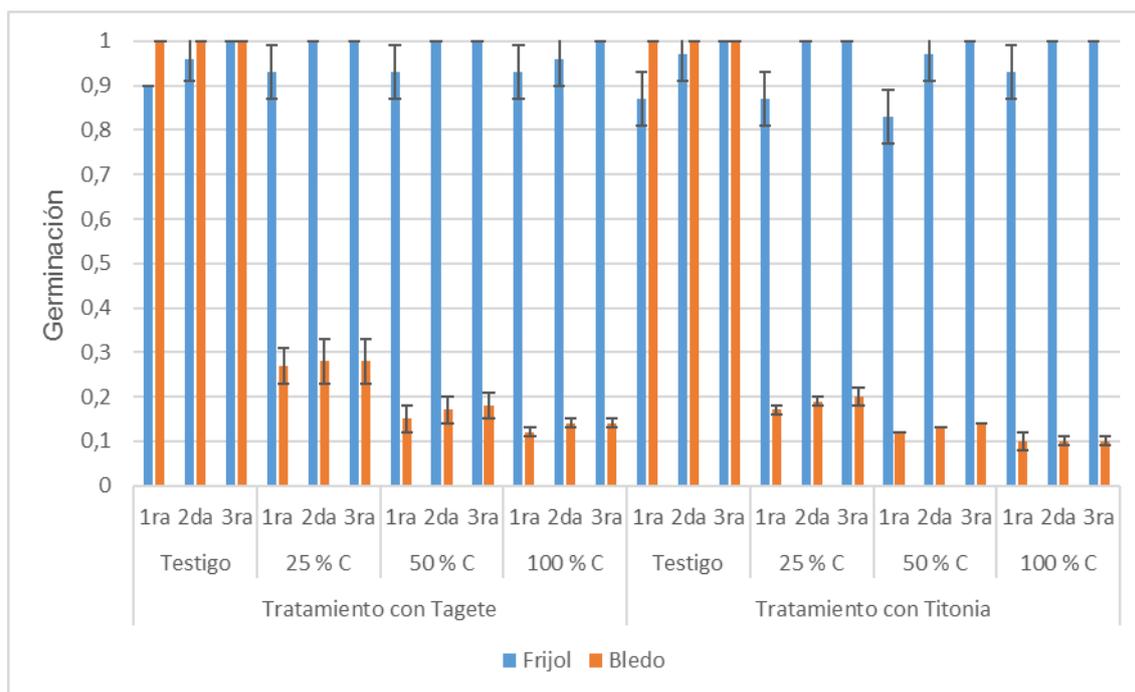


Figura 12. Efecto de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación del bledo y del frijol común en las diferentes concentraciones de material vegetal.

Algunos trabajos han explicado que el efecto de arvenses sobre otras arvenses ha sido poco estudiado. Estudios realizados en la India con extractos acuosos de tallos de *Echinops echinatus* y *Solanum surretense* mostraron una fuerte inhibición sobre la germinación de semillas de *Argemone mexicana*. Así como, *Crotun bonplandianum*, *Polygonum orientale* y *Chenopodium album* son reportadas por sus efectos inhibitorios de la germinación y crecimiento de otras malezas (Narwal y Tauro, 1994).

La *Lantana camara* L. infesta 14 cultivos en 47 países, invade especies forestales, rivera de ríos, posturas, tierras agrícolas y crea disturbios en los ecosistemas. Lantana ha causado la extinción de 58 especies nativas en el Reino Unido y ha contribuido a la degeneración de más de 3435 especies en el Sur de África. Su efecto alelopático sobre malezas fue estudiado y se plantea

que extractos acuosos a los 7 días reducen la germinación en un 10 – 20% (Ambika *et al.*, 2003).

Actualmente se estimula en gran parte del mundo el empleo de abonos verdes y cultivos de cobertura como componentes de un grupo de aspectos encaminados a alcanzar una agricultura sostenible, menos dependientes de productos químicos, para el control de plagas y malezas (Altieri, 1995), citado por García (1998).

Un aporte práctico informado al sur de China explica que los residuos de *Ageratum conyzoides* L. han sido empleados tradicionalmente como abono verde para incrementar los rendimientos de cultivos y controlar malezas con una residualidad hasta de 30 días después de incorporados en el suelo (Chen *et al.*, 2002).

De manera general no es posible definir aún en dicho trabajo el tipo de acción que tienen *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre otras plantas arvenses, dada la diversidad de naturaleza química de los diferentes agentes alelopáticos. Conociéndose, además, como se informa por Sampietro (2001), que esta acción muchas veces se debe a interacciones sinérgicas y aditivas, lo cual dificulta determinar la actuación de cada compuesto y por ende al estudiar un agente alelopático en particular, muchas veces es difícil diferenciar efectos secundarios de las causas primarias de acción, resaltándose 12 sitios moleculares de acción conocida de los herbicidas utilizados en la agricultura.

Con esta investigación, damos una preliminar de las potencialidades alelopáticas que presenta los extractos de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre la germinación de semillas y propágulos de plantas arvenses asociadas al cultivo del frijol *in vitro* y en condiciones semicontroladas, mostrando también el efecto de estos sobre el propio cultivo por lo que brindamos esta información para que en próximos trabajos investigativos se tomen más en cuenta estas especies y recomendar el estudio sobre otras de esta misma familia (*Asteraceae*) y con ello lograr una mayor utilidad de estos factores que nos brinda la naturaleza y que en estos momento utilizamos poco, ya sea por la falta de información o por la propia mentalidad del ser humano. Pero podemos decir que ayudar a una agricultura sostenible es posible y la reducción de productos químicos tan dañinos para la salud también es posible ya que autores como Dilday *et al.*,

(1997) plantean que el uso de restos de plantas como cobertores en cultivos tiene una amplia aceptación entre los agricultores del mundo, pues mejoran la fertilidad del suelo, minimizan la erosión de estos y a través de los aleloquímicos liberados pueden ofrecer un control sobre la germinación y crecimiento de malezas.

Conclusiones

1. La especie arvense Cebolleta (*C. rotundus*) resultó muy abundante según la escala de abundancia, mientras Don Carlos (*S. halepense*) y Bledo (*A. viridis*) fueron abundantes y según la escala de frecuencia relativa fueron todas muy frecuentes.
2. El método de extracción etanólica por maceración 48 h en reposo fue el que mostró la mejor forma de extracción de metabolitos en plantas de *T. erecta* y *T. diversifolia* en función del TSD y se determinó las concentraciones idóneas de fenoles y flavonoides.
3. Los extractos acuosos de *T. erecta* y *T. diversifolia* en altas concentraciones bajo condiciones *in vitro* inhibieron la germinación de semillas y la brotación de propágulos de especies de arvenses asociadas al cultivo, siendo mayor con *T. diversifolia*. Mientras la germinación del frijol común no se vio afectada.
4. La aplicación de altas dosis de material vegetal de *T. erecta* y *T. diversifolia* en condiciones semicontroladas inhibieron la germinación y crecimiento del Bledo (*A. viridis*) con efecto más pronunciado para *T. diversifolia*. Mientras la germinación del frijol común no fue afectada.

Recomendaciones

1. Continuar profundizando en el estudio de las potencialidades alelopáticas de *T. erecta* y *T. diversifolia* en el control de plantas arvenses en otras condiciones (épocas del año y en otros tipos de suelo) y en otras concentraciones.
2. El estudio del efecto alelopático de *T. erecta* y *T. diversifolia* sobre otros cultivos o en otras especies arvenses asociadas al cultivo del frijol común en iguales o diferentes condiciones a las que se realizó esta experiencia.

Bibliografía

- Aguilar, R. C. (2003). Evaluación del efecto alelopático de *Nicotiana tabacum* L. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias Agropecuarias. UCLV. Santa Clara. Cuba. 76 p.
- Ajila, C. M., Brar, S. K., Verma, M., Tyagi, R. D., Godbout, S. y Valéro, J. R. (2011). Extraction and analysis of polyphenols: Recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology*. 31: 227-249.
- Alan, E. y Barrante, U. (1988). Efecto alelopático del madero negro (*Gliricidia sepium*) en la germinación y crecimiento inicial de algunas malezas tropicales. *Turrialba* 4 (38): 271-278.
- Alemán Freddy. (2004). Manual de Investigación Agronómica. Primera Edición. Managua. 50-51 de 87 pág.
- Altieri, M. A. (1997). Agroecología. Bases científicas para una agricultura sustentable. ACAO, La Habana, Cuba. 249 p.
- Ambika, S. R., Poornima, S., Palaniraj, R., Sati, S. C., Narwal, S. S. (2003). Allelopathic plants. 10. *Lantana camara* L.. *Allelopathy Journal* 12 (2): 147 – 162.
- Amurrio, J.M. (1999). Estudio de la infectividad de la simbiosis *Rhizobium leguminosarum* - *Pisum*. Trabajo fin de carrera. Universidad de Santiago de Compostela. 78 p.
- An, M., Pratley, J., Haig, T. (2000). Allelopathy: from concept to reality. <http://me.csu.edu.au/agronomic/papers/314/Html>. (consultado:22/10/2015)
- Anaya, A.L. and Pelayo-Benavides, H.R. (1997). Allelopathy potencial of *Mirabilis jalapa* L. (Nyctaginaceae): Effects on germination, growth on cell division of some plants. *Allelopathy Journal* 4 (1): 57-68.
- Anaya A.L. y F.J. Espinosa (2006). La química que entreteje a los seres vivos. *Ciencias* 83: 4-13.
- Bliss, F. (1993). Breeding common bean for improved biological nitrogen fixation *Plant and Soil*. *Euphytica* 67:65-70.
- Blum, L. and Kogan, M. (1992). Allelopathy in plant. *Allelopathy Journal* 2 (2): 16 – 23.
- Blum, U. (1995). The value of model plant-microbe-soil systems for understanding processes associated with allelopathic interactions,

- allelopathy: Organisms, processes and applications, ACS Symposium Series No. 582, Washington DC: American Chemical Society: 127 – 131.
- Blum U., L.D. King, C. Brownie (2002). Effects of wheat residues on Dicotyledonous weed emergence in a simulated no-till system. *Allelopathy Journal* 9 (2): 159-176.
- Cairns, M.F. (1996). Study on farmer management of wild sunflowers (*Tithonia diversifolia*). Short communication. ICRAF S E. Asian Regional Research Programme.
- Calabrese E.J. and L.A. Baldwin (2003). Hormesis: the dose-response revolution. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 43(1): 175–197.
- Carravedo F.M. y Mallor G., Cristina. (2008). Variedades autóctonas de Legumbres españolas. Editorial: Centro de Investigación de Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), 525 p.
- CECMED. (2007). Regulación No. 41/2007. Validación de Métodos Analíticos. Órgano Oficial Regulatorio. La Habana, Cuba.
- Curtis, J. T. y McIntosh, R. P. (1951): An upland forest continuum in the prairie-forest border region of Wisconsin. p 476-496.
- Chen J.J., C.H. Kong, F. Hu, Z. W. Tan, J.N. Liang (2002). Allelopathy of *Ageratum conyzoides* VIII. Allelopathic effects of residues on peanut and related weeds in the field. *Acta Ecologica Sinica* 22(8):1196-1201.
- Danos, B. (1988). The secretory systems of the Asteraceae family their significance in cosmetics and aromatherapy. *Herba Hungarica*, 27, 127-136.
- Dayan, F. E., Hernández, A., Allen, S. N., et al. (1999). Comparative phytotoxicity of artemisinin and several sesquiterpene analogues. *Phytochemistry*. Vol. 50: 607-614.
- De la Cruz R., K. Ampong-Nyarko, R. Labrada y A. Merayo (2015). Capítulo 14. Manejo de malezas en leguminosas y hortalizas. Manejo de malezas en leguminosas: Frijol, soya y caupi.
- Delgado V., A.R. Jimenez y O. Paredes L. (2000). Natural Pigments: Carotenoids, Anthocyanins, and Betalains Characteristics, Biosynthesis, Processing, and Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 40(3): 173-289.

- Dilday, B.; J. King; T. Lavy; D. Oliver y R. Talbert. (1997). Weed Control with Allelopathy. Arkansas Agricultural Experiments Station. Universidad of Arkansas. 10 p.
- Dutta, P. *et al.* 1993. Insect feeding deterrents from *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray. *J. of Environmental Biology*. 14 (1):27.
- Espinosa, R. (2007). Efecto alelopático negativo de los metabolitos secundarios presentes en *Terminalia catappa* L., *Tagetes erecta* L. y *Tectona grandis* L. sobre los hongos *Rhizoctonia solani* Kühn y *Sclerotium rolfsii* Sacc. Tesis en opción al título de Máster en Agricultura Sostenible. Departamento de Agronomía. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Santa Clara. Villa Clara.
- Espinosa, R. (2012). *Efecto alelopático de Terminalia catappa L. sobre los hongos fitopatógenos del suelo Rhizoctonia solani Kühn. y Sclerotium rolfsii Sacc.* Tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Agrícolas, Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas.
- Finar, H.; Jergo, T. (2006). Constitución Química de Diferentes Plantas Perteneciente al Género Solanaceae en Zonas Características de Mexico. *Interciencia*. vol. 30(2).
- Freitas, R.; Sedyama, P.; Pereira, F.; Ferreira, P.; Sedyama T. (2004). Periodos de interferencia de plantas daninhas na cultura da mandiocinha salsa. *Rev. Planta Daninha* 22(4): 499-506.
- García, L. (1996). Elementos de Agroecología. EN: Agroecología y Agricultura Sostenible. I. Centro de estudios de agricultura sostenible del instituto superior de ciencias agropecuarias de La Habana: 525 pág.
- García, R. C. (1998). Efectos alelopáticos de algunos abonos verdes y cultivos de cobertura. *Fitosanidad*. INISAV. 2 (1 – 2): 57 – 60.
- Gnanavel I. (2015). Eco-friendly weed control options for sustainable agriculture. *Science International* 3(2): 37-47.
- Grolleaud, M. (1997). Pérdidas post cosecha: Un concepto mal definido o mal utilizado. Estudio sintético y didáctico sobre el fenómeno de las pérdidas que se producen a lo largo del sistema post – cosecha.
- Gutierrez D., C. Ortiz, A.Mendoza (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. EN: Rosas E. (Ed.) *Memorias del Simposio de Metrología*. Centro Nacional de

- Metrología/Querétaro: México, 1-5 p. Disponible [en línea]: http://www.cenam.mx/simposio2008/sm_2008/ (Consultado:15/3/2016).
- Gliessman, S. R. (1982). "Allelopathic interactions in crop/weed mixtures: applications for weed management". Paper presented: North American Symposium on Allelopathic. Nov. 14 – 17. University of Illinois, Champaign – Urbana.
- Harborne, J. B. (1999). Biochemistry of phenolic compounds. Biology & Biochemistry. http://www.rediris.com/allelopathy/chemistry/abstracts_34295.html (Consultado:22/10/2015).
- Hernández, M. (2015). *Potencial alelopático de Phyla strigulosa, Sphagneticola trilobata e Ipomoea batatas sobre malezas y cultivos*. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Universidad Central "Marta Agru" de Las Villas.
- Hohmann, C. L. y Martínez, S. S. (2000). Feijão, Tecnologia de Produção. En: Pragas e Seu Controle. IAPAR. Paraná. Brasil. 81p. http://sleekfreak.ath.cx:81/3wdev/VLIBRARY/NEW_FAO/X5414S/X5414S00.HTM#CONTENTS. (Consultado:22/10/2015).
- ICH (1996). Harmonized Tripartite Guideline International Conference on Harmonization; Guideline on Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology Availability. FDA. USA, Federal Register. Part VIII. 60: 11260.
- Imatomi M., Novaes P., S.C.J. Gualtieri (2013). Interspecific variation in the allelopathic potential of the family Myrtaceae. Acta Botánica Brasilica 27(1): 54-61.
- Labrada, R. y García, R. C. (1990). Utilización de cultivos alelopáticos en la lucha contra malezas. INISAV, Informe Técnico. Etapa.
- Labrada R. y C. Parker (1996). El control de Malezas en el contexto del Manejo Integrado de Plagas. EN: Labrada R., J.C. Caseley, C. Parker (Eds), Manejo de malezas para países en desarrollo. FAO/Roma:Italia, 3-9.
- Lehninger, A. (2005). Principios de Bioquímica. 6^{ta} Edición edición. 1013 p.
- Lovett, J.V. and Ryuntyu, M.Y.(1992). In "Allelopathy: Basic and Applied Aspects" Edit. By S.J.H. Rizvi and V. Rizvi. Chapman and Hall, London: 11-20.

- Macias, F. A.; Varela, R. M., Torres, A.; Molinillo, R. A. (1996). Field crops as source of natural herbicide models: sunflower. Departamento de química orgánica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, España.
- Magurran, A. E. (2004). Measuring Biological Diversity. Blackwell Science Ltd a Blackwell Publishing company. 261 pp.
- Martínez, E.; Barrios, G.; Rovesti, L.; Santos, L. (2007). Manejo Integrado de Plagas. Manual Práctico.CNSV. La Habana. Cuba. 526 p.
- Mora, O. (1997). Origen e importancia del cultivo de la caraota (*Phaseolus vulgaris* L). Revista de la Facultad de Agronomía UCV (2): 225 - 234.
- Morales, F. (2000). El mosaico dorado y otras enfermedades del frijol común causadas por geminivirus transmitidos por mosca blanca en América Latina. CIAT. Colombia. 70 p.
- Moreno, M. (1983). Las leguminosas de grano: una visión de conjunto. En: Cuber, J. I, M. T. Moreno (eds). Leguminosas de grano. Mundi Prensa Madrid. 15 – 34.
- Mujica, M., Granito, M. y Soto, N. (2009). Importance of the extraction method in the quantification of total phenolic compounds in *Phaseolus vulgaris* L. Interciencia. 34: 650-654.
- Mueller, D. y Ellenberg, H. (1974): Aims and Methods of Vegetation Ecology. Wiley, New York. 547 p.
- Mungarulire, J. et al. 1993. Some developments in the search for cytotoxic constituents from Rwandese medicinal plants. Acta Horticulturae. 333:211.
- Narwal, S. S. and P. Tauro. (1994). Allelopathy in agricultura and forestry. Cap. 4. Pandya, S. M. Role of allelopathy in crop-weed interactions: Priority and prospects. Scientific Publishers, Jodhpur, India: 59 – 74.
- Narwal, S. S. (1996). Suggested methodology for allelopathy laboratory bioassay. En Narwal, S.;Qasem, J., Allelopathy: Field Observation and Methology. Scientific Publisher. Joudpur. India, 255-265 p.
- Narwal S.S. (1999). Allelopathy in weed management. IN: Narwal S.S. (Ed), Allelopathy Update. (Vol. 2) Basic and Applied aspects. Science Publishers/Enfield, NH: USA, 203-254.
- Nash, D. (1976). Flora de Guatemala. En: Fieldiana: Field Museum of Natural History. Botany. Vol. 24, Part XII, 323 p.

- Nash, D.L. & Williams, L.O. (Eds.). (1976). Flora of Guatemala, Compositae. Part XII. Fieldiana Botany. 24:96
- Palma, M., Barbero, G. F., Piñeiro, Z., Liazid, A., Barroso, C. G., Rostagno, M. A., Prado, J. M. y Meireles, M. A. A. (2013). Extraction of Natural Products: Principles and fundamental aspects. En: Rostagno, M. A. y Prado, J. M. (eds.). Natural Product Extraction: Principles and Applications. pp. 58-86. Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry.
- Pineda, J. (2003). Alelopatía: Conceptos, características, metodologías de estudio. <http://www.biología.edu.ar/plantas/alelopatía.Html>. (Consultado:22/10/2015).
- Puente, Mayra. (1998). Efectos alelopáticos del cultivo del girasol (*Helianthus annuus* L.) sobre malezas asociadas y cultivos de importancia económica. Tesis de maestría. Facultad de Ciencias Agropecuarias. UCLV. Santa Clara. Cuba.
- Puerto, M. G. (2002). Efecto alelopático del Boniato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), sobre la germinación y crecimiento de cultivos y malezas. Trabajo de Diploma. Facultad de Ciencias Agropecuarias. UCLV. Santa Clara. Cuba. pp. 60.
- Putnam, A. R. and Duke, W. B. (1998). Allelopathy in agroecosystems. *Phytopathology* 16: 431 p.
- Quintero F.E., Caraza H.R., Abreu S.V.O. y Hernández L.A. (1985). Variedades y agrotecnia en el cultivo del frijol. Informe final de Investigaciones del quinquenio 1981-1985, UCLV, 25 p.
- Quintero F.E. (2000). Manejo agrotécnico del frijol en Cuba. Monografía. Facultad de Ciencias Agropecuarias, UCLV, Santa Clara, 28 p.
- Quintero, E.; Pérez, C.; Andreu, C.; Martín, D.; Saucedo, O.; Alvarez, U.; Martínez, Z.; Rivero, A.; Rojas, J.; Díaz, M.; Hernández, A. (2002). Manejo sostenible del cultivo del frijol. Resultado de investigaciones. *Centro Agrícola*. (4): 79-80.
- Quintero, E.; Gil, V.; Guzmán L.; Saucedo, O. (2004). Banco de germoplasma de frijol del CIAP: fuente de resistencia a la roya. Workshop Cuba-Bélgica, Santa Clara.
- Quintero F.E., Gil D.V., Ríos L.H., Martínez C.M. y Díaz C.M. (2007). Mecanismos participativos de investigación y extensión y su contribución a

- la biodiversidad agrícola. Caso Ferias de diversidad varietal de frijol en Villa Clara. Congreso Científico del INCA (15: 2006, Nov 7-10, La Habana).
- Raí, M.K. and D. Acharya. (1999). Screening of some Asteraceous plants for antimycotic activity. *Compositae Newsletter*, 34:37-43.
- Roig, J.T. (1974). Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. Ediciones de Ciencia y Técnica. Instituto del Libro. La Habana. 949 p.
- Rodríguez, Josefina. (1990). Efecto alelopático de diferentes extractos de hojas de plátano y caña de azúcar sobre el crecimiento de *Sorgum halepense* (L.) Pers. y *Cyperus rotundus* L. Resúmenes Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas. Cuba: 84 p.
- Rosales, M. (1992). Nutritional value of colombian fooder trees. Internal report. Fundación Centro para la Investigación en Sistemas Sostenibles de Producción Agropecuaria and Natural Resources Institute, United Kingdom. 50 p.
- Sampietro, D. A. (2001). Alelopatía: Conceptos, Características, Metodología de Estudio e Importancia. <http://www.faiunne.edu.ar/biología/alelopatía/alelopatía.html>
- Sampitero, D. A. (2003). Definición de alelopatía. http://www.pwp_007mundo.com/futuroverde/documento.html
- Santos R. Comunicación personal. Dirección Nacional de Sanidad Vegetal. Cuba. (2005).
- Serrato C., M.A. & S. Miranda C. (1998). Efectos de la domesticación en algunas características florales del cempoalxóchitl. *Horticultura* 4(1): 57-62.
- Silva, P. (2008). Efecto Alelopático de los Rastrojos. *Ciencias Agronómicas* [Online]. Available: <http://www.sap.uchile.cl/descargas/cero/Efecto%20alelopatico%20de%20los%20rastros.PDF> [Accessed 12 de mar. 2009].
- Singh H.P., Kaur S., Batish D.R., K.K. Ravinder (2014). Ferulic acid impairs rhizogenesis and root growth, and alters associated biochemical changes in mung bean (*Vigna radiata*) hypocotyls. *Journal of Plant Interactions* 9 (1): 267-274.
- Socorro, Q. y Martín, F. (1998). Granos. Dirección de publicaciones y materiales Educativos del Instituto Politécnico nacional Tres guerra, México. Segunda Edición. 84 p.

- Stryer, L. (2004). Biochemistry. Ed. W. H. Freeman and Company. Tercera Edición edición. New York. 1089 p.
- Turner, B. L. (1996). Thecomps of México. Tageteae and Anthemideae. Phytologia Memoirs 6(10): 51-69.
- Vargas, J.E. (1994). Caracterización de recursos forrajeros disponibles en tres agroecosistemas del Valle del Cauca. En: Memorias II Seminario Internacional Desarrollo sostenible de Sistemas Agrarios. Maestría en Sistemas Sostenibles de Producción Animal en los Trópicos. Cali, Colombia. 135 p.
- Villarreal, J.A. y J.L. Villaseñor. (2004). Flora de Veracruz: Compositae y tribu Tagetae. Instituto de Ecología y University of California 135: 1-67.
- Wen, J., Kyung-Ran Y., So-Youn L., et al. (2002). Oxidative Stress-mediated Apoptosis. The anticancer effect of the sesquiterpene lactone parthenolide. Biol. Chem, Vol. (27), Issue 41, 38954-38964.
- Xuan, T. D., Tsuzuki, E., Tawata, S., Khanh, T. D. (2004). Methods to determine allelopathic potencial of crop plants for leed control. Allelopathy Journal. 13 92): 149-164.