

UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOLOGIA

EFFECTO ALELOPATICO DEL MADERO NEGRO (Gliricidia sepium Jacq.) EN LA
GERMINACION Y CRECIMIENTO INICIAL DE MALEZAS TROPICALES

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADA EN BIOLOGIA

Elizabeth Alán Fonseca

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio

1 9 8 5

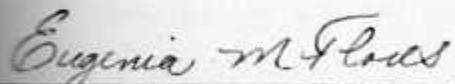
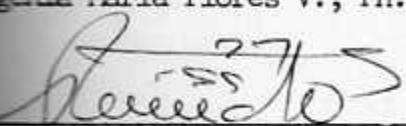
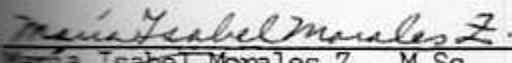
UNIVERSIDAD DE COSTA RICA
Escuela de Biología

Efecto alelopático del madero negro (*Gliricidia sepium* Jac) en la
germinación y crecimiento inicial de malezas tropicales

DEDICATORIA

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias
Escuela de Biología

APROBADA

 <u>Eugenia María Flores V., Ph.D.</u>	Directora de Tesis
 <u>Ricardo Soto Soto, M.Sc.</u>	Miembro del Tribunal
 <u>María Isabel Morales Z., M.Sc.</u>	Miembro del Tribunal
 <u>Ingrid Rivera L., M.Sc.</u>	Miembro del Tribunal
 <u>Carlos R. Villalobos S., M.Sc.</u>	Miembro del Tribunal Director de Escuela
 <u>Elizabeth Allan Fonseca</u>	Sustentante

AGRADECIMIENTOS

DEDICATORIA

Quiero expresar mi gratitud a la Sr. Lupatla Flores por su gentil y valiosa ayuda y a mi esposo Rafael Barrera por su apoyo y sacrificio, que hicieron posible la culminación de esta obra.

Me agradecimiento también a los señores M.Sc. Ricardo Ruiz y M.Sc. María Inés Morales y M.Sc. Dora Ingrid Rivera.

A mi padre con cariño.

AGRADECIMIENTO

LISTA DE FIGURAS

Deseo expresar mi gratitud a la Dra. Eugenia Flores por su guía y valiosa ayuda y a mi esposo Uriel Barrantes por su apoyo y estímulo, que hicieron posible la culminación de éste trabajo.

Mi agradecimiento también a los señores M.Sc. Ricardo Soto, M.Sc. María Isabel Morales y M.Sc. Dora Ingrid Rivera.

LISTA DE FIGURAS

Figura N°	Página
1. Germinación de semillas de <i>Hyptis capitata</i> tratadas con distintas concentraciones de extractos de hojas, tallo y raíz de madero negro.....	21
2. Alargamiento de radícula-hipocótilo de plántulas de <i>Hyptis capitata</i> tratadas con extractos de distintas concentraciones de hojas de madero negro.....	22
3. Alargamiento de radícula-hipocótilo de plántulas de <i>Hyptis capitata</i> tratadas con extractos de distintas concentraciones de tallos de madero negro.....	26
4. Alargamiento de radícula-hipocotilo de plántulas de <i>Hyptis capitata</i> tratadas con extractos de distintas concentraciones de raíces de madero negro.....	26
5. Germinación de semillas de <i>Asclepias curassavica</i> tratadas con distintas concentraciones de extractos de hojas, tallos y raíz de madero negro.....	29
6. Alargamiento de radícula hipocótilo de plántulas de <i>Asclepias curassavica</i> tratadas con extractos de distintas concentraciones de hojas de madero negro.....	30
7. Alargamiento de radícula-hipocótilo de plántulas de <i>Asclepias curassavica</i> tratadas con extractos de distintas concentraciones de tallos de madero negro.....	31
8. Alargamiento de radícula-hipocótilo de plántulas de <i>Asclepias curassavica</i> tratadas con extractos de distintas concentraciones de raíces de madero negro.....	32

LISTA DE CUADROS

Cuadro N°	Página
1- Porcentaje de germinación en semillas de dos especies de malezas tratadas con distintas concentraciones de extractos de hojas, tallo y raíz de madero negro.....	20
2- Análisis de varianza de porcentaje de germinación de dos especies de malezas con distintos tratamientos y regresión lineal del porcentaje de germinación vrs. concentración de extractos de hojas, tallo y raíz de madero negro (<u>Gliricidia sepium</u>).....	24
3- Longitud promedio del eje radículo hipocotilar (mm) de plántulas de dos especies de malezas tratadas con distintas concentraciones de extracto de hoja, tallo y raíz de madero negro (<u>Gliricidia sepium</u>).....	27
4- Análisis de varianza de la longitud promedio del eje radículo hipocotilar de dos especies de malezas con distintos tratamientos y regresión lineal de longitud de radícula-hipocótilo vrs. concentraciones de extractos de hoja, tallo y raíz de madero negro (<u>Gliricidia sepium</u>).....	28
5- Regresiones entre el promedio de las longitudes del eje radículo-hipocotilar de <u>Hyptis capitata</u> en cada tratamiento y los días transcurridos después de la siembra en cada lectura.....	33
6- Regresiones entre el promedio de las longitudes del eje radículo-hipocotilar de <u>Asclepias curassavica</u> en cada tratamiento y los días transcurridos después de la siembra en cada lectura.....	34

CONTENIDO

	<u>Página</u>
Miembros del Tribunal.....	i
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Lista de figuras.....	iv
Lista de cuadros.....	v
Contenido.....	vi
Resumen.....	vii
1. INTRODUCCION.....	1
2. REVISION DE LITERATURA.....	2
2.1 Definición de alelopatía.....	2
2.2 Naturaleza química de los agentes alelopáticos.....	2
2.3 Mecanismos de acción de las sustancias alelopáticas.....	3
2.4 La alelopatía en los ecosistemas naturales.....	6
2.5 La alelopatía en los agroecosistemas.....	9
2.6 La alelopatía en el control de malezas.....	13
2.7 Características y usos del madero negro.....	14
3. MATERIALES Y METODOS.....	17
4. RESULTADOS.....	19
5. DISCUSION.....	36
6. LITERATURA CITADA.....	39

RESUMEN

Se presenta un estudio sobre el efecto alelopático de partes vegetativas del madero negro sobre la germinación de semillas y el crecimiento del eje radículo-hipocotilar de dos especies de malezas comunes en la región de San Carlos (Región Huetar Norte, Costa Rica): Hyptis capitata y Asclepias curassavica L.

La magnitud del efecto varió según la parte vegetal de la que se obtuvo el extracto, las concentraciones de los extractos y la especie de la maleza estudiada. Los extractos más efectivos como inhibidores fueron los de hoja y raíz encontrándose una relación inversa entre la concentración de extractos y las variables de respuesta.

El efecto alelopático resultó más evidente en Hyptis capitata que en Asclepias curassavica y los extractos de tallo no produjeron ningún efecto significativo en la germinación ni en el crecimiento de ésta última especie.

1. INTRODUCCION

Ante la agricultura basada en subsidios energéticos ha surgido una corriente que visualiza la producción agrícola como una actividad en la que no se puede seguir ignorando o sustituyendo los principios biológicos elementales y que debe dirigir los esfuerzos hacia áreas importantes de la investigación agrícola, en busca de formas de producción menos dispensiosa (Rice, 1974).

La alelopatía es un proceso biológico, presente tanto en los ecosistemas naturales como en los agroecosistemas y ha sido propuesta como una alternativa potencial en el manejo de los componentes del agroecosistema, entre ellos las malezas (Rice, 1974; Altieri y Doll, 1979).

El alto costo del control de malezas y el deterioro ambiental que a veces se produce con los métodos aplicados, justifican plenamente los esfuerzos que se realizan para encontrar evidencias que sirvan de base para el desarrollo de técnicas más adecuadas, desde los puntos de vista ecológico y económico.

Este trabajo tiene como propósito cuantificar, en condiciones de invernadero, el efecto alelopático de Gliricidia sepium (madero negro) en la germinación y crecimiento de Asclepias curassavica (viborana) e Hyptis capitata (chan de cabeza).

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Definición de alelopatía

De acuerdo con Rice (1979), el término alelopatía fue propuesto por Molisch en 1937 para referirse a las interacciones bioquímicas, benéficas o perjudiciales, entre todos los tipos de plantas, incluyendo microorganismos.

Este concepto de alelopatía ha sufrido modificaciones. Rice (1974) se refiere al fenómeno como a cualquier efecto perjudicial directo o indirecto de una planta, incluyendo microorganismos, sobre otra, por medio de la producción de compuestos químicos que escapan al ambiente. Según este mismo autor, la eliminación de los efectos benéficos, dentro del concepto, es muy artificial. Putman y Duke (1978) propusieron la utilización de químicos alelopáticos en la defensa de los cultivos contra insectos, nemátodos y enfermedades y en éste caso, el concepto de alelopatía se amplía al incluir organismos que no son plantas.

Por otra parte, se ha originado una confusión en el uso del término, al incluir algunos biólogos, a la alelopatía como parte de la competencia (Rice, 1979). Una solución parcial a éste problema fue planteada por Muller (1969), al emplear el término "interferencia" para referirse a la alelopatía y a la competencia en conjunto.

2.2 Naturaleza química de los agentes alelopáticos

En general, sólo compuestos químicos orgánicos han sido considerados como agentes alelopáticos (Rice, 1979). Hasta el momento se ha podido

aislar e identificar diversos inhibidores químicos. En la mayoría de los casos, éstos inhibidores pertenecen al grupo de materiales conocidos como compuestos secundarios de las plantas (Putman y Duke, 1978). Según diversos autores (Harborne, 1972; Moreland et al., 1966; Swain, 1977; Whittaker 1970; Whittaker, 1971) dentro de los inhibidores considerados como agente alelopáticos efectivos se incluyen: ácidos fenólicos simples, cumarinas, terpenoides, flavonoides, alcaloides, glucósidos cianogénicos y glucosilatos.

2.3 Mecanismos de acción de las sustancias alelopáticas

Estas sustancias afectan la fisiología de las plantas en diversas formas. De acuerdo a los informes de Horsley (1977) y Jankay y Muller (1976), la umbeliferona disminuye la tasa de alargamiento celular en raíces de pepino pero incrementa la expansión radial de las células. Lorber y Muller (1976) observaron que la exposición de raíces de pepino a terpenos volátiles de Salvia leucophylla indujo la acumulación de glóbulos, aparentemente lípidos, en el citoplasma, una drástica reducción en el número de organelas incluyendo mitocondrias y una ruptura de las membranas celulares, mitocondriales y dictiosomales. Esta destrucción del meristemo radical da como resultado la muerte de las plántulas de pepino.

Por otra parte, existe evidencia de que varios compuestos alelopáticos afectan las hormonas inductoras del crecimiento (Rice, 1974; Hosley 1977). Stahl et al. (1973) encontraron que la toxina T-2 producida por Fusarium tricinctum inhibió la auxina promotora del alargamiento celular en Glycine max var. "Haykeye 63". La inhibición del alargamiento por

gibberelinas fue similar, pero el modo de acción parece diferente, porque los efectos inhibitorios fueron aditivos. Corcoran, Geissman y Phinney (1972) y Green y Corcoran (1975) demostraron que muchos taninos inhiben la giberelina inductora del crecimiento en plántulas de frijol enano. También encontraron que la cumarina, el ácido cinámico y varios compuestos fenólicos inhibía la giberelina inductora del crecimiento.

La permeabilidad de las membranas también puede ser afectada por sustancias alelopáticas. Owens (1969) estableció que una alteración en la permeabilidad de la membrana citoplasmática a los iones y al agua es un signo común de daño en las células causado por fitotoxinas producidas por patógenos. Keck y Hodges (1973) informaron que el victorín, una toxina producida por Helminthosporium victoriae incrementó fuertemente la permeabilidad de la membrana plasmática y del tonoplasto en las células de la raíz de un cultivar susceptible de Avena sativa pero no en un cultivar resistente. Scharff y Perry (1976) encontraron que bajo condiciones anaeróbicas, bajo pH y 30°C la levadura comercial de panadería perdió iones K^+ en presencia de ácido salicílico y la utilización de glucosa fue inhibida. Ambos efectos fueron revertidos mediante lavado de las células. Los autores concluyeron que la acción fundamental de éstos compuestos en muchos organismos podría ser su habilidad de reducir el contenido de K^+ en las células.

Ciertos efectos de los compuestos alelopáticos en la apertura de los estomas y en la fotosíntesis han sido descritas por varios autores (Rice, 1974; Horsley, 1977; Lodhi y Nickell, 1973; Arntzen, Falckenthal y Bobick, 1974). Arntzen, Haugh y Bobick (1974) encontraron que el kaempferol, un

compuesto flavonol alelopático, inhibió el transporte de electrones y las fosforilaciones cíclica y acíclica en los cloroplastos aislados de *Miscanthus sativum*. La fitotoxina producida por *Helminthosporium maydis* causó una rápida inhibición de la fotosíntesis en hojas enteras de *Zea mays* que tienen citoplasma Texas masculino estéril, pero no en hojas con citoplasma normal. El transporte de electrones, la fosforilación y la incorporación de protones en cloroplastos de lamelas aisladas no fueron afectadas por las toxinas en ningún tipo genético, pero tuvo un efecto directo en el funcionamiento de los estomas; la toxina inhibió la incorporación de K^+ inducida por la luz en las células guardas en la cepa Texas y los estomas no se abrieron.

Se ha observado también que la respiración celular puede ser afectada por compuestos alelopáticos. Lodhi y Nickell (1973) indicaron que la adición de extractos acuosos de *Celtis laevigata* a nutrientes en solución de tres especies de pasto, estimularon la producción de CO_2 en 6 días dependiendo de la concentración del extracto; después la tasa retornó al nivel del control. Mac Cahon et al. (1973) encontraron que macerado de hojas y lactonas sesquiterpénicas obtenidas de *Artemisia tridentata* spp. arizoniana y otras especies de *Artemisia* inhibieron el crecimiento y estimularon la respiración de *Cucumis sativa*. Weaver y Klarich (1977) informaron que los vapores de *A. tridentata* disminuyeron la tasa de respiración en hojas maduras de trigo y avena, dos especies de *Juniperus*, cuatro especies de *Pinus*, dos especies de *Picea* y dos especies de *Abies*.

Stenlid (1970), estudió un gran número de flavonoides con efectos en la producción de ATP en mitocondrias aisladas de varias especies de plantas. Encontró que cambios menores en el patrón hidroxil afectaron el grado

de inhibición de la formación de ATP. Demos et al. (1975) probaron 10 compuestos fenólicos en el crecimiento y metabolismo mitocondrial de Phaseolus aurus encontrando que algunos inhibieron el crecimiento del hipocotilo y la respiración o produjeron respuestas a nivel de mitocondria; otros no tuvieron efecto y un último grupo inhibió el crecimiento del hipocotilo pero no afectó el metabolismo de mitocondrias aisladas.

Otros efectos atribuidos a las sustancias alelopáticas son la inhibición de la síntesis de proteínas, los cambios en el metabolismo de lípidos y ácidos orgánicos (Danks, Fletcher y Rice, 1975), la inhibición o estimulación de enzimas específicas (Giovanelli, Owens y Mudd, 1972), la obstrucción y suberización de elementos del xilema y la conducción de agua en el tallo (Bodgan y Grozinshi citados por Rice, 1979; Van Alfen y Turner, 1975).

2.4 La alelopatía en los ecosistemas naturales

Existen informes sobre influencias alelopáticas en los procesos de sucesión ecológica, fijación de nitrógeno y nitrificación, patrones de distribución (Rice, 1979) y fenómenos de autotoxicidad (Fitter y Hay, 1981; Jackson y Willemsen, 1976; Kapustka y Koleski, 1976).

La prevención de la descomposición de las semillas antes de la germinación, es probablemente uno de los papeles más importantes y universales de la alelopatía en ecosistemas naturales. La mayoría de las semillas que no germinan rápidamente después de caer al suelo, podría ser descompuestas antes de su germinación si no produjeran inhibidores de microbios (Rice, 1974).

Webb, Tracey y Haydock (1967) encontraron que Grevillea robusta no regenera en plantaciones de la misma especie en Australia, aunque otras especies de bosque lluvioso lo hacen. Sin embargo, Grevillea regeneró libremente en plantaciones adyacentes de Araucaria cunninghamia y a lo largo del margen de bosques lluviosos. Síntomas de ennegrecimiento y muerte del ápice de Grevillea aparecieron como resultado del contacto de raíces de plántulas con raíces en crecimiento de plantas más viejas.

Los efectos de la alelopatía en la nitrificación han sido investigados por varios autores (Rice, 1974; Purchase, 1974; Todd et al., 1975; Vitousek y Reiners, 1975; Vitousek, 1977 y Lodhi, 1977, 1978). Rice (1974) discutió la importancia ecológica de la inhibición de la nitrificación en ecosistemas clímax e hipotetizó que la mayoría de los ecosistemas clímax inhiben la nitrificación dando como resultado la conservación de nitrógeno.

Numerosos investigadores han dicho que la nitrificación en varias especies de pastos en Africa es inhibida por fitotoxinas producidas por los pastos (Rice, 1974). Uno de los géneros involucrados fue Hyparrhenia y Purchase (1974) examinó la posible inhibición de la nitrificación por H. filipendula. Cuando las raíces fueron incubadas en suelo con $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ adicionado, causaron considerable inmovilización del nitrógeno mineral con la consiguiente disminución en la acumulación de nitrato, pero no impidieron la nitrificación del amonio sobrante. En los campos de Hyparrhenia se encontró un número muy bajo de bacterias nitrificantes.

Los efectos de sustancias alelopáticas en la fijación de nitrógeno y otros nutrientes se han investigado ampliamente. Frick et al. (1976, 1977) informaron que una toxina de Helminthosporium maydis raza T, inhibió

la incorporación de K^+ en raíces de maíz, observándose que algunas líneas eran más susceptibles. (Rice, 1974).

Chan et al. (1970) informaron que Azotobacter chroococcum (Cepa 536), una bacteria fijadora de nitrógeno común en el suelo, fue inhibida por Pseudomonas.

Ruo et al. (1973) utilizó extractos de leguminosas no noduladoras como Cassia fistula, C. occidentalis (Caesalpinoideae) y Leucaena leucocephala (Mimosoideae) encontraron que inhibían la fijación de nitrógeno de Rhizobium sp.

Murphy y Ravindra (1974) y Murphy y Nagodra (1977) encontraron que extractos de retoños, raíces y lixiviados de Aristida adscensionis inhibían al Rhizobium aislado de nódulos de Indigofera cordifolia Heyne ex. Roth y Azobacter, un fijador de nitrógeno de vida libre. Además determinaron que el número de nódulos en especímenes de I. cordifolia asociados con A. adscensionis fue significativamente más bajo. Ellos sugirieron que la inhibición de la fijación de nitrógeno podría evitar que especies con altos requerimientos de nitrógeno invadieran estos campos permitiendo a Aristidia permanecer dominando por períodos prolongados de tiempo.

Rice (1974) discute la importancia ecológica de la inhibición de la nitrificación en ecosistemas clímax e hipotetizó que la mayoría de los ecosistemas clímax inhiben la desnitrificación, dando como resultado la conservación del nitrógeno.

La mayoría de los ecólogos han intentado explicar el patrón de vegetación y la distribución general de las plantas con base en la competencia. Existe poca duda de que la competencia siempre juega un papel en la distribución espacial, pero hay creciente evidencia que la alelopatía

también juega un papel en la mayoría, sino en todas, las distribuciones espaciales de plantas (Rice, 1979).

Los efectos de la alelopatía en la diversidad de especies y en la estructura de la comunidad durante la sucesión, también han sido investigados. Las curvas de dominancia-diversidad de especies son de forma geométrica durante los primeros años de sucesión en áreas de bosque (Bazzaz, 1975) y áreas de pradera (Kapustka y Moleski, 1976) y gradualmente cambian a una curva logarítmica normal (log. normal) conforme más especies se adicionan a la comunidad. Estos autores puntualizaron que una distribución geométrica es indicativa de nichos vacíos, situación que existe cuando hay dominancia de unas pocas especies con compuestos alelopáticos y otros métodos efectivos de interferencia.

2.5 La alelopatía en los agroecosistemas

Varios autores han recopilado numerosos ejemplos de efectos alelopáticos de cultivos sobre cultivos, cultivos sobre malezas, malezas sobre cultivos (Altieri y Doll, 1979; Rice, 1974; Rice, 1979). Kimber (1973) determinó que la disminución subsecuente en cosechas de trigo se debe a la inmovilización del nitrógeno, presumiblemente debido a un incremento en la microflora del suelo y a las toxinas derivadas de la paja en descomposición. Tang y Waiss (1978) encontraron sales de ácido isobutírico, pentanoico e isopentanoico, entre los compuestos producidos en la degradación de la paja de trigo.

Guenzi y Mc Calla (1962) señalaron que los residuos de maíz eran capaces de inhibir la germinación y el crecimiento de plántulas de trigo y más tarde identificaron varios ácidos fenólicos en residuos de plantas

meduras de maíz que resultaron inhibidores de plántulas de trigo. Por otra parte, Chou y Patrick (1976) identificaron 18 compuestos en residuos de maíz en el suelo; muchos de éstos mostraron efectos fitotóxicos en bioensayos realizados con semillas de lechuga. Esos mismos autores identificaron nueve compuestos producidos en la degradación de residuos de centeno, la mayoría de los cuales fue fitotóxica en bioensayos con semillas de lechuga.

Durante la descomposición de residuos de arroz se producen compuestos que inhiben el crecimiento de plántulas de éste cultivo (Chandramohan, et al., 1973), Stevenson, 1967; Chou y Lin, 1976. Estos últimos investigadores concluyeron que la disminución en la productividad después de la primera cosecha se debe principalmente a los efectos alelopáticos de residuos de arroz en descomposición. No obstante, Sadhu y Das (1971) encontraron que exudados de raíz de variedades seleccionadas de arroz se afectaron entre sí, pero no fueron autotóxicas.

Según Overland (1966), se ha asumido que el centeno, la cebada, el sorgo, el trigo sarraceno, el trébol dulce y el girasol, entre otros inhiben el crecimiento de malezas por medio de la competencia. Con sus experimentos demostró que la cebada inhibe la germinación de semillas y el crecimiento de varias especies. Obtuvo una mayor inhibición en Stellaria media, menor en Capella bursa-pastoris y tabaco (Nicotiana tabacum) y un efecto no significativo en trigo (Triticum aestivum). Las plantas vivientes y los exudados de raíces vivas resultaron más inhibidores que los extractos de raíces muertas, lo que sugiere una activa secreción metabólica de las sustancias alelopáticas.

Relaciones alelopáticas entre gramíneas y leguminosas han sido investigadas por Rakhteenko, Kaurov y Minko (1973), citados por Rice (1979). Estos investigadores informaron que sustancias exudadas por raíces de guisante (Pisum arvense) y Vicia villosa estimularon la fotosíntesis y la absorción de P^{32} en plantas de cebada y avena. Los exudados también estimularon la absorción de nitrógeno, potasio y calcio de una solución de nutrientes por parte de éstos cereales. Por el contrario, las sustancias activas exudadas de las raíces de los cereales inhibieron el mismo proceso en las dos leguminosas.

Sajise y Lales (1975) estudiaron la interacción alelopática entre Imperata cylindrica y Stylosanthes guyanensis encontrando que Imperata causó una reducción del 38% en el crecimiento de Stylosanthes y éste inhibió el crecimiento de la gramínea durante los primeros ocho meses después de la siembra. Este es un buen ejemplo de alelopatía doble, la cual es probablemente común pero poco investigada.

Un caso interesante de alelopatía entre cultivos fue descrita por Eickav e Isti (1974) quienes trabajando con dos variedades de Spinacia oleracea encontraron que la variedad "Early Hibrid" fue suprimida por la "Selma" y éste no se alteró con aplicación de nutrientes a niveles de varias veces la dosis básica. Concluyeron que la variedad "F₁ Selma" probablemente tuvo efecto alelopático sobre la "Early Hibrid".

Por otra parte, a partir de 1970 ha aumentado la investigación del efecto alelopático de especies de malezas en cultivos (Rice, 1974). Coull y Hashimoto (1971) señalaron que la germinación de semillas de tomate (Lycopersicum esculentum) y zacate calingüero (Melinis minutiflora) fue altamente inhibida por extractos de hoja de Calea cuneifolia, encontrando que las hojas más viejas y más jóvenes eran las más tóxicas.

Einhling y Rasmussen (1973) obtuvieron inhibición de plántulas de maíz (Gurney's 107-A hybrid), *Amaranthus retroflexus* y sorgo de grano (Gurney's R 1010) utilizando extracto de hojas de *Rumex crispus*. De éstos extractos fueron aisladas tres toxinas no identificadas que inhibieron la germinación de semillas de sorgo y de rábano.

Otros casos de alelopatía de malezas sobre cultivos han sido observados: *Schinum molle* sobre plántulas de pepino y trigo (Anaya y Gómez-Pompa, 1971), *Cyperus esculentus* var. *aureus* sobre maíz, avena, remolacha, guisante (*Pisum sativum*), lechuga y tomate, entre otras (Tames et al., 1973); *Chenopodium album*, sobre maíz (Kossanel et al., 1977, citados por Rice, 1979); *Setaria faberii* sobre maíz (Schreiber y Williams, 1967); *Celosia argentes* sobre *Pennisetum tiphoides* (Pandya, 1975).

Un aspecto interesante de la alelopatía en los agroecosistemas es el efecto beneficioso de unas plantas sobre otras. Hay numerosos informes en la literatura que indican incremento en el crecimiento y la producción de ciertos cultivos cuando crecen con otras especies de plantas (Putman y Duke, 1978). Varias leguminosas, en particular variedades de maduración tardía, han sido seleccionadas para obtener altas producciones en cultivos con maíz (Putman y Duke, 1978).

En general, la alelopatía ha sido relacionada con problemas de producción de cultivos en ciertos tipos de suelo (Putman, 1978), con ciertos tipos de rotación de cultivos (Patrick, 1971; Patrick et al., 1963) con huertos replantados en campos viejos de huerta (Proebsting, 1950), con monocultivos (Kozel y Tukey, 1968; Patrick, 1971; Patrick et al. 1963) y sitios reforestados (Rice, 1974). En muchas de éstas interacciones

alelopáticas no ha sido demostrado si la reducción de producción es debida a efectos específicos directos de liberación de toxinas en los cultivos por plantas patógenas (Patrick et al, 1963; Rice, 1974). En otros casos, las influencias alelopáticas han contribuído a la necesidad de ciertos cambios en la rotación de cultivos, técnicas de siembra, cobertura y prácticas de fertilización (Rice, 1974; Tukey, 1969).

2.6 La alelopatía en el control de malezas

La utilización de la alelopatía en el control de malezas podría ser posible mediante compuestos que inhiban la germinación de semillas y el crecimiento de las plantas o que impidan la propagación de propágulos (Putman y Duke, 1978); no obstante, la investigación del potencial alelopático en germoplasma de cultivos ha sido bastante limitada. Otros autores han sugerido la utilización de compuestos fitotóxicos producidos por cultivos que podrían actuar como herbicidas naturales (Bell y Koeppel, 1972; Lines y Fournier, 1979; Rice, 1979). Fay y Duke (1977) probaron un gran número de genotipos de Avena sativa encontraron líneas excepcionales en la inhibición del crecimiento de malezas.

Funke (1941) informó que las semillas de Beta vulgaris liberan un inhibidor que afecta a Agrostemma. Este investigador propuso que la influencia química de los cultivos promueve la presencia exclusiva de ciertas especies de malezas en un ecosistema de cultivos. Putman y Duke (1978) también han observado la comunidad de especies de malezas en un ecosistema de cultivos en todo un amplio rango geográfico y proponen que los cultivos promueven bioquímicamente ciertas especies de malezas e inhiben otras.

En cultivos, el mecanismo alelopático podría ser seleccionado y tal vez incorporado en cultivares. Varios aspectos merecen mayores esfuerzos en investigación. Podrían ser desarrollados cultivares que liberen exudados que actúen como herbicidas naturales y proporcionen un control de malezas satisfactorio. Otro enfoque, es utilizar una planta acompañante selectivamente alelopática, pero que no interfiera apreciablemente en el crecimiento del cultivo (Garb, 1961). Un tercer aspecto, es utilizar la rotación de cultivos en una secuencia que proporcione toxicidad a las malezas por exudación o descomposición de sus residuos. Es sabido que los residuos que permanecen en el campo producen toxinas; esto es considerado como un problema. La contribución de éstas toxinas en el control de patógenos de plantas y malezas podría exceder en mucho los efectos perjudiciales.

En adición, otra área que merece inmediata atención es la utilización de coberturas vivas que supriman el crecimiento de malezas mediante alelopatía en ecosistemas de cultivos anuales y perennes (Putman y Duke, 1978).

2.7 Características y usos del madero negro (Gliricidia sepium)

Esta especie es una leguminosa de hábito arbóreo y se encuentra desde el nivel del mar hasta los 1.200 metros. Es nativa de la región comprendida entre México y Venezuela (Mora, 1983).

Presenta hojas imparipinnadas, alternas y deciduas con 7 a 17 folíolos de bordes enteros, ápice agudo y base redondeada, de aproximadamente 3 a 7 cm de largo y de 1,2 a 2,2 cm de ancho y opuestas en el raquis

(Mora, 1983; Holdridge y Poveda, 1975). Sus raíces son ramificadas y con nódulos. Las flores son zigomórficas, papilionadas de color blanco a rosadas y agrupadas en racimos axilares. El fruto es una vaina linear, aplanada, glabra y dehiscente, de color verde amarillento, de aproximadamente 10 a 15 cm de largo por 1,0 a 1,5 cm de ancho. Contiene de tres a ocho semillas de color pardo oscuro (Holdridge y Poveda, 1975).

El madero negro se propaga por semilla, acodos, esquejes y estacas, siendo éste último el método más utilizado (Mora, 1983).

Esta especie tiene diversos usos. Como forraje es muy recomendada por su palatabilidad (Mora, 1983; Standley y Steyermark, 1946; Skerman, 1977; White et al. 1953) y riqueza, tanto en contenido protéico como en nutrimentos para ganado bovino, caprino, porcino, ovejas y para aves (Baggio, 1982; Mora, 1983). Además se considera excelente para las abejas (Tropical Legumes, 1979). También se utiliza en cercas vivas (González, 1972; Baggio, 1982; Mora, 1983). En la Región Huetar Norte, particularmente en el cantón de San Carlos, ésta práctica, está tan extendida que se considera la región más importante del país en ese sentido. Se recomienda también la conservación y mejoramiento de suelos. Por su carácter decidido agrega materia orgánica al suelo, controla la erosión (Mora, 1983; González, 1972; Bond, 1983). Su sistema radicular posee módulos nitrificantes y ayuda a reciclar nutrientes poco profundos haciendo que la fertilidad sea tanto vertical como horizontal (González, 1972; Breuborker y Wei Hu, 1981).

Su alto contenido calórico (Falvey, 1982) lo convierte en una buena fuente de leña (Bauer, 1982; Budwiski, 1979); por su durabilidad y resistencia

la madera es utilizada de diversas maneras (Cálix, 1970; Guzmán, 1946 y Holdridge y Poveda, 1975).

Las flores de ésta leguminosa son comestibles (Martín y Ruberte, 1979) y sus hojas se aplican en cataplasmas para tratar enfermedades de la piel (Pittier, 1978). Las hojas también son usadas contra parásitos y en los nidos de las gallinas (Standley y Calderón, 1941) y contra pulgas y piojos en perros y ganado (Baggio, 1982). Por otra parte, Mora (1983) menciona que las hojas, corteza, raíces y frutos son venenosos para ratas y roedores, perros y caballos.

Las propiedades alelopáticas del madero negro no han sido determinadas y mucho menos explotadas, pero se ha sugerido su uso en el control de malezas en cultivos agrícolas. Inostroza (1981) realizó un bioensayo para demostrar su eficiencia en la inhibición de la germinación de semillas de *Bidense pilosa* (moriseco) y *Lycopersicon esculentum* (tomate) con resultados muy significativos.

3. MATERIALES Y METODOS

Esta investigación se realizó en condiciones de invernadero en el Instituto Tecnológico de Costa Rica, Sede Regional de San Carlos, Provincia de Alajuela, de marzo a octubre de 1985.

Las semillas de las malezas (Hyptis capitata, Asclepias curassavica) fueron recolectadas en Santa Clara, San Carlos, a 160 msnm en marzo y abril de 1985. Las muestras de madero negro fueron obtenidas en ésta misma localidad, en setiembre y octubre del mismo año.

El extracto acuoso de raíces, tallos y hojas se obtuvo macerando el material y manteniéndolo durante un período de 24 horas en agua destilada; posteriormente se decantó y filtró. Las concentraciones de extracto aplicadas fueron: 0 (control), 100, 200, 300, 400 y 500 gramos de peso fresco/litro de agua destilada.

Para cada maleza se hicieron 18 tratamientos (6 concentraciones de tres partes de madero negro: tallo, raíz y hoja) con tres repeticiones por tratamiento; el diseño experimental fue un irrestricto al azar.

En cada tratamiento se colocó 20 semillas por placa de petri en la que previamente se puso papel de filtro de 16 mm de diámetro y se aplicó 3 ml de extracto. A los 3 días de la siembra se adicionó 2 ml de Kasumín (fungicida a 2 cc/500 ml de agua. Una segunda aplicación de extracto se realizó cinco días después de la siembra.

Las variables dependientes a cuantificar fueron: germinación (5) y longitud del eje radículo-hipocotilar. La germinación se determinó anotando el número de individuos, del total por placa de petri, que mostraran su radícula. El desarrollo del eje radículo-hipocotilar se midió en mm con un calibrador. Las mediciones fueron hechas cada 48 horas a partir de la siembra y por un período de 13 días.

4. RESULTADOS

Durante la realización del presente trabajo se observó producción de flores y frutos de *Asclepias* en diferentes épocas del año y sus semillas germinaron después de cinco días en pruebas preliminares bajo condiciones de laboratorio.

Se pudo encontrar semillas de *Hyptis* sólo en la época seca y no se obtuvo germinación de las semillas colectadas en marzo y abril, puestas a germinar en esos mismos meses bajo condiciones normales de laboratorio y en germinador. El resto de las semillas de éste lote fue almacenado en una cámara con un extractor de humedad y se obtuvo germinación de las mismas después de aproximadamente cinco días de haberlas colocado en un medio húmedo bajo condiciones de invernadero en setiembre. Esto parece indicar que la reproducción de *Hyptis* es estacional, lo que concuerda con su ciclo anual y que sus semillas permanecen en estado de latencia.

En el cuadro 1 se presentan los porcentajes de germinación en los distintos tratamientos para las especies de malezas estudiadas y en las figuras 2 y 5 se muestran los resultados de ese cuadro en forma gráfica.

La figura 1 indica que hay un marcado efecto alelopático de los extractos de hoja y raíz de madero negro en concentraciones de 400 y 500 gr /lt sobre el porcentaje de germinación de semillas de *Hyptis capitata*. Las distintas concentraciones de extractos de hoja y raíz produjeron inhibición parcial o total de la germinación. Estos tratamientos resultaron significativamente diferentes al testigo al aplicar un análisis de varianza;

Cuadro 1. Porcentaje de germinación en semillas de dos especies de malezas tratadas con distintas concentraciones de extractos de hoja, tallo y raíz de madero negro (Gliricidia sepium).

		Concentraciones (gr/lt)					
		100	200	300	400	500	Control
<u>Hyptis capitata</u>	Hoja	38,33	13,33	16,66	0	1,66	46,6
	Tallo	46,66	18,33	35,00	41,65	30,00	35,00
	Raíz	43,33	30,00	30,00	3,33	8,33	36,66
<u>Asclepias curassavica</u>	Hoja	35,00	41,66	26,66	31,66	13,33	50,00
	Tallo	46,66	55,00	58,33	48,33	53,33	48,33
	Raíz	50,00	55,00	50,00	33,33	38,33	51,66

% DE GERMINACION

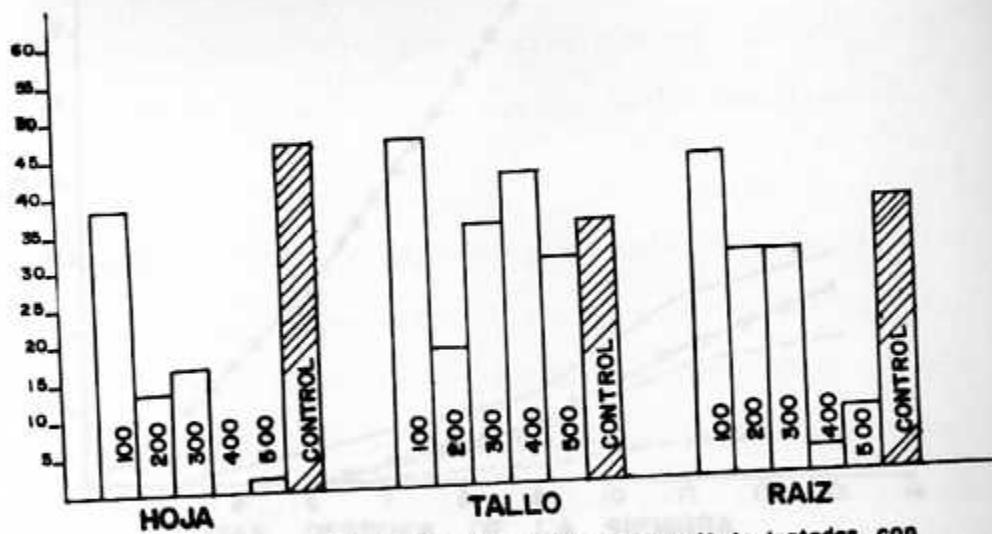


FIGURA 1. Germinación de semillas de *Hyptis capitata* tratadas con distintas concentraciones de extractos de hoja, tallo y raíz de madero negro.

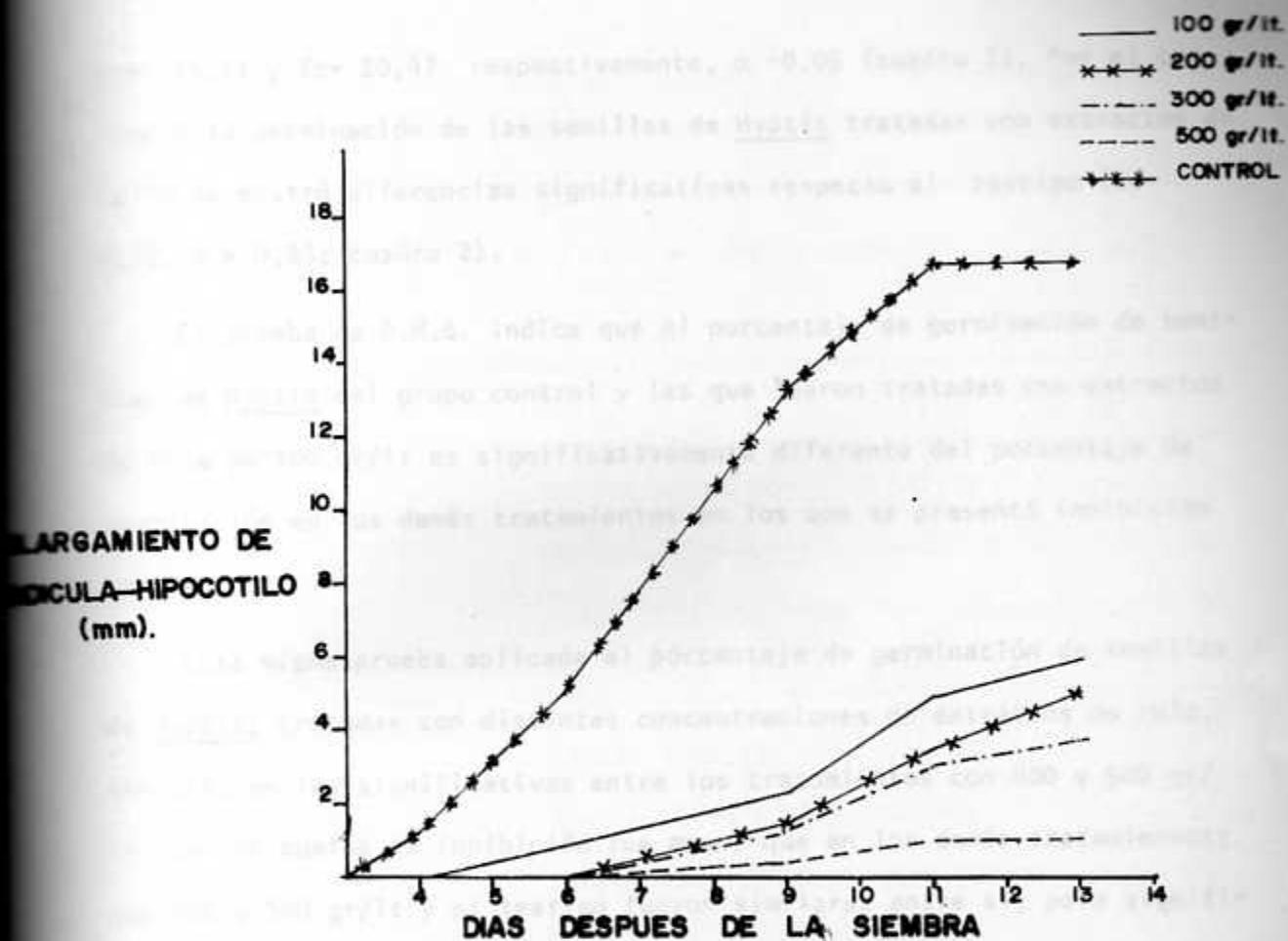


FIGURA 2. Alargamiento de la radícula—hipocotilo de plántulas de *Hyptis capitata* tratadas con extractos de distintas concentraciones de hojas de madero negro.

$F_c = 14,21$ y $F_c = 20,47$ respectivamente, $\alpha = 0,05$ (cuadro 2). Por el contrario la germinación de las semillas de Hyptis tratadas con extractos de tallo no mostró diferencias significativas respecto al testigo ($F_c = 2,77$, $\alpha = 0,05$; cuadro 2).

La prueba de D.M.S. indica que el porcentaje de germinación de semillas de Hyptis del grupo control y las que fueron tratadas con extractos de hoja de 100 gr/lt es significativamente diferente del porcentaje de germinación en los demás tratamientos en los que se presentó inhibición del proceso.

Esta misma prueba aplicada al porcentaje de germinación de semillas de Hyptis, tratadas con distintas concentraciones de extractos de raíz, dio diferencias significativas entre los tratamientos con 400 y 500 gr/lt, en los cuales la inhibición fue mayor que en los demás tratamientos; con 200 y 300 gr/lt y el testigo fueron similares entre sí, pero significativamente diferentes a los demás. El mayor porcentaje de germinación se obtuvo en las semillas del grupo control y en las que fueron tratadas con concentración de 100 gr/lt, no habiéndose encontrado diferencias significativas entre éstos pero sí respecto a los otros tratamientos.

Una prueba de regresión entre los porcentajes de germinación de semillas de Hyptis y las concentraciones de extractos aplicados, muestra una relación negativa significativa entre éstos parámetros en los tratamientos con extractos de hoja ($r = -0,93$, $F_c = 29,74$) y raíz ($r = -0,87$, $F_c = 13,44$), pero no con los del tallo ($r = -0,12$, $F_c = 0,0065$) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Análisis de varianza del porcentaje de germinación de dos especies de malezas con distintos tratamientos y regresión lineal del porcentaje de germinación vrs. concentraciones de extractos de hoja, tallo y raíz de madero negro (Gliricidia sepium).

Especies de malezas	Hoja	Tallo	Raíz
<u>Hyptis capitata</u>	ANDEVA Fc=14,21*	Fc=2,77 n.s.	Fc=20,47*
	Regresión r=-0,93	r=-0,127	r=-0,87
	Lineal Fc= 29,74*	Fc=0,065n.s	Fc=13,44**
<u>Asclepias curassavica</u>	ANDEVA Fc=2,28	Fc=0,23	Fc=0,98
	Regresión r=-0,88	r=0,42	r=-0,75
	Lineal Fc=14,04*	Fc=0,87n.s.	Fc=5,56*

* Significativo

n.s. No significativo.

Las figuras 2, 3 y 4 representan el alargamiento del eje radículo-hipocotilar de plántulas de Hyptis medido aproximadamente día por medio hasta el treceavo día después de la siembra en cada uno de los tratamientos. Se puede notar diferencias de longitud radículo-hipocotilar en los distintos tratamientos y entre éstos y el control. El análisis de varianza resultó significativo en todos los casos ($F_{c-34,59}$; 9,93 y 23,77; $\alpha=0,05$) (cuadro 4).

Se realizó una regresión entre la longitud promedio de radícula-hipocotilo obtenida el último día de lectura (cuadro 3) y la concentración de extracto de hoja, tallo y raíz aplicadas. Los resultados muestran relaciones negativas y significativas en todos los casos ($r=0,87$, $F_{c-13,26}$; $r=-0,74$; $F_{c-4,95}$; $r=-0,90$; $F_{c-17,34}$; Cuadro 4).

En la figura 5 se muestra el porcentaje de germinación de semillas de Asclepias curassavica tratadas con distintas concentraciones de extractos de hoja, tallo y raíz de madero negro. El análisis de varianza ($F_{c-2,28}$; 0,23 y 0,98 $\alpha=0,05$), indica que no hay diferencias significativas en la germinación entre los tratamientos con extractos y el testigo (cuadro 2). Al aplicar una prueba de regresión se determinó una relación negativa significativa entre el porcentaje de germinación y las concentraciones de extractos de hoja y raíz ($r=-0,88$; $F_{c-14,04}$; $r=-0,76$; $F_{c-5,56}$; cuadro 2).

En las figuras 6, 7 y 8 se observa el alargamiento del eje radículo hipocotilar de plántulas de Asclepias medido aproximadamente día por medio hasta el treceavo día después de la siembra en cada uno de los tratamientos (cuadro 3). El análisis de varianza muestra diferencias significativas entre las longitudes alcanzadas por las plántulas del grupo control y los

ALARGAMIENTO DE
RADÍCULA—HIPOCÓTILO
(mm).

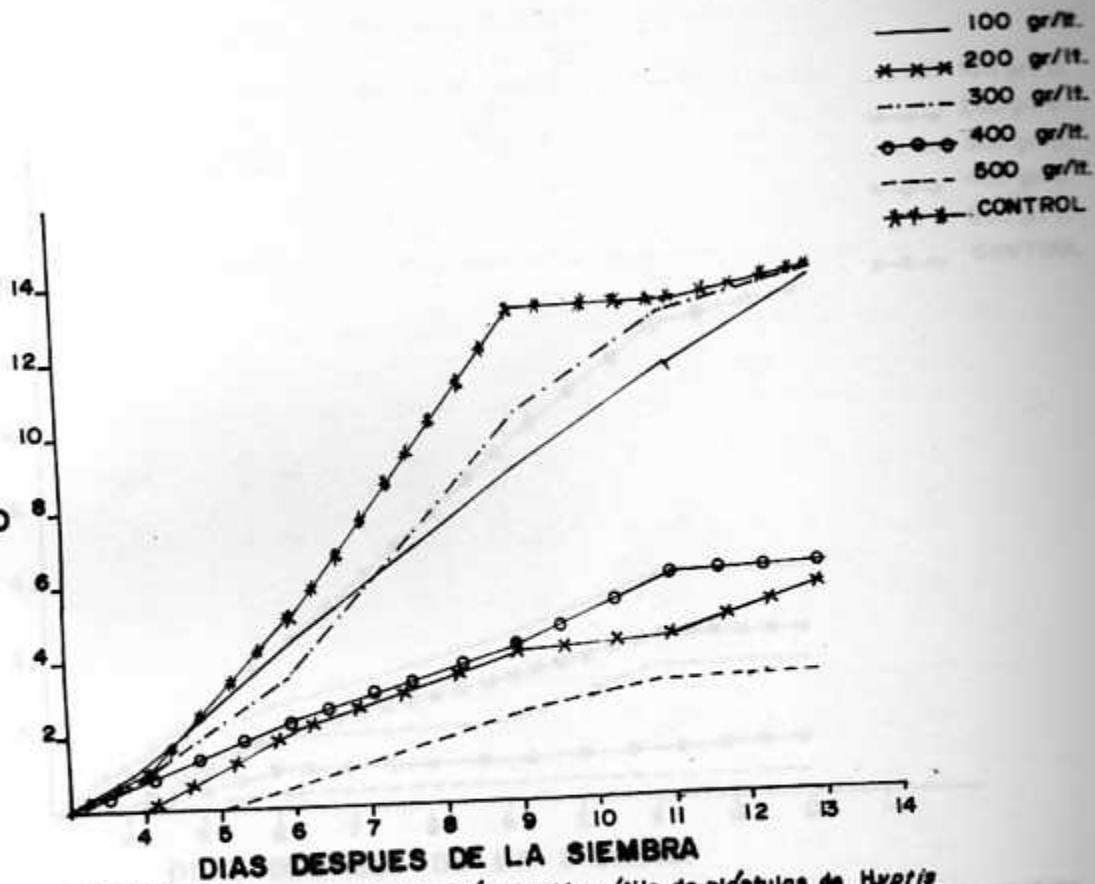


FIGURA 3. Alargamiento de radícula—hipocótilo de plántulas de *Hyptis* tratadas con extractos de distintas concentraciones de tallos de madero negro.

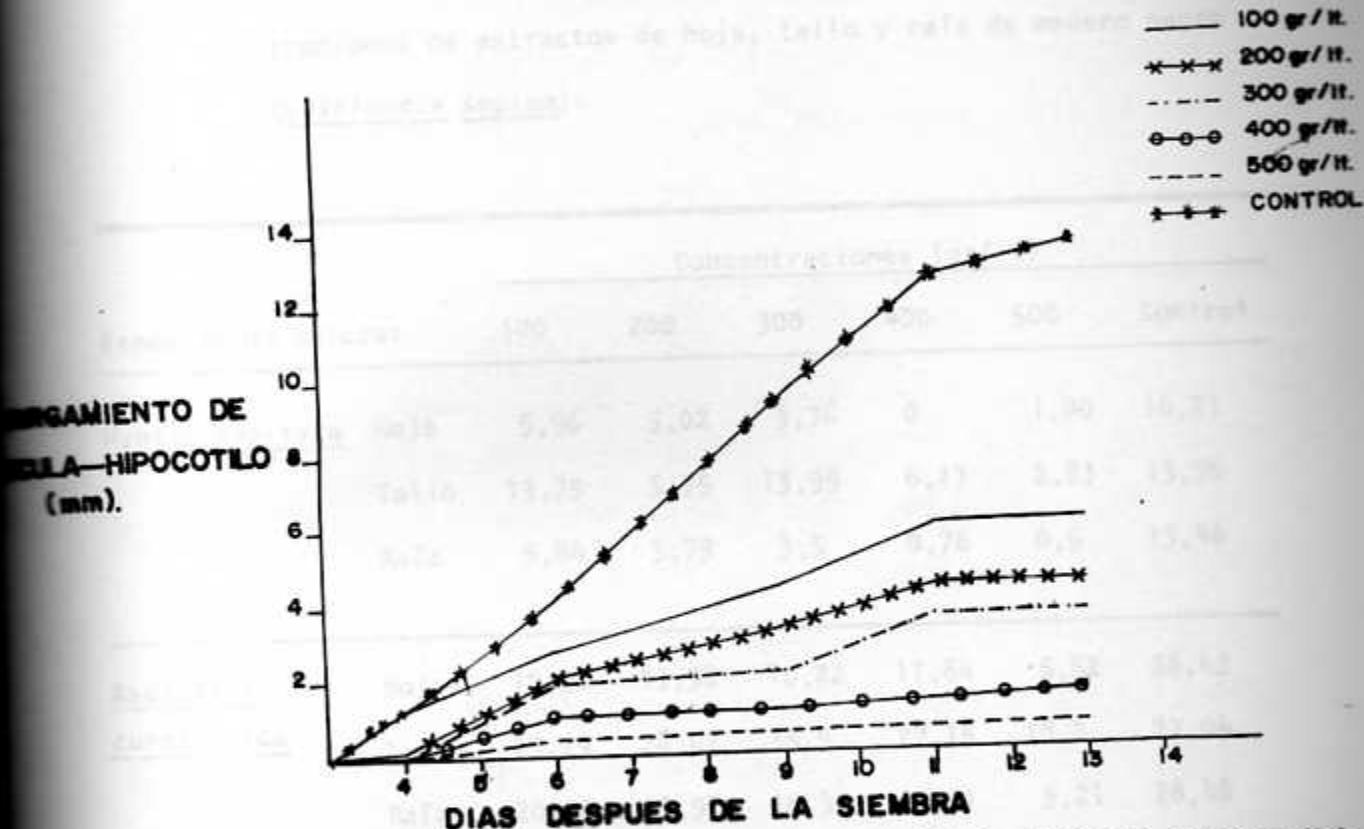


FIGURA 4. Alargamiento de la radícula—hipocótilo de plántulas de *Hyptis spicata* tratadas con extractos de distintas concentraciones de raíces de madero negro.

Cuadro 3. Longitud promedio del eje radículo-hipocotilar (mm) de plántulas de dos especies de malezas tratadas con distintas concentraciones de extractos de hoja, tallo y raíz de madero negro (Gliricidia sepium).

Especies de malezas		Concentraciones (gr/lt)					Control
		100	200	300	400	500	
<u>Hyptis capitata</u>	Hoja	5,96	5,02	3,76	0	1,00	16,21
	Tallo	13,79	5,75	13,95	6,17	2,83	13,96
	Raíz	5,84	3,79	3,5	0,76	0,5	13,46
<u>Asclepias curassavica</u>	Hoja	19,51	13,98	10,22	11,84	5,52	26,43
	Tallo	27,24	28,01	35,9	27,15	18,2	27,04
	Raíz	20,79	19,97	16,35	11,11	9,21	28,48

Cuadro 4. Análisis de varianza de la longitud promedio del eje radículo-hipocotilar de dos especies de malezas con distintos tratamientos y regresión lineal de la longitud de radícula-hipocotilo concentraciones de extractos de hoja, tallo y raíz de madero negro (Gliricidia sepium).

Especies de malezas	Hoja	Tallo	Raíz
<u>Hyptis capitata</u>	ANDEVA Fc= 34,50*	Fc= 9,93*	Fc= 23,77*
	Regresión r= -0,87	r= -0,74	r= -0,90
	Lineal Fc= 13,26*	Fc= 4,95*	Fc= 17,84*
<u>Asclepias curassavica</u>	ANDEVA Fc= 6,42*	Fc= 2,67 n.s	Fc= 7,51*
	Regresión r= -0,95	r= -0,34	r= -0,97
	Lineal Fc= 36,05*	Fc= 0,55 ns	Fc= 91,12*

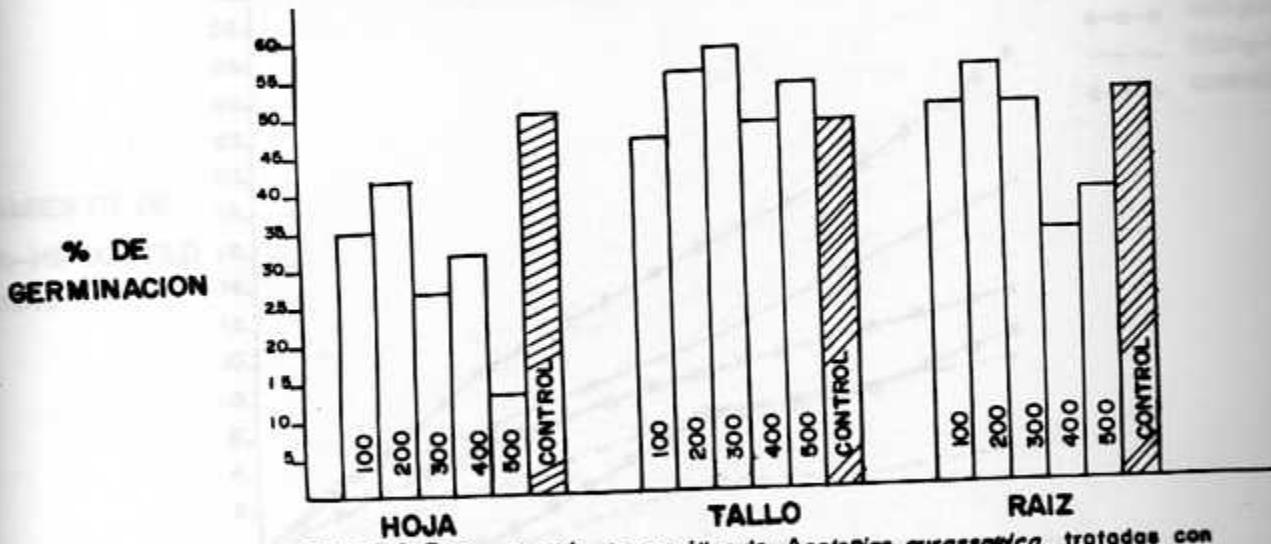


FIGURA 5. Germinación de semillas de *Asclepias curassavica*, tratadas con distintas concentraciones de extractos de hoja, tallo y raíz de madero negro.

ALARGAMIENTO DE
RÁDÍCULO-HIPOCÓTILO
(mm).

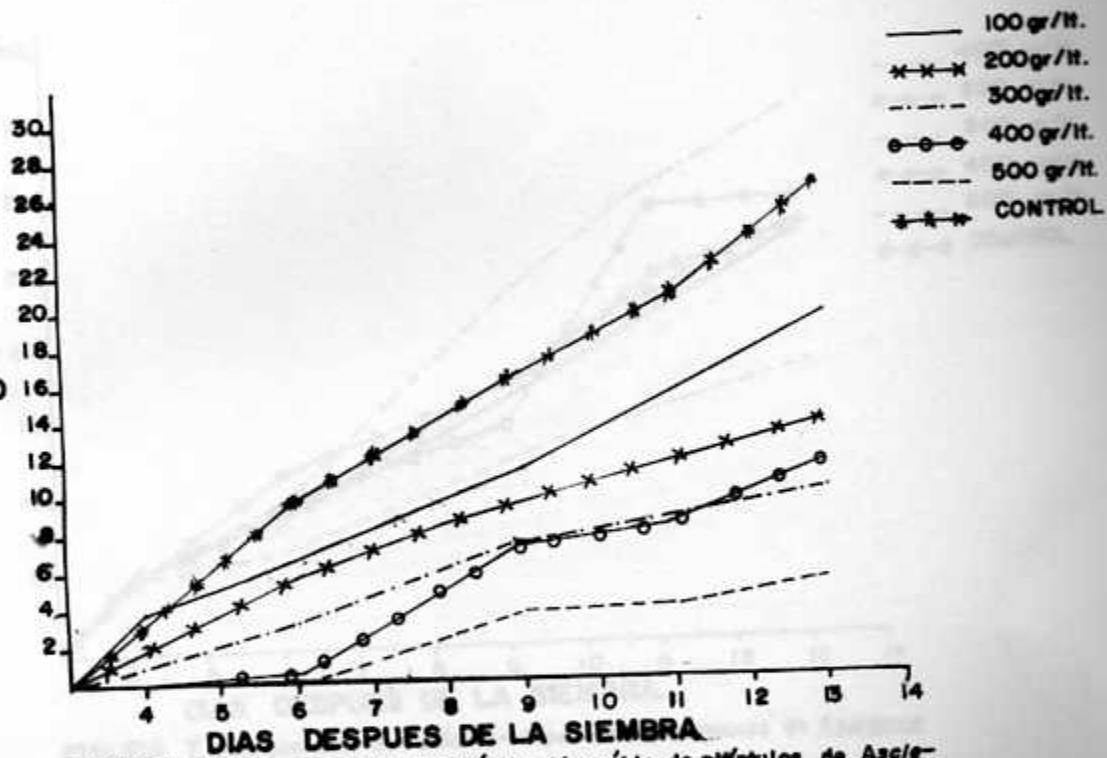


FIGURA 6. Alargamiento de radícula-hipocótilo de plántulas de *Azule* tratadas con extractos de distintas concentraciones de hojas de madero negro.

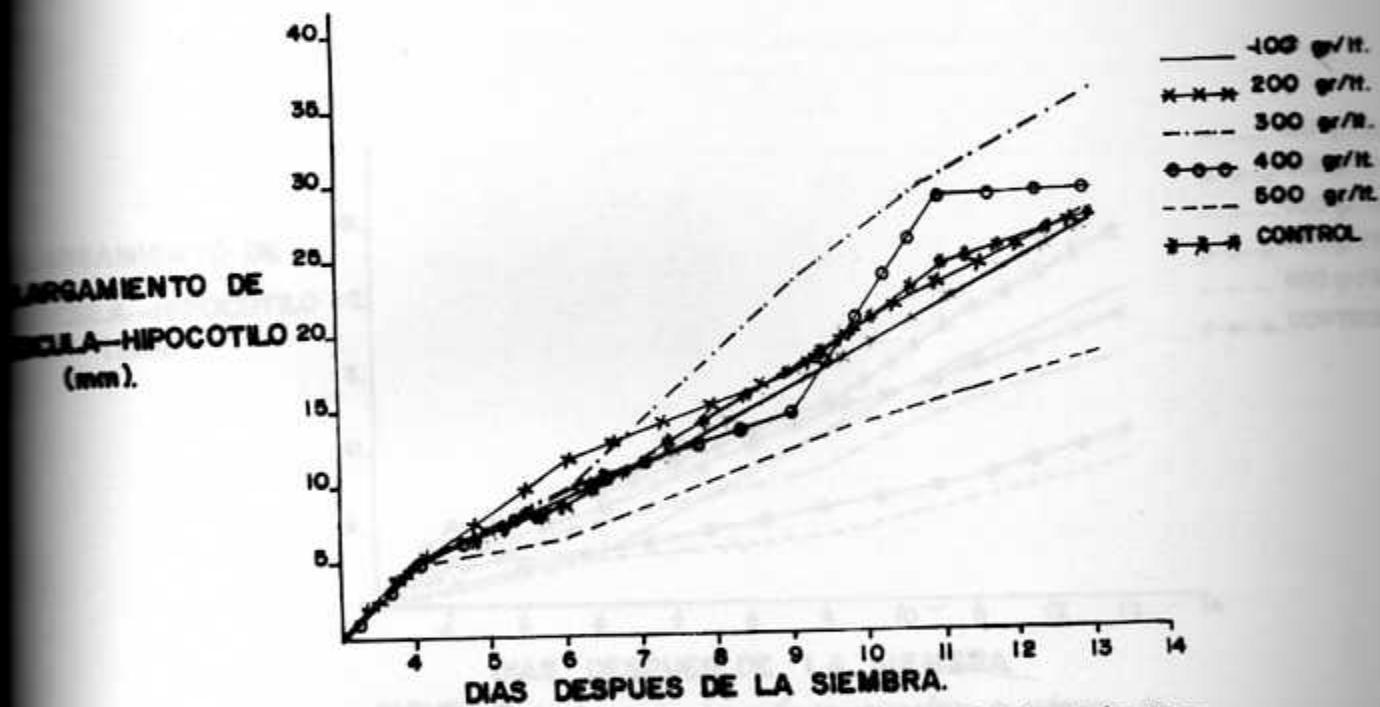


FIGURA 7. Alargamiento de radícula—hipocótilo de plántulas de *Aesculus hippocastanum* tratadas con extractos de distintas concentraciones de tallo de madero negro.

ALARGAMIENTO DE
RADÍCULA—HIPOCÓTILO
(mm).

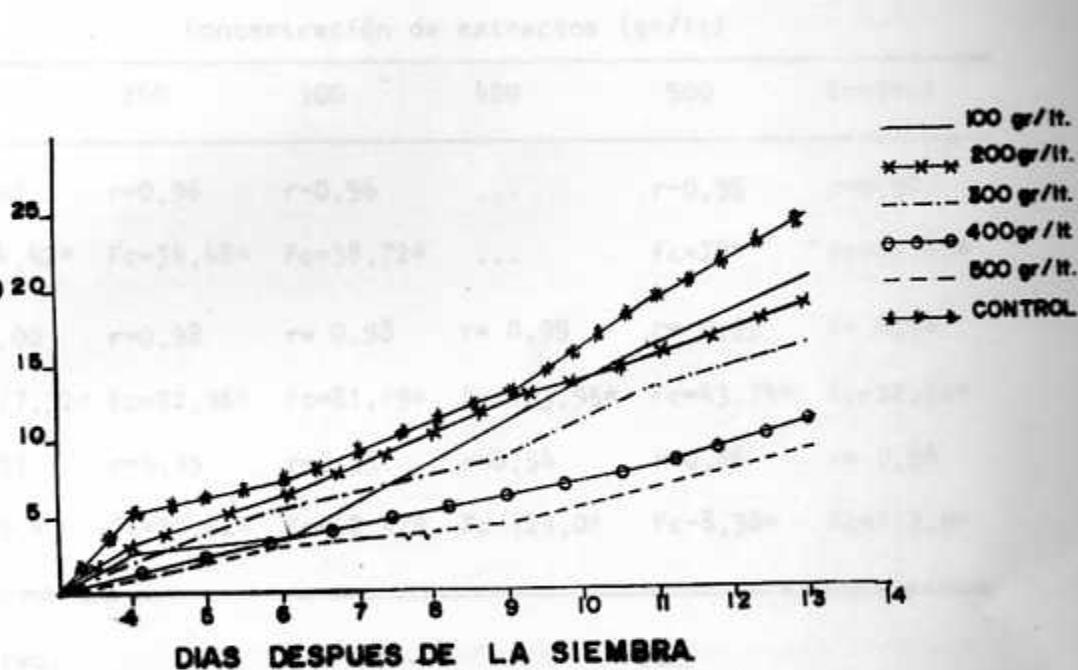


FIGURA 8. Alargamiento de radícula—hipocótilo de plántulas de *Aesculus curassavica* tratadas con extractos de distintas concentraciones de raíces de madera negra.

Cuadro 5. Regresiones entre el promedio de las longitudes del eje radí-
culo hipocotilar de Hyptis capitata en cada tratamiento y los
días transcurridos después de la siembra en cada lectura.

	Concentración de extractos (gr/lt)					
	100	200	300	400	500	Control
Hoja	r=0,98 Fc=84,42*	r=0,96 Fc=34,48*	r=0,96 Fc=38,72*	...	r=0,95 Fc=28*	r=0,97 Fc=47,45*
Tallo	r= 1,00 Fc= 77,32*	r=0,98 Fc=92,96*	r= 0,98 Fc=81,19*	r= 0,99 Fc=103,95*	r= 0,97 Fc=43,74*	r= 0,94 Fc=22,54*
Raíz	r=0,97 Fc=59,40*	r=0,95 Fc=30,62*	r=0,93 Fc=22,42*	r=0,54 Fc=124,0*	r=0,86 Fc=8,96*	r= 0,98 Fc=112,9*

*Significativo.

Cuadro 6. Regresiones entre el promedio de las longitudes del eje radículo-hipocotilar de Asclepias curassavica en cada tratamiento y los días transcurridos después de la siembra en cada lectura.

	Concentración de extractos (g/l)					
	100	200	300	400	500	Control
Hojas	R=0,99 Fc=664,95*	r=0,99 Fc=154,4*	r=0,99 Fc=142,1*	r=0,98 Fc=63,72*	r=0,96 Fc=32,33*	r=0,99 Fc=651*
Tallo	r=0,99 Fc=771,0*	r=0,99 Fc=256,7*	r=0,99 Fc=327,4*	r=0,95 Fc=35,03*	r=0,99 Fc=654,4*	r=0,98 Fc=208,7*
Raíz	r=0,98 Fc=107,4*	r=0,99 Fc=668,5*	r=0,99 Fc=296,0*	r=0,99 Fc=1032,8*	r=0,99 Fc=178,5*	r=0,98 Fc=102,1*

*Significativo.

tratamientos con extractos de hoja y raíz, pero no con los del tallo (cuadro 4). En las figuras 4 y 8 que corresponden a los tratamientos con extractos de hoja y raíz se puede notar una tendencia a la disminución del alargamiento con las aplicaciones de extractos de mayor concentración y viceversa. Esto fue comprobado con una prueba de regresión que indica una relación negativa significativa entre el alargamiento de la radícula-hipocotilo y la concentración de los extractos de hoja y raíz aplicados ($r = -0,95$, $F_c = 36,05$; $r = -0,97$, $F_c = 91,12$; Cuadro 4).

Por último se aplicó regresiones entre el promedio de las longitudes de la radícula-hipocotilo en cada tratamiento y los días transcurridos después de la siembra en cada lectura. Los resultados señalan una gran similitud entre lo observado y lo esperado, interpretándose ésto como una prueba de que los errores a la hora de aplicar los tratamientos fueron mínimos (cuadros 5 y 6).

Para todos los análisis estadísticos efectuados el nivel de significación es de $\alpha = 0,05$ y la F tabular = 3,11.

5. DISCUSION

Cinco factores ambientales afectan la latencia de las semillas: temperatura, humedad, oxígeno, iluminación y la presencia de inhibidores; otros factores son las características de la cubierta de la semilla, los embriones inmaduros y el período de postmaduración (Klingman y Ashton, 1980). La latencia de las semillas de Hyptis y sus causas, constituye un posible campo en investigaciones futuras.

En ésta investigación se logró determinar la existencia de efecto inhibidor en extractos de partes vegetativas de madero negro sobre la germinación y crecimiento inicial de Hyptis capitata y Asclepias curassavica.

La magnitud del efecto varió según la parte vegetal de la que se obtuvo el extracto, las concentraciones de los extractos y la especie de maleza.

Tanto en la germinación de las semillas como en el alargamiento de la radícula-hipocotilo, a mayor concentración del extracto se presentó una mayor inhibición. Esto coincide con observaciones realizadas por Lines y Fournier (1979) quienes trabajando con extractos de ciprés (Cupressus lusitanica Mill) encontraron que el efecto inhibitorio en la germinación de tres especies de hierbas fue mayor conforme aumentó la concentración de los extractos aplicados. Resultados similares fueron obtenidos por Iostroza (1981) en la germinación de semillas de Bidens pilosa y Lycopersicum esculentum tratadas con extractos de madero negro.

A pesar de que la relación entre concentración de extracto y porcentaje de germinación de las semillas de Asclepias tratadas con extractos

y porcentaje de germinación de las semillas de Asclepias tratadas con extractos de hoja y raíz es significativa según la prueba de regresión, el análisis de varianza indica que no hay diferencias significativas entre tratamientos (cuadro 2). Esta aparente contradicción podría deberse a que para el ANDEVA se consideran los datos de las tres repeticiones, que resultaron bastante disímiles, lo cual aumenta el error experimental, en tanto que para la regresión se utilizó promedios de las tres repeticiones.

Los extractos más efectivos respecto a su capacidad inhibitoria sobre la germinación y el alargamiento de las plántulas fueron los de hoja y raíz. La germinación de las semillas de ambas especies de malezas no sufrió efecto significativo con los extractos de tallo y el alargamiento de la radícula-hipocotilo de Asclepias tampoco fue afectado.

Inostroza (1981) sugiere que las sustancias alelopáticas son sintetizadas en las raíces y que de aquí pueden movilizarse al resto de la planta o que éstas sustancias son producidas en los brotes de las hojas y se trasladan a la raíz para acumularse en la corteza.

Aparentemente, los extractos de hoja fueron más eficaces como inhibidores, lo cual puede deberse a que en ésta experiencia las hojas fueron sometidas a una fuerte maceración, facilitando un mayor contacto de los tejidos con el agua y aumentando la solubilidad de las sustancias, mientras que las raíces sólo fueron partidas en trozos finos. Otras explicaciones (Tuckey, 1969; Inostroza, 1981) atribuyen el mejor efecto alelopático de los extractos de hojas a la composición química y grosor de la cutícula, falta de pubescencia y orientación de las hojas.

A pesar de que se ha comprobado que los extractos de hojas muy jóvenes o muy viejas son los que presentan mayor efecto alelopático (Coutinho

y Hashimoti, 1971; Inostroza, 1981) en el presente trabajo se utilizó hojas maduras pero no muy viejas y aún así se obtuvo mayor inhibición que con extractos de otras partes de la planta.

La diferencia del alargamiento de las plántulas de Hyptis entre el grupo control y los tratamientos con extractos de hoja (figura 2) es evidentemente mayor que la diferencia entre el grupo control y los tratamientos con extractos de hoja en plántulas de Asclepias (figura 6). Estas consideraciones también son válidas para los tratamientos con extractos de raíz (figuras 4 y 8). Asimismo, las respuestas al efecto inhibitorio de extractos de hoja y raíz de madero negro sobre la germinación de semillas de Hyptis comparadas con el grupo testigo (figura 1) son más evidentes que en Asclepias (figura 5).

Las anteriores observaciones indican una mayor susceptibilidad de Hyptis a la aplicación de los extractos. Putman y Duke (1978) y Lines y Fournier (1979) atribuyen la magnitud de la respuesta ante un inhibidor a la receptibilidad de la planta afectada.

Inostroza (1981) considera que la acción de las sustancias alelopáticas en la germinación de semillas no es uniforme sino que depende de la especie sobre la que actúen y citando a Lines (1977) señala como algunas posibles causas de éstas diferencias la constitución química de la sustancia inhibidora y la estructura anatómica de las semillas.

6. LITERATURA CITADA

1. ALTIERI, M.A. y J. D. DOLL. 1979. The potential of allelopath as a tool for weed management in crops fields. PANS, 24 (4):495-502.
2. ANAYA, A.L. y A. GOMEZ-POMPA. 1971. Inhibición del crecimiento producida por el "piru" (*Schinus molle* L.). Revista Soc. Mex. Hist. Nat., 32:99-109.
3. ARNTZEN, C. J.; M.F. HAUGH Y S. BOBICK. 1973. Induction of stomatal closure by *Helminthosporium maydis* pathotoxin. Pl. Physiol. (Lancaster), 52:569-574.
4. BAGGIO, A. 1982. Establecimiento, manejo y utilización del sistema agroforestal cercos vivos de *Gliricidia sepium* (Jack). Steud. en Costa Rica. Tesis M.Sc. CATIE-UCR. Turrialba, Costa Rica. 91 p.
5. BALKE, N. E. 1977. Inhibition of ion absorption in *Avena sativa* L. roots by diethylsbestrol and other phenolic compounds. Ph. D. Thesis. Purdue University W Lafayette. IN. Diss, Abstr. # 7813025.
6. _____ . 1977. Inhibition of ion absorption in oat roots: Comparison of diethylstilbestrol and oligomycin. Pl. Sc. Letters, 10:319-325.
7. BAUER, J. 1982. Especies con potencial de reforestación en Honduras; resúmenes (OHDEFOR) Tegucigalpa, Honduras. 42 p.
8. BAZZAZ, F. A. 1975. Plant species diversity in old-field successional ecosystems in souther Illinois. Ecology. 56:485-488.
9. BELL, D. T. y D. E. KOEPPE. 1982. Non competitive effects of giant foxtail on the growth of corn. Agron. J., 64:321-325.
10. BOND, W. 1944. Hedge plantas in northern Nigeria. Tropical Agriculture (Trinidad), 21(12):228-230.
11. BREUBORKER, J. y T. WEI HU. Nitrogen fixing trees of importance in the tropics; paper presented in the Biological Nitrogen Fixation. Work Shop in Cali, Colombia, March, 1981 y Taichung, Taiwan, September 1981 n.t.i. 16 p.
12. BUDOWSKI, G. 1979. Sistema Agroforestal en América Tropical. Trabajo presentado en el "Simposio Internacional sobre Ciencias Forestales y su contribución en el desarrollo de la América Tropical". San José, Costa Rica. 9 p.

13. CALIX, R. 1970. Identificación dendrológica y anatómica de 37 especies arbóreas en Honduras. Tesis M.Sc. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 81 p.
14. CORCORAN, M.R., GEISSMAN, T. A. y B.O. PHINNEY. 1972. Tanins as gibberellin antagonist. *Pl. Physiol. (Lancaster)*. 49:323-330.
15. COUTINHO, L.M. y F. HASHIMOTO. 1971. Sobre o efeito inhibitorio da erminacao de sementes produzido por folhas de Calea cuneifolia D.C. *Cienc. Cult. (Sao Paulo)*, 23:759-764.
16. CHAN, E. C., BASAVANAND, P. y T. LIIVAK. 1970. The growth inhibition of Azotobacter chroococcum by Pseudomonas sp. *Canad. J. Microbiol.* 16:9-16.
17. CHANDRAMOHAN, D., PURUSHOTHAMAN, D y R. KOTHANDARAMAN. 1973. Soil phenolics and plant growth inhibition. *Pl. Soil.* 39:303-308.
18. CHOU, C. H. y H.J. LIN. 1976. Autointoxication mechanisms of Oriza sativa. I Phytotoxic effects of descomposing rice in soil. *J. Chem. Ecol.* 2:353-367.
19. CHOU, C. y Z.A. PATRICK. 1976. Identification and phytotoxic activity of compounds produced during descomposition of corn and rye residues in soil. *J. Chem. Ecol.*, 2:369-387.
20. DANKS, M.L. , FLETCHER, J. S. y E.L. RICE. 1975. Effectos of phenolic inhibitors on growth and metabolism of glucosa-UL-C. in Paul's Scarlet Rose. Cell-suspension cultures. *Amer. J. Bot.*, 62:311-317.
21. DEMOS, E. K., et al. 1975. The effects of ten phenolic compounds on hypocotyl growth and mitochondrial metabolism of mung bean. *Amer. J. Both.*, 62:97-102.
22. EINHLLING, F.A. y J.A. RASMUSSEN. 1973. Allelopathic effects of Rumex crispus on Amaranthus retroflexus grain sorghum and field corn. *Amer. Midl. Nat.*, 90:79-86.
23. FALVEY, L. J. 1982. Gliricidia maculata a review. *The International Free Crops Journal.* 2:1-14.
24. FAY, P.K. y W. DUKE. 1977. An assessment of allelopathic potential in Avena germplasm. *Weed Sci.*, 25:224-228.
25. FITTER, A. H y R.K. HAY. 1981. *Environmental physiology of plants.* Academic Press, New York. sp.
26. FRICK, H. et al. 1976. Influence of Helminthosporium maydis, Race T toxin on potassium uptake in maize roots. *Pl. Physiol (Lancaster)*, 57:171-174.

27. FRICK, H. *et al.* 1977. Influence of *Helminthosporium maydis*, Race T toxin on potassium uptake in maize roots. II. Sensitivity of development of the augmented uptake potential to toxin and inhibitors of protein synthesis. *Pl. Physiol. (Lancaster)*, 59:103-106.
28. FUNKE, G. L. 1941. Essai de phytosociologie experimentale. *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse*, 76-19-21.
29. GARB, S. 1961. Differential growth inhibitors produced by plants. *Bot. Rev.*, 26:422-443.
30. GIOVANELLI, J. *et al.* 1972. B-Cystathinase. In vivo inactivation by rhizobitoxine and role of the enzyme in methionine biosynthesis in corn seedling *Pl. Physiol (Lancaster)*., 51:492-502.
31. GLASS, A. D. 1973. Influence of phenolic acids on ion uptake. I. Inhibition of phosphate uptake. *Pl. Physiol (Lancaster)*, 51:1037-1041.
32. GLASS, A. D. y J. DUNLOP. 1974. Influence of phenolic acids on ion uptake IV. Depolarization of membrane potentials. *Pl. Physiol. (Lancaster)*, 54:855-858.
33. GRANT, W. K. 1976. Microbial degradation of condensed tannins. *Science*, 193:1137-1138.
34. GREEN, F. B. y M.R. CORCORAN. 1975. Inhibitory action of five tannins on growth induced by several gibberellins. *Pl. Physiol (Lancaster)*, 56:801-806.
35. GONZALEZ, M.R. 1972. Maderas de Costa Rica, algunas características. Informe divulgativo #20. D.G.F. MAG, San José, Costa Rica. 27 p.
36. GUENZI, W y T. Mc CALLA. 1962. Inhibition of germination and seedling development by crop residues. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 26: 456-458.
37. GUZMAN, D. 1946. Especies útiles de la flora salvadoreña. 2 ed. San Salvador, El Salvador. 691 p.
38. HARBORNE, J.B. 1972. *Phytochemical Ecology*. Academic Press, London. 272 p.
39. HENDERSON, M. E. 1956. A study of the metabolism of phenolic compounds by soil fungi using spore suspension. *J. Gen. Microbiol.*, 14:684-691.
40. HENDERSON, M. E. y V. C. FARMER. 1955. Utilization by soil fungi of p-hydroxy benzaldehyde, ferulic acid, syringaldehyde and vanillin. *J. Gen. Microbiol.*, 12:37-46.

41. HOLDRIDGE, L. y L. J. POVEDA. 1975. Arboles de Costa Rica. Vol. II. Centro Científico Tropical. San José, Costa Rica.
42. HORSLEY, S. B. 1977. Allelopathic interference among plantas. II Physiological modes of action. In: Proceedings of the fourth North American forest biology. Workshop pp. 96-136. (H.E. Wilcox and Hamer, eds.). School of continuing Education. College of Environmental Science and Forestry, Syracuse, N. Y.
43. INOSTROZA, S. I. 1981. Efecto alelopático de Gliricidia sepium. Tesis Lic. Biol. UCR. San José, Costa Rica.
44. JACKSON, J. R. y R. W. WILLESSEN. 1976. Allelopath in the first stages of secondary succession on the piedmont of New Jersey. Amer. J. Bot., 63:1015-1023.
45. JANKAY, P. y W.H. MULLER. 1976. The relationships among umbeliferone, growth and peroxidase levels in cucumbers roots. Amer. J. Bot., 63:126-132.
46. KAPUSTKA, L. A. y MOLESKI, F.L. 1976. Changes in community structure in Oklahoma old field succession. Bot. Gaz., 137-7-10.
47. KECH, R. W. y T.K. HODGES. 1973. Membrane permeability in plants: Changes induces by host-specific pathotoxins. Phytopathology, 63-226-230.
48. KIMBER, R. W. Phytotoxicity from plant residues. III. The relative effect of toxins and nitrogen immobilization on the germination and growth of wheat. Pl & Soil, 38:543-555.
49. KLINGMAN, G. C. y F.M. ASHTON. 1980. Estudio de las plantas nocivas. Principios y Prácticas. México. Limusa. 449 p.
50. KOZEL, P. C. y H.B. TUKEY. 1968. Loss of gibberellins by leaching from stems and foliage of Chrysanthemum morifolium "Princess Anne". Amer. J. Bot., 55-1184-1189.
51. LINES, N. y L.A. FOURNIER. 1979. Efecto alelopático de Cupressus lusitanica Mill. sobre la germinación de las semillas de algunas hierbas. Rev. Biol. Trop., 127 (2):223-229.
52. LITAR, M. y D. ISTI. 1974. Root competition between two strains of Spinacia oleracea: II. Efectos of nutrient supply and non-simultaneous emergence. J. Appl. Ecol., 11:1017-1025.
53. LODHI, M.A. 1977. The influence and comparison of individual forest trees on soil properties and possible inhibition of nitrification due to intact vegetation. Amer. J. Bot., 64:260-264.

54. LODHI, M.A. 1978. Comparative inhibition of nitrifiers and nitrification in a forest community as a result of the allelopathic nature of various trees species. *Amer. J. Bot.*, 65:1135-1137.
55. _____ y G.L. NICKEL. 1973. Effects of leaf extracts of Celtis laevigata on growth water content and carbon dioxide exchange rates of three grass species. *Bull. Torrey Bot. Club.* 100:159-165.
56. LORBER, P. y W.H. MULLER. 1976. Volatile growth inhibitors produced by Salvia leucophylla: Effects on seedling root tip ultrastructure. *Amer. J. Bot.*, 63:196-200.
57. MARTIN, F. y R. RUBERTE. 1978. Edible leaves of the tropics. 2. ed. Mayaguez Institute of Tropical Agriculture. Mayaguez, Puerto Rico. 82 p.
58. MC. CAHON, C. B.; et al. 1973. Physiological effects of compounds extracted from sagebrush. *Bull. Torrey Bot. Club.*, 100:23-28.
59. MORA, E. 1983. Introducción al estudio de la variabilidad fenotípica del madero negro (Gliricidia sepium) (Jack.) Stend). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza. Unidad de Recursos Fitogenéticos. Turrialba.
60. MORELAND, D. E., et al. 1966. Regulation of plant growth by constituents from higher plants. *Ad. Chem.*, 53:112-141.
61. MULLER, C. H. 1969. Allelopath as a factor in ecological process vegetation, 18:348-357.
62. MURPHY, M.S. y T. NAGODRA. 1977. Allelopath effects of Aristida adscensionis on Rhizobium. *J. Appl. Ecol.*, 14:279-282.
63. _____, y R. RAVINDRA. 1974. Inhibition of nodulation of Indigofera cordifolia by Aristida adscensionis. *Oecología*, 16: 257-258.
64. NEWMAN, E.I. y M.H. MILLER 1977. Allelopath among some British grassland species. II. Influence of root exudates on phosphorus uptake. *J. Ecol.*, 65:339-411..
65. OVERLAND, L. 1966. The role of allelopath substances in the "smother crop" barley. *Amer. J. Bot.*, 53:423-432.
66. OWENS, L.D. 1969. Toxins in plant disease: structure and mode of action. *Science.* 165:18-25.
67. PANDYA, S. M. 1975. Effect of Celosia argentea extracts on root and shoot growth of bajra seedlings. *Geobios (Jodhpur)*, 2:175-178.

68. PATRICK, Z. Z. 1971. Phytotoxic substances associated with the decomposition in soil of plant residues. *Soil Sci.* 11:13-18.
69. PITTIER, H. 1978. Plantas usuales de Costa Rica. Ed. Costa Rica. San José, Costa Rica. 330 p.
70. PROEBSTING, E. L. 1950. A case history of a "peach replant" situation. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.*, 38:21-26.
71. PURCHASE, B. S. 1974. Evaluation of the claim that grass root exudates inhibit nitrification. *Pl. & Soil*, 41:527-539.
72. PUTMAN, A. R. y W.B. DUKE. 1978. Allelopath in Agroecosystems. *Ann. Rev. Phytopathology*, 16:431-453.
73. RAO, V. R., RAO, N.S. y K.G. MUKERJI. 1973. Inhibition of Rhizobium roots and root extracts. *Pl. & Soil*, 39:449-552.
74. RICE, E. L. Allelopathy. 1974. Academic Press, N. York.
75. _____. Allelopathy: an update. 1979. *Bot. Rev.*, 45(1):17-57.
76. _____ y S.K. PANCHOLY. 1973. Inhibition of nitrification by climax ecosystems. II. Additional evidence and possible role of tannins. *Amer. J. Bot.*, 60:691-702.
77. SADHU, M.K. y T. M. DAS. 1971. Root exudates of rice seedling. The influence of one variety on another. *Plant Soil*. 34:541-546.
78. SAJISE, P. E. y J.S. LALES. 1975. Allelopathy in a mixture of cogon (*Imperata cylindrica*) and *Stylosanthes guyanensis*. *Kalikasan Phillipp.* J. Biol., 4:155-164.
79. SCHARFF, T. G. y A. C. PERRY. 1976. The effects of salicylic acid on metabolism and potassium ion content in yeast. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 151:72-77.
80. SCHREIBER, M. M. y J.L. WILLIAMS. 1967. Toxicity of root residues of weed grass species. *Weeds*, 15:80-81.
81. STAHLA, C., et al. 1973. *Fusarium tricinctum* T-2 toxin inhibits auxin-promoted elongation in soybean hypocotyl. *Pl. Physiol.* (Lancaster), 52:663-666.
82. SKERMAN, P. J. 1977. Tropical forage legumes. Plant production and protection. FAO. Series #2, 508 p.
83. STANDLEY, P. y S. CALDERON. 1941. Flora Salvadoreña. Lista preliminar de plantas de El Salvador. 2 ed. San Salvador, El Salvador. 144 p.
84. _____ y J. STEYERMARK. 1946. Flora de Guatemala. Chicago, Natural History Museum.

85. STENLID, G. 1970. Flavonoids as inhibitors of the formation of academic triphosphate in plant mitochondria. *Phytochemistry*, 9:2251-2256.
86. STEVENSON, F. J. 1967. Organic acid in soil. In: Soil biochemistry pp. 119-142 (A. D. M. Laren & G. H. Peterson, eds.) Marcel Dekker Inc. N. York.
87. SWAIN, T. 1977. Secondary compounds as protective agents. *Ann. Rev. Plant. Physiol.*, 28-479-501.
88. TACK, B. F.; CHAPMAN, P. J. y S. DAGLEY. 1972. Metabolism of gallic and syring acids by Pseudomonas putida. *J. Biol. Chem.* 247: 6438-6443.
89. TANGS, C.S. y WAISS, A. G. 1978. Short-chain fatty acids as growth inhibitors in descomposing wheat straw. *J. Chem. Ecol.*, 4:225-232.
90. TAMES, R. S; GESTO, M. D. y E. VIEETEZ. 1973. Growth substances isolated from tubers of Cyperus esculentus var. aureus. *Physiol. Pl.*, 28:195-200.
91. TODD, R. L.; et al. 1975. The relationship between nitrate concentration in the southern. Appalachian mountain strems and terrestrial nitrifiers. *Agro-Ecosystems*, 2:127-132.
92. TROPICAL LEGUMES. 1979. Resources for the future. Report of an Ad. Hoc. Panel of the Advisory Committee on Techonology Innovation. National Academy of Sciences. Washington D. C.
93. TUKEY, H. B. 1969. Implications of allelopathy in agricultural plant science. *Bot. Rev.*, 35-1-16.
94. TURNER, J. A. y E.L. RICE. 1975. Microbial decomposition of ferulic acid in soil. *J. Chem. Ecol.*, 1:41-58.
95. VAN ALFEN, N.K. y N.C. TURNER. 1975. Changes in alfalfa stem conductance induced by Corynebacterium insidiosum toxin Pl. *Physiol.* (Lancaster). 55:559-561.
96. VITOUSEK, P. M. 1977. The regulation of element concentrations in mountain streams in the northeastern United Stated. *Ecol. Monogr.* 47: 65-87.
97. _____ y W. A. REIMERS. 1975. Ecosystem succession and nutritions: hipothesis. *Bio Science*, 25:376-381.
98. WEAVER, T. W. y D. KLARICH. 1977. Allelopathic effects of volatile substances from Artemisia tridentata Nutt. *Amer. Midl. Naturalist*, 97:508-512.

99. WEEB, L. J. TRACEY, J. y K.P. HAYDOCK. 1967. A factor toxic to seedling of the same species associated with living roots of the non-gregarious subtropical rain forest tree. Grevillea robusta. J. Appl. Ecol., 4:13-25.
100. WHITE, R. et al. 1953. Legumes of Agriculture. FAO. Roma.
101. WHITAKER, R. H. 1970. The biochemical ecology of higher plants. In: Chemical Ecology. E. SONDEIMER, J.B. SIMEONE, eds. pp 43-70. New York, Academic Press.
102. _____ y P. P. FEENY. 1971. Allelochemicals: Chemical interaction between species. Science. 171:757-776.
103. YODER, O. C. y R.P. SCHEFFER. 1973. Effects of Helminthosporium carbonum toxin on nitrate uptake and reduction by corn tissues. Pl. Physiol. (Lancaster), 52:513-517.