

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Ciencia y Producción Agropecuaria
Ingeniería Agronómica



Proyecto Especial de Graduación
Efecto de la inoculación de *Rhizobium* en los cultivos de cobertura de:
Canavalia ensiformis L., Crotalaria juncea L., Dolichos lablab L. y
Mucuna pruriens L.

Estudiante

Kevin Alexander Suazo Alcerro

Asesores

Rony Muñoz, M.Sc.

Iveth Rodríguez, M.Sc.

Honduras, julio 2022

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana Académica

CELIA O. TREJO RAMOS

Directora Departamento de Ciencia y Producción

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros.....	5
Índice de Figura.....	6
Índice de Anexos.....	7
Resumen	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Materiales y Métodos.....	14
Ubicación	14
Material Experimental	15
Variables Evaluadas	17
Área de Cobertura Foliar.....	17
Índice de Área Foliar	17
Contenido de Clorofila	18
Biomasa.....	18
Conteo de Nódulos	18
Diseño Experimental.....	19
Análisis Estadísticos	20
Resultados y Discusión.....	21
Índice de Cobertura	21
Índice de Área Foliar	22
Contenido de Clorofila	23
Biomasa.....	24
Nódulación.....	25

	4
Conclusiones	29
Recomendaciones	30
Referencias.....	31
Anexos.....	34

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Tratamientos utilizados en la vega 4, Monte Redondo, lote experimental de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos.	15
Cuadro 2 Efecto de la inoculación con y sin Rhizobium en la interacción de los cultivos de cobertura con los tratamientos sobre el Índice de Cobertura a los 30 y 45 Días Después de Siembra (DDS) en Zamorano, 2022.	22
Cuadro 3 Efecto de la inoculación con y sin Rhizobium en la interacción de los cultivos con los tratamientos sobre el Índice de área foliar (IAF) y el contenido de clorofila en Zamorano, 2022.	23
Cuadro 4 Efecto de la inoculación con y sin Rhizobium en la interacción de los cultivos con los tratamientos sobre la biomasa en Zamorano, 2022.	25
Cuadro 5 Efecto de la inoculación con y sin Rhizobium en la interacción de los cultivos con los tratamientos sobre la nodulación en Zamorano, 2022.	27
Cuadro 6 Efecto de la inoculación de Rhizobium en los cuatro cultivos de cobertura evaluados sobre las variables de crecimiento y desarrollo en Zamorano, 2022.	28

Índice de Figura

Figura 1 Análisis de suelo del lote experimental de Monte redondo, realizado por el laboratorio de suelos de Zamorano.....	15
--	----

Índice de Anexos

Anexo A Diseño de la parcela, distribución aleatoria de los tratamientos utilizando un arreglo de parcelas divididas, ubicado en el área de Monte redondo dentro de la Escuela Agrícola Panamericana el Zamorano.	34
Anexo B Peso de la biomasa de la C. juncea.	35
Anexo C Nodulación de la C. juncea, muestra tomada al momento de la floración.	36
Anexo D Semilla de M. pruriens inoculada con Rhizobium, foto tomada antes de la siembra.....	37
Anexo E Recolección de nódulos de M. pruriens.....	38
Anexo F Siembra de los cultivos de cobertura.....	39

Resumen

Los cultivos de cobertura proveen un beneficio para la agricultura, son esenciales para la conservación del suelo y de su fertilidad. Proveen una aportación de nitrógeno por medio de la fijación biológica de especies de plantas leguminosas. En el corredor seco de Centroamérica existe una degradación de los suelos que disminuye los rendimientos de los cultivos, siendo los cultivos de cobertura parte de la conservación de suelos para reducir el impacto ambiental. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar la inoculación de *Rhizobium* sobre el crecimiento y desarrollo de los cultivos de cobertura. La investigación se realizó entre los meses de febrero a mayo de 2022 en las parcelas de Monte redondo de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Se evaluaron cuatro leguminosas, *Crotalaria juncea*, *Dolichos lablab*, *Canavalia ensiformis* y *Mucuna pruriens* en un Diseño de Bloques Completo al Azar (DBCA) con arreglo de parcelas divididas siendo la parcela principal la inoculación con *Rhizobium* y las subparcelas los cultivos de cobertura, realizando cuatro repeticiones. Las variables de índice de cobertura a los 30 y 45 días, el índice de área foliar, el contenido de clorofila, peso de biomasa y conteo de nódulos fueron evaluadas. Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) y medias ajustadas (LSMEANS) para separación entre tratamiento usando el programa estadístico SAS versión 9.6 (Statistical Analysis System), con un nivel de significancia de $P < 0.05$. Los resultados no indicaron diferencias entre la interacción de los tratamientos con los cultivos. Si se obtuvo una diferencia significativa entre tratamiento con y sin inoculación de *Rhizobium* sobre nodulación. Se obtuvieron diferencias estadísticas entre cada cultivo de cobertura sobre las variables de crecimiento y desarrollo. El efecto de la inoculación de *Rhizobium* no causó diferencias en el crecimiento y desarrollo de la *C. ensiformis*, *C. juncea*, *D. lablab* y *M. pruriens* con respecto al área de cobertura, índice de área foliar, biomasa y nodulación. Sin embargo, se observó una tendencia en obtener medias más altas en los tratamientos inoculados con *Rhizobium*.

Palabras clave: Abono verde, fertilidad del suelo, simbiosis.

Abstract

Cover crops are important for agriculture, they provide a supply of nitrogen through biological fixation of legumes plant species and are essential for the soil conservation and fertility. In the dry corridor of Central America soil degradation decreases crop yields, and cover crops is part of soil conservation to reduce the environmental impact. This research aims to evaluate the effect of *Rhizobium* inoculation on the growth and development of cover crops. The research was carried out from February to May 2022 at the Monte Redondo field Crop Research and Development Program, Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Four legumes, *Crotalaria juncea*, *Dolichos lablab*, *Canavalia ensiformis* and *Mucuna pruriens* were evaluated in a Randomized Complete Block Design (RCBD) with four replications in split plot arrangement, the main plot being inoculated with *Rhizobium* and the subplots being cover crops. The cover index variables at 30 and 45 days, leaf area index, chlorophyll content, biomass weight and nodule count were evaluated. An analysis of variance (ANOVA) and adjusted means (LSMEANS) were performed for mean separation using SAS version 9.6 (Statistical Analysis System), with a significance level of $P < 0.05$. The results did not indicate significative differences for the interaction of *Rhizobium* inoculation and the crops. Significant differences were observed between inoculation treatments for nodulation. Statistical differences were obtained between each cover crop on the growth and development variables. The effect of *Rhizobium* inoculation did not cause significant differences in the growth and development of *C. ensiformis*, *C. juncea*, *D. lablab* and *M. pruriens* with respect to coverage area, leaf area index, biomass, and nodulation. However, a tendency was observed to obtain higher means in the treatments inoculated with *Rhizobium*.

Palabras clave: Green manure, simbiosis, soil fertility.

Introducción

En el “corredor seco” centroamericano existe una vulnerabilidad ambiental, amenazas como irregularidad de lluvias, sequía, inundaciones, degradación ambiental, bajos rendimientos de los cultivos. La degradación de los suelos provoca una disminución de la retención del agua, pérdida de fertilidad como una falta de capacidad de infiltración que disminuye los rendimientos en los cultivos y una susceptibilidad a enfermedades cuando existe un impacto en las canículas (van der Zee A et al. 2012). Para la resiliencia de los sistemas productivos en zonas de producción rural la importancia de la seguridad alimentaria es optimizar la retención de humedad y la fertilidad de los suelos, el acceso al agua tanto potable como para el riego. De acuerdo con el estudio de caracterización del corredor seco centroamericano para la restauración ambiental, esta se logrará implementando planes de conservación de suelos. A nivel de finca, se requiere una mejora de infiltración de agua para reducir los niveles de escorrentía, aumento de los niveles de carbón orgánico en el suelo con la implementación de sistemas agroforestales, manejos de rastrojos y siembra de cultivos con asociación de leguminosas. (van der Zee A et al. 2012)

Un cultivo de cobertura se define como “una cobertura vegetal viva que cubre el suelo y que es temporal o permanente, el cual está cultivado en asociación con otras plantas en forma intercalado, en relevo o rotación (Pound 2001). Los cultivos de cobertura se caracterizan por cumplir ciertos propósitos, como suprimir las malezas, conservar el suelo como el agua, controlar plagas o enfermedades y utilizarse en la alimentación animal, específicamente en el ganado. Estos cultivos pueden ser de cualquier familia de plantas, pero en su mayoría son leguminosas por lo que también se les ha denominado abonos verdes.

Los cultivos de cobertura, se han utilizado desde hace muchos años, el uso de la mucuna (*Mucuna pruriens L.*) ha sido registrado desde el siglo XVII con el propósito de recuperar suelos degradados (Burkhill 1936). La tecnología de los cultivos de cobertura se puede implementar

fácilmente en sistemas cuando hay una baja utilización de insumos, es una herramienta que puede resolver limitantes de manera rápida. Además, son fáciles de gestionar, básicamente lo que se necesita son las semillas, no requiere de mucho conocimiento y esta tecnología ha sido impulsada por diversas organizaciones para ayudar a agricultores de bajos recursos e impulsar a los campesinos a tomar esta iniciativa.

Los cultivos de cobertura cumplen una función esencial en la conservación del suelo y a la fertilidad de este. Uno de los aportes que proveen, es el beneficio en la protección del suelo cuando hay precipitaciones, estos proporcionan canales mediante las raíces que conduce a una mayor infiltración y agregados que son estables en el agua. La formación de agregados estables junto con mayor aireación hace que el suelo disminuya su densidad, que genera un aporte de crecimiento de la planta (Pound 2001). Un beneficio importante de los cultivos de cobertura es la penetración de sus raíces, rompe un suelo que ha sido compactado. Otro beneficio que se pueden considerar como esencial de los cultivos de cobertura es que se incrementa la materia orgánica, hay una mayor estabilidad en la estructura de los suelos. Hay una aportación de nitrógeno por medio de la fijación biológica de las especies de leguminosas. Los cultivos de cobertura mejoran en la eficiencia del agua, incluso compiten con malezas que son de difícil control por medio de herbicidas. La cobertura que queda después de secado del cultivo, provee óptimas condiciones para cultivos de granos gruesos ya que el aumento de captación de agua cuando llueve genera condiciones en la superficie como mayor humedad y menor temperatura (Capurro 2018).

La fijación biológica de nitrógeno representa una alternativa al uso de fertilizantes nitrogenados. Esta fijación la realizan organismos procariotas que son capaces de reducir el nitrógeno molecular a amonio mediante una simbiosis. En el ecosistema terrestre se puede realizar mediante una asociación simbiótica de bacterias del género *Rhizobium* con plantas leguminosas (Fernández-Pascual et al. 2002). Se considera que los cultivos de cobertura se pueden potencializar por medio de

la inoculación con estas bacterias. Las plantas proporcionan una fuente de carbono para las bacterias y estas les ofrecen a las plantas el nitrógeno que fijan de la atmósfera. En la asociación de reducción del nitrógeno se desarrollan unas estructuras que se denominan nódulos, formados de esta asociación con *Rhizobium* (Fernández-Pascual et al. 2002). El nódulo reduce el nitrógeno atmosférico en amonio y provee a la planta compuestos nitrogenados a cambio de compuestos carbonatados. La simbiosis puede variar en la eficiencia a fijar nitrógeno, de acuerdo con diferentes combinaciones de hospederos y bacterias. Hay bacterias del género *Rhizobium* específicas para ciertos cultivos de leguminosas (Puertas et al. 2008).

Experimentos conducidos en Cuyuta, Guatemala mostraron que sustituir fertilizantes nitrogenados con *Mucuna spp.* y *Canavalia ensiformis* incorporaron alrededor de 60 kg/ha manejados bajo cero labranza y cuando se incorporaron totalmente al suelo aportaron hasta 127 y 158 kg N/ha (Castro-Rincón et al. 2018). Estudios realizados en Brasil han reportado que entre el 85 y 95% del nitrógeno proviene de abonos verdes como la mucuna, canavalia y crotalaria en el cultivo de maíz (Castro-Rincón et al. 2018). La *Canavalia ensiformis* ha sido utilizada en Colombia como abono verde, en suelos de baja fertilidad en los llanos de este país. La leguminosa se incorporó al suelo y a los 150 días se cosechó maíz, que fue utilizado como un cultivo indicador. La *Canavalia ensiformis* aportó la mayor cantidad de biomasa (9,748 kg/ha) y también un mayor aporte de nitrógeno con 213 kg N /ha.

En la Escuela Agrícola Panamericana el Zamorano, se ha trabajado con varios cultivos de cobertura como: *Crotalaria juncea*, *Dolichos lablab*, *Canavalia ensiformis* y *Mucuna pruriens*. Estos cultivos de cobertura son utilizados para realizar rotaciones en los sistemas de producción de cultivos. Estos cultivos son tolerantes a suelos pobres, incluso con un mal drenaje (Moreno Taboada 2007). Se utilizan en rotación de cultivos, por ejemplo, un año se siembra una leguminosa y luego se rota a otro cultivo, es un fertilizante natural que el nitrógeno acumulado en el suelo beneficiará al otro cultivo que se sembrará (Llamas y Acedo 2018).

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el crecimiento y desarrollo de la *Crotalaria juncea* L., *Dolichos lablab* L, *Mucuna pruriens* L. y *Canavalia ensiformis* L.

Materiales y Métodos

Ubicación

El estudio se realizó durante los meses de febrero a mayo del 2022, en el lote experimental de Monte redondo de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, ubicada en el municipio de San Antonio de Oriente. Coordenadas geográficas de San Antonio de Oriente departamento de Francisco Morazán con una latitud de 14° 1' 60" Norte y 87° 3' 0" longitud Oeste. Altura de 800 msnm, con una precipitación promedio anual de 1100 mm y una temperatura promedio de 27-30°C. En los meses de febrero a marzo se presentó una temperatura promedio de 31°C con una mayor precipitación en el mes de mayo alrededor de 160 mm.

En el lote experimental se tuvieron ocho tratamientos con 32 unidades experimentales (Cuadro 1

Tratamientos utilizados en la vega 4, Monte Redondo, lote experimental de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos. Cada unidad constó de tres camas con una longitud de 5m cada una. Los cultivos de cobertura se sembraron a una separación de 15 cm entre plantas para la *C. ensiformis*, *D. lablab* y *M. pruriens*. Para la *C. juncea* por el tamaño de las semillas se sembraron a chorro corrido y luego se hizo un raleo de las plantas.

El análisis de suelo del lote experimental indicó un bajo contenido de materia orgánica, menos que el rango medio que va de 2-4. En cuanto al nitrógeno, presentó también un contenido menor que el rango medio de 0.2-0.5 (**Error! Reference source not found.**). Se utilizó este suelo con el propósito de ver una diferencia en el efecto de la inoculación de *Rhizobium* en el cultivo de cobertura sobre un suelo en pobres condiciones de materia orgánica y nitrógeno.

Cuadro 1

Tratamientos utilizados en la vega 4, Monte Redondo, lote experimental de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos.

Tratamiento	Cultivo de cobertura	Rhizobium (Inoculación)
1	<i>Crotalaria juncea</i>	Con
2		Sin
3	<i>Dolichos lablab</i>	Con
4		Sin
5	<i>Canavalia ensiformis</i>	Con
6		Sin
7	<i>Mucuna pruriens</i>	Con
8		Sin

Figura 1

Análisis de suelo del lote experimental de Monte redondo, realizado por el laboratorio de suelos de Zamorano.

LABORATORIO DE SUELOS ZAMORANO		LSZ-F10708-1	
INFORME DE RESULTADOS DE ANÁLISIS DE SUELOS		Versión V02	
Sistema de Gestión de Calidad ISO 17025			
Solicitante	Fecha Ingreso Muestra	Fecha Envío Informe	Procedencia de la muestra
MATS UIDC	2022-01-13	2022-01-26	La Vega 4, EAP
Dirección del cliente	N° Lote de Análisis	Cultivo	Informe N°
EAP, Zamorano	2022-01	---	2022-007
			Anexo Recomendación
			Sí: No: X

Código Interno Lab.	Muestra	Textura	g/100g			pH* (H ₂ O)	g/100g			mg/kg (extractable)								
			Arena	Limo	Arcilla		C.O.	M.O.	N _{total}	P	K	Ca	Mg	Na	Cu	Fe	Mn	Zn
22-S-0147	M1 La Vega +F	Franco Arcillo Arenoso	54	20	26	6.33	0.30	0.51	0.03	11	318	2411	210	31	0.7	137	186	0.3
22-S-0148	M2 La Vega +F	Franco Arcillo Arenoso	60	18	22	6.61	0.26	0.45	0.02	2	477	2356	195	69	0.6	109	173	0.1
22-S-0149	M3 La Vega +F	Franco Arcillo Arenoso	54	24	22	6.74	0.34	0.58	0.03	3	364	2081	160	63	0.9	108	145	0.2
22-S-0150	M4 La Vega +F	Franco	52	28	20	6.18	0.64	1.11	0.06	5	233	1423	127	8	1.1	204	193	0.3
22-S-0151	M1 La Vega -F	Franco Arcillo Arenoso	52	22	26	6.18	0.34	0.58	0.03	3	322	2152	213	32	0.9	160	209	0.2
22-S-0152	M2 La Vega -F	Franco Arcillo Arenoso	50	26	24	6.56	0.38	0.65	0.03	3	416	2483	222	60	0.7	111	208	0.1
22-S-0153	M3 La Vega -F	Franco Arenoso	60	20	20	6.65	0.18	0.32	0.02	3	367	1976	162	73	0.6	118	206	0.2
22-S-0154	M4 La Vega -F	Franco	50	28	22	6.33	0.41	0.71	0.04	3	281	1812	158	39	1.0	170	145	0.2
Rango Medio							2.00	0.20	13	Por: Saturación de bases			1.7	56	28	1.7		
							4.00	0.50	30				6.5	112	112	3.4		

Material Experimental

Para realizar esta investigación se utilizaron cuatro cultivos de cobertura, los cuales fueron la *Crotalaria juncea*, *Dolichos lablab*, *Canavalia ensiformis*. y *Mucuna pruriens*. Se hizo una recolección

de estos cultivos en los diferentes lotes de producción de la Escuela Panamericana Zamorano para realizar el proceso de aislamiento de *Rhizobium*.

Para realizar el aislamiento de la bacteria de *Rhizobium* de cada cultivo, se utilizó el procedimiento según el manual del laboratorio de Biotecnología Aplicada de la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivos de Zamorano. Se cosecharon raíces de los cuatro cultivos de cobertura, se extrajeron los nódulos de las raíces, luego se sumergieron en alcohol (95%) durante 30 segundos para realizar la esterilización y la ruptura de la tensión superficial. Luego los nódulos luego se sumergieron en una solución de hipoclorito de sodio (2%) durante cinco minutos y después se lavaron cinco veces con agua destilada estéril. Los nódulos se maceraron luego de aplicarles una gota de agua estéril y una vez macerados, la suspensión resultante se sembró usando un asa, se colocó en platos Petri que tenían un medio de Agar-Levadura-Manitol + Rojo Congo usando un rayado en zigzag. A los 4 días, se hizo un subcultivo en otro plato con los mismos medios para producir colonias individuales y purificar las cepas. Cuando las colonias crecieron se procedió otra vez a realizar otro cultivo en zigzag a nuevos platos Petri dando origen a la cepa a utilizar.

Luego de aislar las bacterias de *Rhizobium* de cada uno de los cultivos, se preparó un medio compuesto de extracto de levadura, manitol, fosfato dipotásico, sulfato de magnesio, cloruro de sodio, carbonato de calcio y agar. Este medio se inoculó introduciendo un asa con la cepa que se preparó del proceso de aislamiento, de cada uno de los cultivos y se colocó en un agitador por 4 días.

Una vez que se inoculó el medio de caldo levadura manitol con el *Rhizobium*, se mezcló con sustrato y se almacenó en bolsas de 250 gramos a 4°C. Una vez se obtuvo el sustrato con la bacteria de cada uno de los cultivos, se procedió a realizar la inoculación de las semillas. Para la inoculación de las semillas se preparó una solución de agua con azúcar al 40% para que el *Rhizobium* se adhiriera a las semillas, las semillas se humedecieron con la solución de agua con azúcar y se le agregó a la semilla

de cada cultivo. Se mezcló bien procurando que el sustrato se adhiriera a cada una de las semillas de las leguminosas. Se utilizó 250 gramos de turba para 2.27 kg de semilla de cada cultivo.

Variables Evaluadas

Área de Cobertura Foliar

Para medir el área de cobertura foliar se utilizó una aplicación móvil denominada Canopeo, esta aplicación es una herramienta para analizar la imagen y cuantificar la cobertura del cultivo. La herramienta utiliza un rango de colores de rojo a verde y de azul a verde, el resultado es un análisis de la imagen binaria dónde los píxeles blancos corresponden al criterio de selección y los píxeles negros corresponden a los que no cumplen el criterio de selección. Para el color verde del cultivo de cobertura el rango va de 0 a 1, siendo 0 cuando no hay cultivo de cobertura de color verde y el 100% con un verde total del cultivo de cobertura (Patrignani y Ochsner 2015). Se realizaron dos mediciones, a los 30 y 45 días después de la siembra (DDS). Se tomó una foto representativa a cada unidad experimental, colocando la cámara del móvil a una altura de 60cm del suelo.

Índice de Área Foliar

El análisis para el índice de área foliar se realizó a los 70 DDS. Para medir el área foliar, se utilizó un escáner laser portable CI-202 de Bio-Science, este escáner mide el área, la longitud, el ancho, el grosor y el perímetro de la hoja. Se tomaron 3 hojas del dosel de la planta por unidad experimental.

El CI-202 recopila los datos de longitud, ancho, perímetro y área directamente utilizando una combinación de los barridos de rayo láser. Aparte del barrido de rayo láser, utiliza un movimiento óptico, una vez se activa el dispositivo, se hace el barrido del rayo láser a una baja energía a una velocidad de 150 ms (Bio-Science 2016). A medida que el operador mueve el escáner, el sensor registra el movimiento a lo largo del riel de aluminio. La unidad de procesamiento del escáner recopila los datos del sensor para acumular correctamente el área y perímetro de las mediciones.

Contenido de Clorofila

Se hizo la medición de la cantidad de clorofila a los 70 DDS en cada unidad experimental. La medición se realizó utilizando el medidor de clorofila SPAD 502 plus, realizando tres muestras en cada unidad experimental, obteniendo un promedio del contenido de clorofila.

Este equipo determina la cantidad relativa de clorofila midiendo la absorbancia entre dos longitudes de onda. La clorofila tiene absorción en la zona azul (400-500 nm) y roja (600-700 nm), no hay absorbancia en la zona infrarroja (>700 nm) (Konica Minolta 2009). El SPAD utiliza la zona roja e infrarroja para medir la absorbancia, el valor numérico es proporcional a la cantidad de clorofila presente en la hoja. La cantidad de clorofila también está relacionada con el estado nutricional de las plantas.

Biomasa

La biomasa del cultivo se pesó en la etapa de inicio de floración. Se tomaron muestras de 10 plantas continuas de la cama central de cada unidad experimental. El material vegetal se picó y se colocó en bolsas de papel. Las muestras se llevaron a la Unidad de Investigación y Desarrollo de Cultivo para determinar el peso fresco, luego se dejó un día secándose en un invernadero para ingresarlas al horno por tres días a una temperatura de 75°C para el peso de la materia seca.

Se realizó el mismo proceso con las raíces a excepción que, primero se lavaron para remover la tierra acumulada antes de ingresarlas al horno.

El peso de biomasa se realizó a los 55, 82 y 90 días después de la siembra, para *C. juncea*, *C. ensiformis*, *D. lablab* y *M. pruriens*, respectivamente.

Conteo de Nódulos

Para el conteo de nódulos se usó una escala ajustada (Rosas y Varela Ocón [consultado 2022]). Se realizó el conteo de nódulos de cada muestra de 10 plantas y se calculó el promedio dependiendo del número de nódulos compatibles en base a la escala, siendo 5-9 nódulos compatibles. La actividad

máxima de los nódulos aparece alrededor de la floración de cada leguminosa, y cuando están activos tienen una coloración rojiza lo que indica que están fijando N, nódulos senescentes tienen una coloración grisácea (Hansen y Pommeresche 2017).

La evaluación de los nódulos se realizó cuando el cultivo alcanzó la etapa de floración. El conteo se realizó tomando muestras de la cama central de la unidad experimental. Se tomaron muestras de diez plantas continuas, las diez plantas se extrajeron utilizando un palín para no dañar las raíces. Los nódulos alcanzan una actividad máxima cuando están en la etapa de floración, y empiezan a descomponerse después de la floración al igual que las raíces (Hansen y Pommeresche 2017). La ubicación de los nódulos depende de la especie de leguminosa y del tamaño, cuando los nódulos son pequeños en otras especies se compensa con un aumento del tamaño de estos. Los nódulos que están fijando nitrógeno contienen leghemoglobina, que es una proteína con pigmento que tiene una coloración rojiza dentro del nódulo, indican la presencia y activación de las bacterias. Cuando los nódulos están muertos e inactivos su coloración puede ser verde grisáceo o café (Pommeresche y Hansen 2017).

Diseño Experimental

Se utilizó un arreglo de parcelas divididas en un diseño de bloques completo al azar con cuatro repeticiones, la parcela principal fue con/sin la inoculación de *Rhizobium* y las subparcelas fueron los cuatro cultivos de cobertura. Cada repetición tenía ocho unidades experimentales. La unidad experimental constó de tres camas, con una longitud de cinco metros por cama, surcos distanciados a 90 cm y la siembra a una distancia promedio de 10 cm entre semilla, a excepción de la *C. juncea* que se sembró a chorro corrido para asegurar la germinación y luego hacer un raleo de las plantas. Entre cada fila de cuatro parcelas había un metro de calle, y cada parcela estaba rotulada con su respectivo tratamiento.

Análisis Estadísticos

El análisis de los datos se realizó mediante un análisis de varianzas (ANDEVA) y se determinó la diferencia entre tratamiento utilizando las medias ajustadas (LSMEANS) con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$ utilizando el programa SAS versión 9.6. (Statistical Analysis System).

Resultados y Discusión

Índice de Cobertura

El índice de cobertura a los 30 y 45 DDS no mostró una diferencia significativa en la interacción entre los cultivos y la inoculación de *Rhizobium* (**Cuadro 2**). La *C. juncea* presentó un mayor índice de cobertura junto con la *M. pruriens* con la inoculación de *Rhizobium*. En cuanto a las medias del índice de cobertura entre estos dos cultivos, se muestran resultados mayores con la inoculación de *Rhizobium* para los 30 y 45 DDS. Se observa un alto crecimiento de la *C. ensiformis* en el índice de cobertura de los 30 DDS y los 45 DDS con una media de 45.79 con la inoculación de *Rhizobium*.

La *M. pruriens* tuvo un mayor porcentaje de cobertura a los 30 DDS, esto debido a su crecimiento ya que es una planta trepadora, con hojas que tienen una mayor área foliar comparada con los demás cultivos. La *M. pruriens* tarda alrededor de 14-21 días en germinar, pero en la investigación desarrollada tardó 10-12 días en germinar. Al inicio tiene un crecimiento lento pero después tiene un crecimiento rápido, 60 DDS el follaje pueden cubrir toda la parcela (PASF 2014). A los 45 días el índice de cobertura para *C. juncea* fue mayor que la *M. pruriens*, esto debido a su rápido crecimiento.

La cobertura foliar de la *C. ensiformis* presentó una mayor área y la *C. juncea* tuvo una menor área de cobertura al día 37 después de la siembra (Velado Hernández 2020). La *C. juncea* es de un porte erecto que no permite cubrir una mayor área de cobertura. La *C. ensiformis* y *M. pruriens* como cultivo de cobertura puede utilizarse para control biológico de plagas y malezas para controlar el *Cyperus rotundus* a los 56 días después de la siembra (Joya-Arias 2007), por el tamaño de su cobertura la *M. pruriens* reduce la incidencia de luz, a los 90 días después de la siembra permite únicamente el ingreso de 1.5% de la luz solar al suelo (Rodríguez 2015).

Cuadro 2

Efecto de la inoculación con y sin *Rhizobium* en la interacción de los cultivos de cobertura con los tratamientos sobre el Índice de Cobertura a los 30 y 45 Días Después de Siembra (DDS) en Zamorano, 2022.

Cultivo	Inoculación <i>Rhizobium</i>	IC (30 DDS)	IC (45 DDS)
<i>Canavalia ensiformis</i>	con	23.36	45.79
	sin	21.79	33.43
<i>Crotalaria juncea</i>	con	42.06	55.83
	sin	35.82	47.79
<i>Dolichos lablab</i>	con	12.29	30.76
	sin	11.28	25.60
<i>Mucuna pruriens</i>	con	52.57	48.34
	sin	40.59	44.78
Valor p		0.34 ns	0.89 ns
CV		16.90	26.64

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Índice de Área Foliar

El índice de área foliar (IAF), no mostró una diferencia significativa en la interacción de los cultivos con la inoculación de *Rhizobium* (**Cuadro 3**). La *M. pruriens* obtuvo una IAF de 96.92 en comparación a 79.14 cm² sin la inoculación de *Rhizobium*. La *C. ensiformis* con un IAF de 82.5 cm² también fue mayor con la inoculación de *Rhizobium* con respecto al tratamiento sin la inoculación de *Rhizobium*.

La *M. pruriens* tuvo una mayor área en sus hojas ya que es una planta trepadora de follaje denso. La *C. juncea* presenta una menor área foliar ya que sus hojas son pequeñas, esta leguminosa tiene hojas que son oblongas-lanceoladas (Wang et al. 2019), su base es más ancha y tiene una punta estrecha afilada. La *C. ensiformis* al igual que la *M. pruriens* tienen un follaje denso y que ambas son plantas trepadoras.

La inoculación de *Rhizobium* en el frijol, las plantas de este cultivo tratadas con *Rhizobium* fueron estadísticamente mayor con un área de 76.2 cm² (Hidalgo et al. 2019). También la inoculación del *Rhizobium* tuvo un efecto en cuanto al número de vainas por planta, obteniendo 7 vainas/planta,

mayor que al control sin la aplicación de *Rhizobium* con 5.4 vainas en promedio. No se encontraron diferencias estadísticas, pero se concluye que el *Rhizobium* promovió el crecimiento y desarrollo del frijol. Cuando se incrementa la densidad y se utiliza una menor distancia en la siembra de la *M. pruriens*, se cubre una mayor área del suelo y se captura más energía solar (Zhu et al. 2010).

Cuadro 3

Efecto de la inoculación con y sin Rhizobium en la interacción de los cultivos con los tratamientos sobre el Índice de área foliar (IAF) y el contenido de clorofila (CC) en Zamorano, 2022.

Cultivo	Inoculación <i>Rhizobium</i>	IAF (cm ²)	CC (SPAD)
<i>Canavalia ensiformis</i>	con	82.50	38.29
	sin	74.85	39.38
<i>Crotalaria juncea</i>	con	10.57	37.37
	sin	9.84	41.10
<i>Dolichos lablab</i>	con	57.17	31.43
	sin	63.13	31.72
<i>Mucuna pruriens</i>	con	96.92	34.68
	sin	79.14	37.11
Valor p		0.37 ns	0.87 ns
CV		22.05	12.14

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Contenido de Clorofila

El contenido de clorofila no representó una diferencia significativa entre la interacción de los cultivos respecto a la inoculación de *Rhizobium* (Cuadro 3 *Efecto de la inoculación*). Sin embargo la *C. juncea* tuvo un mayor contenido de clorofila, aunque la hoja es pequeña comparada con el resto, hubo un mayor contenido de clorofila 41.10 (SPAD) sin inoculación de *Rhizobium*.

No existe un efecto de la inoculación de *Rhizobium* sobre el contenido de clorofila ya que la planta siempre va a realizar fotosíntesis. La planta siempre va a transformar la energía solar en energía química a través de este proceso. Las plantas obtienen carbohidratos que son necesarios para atraer

a la bacteria en el proceso de simbiosis. Para realizar la simbiosis, la planta necesita realizar un gasto de energía, lo cual se puede interpretar que la inoculación de la bacteria no influye en la relación del contenido de clorofila. En la investigación de la eficiencia biológica de nitrógeno de cepas de *Rhizobium*, no se encontraron diferencias significativas entre cepas en cuanto al contenido de clorofila (López-Alcocer J et al. 2020).

Las plantas de *C. juncea* en su fase vegetativa presentaron la máxima concentración de nitrógeno (Tavares et al. 2019). La mayor concentración de N se acumuló en el dosel de la planta. El N expresa el máximo potencial productivo de las plantas, hay una relación positiva entre la cantidad de clorofila y el contenido de N. Esta relación se puede expresar por medio de las unidades SPAD que miden la absorción de luz por los cloroplastos.

Biomasa

En la interacción entre los cultivos de cobertura y la inoculación de *Rhizobium* no hubo diferencias significativas, pero sí una tendencia en Materia Fresca (MF) y Materia Seca (MS) con la inoculación de *Rhizobium* (Cuadro 4). Efecto de la inoculación con y sin *Rhizobium* en la interacción de los cultivos con los tratamientos sobre la biomasa en Zamorano, 2022.). La *C. ensiformis* presentó un mayor peso en materia fresca (13.63 Ton ha⁻¹), la materia seca (2.79 Ton ha⁻¹), y la materia seca de raíces (0.26 Ton ha⁻¹) comparados con los demás cultivos. La *C. juncea* presentó los menores valores en cuanto a la producción de materia fresca y materia seca. Se observa que en todos los cultivos con la inoculación de *Rhizobium* presentan mayor producción de biomasa.

La *C. ensiformis* por su follaje denso representa una mayor cantidad de biomasa en materia fresca y materia seca. La *C. juncea* si presenta una menor producción de biomasa pero esto debido al tamaño de sus hojas y que es de un crecimiento de porte alto, no una trepadora como *M. pruriens* o *C. ensiformis*. Se esperaba que en cuanto a la materia seca de las raíces de la *M. pruriens* fuera mayor

por el grosor de sus raíces pero al completar su ciclo se espera que tenga un mayor crecimiento en las raíces.

La inoculación de la *C. ensiformis* con *Rhizobium* utilizada como biofertilizante en el cultivo de tomate genera una mayor producción de biomasa en un 14% (Tamayo-Aguilar et al. 2021). El cultivo de frijol cuando es inoculado con *Rhizobium* genera un mayor desarrollo de biomasa en un 123% en materia fresca y 75% en materia seca (Burgos-Arzola 2017). La efectividad de la inoculación de la bacteria tiene un efecto positivo sobre la altura y tamaño de la planta. La canavalia tiene una mayor producción de biomasa en los primeros dos años de la renovación de un cafetal, que aportó por medio de la fijación biológica 143 kg de N/ha representado el 70% de la aplicación total de N al cultivo (Bustamante et al. 2022).

Cuadro 4

Efecto de la inoculación con y sin Rhizobium en la interacción de los cultivos con los tratamientos sobre la biomasa en Zamorano, 2022.

Cultivo	Inoculación <i>Rhizobium</i>	MF Ton ha ⁻¹	MS Ton ha ⁻¹	MSR Ton ha ⁻¹
<i>Canavalia ensiformis</i>	con	13.63	2.79	0.26
	sin	11.33	2.31	0.27
<i>Crotalaria juncea</i>	con	2.26	0.65	0.15
	sin	1.75	0.52	0.11
<i>Dolichos lablab</i>	con	8.75	1.72	0.18
	sin	8.40	1.59	0.17
<i>Mucuna pruriens</i>	con	8.46	1.20	0.13
	sin	7.19	1.02	0.10
Valor p		0.72 ns	0.69 ns	0.77 ns
CV		24.26	22.38	29.64

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

MF: Materia fresca

MS: Materia seca

MSR: Materia seca en raíces

Nódulación

Se observó una diferencia significativa entre la interacción de los tratamientos inoculados con *Rhizobium*. Esto indicó que la inoculación de *Rhizobium* si influyó en la cantidad de nodulación. No hay diferencia significativa entre el tratamiento con los cultivos (Cuadro 5 Efecto de la inoculación con y sin Rhizobium en la interacción de los cultivos con los tratamientos sobre la nodulación en Zamorano, 2022.). La *M. pruriens* y la *C. juncea* presentaron una mayor cantidad de nódulos compatibles a diferencia del resto de los cultivos. El *D. lablab* tuvo solamente 2 nódulos compatibles en una muestra de 10 plantas, baja nodulación comparado a los demás cultivos.

La *M. pruriens* presentó una mayor cantidad de nódulos que se puede traducir a una mayor aportación de nitrógeno al suelo. Aún sin la inoculación de *Rhizobium* la planta tiene una alta producción de nitrógeno y la capacidad que tiene se ve reflejada en el tamaño de sus nódulos mayores a 3 mm. La *C. juncea* presenta al igual que la *M. pruriens* mayor número de nódulos compatibles, pero tienen un menor tamaño y cantidad comparado a los de la *M. pruriens*. Al hacer la disección de ciertos nódulos se observó la coloración rojiza que indicó la presencia de la hemoproteína leghemoglobina. La presencia de la leghemoglobina indicó la fijación efectiva del nitrógeno.

La biomasa de la *M. pruriens* puede aportar al suelo hasta 331 kg de N/ha (García-Abarca y Calderón-Cerdas 2021). Este cultivo puede utilizarse como alternativa en el maíz, que permite un uso más eficiente del N en el suelo. La asociación de la *M. pruriens* con el *Rhizobium* aportó hasta 201 kg/ha , mejorando el rendimiento del maíz que alcanzó un rendimiento máximo de 7 ton/ha (Sanclemente et al. 2013). Incorporar este cultivo para mejorar la fertilidad del suelo aumenta los procesos de mineralización del nitrógeno en el suelo por el aporte de este nutriente con la biomasa.

Si hay una diferencia significativa entre los cuatro cultivos evaluados sobre las variables de crecimiento

(Cuadro

6

Efecto de la inoculación de Rhizobium en los cuatro cultivos de cobertura evaluados sobre las

variables de crecimiento y desarrollo en Zamorano, 2022.). La *C. juncea* obtuvo una mayor cobertura de 51.81 cm² comparado con los demás cultivos, pero no tuvo una diferencia significativa con la *M. pruriens* con una cobertura de 49.59 cm². Para el IAF, todos los cultivos presentaron una diferencia, siendo la *M. pruriens* con un mayor IAF de 86.36 cm². En cuanto al CC la *C. ensiformis* y *C. juncea* tuvieron mayor CC y no hubo diferencias estadísticas entre ambos cultivos. La *C. ensiformis* tuvo una mayor producción de biomasa en MF con 12.48 Ton ha⁻¹ y la *C. juncea* por ser de porte alto y no una planta trepadora presentó una menor producción de biomasa. Tanto la *C. juncea* como la *M. pruriens* tuvieron una mayor nodulación, con 9 nódulos compatible en cuanto a cantidad y tamaño de 10 muestras tomadas.

Cuadro 5

Efecto de la inoculación con y sin Rhizobium en la interacción de los cultivos con los tratamientos sobre la nodulación en Zamorano, 2022.

Cultivo	Inoculación <i>Rhizobium</i>	Nodulación
<i>Canavalia ensiformis</i>	con	5
	sin	2
<i>Crotalaria juncea</i>	con	10
	sin	7
<i>Dolichos lablab</i>	con	2
	sin	1
<i>Mucuna pruriens</i>	con	10
	sin	9
Valor P		0.34 ns
Tratamiento	con	6.14 a
	sin	3.86 b
Valor P		0.0004
CV		25.31

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Ya que la producción de N depende de la formación de nódulos y que estos estén activos, la *M. pruriens* tanto como la *C. juncea* en base a los resultados, tienen una mayor producción de N. Esta

cantidad de N producido puede ser utilizado para otro cultivo en rotación y disminuir las cantidades de N aplicadas al cultivo. Para aportar mayor MO al suelo, en base a los resultados, la *C. ensiformis* aporta más biomasa en MF que puede ser incorporada al suelo totalmente.

Las leguminosas tanto la *M. pruriens* como la *C. juncea* utilizadas como abono verde, tienen un efecto equivalente a la urea con una fertilización de 40 kg N/ha (Muraoka et al. 2002). La *M. pruriens* (362 kg N/ha) puede llegar a producir más que el doble de N de la *C. juncea* (149 kg N/ha). Los abonos verdes presentan una mejor eficiencia del 79% en la aplicación de cobertura comparado al uso de fertilizantes nitrogenados. La *C. ensiformis* cuando es inoculada con *Rhizobium* se puede cultivar en asocio con el café, por ejemplo, con *Coffea canephora*, en los primeros dos años puede aportar cantidades significativas de nitrógeno (Bustamante et al. 2022).

Cuadro 6

Efecto de la inoculación de Rhizobium en los cuatro cultivos de cobertura evaluados sobre las variables de crecimiento y desarrollo en Zamorano, 2022.

Cultivo	IC (45 DDS)	IAF (cm ²)	CC (SPAD)	MF Ton ha ⁻¹	Nodulación
<i>Canavalia ensiformis</i>	39.61 ab	78.68 a	38.83 a	12.48 a	3 b
<i>Crotalaria juncea</i>	51.81 a	10.21 c	39.24 a	2.01 c	9 a
<i>Dolichos lablab</i>	28.18 b	60.15 b	31.57 b	8.57 b	1 c
<i>Mucuna pruriens</i>	49.59 a	86.32 a	34.81 ab	7.88 b	9 a
Valor P	0.0039	<.0001	0.0088	<.0001	0.0004
CV	26.64	22.05	12.15	24.26	25.31

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Conclusiones

El efecto de la inoculación de *Rhizobium* no causó diferencias en el crecimiento y desarrollo de la *C. ensiformis*, *C. juncea*, *D. lablab* y *M. pruriens* con respecto al área de cobertura, índice de área foliar, biomasa y nodulación.

La inoculación de *Rhizobium* tiene efecto sobre la nodulación, aumentando la cantidad de nódulos, lo que mejora la fijación de nitrógeno.

Recomendaciones

Realizar el experimento en un suelo en mejores condiciones en cuanto a nitrógeno y materia orgánica, ya que, en el lote experimental, el análisis de suelo indicó una baja cantidad de estos.

Realizar un análisis de suelo de cada unidad experimental para cuantificar el nitrógeno que aportó al suelo cada leguminosa.

Referencias

- Bio-Science. 2016. CI-202 Portable Laser Leaf Area Meter. The United States: [sin editorial]. 2 p. <https://enviroglobal.cz/wp-content/uploads/2019/03/CI-202-Brochure.pdf>.
- Burgos-Arzola B. 2017. Efecto de la inoculación de *Rhizobium* spp. sobre la cosecha de granos del frijol *Vigna unguiculata* [Tesis de maestría]. Puerto Rico: Pontificia Universidad Católica de Puerto Rico; [consultado el 27 de jun. de 2022]. https://www.researchgate.net/publication/352969920_EFECTO_DE_LA_INOCULACION_CON_Rhizobium_spp_SOBRE_LA_COSECHA_DE_GRANOS_DEL_FRIJOL_Vigna_unguiculata.
- Burkhill IH. 1936. A Dictionary of the Economic Products of the Malay Peninsula. Nature. 137(3459):255. doi:10.1038/137255c0.
- Bustamante C, Ferrás Y, Hernández I, Rivera R. 2022. Beneficios del intercalamiento de canavalia inoculada con hongos micorrízicos y *Rhizobium* en *Coffea canephora*. Agronomía Mesoamericana. 33(2). doi:10.15517/am.v33i2.46288.
- Capurro J. 2018. Cultivos de cobertura y sus beneficios para ambientes agrícolas; [consultado el 23 de sep. de 2021]. <https://inta.gov.ar/documentos/cultivos-de-cobertura-y-sus-beneficios-para-ambientes-agricolas>.
- Castro-Rincón E, Mojica-Rodríguez JE, Corulla-Fornaguera JE, Lascano-Aguilar CE. 2018. Abonos verdes de leguminosas: integración en sistemas agrícolas y ganaderas del trópico. Agronomía Mesoamericana. 29(3):711. doi:10.15517/ma.v29i3.31612.
- Cedrrsa. 2020. Mercado del frijol, situación prospectiva. [sin lugar]: Centro de estudio para el desarrollo rural sustentable y la soberanía alimentaria. 20 p. <http://www.cedrrsa.gov.mx/files/b/13/53Mercado%20del%20frijol.pdf>.
- Fernández-Pascual M, de María N, de Felipe MR. 2002. Fijación biológica de nitrógeno: factores limitantes. [sin lugar]: [sin editorial]. 8 p. <https://digital.csic.es/bitstream/10261/128283/1/Fijaci%C3%B3n%20Biol%C3%B3gica391%28MC%20F%20Pascual%29.pdf>.
- García-Abarca E, Calderón-Cerdas R. 2021. Influencia de la densidad de siembra sobre producción y desarrollo de mucuna (*Mucuna puriens* L. DC). Agronomía Costarricense; [consultado el 26 de jun. de 2022]. 45(103-113). <https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agrocost/article/view/47771/47491>.
- Hansen S, Pommeresche R. 2017. Examen de la actividad de los nódulos en raíces de leguminosas. [sin lugar]: [sin editorial]; [consultado el 21 de may. de 2022]. 5 p. Ficha técnica. <https://orgprints.org/id/eprint/32468/1/pommeresche-hansen-2017-root-nodules-spanish.pdf>.
- Hernández L, Bautista J. 2012. Efectos del *Rhizobium* en el rendimiento del cultivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en la CCS Sabino Pupo del municipio Manatí. Cuba: [sin editorial]; [consultado el 23 de jun. de 2022]. 22 p. <https://www.eumed.net/rev/caribe/2013/09/cultivo-frijol.pdf>.
- Hidalgo J, Ramos C, Lezama E, Chuna P, Chaman M. 2019. Coinoculación de *Rhizophagus irregularis* y *Rhizobium* sp. en *Phaseolus vulgaris* L. var. *canario* (Fabaceae) "frijol canario". Arnaldoa. 26(3). doi:10.22497/arnaldoa.263.26309.

- Joya-Arias AI. 2007. Efecto de cultivos de coberturas en la población de malezas, insectos y nematodos. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. 34 p. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/b1eca6a1-a910-4dd1-bc78-8d2ce871e02f/content>.
- Konica Minolta. 2009. Un medidor ligero y manejable para medir el contenido de clorofila de las hojas sin causar daño a las plantas; [consultado el 6 de oct. de 2022]. https://www.interempresas.net/FeriaVirtual/Catalogos_y_documentos/452/SPAD-502Plus_ES.pdf.
- Llamas F, Acedo C. 2018. Las leguminosas (Leguminosae o Fabaceae): una síntesis de las clasificaciones, taxonomía y filogenia de la familia a lo largo del tiempo. *Ambiociencias*. (14):5. <https://buleria.unileon.es/bitstream/handle/10612/7421/2%20-%20A%20Fondo.pdf?sequence=1.%20doi:10.18002/ambioc.v0i14.5542>. doi:10.18002/ambioc.v0i14.5542.
- López-Alcocer J, Lépez-Ildefonso R, González-Eguiarte D, Rodríguez-Macías R, López-Alcocer E. 2020. Eficiencia en fijación biológica de nitrógeno de cepas de *Rhizobium* spp. recolectadas en frijol cultivado y silvestre. *Terra Latinoamericana*. 38(4):841–852. doi:10.28940/terra.v38i4.654.
- Moreno Taboada CG. 2007. Fabaceae potencialmente útiles de la provincia de Huánuco. *Investigación Valdizana*. 1(1):30–34. <https://www.redalyc.org/pdf/5860/586061876007.pdf>.
- Muraoka T, Ambrosano EJ, Zapata F, Bortoletto N, Martins ALM, Trivelin PCO, Boaretto AE, Scivittaro WB. 2002. Eficiencia de abonos verdes (crotalaria y mucuna) y urea, aplicados solos o juntamente, como fuentes de N para el cultivo de arroz. *Terra Latinoamericana*. 20. <https://www.redalyc.org/pdf/573/57320104.pdf>.
- [PASF] Programa Amazonía Sin Fuego. 2014. Cuadernillo de cultivo de mucuna negra. Bolivia: PASF; [consultado el 6 de oct. de 2022]. 11 p. https://lapaz.aics.gov.it/wp-content/uploads/2019/08/Cartilla-Mucuna_finalissimo.pdf.
- Patrignani A, Ochsner TE. 2015. Canopeo: A Powerful New Tool for Measuring Fractional Green Canopy Cover. *Agronomy Journal*. 107(6):2312–2320. doi:10.2134/agronj15.0150.
- Pommeresche R, Hansen S. 2017. Examen de la actividad de los nódulos en raíces de leguminosas; [consultado el 9 de oct. de 2021]. <https://orgprints.org/id/eprint/32468/1/pommeresche-hansen-2017-root-nodules-spanish.pdf>.
- Pound B. 2001. Cultivos de Cobertura para la Agricultura Sostenible en América Latina. [sin lugar]: [sin editorial]; [consultado el 9 de oct. de 2021]. 24 p. <http://www.fao.org/ag/aga/agap/frg/agrofor1/pound7.pdf>.
- Puertas F, Enrique A, Zuñiga L, Alegre J, Loli Ó, Soplín H, Baligar V. 2008. Establecimiento de los cultivos de cobertura y extracción total de nutrientes en un suelo de trópico húmedo en la amazonía peruana. *Ecología aplicada*. 7(1-2):23–28. <https://www.redalyc.org/pdf/341/34111584004.pdf>.
- Rodríguez R. 2015. *Crotalaria juncea* L. como restauradora de la fertilidad de suelos cañeros. México. 37 p; [consultado el 7 de abr. de 2022]. http://colposdigital.colpos.mx/jspui/bitstream/10521/3736/1/Rascon_Rodriguez_JA_MT_Manejo_Sustentable_Cutivo_Cana_Azucar_2015.pdf.

- Rosas JC, Varela Ocón A. [consultado el 6 de nov. de 2022]. Validación de la respuesta de frijol común a la inoculación con *Rhizobium* en localidades de Yoro, Honduras. Zamorano, Honduras: SAG-DICTA. 19 p. <http://apps.iica.int/pccmca/docs/MT%20Leguminosas/Miercoles%2001%20mayo/34-Validaci%C3%B3n%20de%20Respuesta%20del%20Frijol%20Com%C3%BAn.pdf>.
- Sanclémente Ó, Prager M, Beltrán L. 2013. Aporte de Nitrógeno al suelo por *Mucuna pruriens* y su efecto sobre el rendimiento de maíz dulce (*Zea mays* L.). *Agraria y ambiental*. 4(2). doi:10.22490/21456453.978.
- Tamayo-Aguilar Y, Martín-Alonso G, Herrera-Altuve JA, Abad-Michael M, Nápoles-García MC, Rivera-Espinosa R, Juárez-López P. 2021. Biofertilizantes en la sucesión *Canavalia ensiformis* - *Solanum lycopersicum*: rendimiento y calidad en frutos de tomate. *RevFitotecMex*. 44(3):341. <https://revistafitotecniamexicana.org/documentos/44-3/6a.pdf>. doi:10.35196/rfm.2021.3.341.
- Tavares OB, Gámez F, Perdomo F, Vázquez J, Campos A. 16 de ago. de 2019. La crotalaria (*Crotalaria juncea* L.) una alternativa forrajera para la ganadería en el trópico mexicano. Engormix; [consultado el 26 de jun. de 2022]. <https://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/gdc-crotalaria-crotalaria-juncea-t43833.htm>.
- van der Zee A, van der Zee J, Meyrat A, Poveda C, Picado L. 2012. Estudio de caracterización del Corredor Seco Centroamericano; [consultado el 17 de oct. de 2021]. https://reliefweb.int/sites/reliefweb.int/files/resources/tomo_i_corredor_seco.pdf.
- Velado Hernández RA. 2020. Evaluación de cuatro leguminosas como cultivos de cobertura en Zamorano, Honduras [Tesis]. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. 26 p; [consultado el 24 de jun. de 2022]. <https://bdigital.zamorano.edu/server/api/core/bitstreams/25c07276-7cbf-4cb9-9702-dbc30c5cc571/content>.
- Wang Q, Li Y, Klassen W, Hanlon E. 2019. Sunn hemp-a promising cover crop in Florida. Miami, Florida: University of Florida, IFAS. 9 p; [consultado el 6 de oct. de 2022]. <https://www.tropseeds.com/new/wp-content/uploads/2015/03/Crotalaria-Informacion-basica.pdf>.
- Zhu X-G, Long SP, Ort DR. 2010. Improving photosynthetic efficiency for greater yield. *Annu Rev Plant Biol*. 61:235–261. eng. doi:10.1146/annurev-arplant-042809-112206.

Anexos

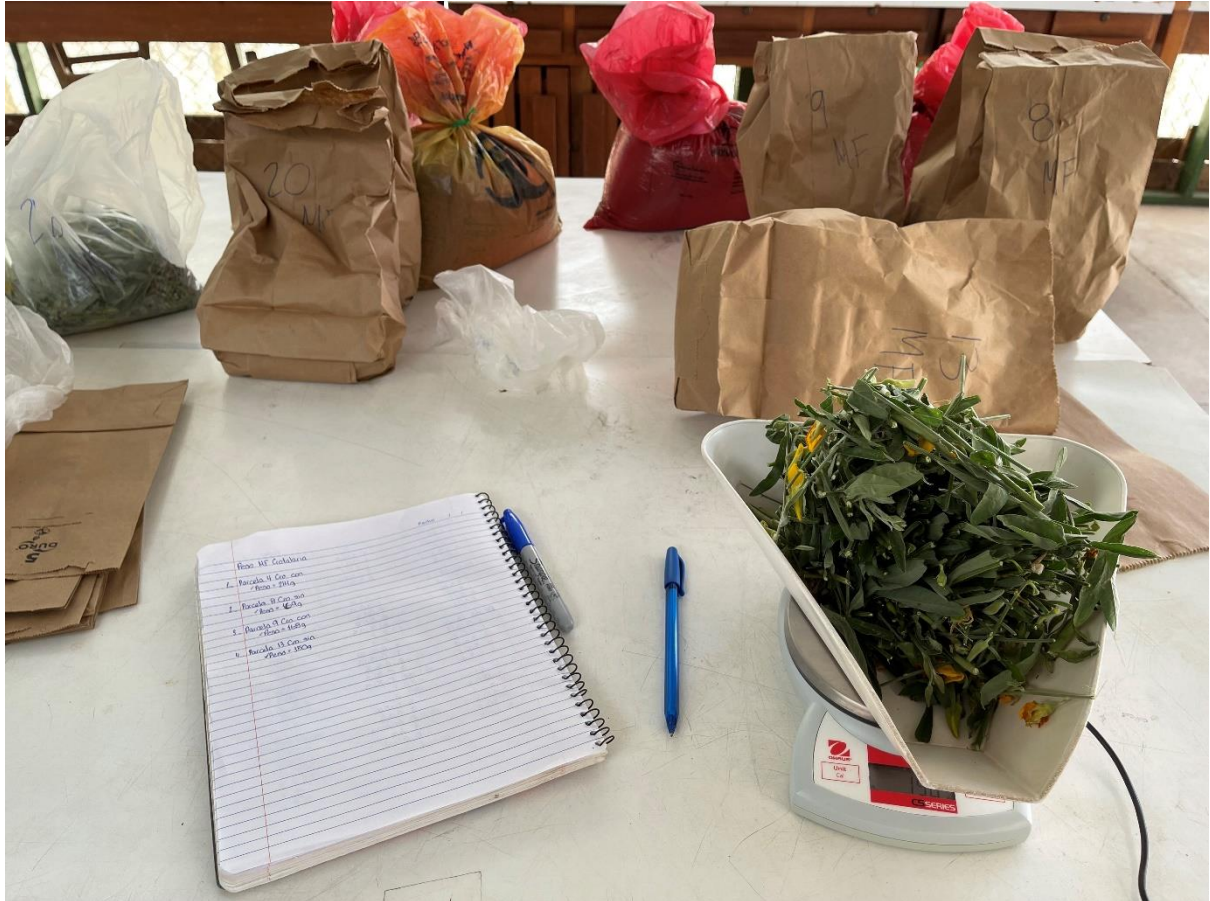
Anexo A

Diseño de la parcela, distribución aleatoria de los tratamientos utilizando un arreglo de parcelas divididas, ubicado en el área de Monte redondo dentro de la Escuela Agrícola Panamericana el Zamorano.

Rep. 4	29 Mucuna sin	30 Crotalaria sin	31 Canavalia sin	32 Dolichos sin
	25 Mucuna con	26 Crotalaria con	27 Canavalia con	28 Dolichos con
Rep. 3	21 Canavalia sin	22 Mucuna sin	23 Dolichos sin	24 Crotalaria sin
	17 Canavalia con	18 Mucuna con	19 Dolichos con	20 Crotalaria con
Rep. 2	13 Crotalaria sin	14 Dolichos sin	15 Mucuna sin	16 Canavalia sin
	9 Crotalaria con	10 Dolichos con	11 Mucuna con	12 Canavalia con
Rep. 1	5 Canavalia sin	6 Dolichos sin	7 Mucuna sin	8 Crotalaria sin
	1 Canavalia con	2 Dolichos con	3 Mucuna con	4 Crotalaria con

Anexo B

Peso de la biomasa de la C. juncea.



Anexo C

Nodulación de la C. juncea, muestra tomada al momento de la floración.



Anexo D

Semilla de M. pruriens inoculada con Rhizobium, foto tomada antes de la siembra.



Anexo E

Recolección de nódulos de M. pruriens.



Anexo F

Siembra de los cultivos de cobertura.

