

XVI CONGRESO
DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA
DE MALHERBOLOGÍA
ACTAS



Congreso
de Malherbología
2017

PAMPLONA-IRUÑA, 25-27 OCTUBRE



XVI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología. Actas

Pamplona-Iruña,
25-27 octubre, 2017

Mercedes Royuela Hernando
Ana Zabalza Aznárez
(editoras)

En este libro se publican las comunicaciones presentadas al XVI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, celebrado en la Universidad Pública de Navarra, Pamplona-Iruña, entre los días 25 y 27 de octubre de 2017.

Título / Titulua: XVI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología.
Actas. Pamplona-Iruña, 25-27 octubre, 2017

Editoras: Mercedes Royuela Hernando y Ana Zabalza Aznárez

Edita / Argitaratzailea: Universidad Pública de Navarra
Nafarroako Unibertsitate Publikoa

Fotocomposición / Fotokonposizioa: Pretexto

Impresión / Inprimatzailea: Rodona Industria Gráfica

ISBN.: NA 978-84-9769-327-1

D.L. / L.G.: NA 2238/2017

Distribución / Banaketa: Sección de Publicaciones / Argitalpen Atala
Universidad Pública de Navarra / Nafarroako Unibertsitate Publikoa
Campus de Arrosadia / Arrosadiko campusa
31006 Pamplona-Iruña
Fax/Faxa: 948 169 300
Correo/Posta: publicaciones@unavarra.es

Comité Organizador

Mercedes Royuela Hernando	Universidad Pública de Navarra / Nafarroako Unibertsitate Publikoa
Ana Zabalza Aznárez	Universidad Pública de Navarra / Nafarroako Unibertsitate Publikoa
Javier Peralta de Andrés	Universidad Pública de Navarra / Nafarroako Unibertsitate Publikoa
Irache Garnica Hermoso	Instituto Navarro de Tecnología e Infraestructuras Agroalimentarias
Juan Antonio Lezáun San Martín	Instituto Navarro de Tecnología e Infraestructuras Agroalimentarias

Comité Científico

Joaquín Aibar	Escuela Politécnica Superior. Universidad de Zaragoza
Fernando Bastida	Universidad de Huelva
Alicia Cirujeda	Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA)
Ana Isabel de Castro	Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), Córdoba
José Dorado	Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), Madrid
César Fernández Quintanilla	Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), Madrid
Diego Gómez de Barreda	Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Universitat Politècnica de València
José Luis González-Andújar	Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), Córdoba
Jordi Izquierdo	Universitat Politècnica de Catalunya
Donato Loddo	Institute of Agro-environmental and Forest Biology (CNR), Italia
Francisca López Granados	Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), Córdoba
Iñigo Loureiro	Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Madrid
Ana Isabel Marí	Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA)
Julio Menéndez	Departamento de Ciencias Agroforestales, Universidad de Huelva
Luis Navarrete	Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural Agrario y Alimentario (IMIDRA), Madrid
María Dolores Osuna	Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX)
Gabriel Pardo	Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA)
José Manuel Peña Barragán	Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), Madrid
Jordi Recasens	Agrotecnio. ETSEA. Universitat de Lleida
Aritz Royo	Agrotecnio. ETSEA. Universitat de Lleida
Andreu Taberner	Servicio Sanidad Vegetal. Generalitat de Cataluña y Universidad de Lleida
Joel Torra	Agrotecnio. ETSEA. Universitat de Lleida
José María Urbano	Universidad de Sevilla

ÍNDICE

Sesión 1

BIOLOGÍA Y AGROECOLOGÍA DE MALAS HIERBAS

- O1.1. ***Amaranthus palmeri* en Cataluña y Aragón. ¿Tres poblaciones con un mismo origen?** 15
Jordi Recasens, María Dolores Osuna, Aritz Royo-Esnal, Joel Torra
- O1.2. **Profundidades óptimas y máximas para la emergencia de teosinte** 21
Cristina Prado, Alicia Cirujeda, Gabriel Pardo, Ana Isabel Marí, Santiago Fuertes, Joaquín Aibar
- O1.3. **Ensayo del Grupo de Trabajo de Biología y Agroecología de la SEMh: emergencia y desarrollo de *Avena sterilis*, *Centaurea diluta*, *Chrysanthemum segetum*, *Lolium rigidum* y *Ridolfia segetum*** 27
Aritz Royo-Esnal, María Concepción Escorial, Ana Isabel Marí, Fernando Cordero, Manuel Vargas, Milagros Saavedra, Juan Antonio Lezáun, José Antonio Paramio, Carlos Sousa, Jordi Izquierdo, José Luis Fernández, Joel Torra, José María Urbano
- O1.4. **Evaluación de los cambios en la flora espontánea en Portugal para un periodo de 10 años. Proyecto ValBioTecCynara** 33
Sofia Ramôa, João Portugal, Ilias Travlos, Teresa Vasconcelos, Paulo Forte, Pedro Oliveira e Silva, Paula Nozes, Carla Pinto-Cruz, Anabela Belo, Paula Simões, Ana Paulino, Maria Fátima Duarte
- O1.5. **Morphological, and genetic characterization of *Abutilon theophrasti* accessions across a geographic gradient** 39
Teresa Carvalho, Eugénia Andrade, Isabel M. Calha, Dragana Bozic, Sava Vrbnicanin, José Dorado, Jordi Izquierdo, Maja Scepanovic, Klara Barić, Stefano Carlesi, Robert Leskovsek, Dean Peterson, Andrea Veres, Vasileios Vasileiadis, Roberta Masin, Donato Loddo
- O1.6. **Avances en la caracterización de dos genes candidatos que confieren rasgos de maleza al arroz maleza colombiano** 45
Verónica Hoyos, Guido Plaza, Ana L. Caicedo
- P1.1. **Emergencia de poblaciones de *Echinochloa crus-galli* de diferente origen** 51
Aritz Royo-Esnal, Kirsten B. Torresen, Donato Loddo
- P1.2. **Persistencia de determinadas especies arvenses según sus caracteres funcionales en sistemas cerealistas** 57
Valle Egea-Cobrero, María Eva Hernández-Plaza, Yesica Pallavicini, José Luis González-Andújar
- P1.3. **Redes neuronales artificiales para modelizar la emergencia de malas hierbas** 63
Joel Torra, Aritz Royo-Esnal, Guillermo R. Chantre, Jordi Recasens

P1.4.	Cuantificación de parámetros térmicos vinculados con los cambios en el nivel de dormición y germinación de <i>Chloris virgata</i>	69
	Sebastián Rodríguez, Betina C. Kruk, Emilio H. Satorre	
P1.5.	Validación de modelos termales de la emergencia de <i>Abutilon theophrastri</i> en maíz	75
	Valle Egea-Cobrero, Kevin Bradley, Isabel M. Calha, Adam S. Davis, José Dorado, Frank Forcella, John L. Lindquist, Christy L. Sprague, José Luis González-Andújar	
P1.6.	<i>Pennisetum setaceum</i>, planta invasora en expansión	81
	Milagros Saavedra, Cristina Alcántara	
P1.7.	Importancia de la autopolinización en <i>Digitaria sanguinalis</i>	85
	M. Teresa Mas, Antoni M. Verdú	
P1.8.	Control materno del comportamiento anual vs. bienal de la progenie a través del momento de dispersión de los achenios en <i>Pallenis spinosa</i> (Asteraceae)	91
	Fernando Bastida, Juan Francisco Peña, José Luis González-Andújar	
P1.9.	Diversidad genética del arroz maleza colombiano	97
	Verónica Hoyos, Guido Plaza, Ana L. Caicedo	
P1.10.	La interrelación entre la riqueza de arvenses y la fertilización condiciona la proteína del grano del trigo	101
	María Eva Hernández-Plaza, Francisco Barro, Fernando Bastida, Yesica Pallavicini, Jordi Izquierdo, Jose Luis González-Andújar	
P1.11.	Efecto a largo plazo de diferentes sistemas de laboreo sobre la biomasa de malas hierbas en una rotación cereal-leguminosa	107
	María Eva Hernández-Plaza, Emilio Carbonell, Luis Navarrete, José Luis González-Andújar	
P1.12.	Problemas de malas hierbas de los arrozales de Ross-Béthio (Senegal)	111
	José María Osca, Inmaculada Bautista, Neus Sanjuan	
P1.13.	The role of weeds in field margins in supporting wild pollinators in Mediterranean cereal agroecosystems	117
	Jane Morrison, Jordi Izquierdo, María Eva Hernández-Plaza, José Luis González-Andújar	

Sesión 2

MANEJO INTEGRADO

O2.1.	Efecto del laboreo mínimo (chisel), la fertilización y los abonos verdes sobre la flora arvense y los rendimientos en una rotación de cultivos de cereales y leguminosas ecológicos	125
	Lourdes Chamorro, Paola Baldivieso, José Manuel Blanco-Moreno, Laura Armengot, F. Xavier Sans	
O2.2.	La secuencia de cultivos y la intensificación del uso de la tierra como herramientas para el manejo integrado de malezas	131
	Betina Kruk, Elias Ruiz, Ignacio Alzueta	
O2.3.	Rotaciones de cultivos herbáceos en agricultura de conservación y convencional en ambientes semiáridos y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal, 33 años de experimentación	137
	Carlos Lacasta, Enrique Estalrich, Fernando Cordero	
O2.4.	El laboreo de verano para la gestión de malas hierbas en cereales de invierno	143
	Irache Garnica, Juan Antonio Lezáun, Javier Delgado, Joaquín Garnica	
O2.5.	El uso de cubiertas vegetales y sus labores de implantación en el manejo de <i>Cynodon dactylon</i> en viñedo	147
	Francisco Valencia, Neus Mas, Jordi Recasens	

O2.6.	Influencia del grado de translucidez de diferentes acolchados en el control de <i>Cyperus rotundus</i> L.	153
	Ana Isabel Marí, Gabriel Pardo, Alicia Cirujeda	
P2.1.	Evaluación de los efectos del sistema combinado de pastos-cultivo sobre las malas hierbas	159
	José Dorado, Dionisio Andújar, Carolina San Martín, José Manuel Martín, David Campos, César Fernández-Quintanilla	
P2.2.	Rotaciones de cultivos herbáceos en agricultura ecológica de ambientes semiáridos y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal, 24 años de experimentación	165
	Carlos Lacasta, Enrique Estalrich, Fernando Cordero	
P2.3.	Interacción de densidades de siembra y rotaciones de cultivos en agricultura convencional y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal, 24 años de experimentación	171
	Carlos Lacasta, Enrique Estalrich, Fernando Cordero	
P2.4.	Emergencia de teosinte en cultivos diferentes a maíz	177
	Alicia Cirujeda, Gabriel Pardo, Ana Isabel Marí, Santiago Fuertes, Joaquín Aibar	
P2.5.	Estabilidad espacio-temporal de la flora arvense en cereal	183
	Jordi Izquierdo, Barbara Baraibar, Aritz Royo-Esnal, Joel Torra, Jordi Recasens	
P2.6.	La integración de métodos culturales y químicos en el manejo de <i>Bromus diandrus</i> en cereales en siembra directa	189
	Aritz Royo-Esnal, Jordi Recasens, Jesús Garrido, Joel Torra	
P2.7.	Evaluación de métodos de control químicos, mecánicos y culturales para el control del bromo (<i>Bromus</i> spp.) y otras malas hierbas en cebada	195
	Santiago Fuertes, Gabriel Pardo, Alicia Cirujeda, Ana Isabel Marí, Joaquín Aibar	
P2.8.	Influencia de los sistemas de producción de cereales sobre las poblaciones de <i>Lolium rigidum</i> y <i>Papaver rhoeas</i>	201
	José Dorado, Judit Barroso, Carolina San Martín, Dionisio Andújar, José Manuel Martín, David Campos, César Fernández-Quintanilla	
P2.9.	Efecto de la Agricultura de Conservación y la fertilización nitrogenada en la población de plantas adventicias en una parcela de trigo en regadío	207
	Nerea Arias, Juan Antonio Lezáun, Irache Garnica, Luis Orcaray, José Jesús Pérez de Ciriza, Javier Delgado	
P2.10.	Adaptación de la flora arvense a diferentes sistemas de gestión del suelo en un viñedo de la Comunidad de Madrid	213
	José Dorado, Félix Cabello, José Manuel Martín, David Campos, Carolina San Martín, Dionisio Andújar, Roberto Saiz, María Remedios Alarcón, César Fernández-Quintanilla	
P2.11.	Evaluación del efecto de la fertilización sobre la presencia de malas hierbas en una parcela de viña en Navarra	219
	Juan Antonio Lezáun, Ana Sagües-Sarasa, Félix Cibriain-Sabalza	
P2.12.	Ensayo con productos orgánicos para el control de especies arvenses en agricultura ecológica	225
	Ana Leyva-Bollero, Juan Carlos Hidalgo, Javier Hidalgo, Victorino Vega, Daniel Pérez-Mohedano, Milagros Saavedra	
P2.13.	Control de malas hierbas en maíz. Opciones de manejo con herbicidas convencionales y glifosato	231
	Iñigo Loureiro, María Concepción Escorial, M. Inés Santin-Montanyá, Esteban García-Ruiz, Ismael Sánchez-Ramos, Susana Pascual, Guillermo Cobos, Manuel González-Núñez, María Cristina Chueca	

- P2.14. Evaluación del efecto de un incendio sobre la emergencia de malas hierbas en una parcela de cereal de invierno en Navarra** 237
 Juan Antonio Lezáun, Noelia Telletxea-Senosaiain, Irache Garnica

Sesión 3

CONTROL QUÍMICO Y RESISTENCIAS A HERBICIDAS

- O3.1. Evaluación del comportamiento de 20 materias activas herbicidas sobre la cespitosa *Cynodon dactylon* en diferentes épocas climáticas del año** 245
 Diego Gómez de Barreda, Daniel Izquierdo, Verónica De Luca
- O3.2. Control de *Ailanthus altissima* en un ecosistema natural** 251
 Jordi Soler, Jordi Izquierdo, Joan Vilamú
- O3.3. Arylex™ active, un nuevo herbicida de hoja ancha para cereales, cultivos perennes y colza: el primer miembro de una nueva familia química, los arilpicolinatos** 257
 Borja Clemente, Rocio Pericas, Francisco Javier García Domínguez, Ignacio González, Dominique Larelle
- O3.4. ¿Cómo integrar el manejo de biotipos resistentes en los DSS? El caso de la versión española del CPOWeeds** 263
 Jose María Montull, Per Rydahl, Ole M. Boejer, Andreu Taberner
- O3.5. Distribución de poblaciones resistentes de *Echinochloa* spp. a herbicidas inhibidores de la ALS y ACCasa en Extremadura** 269
 Yolanda Romano, Fátima Mendoza, José Antonio Palmerin, José María Quiles, Ignacio Amaro, María Dolores Osuna
- O3.6. Efecto del glifosato en la expresión génica de la ruta del siquimato en *Amaranthus palmeri*** 275
 Manuel Fernández-Escalada, Ainhoa Zulet-González, Miriam Gil-Monreal, Ana Zabalza, Mercedes Royuela
- P3.1. ¿Dosis o eficacia?** 281
 Jose María Montull, Andreu Taberner
- P3.2. Evaluación de distintos herbicidas en el control de teosinte en cultivos diferentes al maíz** 287
 Gabriel Pardo, Santiago Fuertes, Ana Isabel Marí, Joaquín Aibar, Alicia Cirujeda
- P3.3. Respuesta a glifosato de seis especies de malas hierbas dicotiledóneas de maíz en Castilla y León** 293
 María Concepción Escorial, Andrés Pérez-Fernández, Iñigo Loureiro, María Cristina Chueca
- P3.4. Comportamiento químico del herbicida profoxidim y su formulado AURA. Efecto en *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.** 299
 Pilar Sandín-España, Mercedes Villarroja-Ferruz, Carmen López-Goti, María José Patiño-Ropero, José Luis Alonso-Prados, María Inés Santín-Montanyá
- P3.5. Evaluación de la posible fitotoxicidad de una aplicación de glifosato en los días previos y posteriores a la siembra de la cespitosa *Lolium perenne*** 305
 Diego Gómez de Barreda, María Alcántara, Verónica De Luca
- P3.6. Evaluación de la eficacia y fitotoxicidad de herbicidas de post-emergencia en habas** 309
 Cristina Alcántara, Verónica Pedraza, Milagros Saavedra, Alejandro Castilla, Francisco Perea

P3.7.	Prueba de tolerancia de quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>) a varios herbicidas Irache Garnica, Juan Antonio Lezáun, Angel Santos, Joaquín Garnica	315
P3.8.	Selectividad herbicida para un nuevo cultivo: el tritordeum María Teresa López-Buisan, Alicia Cirujeda, Gabriel Pardo, Ana Isabel Marí, Joaquín Aibar	319
P3.9.	La sobreexpresión del gen <i>ALDH7B4</i> alivia los efectos provocados por herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos Miriam Gil-Monreal, Ana Zabalza, Tagnon D. Missihoun, Dorothea Bartels, Mercedes Royuela	325
P3.10.	Efecto del glifosato y de diferentes intermediarios metabólicos en la regulación de la ruta del siquimato Ainhoa Zulet-González, Manuel Fernández-Escalada, Miriam Gil-Monreal, Ana Zabalza, Mercedes Royuela	331
P3.11.	Uso de marcadores moleculares para la caracterización de malas hierbas del cultivo del arroz en Extremadura: <i>Echinochloa</i> spp. y <i>Leptochloa</i> spp. Yolanda Romano, Fátima Mendoza, José Antonio Palmerín, José María Quiles, Ignacio Amaro, María Dolores Osuna	337
P3.12.	Prospección de especies de malas hierbas del género <i>Conyza</i>, respuesta a glifosato y caracterización molecular en zonas de Extremadura Ignacio Amaro, Yolanda Romano, Fátima Mendoza, María Dolores Osuna	343
P3.13.	Primera dicotiledónea caracterizada en España con resistencia metabólica y de sitio de acción a inhibidores de la ALS: <i>Papaver rhoeas</i> Jordi Rey-Caballero, Julio Menéndez, María Dolores Osuna, Marisa Salas, Joel Torra	349
P3.14.	Metabolismo mediado por citocromo P450 en biotipos de <i>Papaver rhoeas</i> resistentes a auxinas sintéticas Joel Torra, Jordi Rey-Caballero, Aritz Royo-Esnal, Marisa Salas	355
P3.15.	Caracterización de la resistencia al herbicida nicosulfuron en una población de <i>Setaria adhaerens</i> en el cultivo de maíz María Concepción Escorial, María Cristina Chueca, Iñigo Loureiro	361

Sesión 4

MALHERBOLOGÍA ECO-INNOVADORA

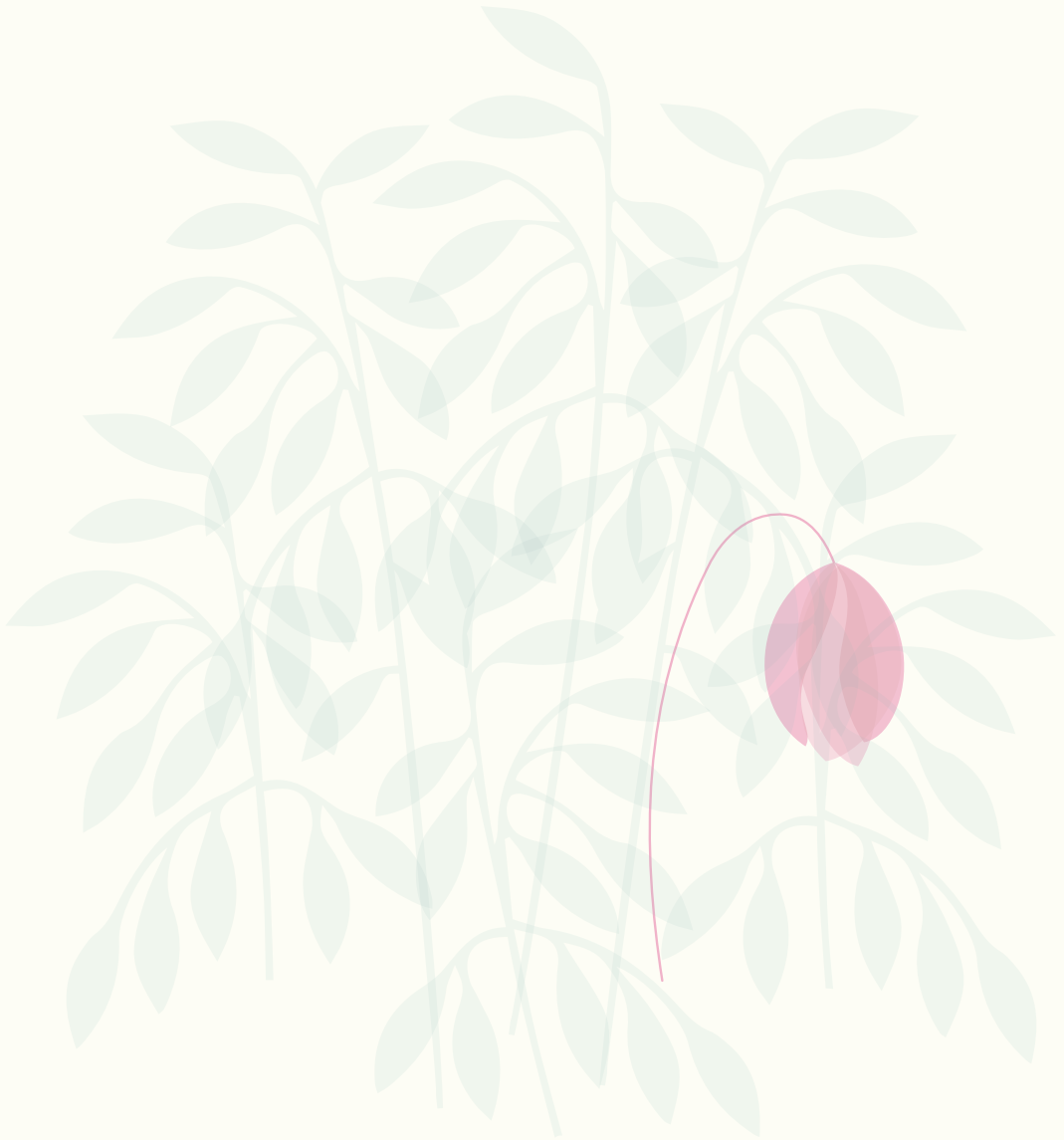
O4.0.	Weed seed control at harvest: preliminary results Judith Barroso, Carolina San Martín, Jennifer A. Gourlie	369
O4.1.	Últimos avances en tecnologías para una gestión sostenible de las malas hierbas César Fernández-Quintanilla, José Dorado, Dionisio Andújar, José María Peña, Angela Ribeiro, Ana Isabel de Castro, Francisca López-Granados	375
O4.2.	Herbicidas alternativos en viña ecológica Glòria Roig, Jose María Montull, Josep María Llenes, Andreu Taberner	381
O4.3.	Influencia de un tapiz de musgos de olivar sobre la evaporación del agua del suelo Milagros Saavedra, Susana Rams, Francisco Orgaz, Sivan Ben Sasson	385
O4.4.	METEO: Una herramienta informática para la optimización en tiempo real de las medidas de control del vallico (<i>Lolium rigidum</i>) en cereales José Luis González-Andújar, Lidia Molero, María de los Ángeles Ruiz de Aldana, Jordi Izquierdo, Fernando Bastida, Pilar Martínez	391

O4.5.	Cartografía de <i>Cynodon dactylon</i> en viñedo mediante imágenes UAV y tecnología OBIA para un uso sostenible y localizado de herbicidas	395
	Ana Isabel de Castro, José Manuel Peña, Jorge Torres-Sánchez, Francisco M. Jiménez-Brenes, Jordi Recasens, Francisco Valencia, Francisca López-Granados	
O4.6.	Modelización 3D de malas hierbas en cultivos de maíz mediante fotogrametría digital automatizada	401
	Dionisio Andújar, Mikel Calle, José Manuel Peña, Ángela Ribeiro, César Fernández-Quintanilla, José Dorado	
P4.1.	Detección temprana de malas hierbas dentro y fuera de la línea de cultivo mediante imágenes-UAV y modelos 3D	407
	Jorge Torres-Sánchez, Francisca López-Granados, Ana Isabel de Castro, Francisco Manuel Jiménez-Brenes, José Manuel Peña	
P4.2.	Generación de mapas de malas hierbas en viñedos con cubierta vegetal utilizando una cámara SLR	413
	Karla Cantuña, Dionisio Andújar, Jordi Recasens, Francisco Valencia, José María Bengochea-Guevara y Ángela Ribeiro	
P4.3.	Optimización de la cartografía de malas hierbas mediante técnicas geoestadísticas y tele-detección con UAV	419
	Monserrat Jurado Expósito, Ana Isabel de Castro, Jorge Torres Sánchez, Francisco M. Jiménez-Brenes, Francisca López-Granados	
P4.4.	Principales variables para la detección de plántulas de amapola (<i>Papaver rhoeas</i>) en imágenes tomadas con un vehículo aéreo no tripulado	425
	José M. Peña, Ana Isabel de Castro, Jorge Torres-Sánchez, Francisco M. Jiménez-Brenes, Francisco Valencia, Francisca López-Granados	
P4.5.	MalezappUS-Comparator. Nueva herramienta de ayuda para la identificación de malas hierbas	431
	Carlos Sousa, José María Urbano	
P4.6.	MalezappUS Quiz: una nueva <i>app</i> lúdico-docente para el entrenamiento de la identificación de plántulas de malas hierbas	437
	Orly Enrique Apolo-Apolo, Julián Alberto García García, Jose María Urbano	
P4.7.	La evaluación del desarrollo inicial de plántulas contribuye a la determinación de la potencialidad bioherbicida de aceites e hidrolatos de especies aromáticas	443
	Lucía Torres, Antonio Rigueiro, Elvira A Díaz Vizcaíno	
P4.8.	Evaluación de la potencialidad bioherbicida de orégano, romero y tomillo sobre la germinación de <i>Rumex obtusifolius</i> L. y <i>Spergula arvensis</i> L.	449
	Lucía Torres, Elvira A. Díaz-Vizcaíno, Antonio Rigueiro	
P4.9.	Environmental impact and energy demand comparison of vineyard by the life cycle assessment methodology	455
	Priya Devasirvatham, Carles M. Gasol, José Dorado, César Fernández-Quintanilla	
P4.10.	Las (malas) hierbas como elemento publicitario en el ámbito turístico y comercial	461
	Jordi Recasens	
	ÍNDICE DE AUTORES	467

Sesión 1

BIOLOGÍA Y AGROECOLOGÍA

O1.1. <i>Amaranthus palmeri</i> en Cataluña y Aragón. ¿Tres poblaciones con un mismo origen?	15	P1.1. Emergencia de poblaciones de <i>Echinochloa crus-galli</i> de diferente origen	51
O1.2. Profundidades óptimas y máximas para la emergencia de teosinte	21	P1.2. Persistencia de determinadas especies arvenses según sus caracteres funcionales en sistemas cerealistas	57
O1.3. Ensayo del Grupo de Trabajo de Biología y Agroecología de la SEMh: emergencia y desarrollo de <i>Avena sterilis</i> , <i>Centaurea diluta</i> , <i>Chrysanthemum segetum</i> , <i>Lolium rigidum</i> y <i>Ridolfia segetum</i>	27	P1.3. Redes neuronales artificiales para modelizar la emergencia de malas hierbas	63
O1.4. Evaluación de los cambios en la flora espontánea en Portugal para un periodo de 10 años. Proyecto ValBioTecCynara	33	P1.4. Cuantificación de parámetros térmicos vinculados con los cambios en el nivel de dormición y germinación de <i>Chloris virgata</i>	69
O1.5. Morphological, and genetic characterization of <i>Abutilon theophrasti</i> accessions across a geographic gradient	39	P1.5. Validación de modelos termales de la emergencia de <i>Abutilon theophrasti</i> en maíz	75
O1.6. Avances en la caracterización de dos genes candidatos que confieren rasgos de maleza al arroz maleza colombiano	45	P1.6. <i>Pennisetum setaceum</i> , planta invasora en expansión	81
		P1.7. Importancia de la autopolinización en <i>Digitaria sanguinalis</i>	85
		P1.8. Control materno del comportamiento anual <i>vs.</i> bienal de la progenie a través del momento de dispersión de los achenios en <i>Pallenis spinosa</i> (Asteraceae)	91
		P1.9. Diversidad genética del arroz maleza colombiano	97
		P1.10. La interrelación entre la riqueza de arvenses y la fertilización condiciona la proteína del grano del trigo	101
		P1.11. Efecto a largo plazo de diferentes sistemas de laboreo sobre la biomasa de malas hierbas en una rotación cereal-leguminosa	107
		P1.12. Problemas de malas hierbas de los arrozales de Ross-Béthio (Senegal)	111
		P1.13. The role of weeds in field margins in supporting wild pollinators in Mediterranean cereal agroecosystems	117



Amaranthus palmeri en Cataluña y Aragón ¿Tres poblaciones con un mismo origen?

Jordi Recasens^{1✉}, María Dolores Osuna² Aritz Royo-Esna¹, Joel Torra¹

¹Agrotecnio. ETSEA. Universitat de Lleida. Avda. Rovira Roure 191. 25198-Lleida,

²Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX). Ctra A-V, km 372. 06187. Guadajira. Badajoz
✉ jrecasens@hbj.udl.cat

Resumen: Se analiza mediante marcadores moleculares la posibilidad de parentesco de tres poblaciones de *Amaranthus palmeri* presentes desde 2007 en Cataluña y Aragón. A su vez se han realizado ensayos de germinación (porcentaje y velocidad) y comparado con otras especies de *Amaranthus* locales. Las tres poblaciones de *A. palmeri* se diferencian de las especies locales por mostrar una mayor velocidad de germinación a temperaturas óptimas (25/35°C) y posibilidades de germinar incluso a temperaturas <20°C (constantes y en ausencia de luz). Los análisis moleculares indican un nivel de similitud de un 75% entre las tres poblaciones, siendo superior a un 86% para dos de ellas. Estos resultados reflejan la posibilidad de parentesco de las tres poblaciones derivado de un mismo proceso de introducción y una mayor plasticidad germinativa que otras especies locales de *Amaranthus*.

Palabras clave: análisis molecular, germinación, mala hierba exótica, invasora, parentesco.

1. INTRODUCCIÓN

Amaranthus palmeri S. Watson es una de las especies más nocivas de los cultivos de la parte meridional de Estados Unidos y México (Ward, et al., 2013), no solo por su capacidad competitiva sino también por su capacidad de desarrollar resistencia a distintos grupos de herbicidas (Heap, 2017). Su rápida expansión geográfica por otros continentes ha disparado la alarma por su alta capacidad de invasión. A nivel europeo, la EPPO la ha incluido de forma reciente en la «Alert List», lista donde se relacionan aquellos organismos sobre los que hay alarma precoz o, eventualmente, necesidad de establecer protocolos de «Pest Risk Assessment» (EPPO, 2017). El año 2007 se observaron dos poblaciones de esta especie en la provincia de Lleida (Menàrguens y Lleida) y otra en la de Huesca (Binéfar) estando hoy aún presentes allí donde fueron observadas por primera vez (Recasens y Conesa, 2011). Solamente la población de Menàrguens se encuentra dispersa entre campos de cultivo y márgenes adyacentes; las poblaciones de Lleida y Binéfar corresponden a individuos presentes solamente en cunetas de la carretera. La presencia de estas tres poblaciones, distantes entre ellas menos de 50 km, nos ha planteado la posibilidad de averiguar si se trata de poblaciones con distintos procesos de introducción o bien puede tratarse de un caso de introducción única y derivada en una posterior dispersión antrópica, mediante maquinaria o material agrícola. Las tres poblaciones se hallan próximas a áreas industriales donde existen empresas con una intensa actividad dedicada a la importación de grano y elaboración de piensos.

La reciente presencia de estas tres poblaciones en la zona constituye un interesante escenario para poder verificar la hipótesis de una única introducción y su posterior expansión por el territorio, proceso que solo podría confirmarse si se comprobara un alto nivel de parentesco entre ellas. A su vez, la capacidad de expansión y persistencia de estas poblaciones estará determinado, entre otros aspectos, por su facilidad de dispersión y requerimientos germinativos de las semillas. Con este fin se ha realizado un doble estudio, a nivel molecular y germinativo, para discernir sobre a) el posible parentesco entre las tres poblaciones de *A. palmeri* y b) posibles diferencias en cuanto comportamiento germinativo respecto a otras especies locales de *Amaranthus*.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal. En otoño de 2013 se recogieron semillas de las tres poblaciones de *A. palmeri* (Lleida, Menàrguens y Binéfar) así como de poblaciones locales de *A. retroflexus*, *A. hybridus*, *A. viridis* y *A. powellii* en la misma u otras localidades próximas. Una vez en laboratorio, las semillas de las siete poblaciones fueron limpiadas, verificada su viabilidad mediante el test de tetrazolio y estimado el peso de 1000 semillas.

2.2. Ensayos de germinación. Se realizaron dos ensayos distintos de germinación. En el primero de ellos se sometieron las semillas a distintas temperaturas constantes (5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29 y 32°C) y a dos condiciones de luz distintas: fotoperiodo 12/12h y oscuridad. En el segundo ensayo se ubicaron las semillas a tres intervalos térmicos distintos (10/20°C; 15/25°C y 25/35°C) y a dos condiciones de luz: fotoperiodo de 12/12h y oscuridad. Para cada situación y población se ubicaron 25 semillas en una placa de Petri con agar. Se realizaron 4 repeticiones de cada ensayo. De forma diaria, y hasta los 21 días, se estimó el número de semillas germinadas, considerando como tales aquéllas que mostraban una longitud mínima de 2mm de radícula. Los parámetros analizados han sido porcentaje de germinación y el coeficiente de velocidad de germinación estimado como:

$$T = \sum (N_i * D_i) / \sum N_i$$

donde N_i es el número de semillas germinadas el día D_i , y D_i el número de días transcurridos desde la siembra. Valores bajos de T indican una mayor velocidad de germinación. Para el análisis estadístico se ha realizado un ANOVA y el test de Tukey (a un nivel del 95%).

2.3. Análisis molecular. Diez individuos de cada una de las poblaciones recogidas en campo, fueron puestas a germinar en condiciones de invernadero. El ADN de estos individuos, a partir de hojas jóvenes, fue extraído utilizando el kit comercial DNeasy® Plant Mini Kit (Qiagen).

Para los análisis con marcadores moleculares, se utilizaron siete marcadores de tipo ISSR (Tabla 1), los cuales fueron escogidos entre un grupo de 18 por presentar polimorfismo y un patrón de amplificación claro y reproducible. La mezcla de cada reacción contenía: 10 ng de ADN genómico, 1,5 μ l de tampón de reacción 10x, 0,6 μ l dNTP, 0,2 μ l de cebador y 0,3 μ l de Taq polimerasa (5 unidades/ μ l, Sigma) en un volumen final de 15 μ l. La amplificación se realizó con un programa de 1 ciclo de 5' a 94°C, 40 ciclos de 30" a 94°C, 45" a 52°C y 2' a 72°C, y un ciclo final de 7' a 72°C. La separación de los fragmentos de ADN amplificados por PCR se llevó a cabo mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1 % (p/v) y que se tiñeron con bromuro de etidio. El análisis estadístico de los resultados se realizó utilizando el programa NTSYSpc 2.2 (Rohlf, 1998).

Tabla 1. Secuencia de los ISSR utilizados en este estudio

Nombre	Secuencia
ISSR 2	DBDACACACACACAC
ISSR 6	ACACACACACACACYG
ISSR 7	ATGATGATGATGATGATG
ISSR 11	ATGATGATGATGATGATG
ISSR 13	ACACACACACACACAG
ISSR 14	GGAGAGGAGAGGAGA
ISSR 17	GAGAGAGAGAGAGAT

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Viabilidad y peso 1000 semillas. El test de tetrazolio verificó unos porcentajes de viabilidad, para el conjunto de poblaciones, comprendidos entre el 70 y el 80%. Los valores de peso de 1000 semillas obtenido para las poblaciones de *A. palmeri* (entre 0,33-0,35g) son menores que los de *A. retroflexus* (0,39g) y *A. powellii* (0,47g) y mayores que los de *A. hybridus* (0,30g) y *A. viridis* (0,28g).

3.2. Ensayo de germinación. El ensayo realizado a temperaturas constantes refleja un comportamiento germinativo similar en todas las especies de *Amaranthus* (Tabla 2). Para todas las especies y poblaciones, los máximos porcentajes (superiores a un 90%) se obtienen a la máxima temperatura (32°C) y con fotoperiodo. Sin embargo a temperaturas más suaves, entre los 23° y los 26°C las tres poblaciones de *A. palmeri* muestran unos porcentajes de germinación superiores al 70%, significativamente mayores a los mostrados por el resto de especies –con la excepción de *A. retroflexus*-; y a temperaturas más bajas (entre 14 y 17°C) las tres poblaciones de *A. palmeri* muestran germinaciones entre el 10% y el 30%, -siempre mayores en oscuridad que con fotoperiodo de 12h-, mientras que el resto de poblaciones locales apenas llegan a germinar.

Tabla 2. Porcentajes de germinación de distintas especies de *Amaranthus* a temperatura constante y a dos situaciones de iluminación: Luz: fotoperiodo de 12h; Osc: oscuridad total 24h. M: Menàrguens; B: Binèfar; L: Lleida. Valores con distinta letra muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) según condiciones de luz (Luz vs Osc) para cada especie o población y temperatura considerada

		<i>A. palmeri</i> (M)	<i>A. palmeri</i> (B)	<i>A. palmeri</i> (L)	<i>A. hybridus</i>	<i>A. retroflexus</i>	<i>A. viridis</i>	<i>A. powellii</i>
5°C	Luz	0	0	0	0	0	0	0
	Osc	0	0	0	0	0	0	0
8°C	Luz	0	0	0	0	0	0	0
	Osc	1	1	0	0	0	0	0
11°C	Luz	8	0	1	0	0	0	0
	Osc	2	0	1	0	0	1	1
14°C	Luz	22 a	36 a	10	0	0	8	0
	Osc	54 b	49 b	16	8	6	7	1
17°C	Luz	27 a	5	10 a	0	1	32 a	1
	Osc	36 b	6	22 b	0	6	13 b	0
20°C	Luz	71	31 a	53	15	24	25	3
	Osc	79	45 b	56	15	33	27	13
23°C	Luz	81	82	90 a	59	55	45 a	18
	Osc	83	81	78 b	69	48	18 b	12
26°C	Luz	71	47 a	63	54 a	88	52 a	41
	Osc	70	71 b	70	34 b	85	24 b	47
29°C	Luz	91	75	71	91	99	77 a	90 a
	Osc	84	76	87	83	93	20 b	71 b
32°C	Luz	86	95 a	97 a	99 a	100	98 a	100
	Osc	87	82 b	83 b	90 b	98	48 b	98

En el segundo ensayo de germinación, se constata que ante una alternancia de temperaturas de 25/35°C se alcanza en todas las poblaciones y especies, los mayores valores de germinación (entre 80 y 96%) (Tabla 3). Sin embargo a intervalos inferiores (15/25°C o 10/20°C) –y a excepción de *A. powellii*– la presencia de luz (fotoperiodo de 12h) resulta significativa frente a la oscuridad en favorecer la germinación. No se observan diferencias en el comportamiento germinativo entre las tres poblaciones de *A. palmeri* y el resto, aunque si en el coeficiente de velocidad de germinación, que en condiciones óptimas (25/35°C) resulta más rápido, con valores comprendidos entre 2,6 y 3,1, inferiores a los mostrados por el resto de especies, con valores comprendidos entre 4,6 y 6,3.

Steckel et al. (2004) confirman también una germinación más precoz y más rápida de *A. palmeri* que el resto de especies de *Amaranthus* estudiadas y también un incremento de germinación de *A. palmeri* con temperatura y luz, si bien no observan diferencias entre temperaturas alternas y constantes. Por su parte, Jha et al. (2010) establecen la temperatura base para el desarrollo fenológico de esta especie en 16°C. El establecimiento de un modelo local de germinación y desarrollo permitiría verificar la posible existencia de ecotipos de esta especie, adaptados a nuestras condiciones mediterráneas.

Tabla 3. Porcentaje y velocidad de germinación de distintas poblaciones y especies de *Amaranthus* a distintas condiciones de temperatura y de iluminación. Valores con distinta letra muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) según condiciones de luz para cada especie o población y temperatura considerada

Porcentaje de germinación (%)

Temperatura (°C)	10/20		15/25		25/35	
	12/12h	Oscuridad	12/12h	Oscuridad	12/12h	Oscuridad
<i>A. palmeri</i> Menàrguens	6	4	23	12	85	94
<i>A. palmeri</i> Lleida	0	0	16 a	5 b	96 a	78 b
<i>A. palmeri</i> Binéfar	2 a	0 b	19 a	1 b	93	85
<i>A. hybridus</i>	2 a	0 b	19 a	1 b	93	85
<i>A. retroflexus</i>	30 a	18 b	50	58	98	94
<i>A. viridis</i>	23 a	3 b	65a	7b	91 a	18 b
<i>A. powelli</i>	1 a	0 b	0 a	5 b	77 a	89 b

Velocidad de germinación

Temperatura (°C)	10/20		15/25		25/35	
	12/12h	Oscuridad	12/12h	Oscuridad	12/12h	Oscuridad
<i>A. palmeri</i> Menàrguens	15,6 a	8,7 b	9,5 a	5,4 b	2,4	2,6
<i>A. palmeri</i> Lleida	0	0	13,7 a	2,1 b	2,4	3,1
<i>A. palmeri</i> Binéfar	4,7 a	0 b	12,4 a	1,5 b	3,3	2,6
<i>A. hybridus</i>	1,6 a	0 b	3	3,9	3,7 a	5,6 b
<i>A. retroflexus</i>	10,9 a	2,7 b	5,9	3,9	3,4 a	4,6 b
<i>A. viridis</i>	10,3 a	4,5 b	8,7 a	1,7 b	6,4 a	2,9 b
<i>A. powelli</i>	3,5 a	0 b	0 a	10 b	5,9	6,3

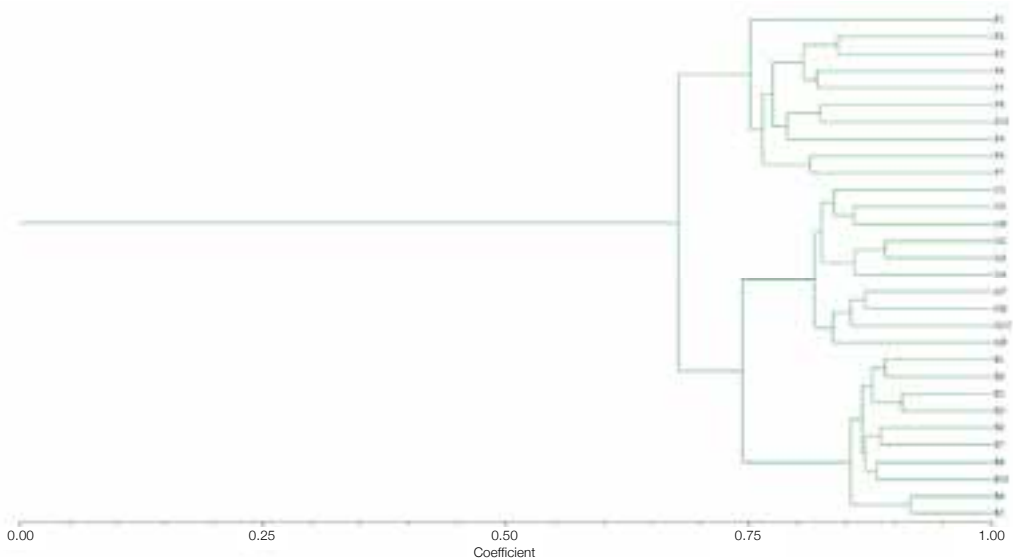


Figura 1. Dendrograma UPGMA mostrando las relaciones moleculares entre los 30 individuos de *A. palmeri* estudiados. P1-P10: individuos procedentes de Lleida; M1-M10: individuos procedentes de Menàrguens; B1-B10: individuos procedentes de Binéfar.

3.3. Análisis molecular. El número total de fragmentos polimórficos obtenido con los siete ISSR utilizados fue 256. A partir de los datos obtenidos se elaboró una matriz de presencia-ausencia. La distancia entre las poblaciones se calculó aplicando el índice de distancia genética de Nei de 1972 y a continuación el método de UPGMA para visualizar el agrupamiento de los distintos materiales.

Como se observa en la figura 1, todas las plantas estudiadas comparten una similitud genética de 0,67, lo cual refleja un 37% de variación genética entre todos los individuos estudiados. Dos grandes grupos fueron observados a un nivel de similitud de 0,75. El primer grupo contenía todos los individuos pertenecientes al material recogido de la zona de Lleida y el segundo grupo al material obtenido en las zonas de Menàrguens y Binéfar. El grupo 2 se separó en dos semigrupos a un nivel de 0,86. Los grupos que se han diferenciado lo han hecho principalmente coincidiendo con el origen geográfico del material estudiado, cosa que apunta a que la formación de estos grupos puede ser debida a un proceso de dispersión de semillas.

El porcentaje de parentesco, analizado mediante marcadores moleculares, entre las tres poblaciones de *Amaranthus palmeri* encontradas en Cataluña y Aragón, apunta la posibilidad de que deriven de una misma población. Ésta pudo haberse introducido con la importación de semillas de cultivo para producción de harina o pienso. Una posterior dispersión antrópica, ligada posiblemente al transporte de mercancías, justificaría la existencia de estas tres poblaciones en sus localidades actuales. La introducción y expansión debió tener lugar hace más de 10 años, tiempo suficiente para que las siguientes generaciones hayan podido desarrollar ecotipos adaptados a las condiciones climáticas de nuestra zona y explicar la persistencia del banco de semillas. A su vez, a temperaturas limitantes (< 20°C) para la mayoría de especies locales de *Amaranthus*, las tres

poblaciones de *A. palmeri* han mostrado germinación, incluso en ausencia de luz. Esta mayor plasticidad en cuanto a requisitos térmicos para que tenga lugar la germinación, parece constituir una de las características de su potencial adaptabilidad.

4. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Fátima Mendoza, del CITYTEX, los análisis realizados en laboratorio a nivel molecular.

5. REFERENCIAS

- EPPO (2017). EPPO Alert List. www.eppo.int/INVASIVE_PLANTS/ias_lists.htm#AlertList. Con acceso el 7-4-2017. París.
- Heap I (2017). The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Acceso el 6-4-2017. Available www.weedscience.com.
- Jha P, Norsworthy JK, Riley MB and Bridges W. (2010). Annual changes in temperature and light requirements for germination of Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) seeds retrieved from soil. *Weed Science*, 58, 426-432.
- Nei M (1972). Genetic distance between populations. *American Naturalist* 106: 283-292.
- Recasens J & Conesa JA (2011). Presencia de la mala hierba *Amaranthus palmeri* en el NE de la Península Ibérica. Una amenaza como potencial invasora de cultivos extensivos de regadío. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas*, 37, 129-132.
- Rohlf FJ (1998). NTSYS-Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System. Exeter Publ., New York.
- Steckel LE, Sprague CL and Stoller EW, Wax LM (2004). Temperature effects on germination of nine *Amaranthus* species. *Weed Science*, 52, 217-221.
- Ward SM, Webster TM and Steckel LE (2013). Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*): A review. *Weed Technology*, 27, 12-27.

***Amaranthus palmeri* in Aragon and Catalonia (Spain). Three populations with the same origin?**

Summary: The parental relationship between three populations of *A. palmeri* presents in Aragon and Catalonia since 2007 has been analysed by molecular markers. At the same time different assessments of germination (percentage and speed) have been made and compared with other local *Amaranthus* species. The three populations of *A. palmeri* showed, at optimal temperatures (25-35°), greater germination speed than local species and capacity also to germinate at < 20°C (at constant temperature and darkness). The analysis by molecular markers reflects a similarity index of 75% between the three populations and an 86% for two of them. These results appointed that the three populations came from the same process of introduction, and as result of an adaptive process show greater germination plasticity than other local species of *Amaranthus*.

Keywords: exotic weed, germination, invasive, molecular analysis, parental relationship.

Profundidades óptimas y máximas para la emergencia de teosinte

Cristina Prado¹, Alicia Cirujeda^{1✉}, Gabriel Pardo¹, Ana Isabel Marí¹,
Santiago Fuertes², Joaquín Aibar³

¹Unidad de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930; 50059 Zaragoza, Spain.

²Centro de Sanidad y Certificación Vegetal. Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza

³Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza).
✉acirujeda@aragon.es

Resumen: Los objetivos de este trabajo fueron los de conocer las profundidades óptimas y máximas de emergencia de la mala hierba invasora *Zea mays* spp. *mexicana* ad. int. (teosinte). Con esta finalidad se llevaron a cabo tres ensayos en invernadero. En los dos primeros se sembraron semillas en macetas a profundidades comprendidas entre 0 y 18 cm a intervalos de 2 cm con dos sustratos y con diferentes poblaciones. En el tercero se utilizaron ambas poblaciones y sustratos entre 10-18 cm. La profundidad óptima de emergencia de teosinte tendió a ser 2 cm para el ensayo con temperaturas mínimas más bajas y de 2 a 14 cm con temperaturas mínimas más elevadas, decreciendo al aumentar la profundidad, y fue mínima para semillas dejadas en superficie. Se produjeron emergencias desde 18 cm de profundidad para ambas poblaciones. Se discuten las implicaciones para el control mecánico de esta especie.

Palabras clave: planta invasora, biología. *Zea mays* spp. *mexicana*.

1. INTRODUCCIÓN

En agosto 2014 se notificó al Centro de Sanidad y Certificación Vegetal (CSCV) y al Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA) la presencia de una nueva mala hierba en campos de maíz (Diputación General de Aragón, DGA, 2004). La planta fue identificada como teosinte, *Zea mays* spp. *mexicana* ad int, planta originaria de México y considerada como uno de los ancestros del maíz. Dentro de los campos de cultivo de maíz esta planta se comporta como una mala hierba muy competitiva, en condiciones mexicanas puede reducir la cosecha hasta un 60% dependiendo de la densidad de infestación (Balbuena et al., 2009). Uno de los primeros objetivos frente a la problemática existente es el de conocer la biología de esta especie en las condiciones locales. Los objetivos del presente trabajo son estudiar la profundidad óptima de emergencia, así como averiguar desde qué profundidad máxima es capaz de emerger esta especie. Estos datos son necesarios para poder planificar un manejo del suelo de las parcelas infestadas que por un lado favorezca la nascencia de estas plantas para eliminar las plantas emergidas o, por el contrario, se pueda plantear una estrategia de enterrado único para colocar las semillas en posiciones desfavorables durante un tiempo pretendiendo que dejen de ser viables.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos se llevaron a cabo en las siguientes fechas: el primero se realizó en los meses de abril y mayo, el segundo entre junio y julio, y el tercero entre agosto y septiembre del 2015. Se utilizaron dos tipos de sustrato: turba mezclada con tierra local (franco-arcillosa) y arena. Las macetas utilizadas fueron de 18x18x25. Una vez rellenas con sustrato hasta la profundidad correspondiente, se colocaron 10 semillas de teosinte y se relleno el resto del recipiente con más sustrato. Las macetas fueron colocadas en invernadero sin control de temperatura y regadas a demanda.

El primer y segundo ensayo se llevaron a cabo a profundidades de 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 y 18 cm utilizando, en el primero de ellos, semillas procedentes de una población de Candasnos (Huesca) y en el segundo, de Torralba de Aragón (Huesca). En el tercer ensayo se emplearon semillas de ambas localidades para tener en cuenta el posible efecto de la población sobre la emergencia y solo se consideraron las profundidades de 10, 12, 14, 16, 18 cm. En todos los ensayos se realizaron tres repeticiones (macetas) por tratamiento que se colocaron al azar en una mesa del invernadero. Los ensayos se sembraron el 16 de abril, 26 de junio y 28 de agosto de 2015, respectivamente. Se anotaron las emergencias diariamente y se dio por concluido el ensayo a los 42, 25 y 35 días después de iniciarlos, cuando habían pasado más de 7 días sin apreciarse nuevas emergencias.

El invernadero carecía de calefacción pero se puso en marcha un sistema de refrigeración para no superar los 25°C. Se anotaron las temperaturas máximas y mínimas diarias.

Se comprobó la normalidad de los datos así como la distribución de la varianza (Minitab v. 13) y se transformaron cuando fue necesario mediante $x^{0.3}$ y x^2 para los ensayos 1 y 2, respectivamente. Posteriormente se sometieron a un análisis de varianza. La separación de medias mediante el test Student-Newman-Keuls (SNK) se realizó agrupando aquellas variables que no habían mostrado ser significativas, es decir el tipo de sustrato en ensayos 1 y 2 y la población para el ensayo 3.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Temperaturas máximas y mínimas. Las temperaturas máximas y mínimas diarias durante la primera semana de establecimiento de los ensayos variaron de un ensayo a otro (Tabla 1). La temperatura máxima, regulada en el invernadero a partir de mayo fue algo superior para el primer ensayo, ya que se registraron valores elevados algunos días antes de encender el sistema de refrigeración. La temperatura mínima fue más baja para el primer ensayo que para los siguientes.

Tabla 1. Temperaturas máximas y mínimas diarias medias para la primera semana de implantación de los ensayos en invernadero (°C)

Ensayo	Temperatura máxima	Temperatura mínima
1	33 ± 2.1	14 ± 0.6
2	27 ± 0.4	19 ± 0.5
3	26 ± 0.8	18 ± 0.3

3.2. Profundidades óptimas y máximas de emergencia. En los ensayos 1 y 2 no hubo diferencias significativas debidas al sustrato utilizado por lo que se han analizado los resultados considerando los valores medios de emergencia sobre ambos sustratos (Fig. 1).

Se observaron emergencias más elevadas en el ensayo 2 comparado con el ensayo 1 (Fig. 1). Ambas poblaciones fueron capaces de emerger desde los 18 cm de profundidad pero la población sembrada más tarde (segundo ensayo) lo hizo de forma mucho más abundante, especialmente para mayores profundidades. En el primer ensayo la profundidad óptima de emergencia pareció

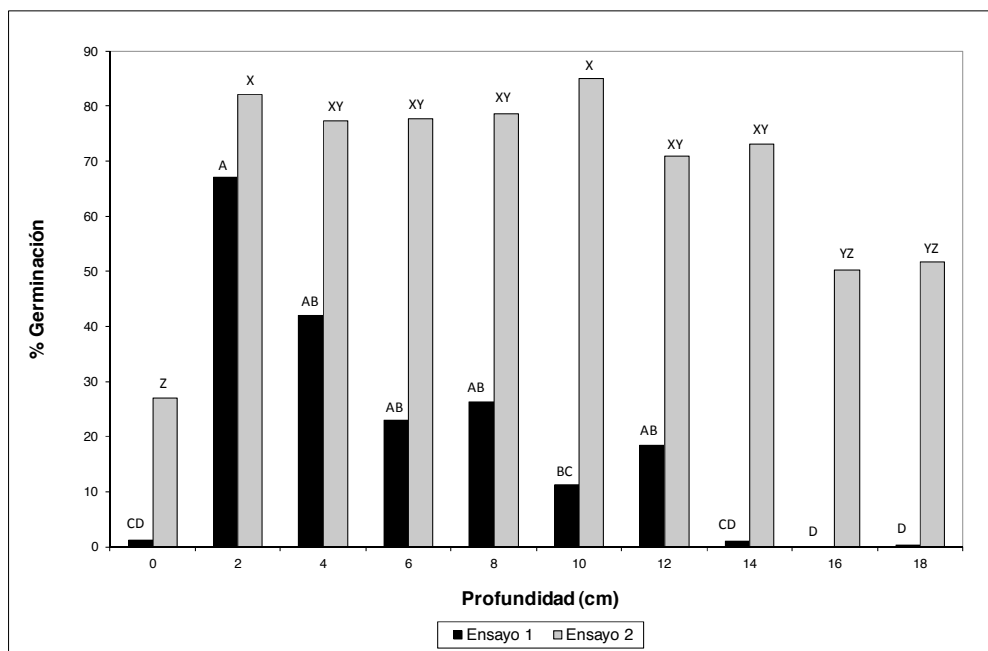


Figura 1. Germinación de teosinte (%) dependiendo de la profundidad en los dos primeros ensayos. Medias de los dos sustratos ensayados retransformadas. Ensayo 1: población Candasnos, siembra 16/04/2015; ensayo 2: población Torralba, siembra 26/06/2015. Letras diferentes se refieren a diferencias significativas entre profundidades para cada ensayo por separado según test de separación de medias de Student-Newman-Keuls con $p < 0.05$.

ser la de 2 cm desde la que germinaron cerca de 70% de las semillas aunque estadísticamente no difirió con 4, 6, 8 y 12 cm; en el segundo ensayo lo fueron las profundidades de 2 hasta 14 cm. En ambos ensayos apenas se produjeron emergencias en las semillas dejadas en superficie de suelo y solo germinaron aquellas que fueron parcialmente enterradas por pequeños movimientos de sustrato causados por el riego, lo cual es posiblemente una estrategia germinativa propia de esta especie.

El hecho de haber utilizado poblaciones diferentes en ambos ensayos motivó la duda de un posible efecto de la población en la emergencia o si el factor más influyente podría ser una respuesta a mayor temperatura en el segundo ensayo, el cual fue realizado un mes más tarde. En el tercer ensayo realizado con ambas poblaciones se encontró el factor población no significativo, confirmando la hipótesis de que las diferencias fueron probablemente ocasionadas por las temperaturas mínimas y no por el origen de las semillas. En este tercer ensayo, en cambio, fue significativa la interacción población x sustrato, por lo que se presentan los resultados separados para cada sustrato (Fig. 2).

En este ensayo se sigue observando - aunque únicamente para el sustrato de tierra mezclada con turba - una mayor emergencia para semillas colocadas hasta los 14 cm de profundidad decreciendo posteriormente, como se observó en el ensayo 2 (Fig. 1), siendo la germinación de las semillas colocadas a 18 cm significativamente menores para las profundidades de 10-14 cm. No obstante para el sustrato de arena se observa una menor emergencia a los 16 cm pero unas germinaciones muy similares entre ellas desde el resto de profundidades (Fig. 2).

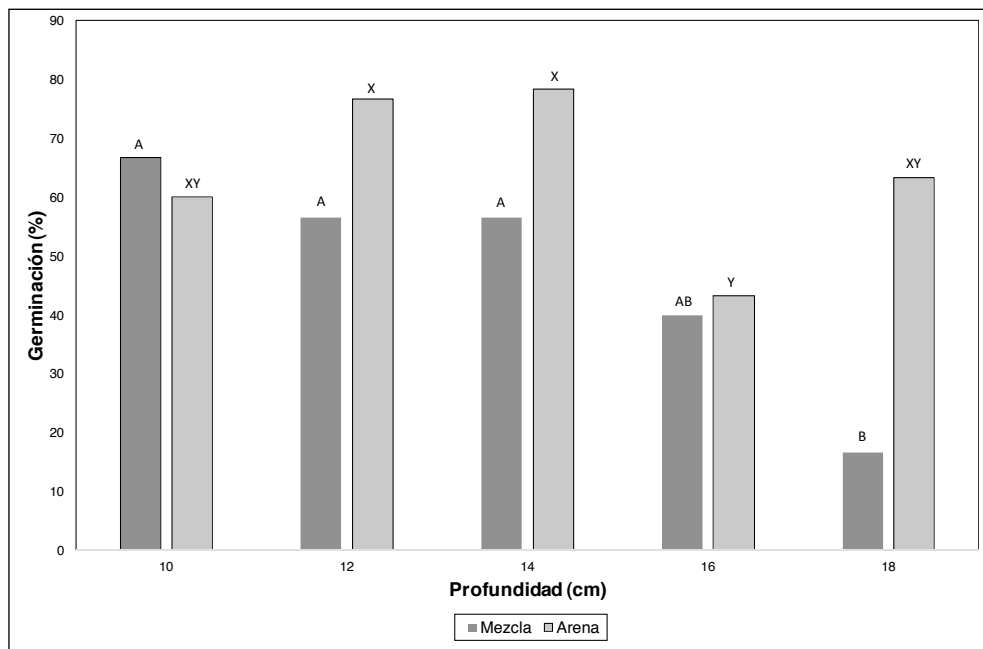


Figura 2. Germinación de teosinte (%) dependiendo de la profundidad y del sustrato empleado en el tercer ensayo, sembrado el 28/08/2015. Media para las dos poblaciones ensayadas. Letras diferentes se refieren a diferencias significativas entre profundidades para cada sustrato por separado según test de separación de medias de Student-Newman-Keuls con $p < 0.05$.

Por lo tanto, el teosinte fue capaz de emerger desde mayores profundidades en condiciones de mayor temperatura, especialmente en sustrato arenoso, mostrando emergencias elevadas incluso desde 18 cm de profundidad. En las condiciones más frescas la profundidad óptima tendió a ser 2 cm y entre 2 hasta 14 cm para situaciones con más calor. En el tercer ensayo se confirmó que a igualdad de temperaturas la emergencia fue superior al 50% para ambas poblaciones desde 10 hasta 16 cm decreciendo para 18 cm en caso de sustrato más pesado.

3.3. Consecuencias para el manejo de teosinte. Las estrategias de control de esta mala hierba deben de tener en cuenta estos resultados. Por un lado, la falta de emergencia de semillas dejadas en superficie sugiere que una siembra directa de algún cultivo no sea una técnica que contribuya en agotar el banco de semillas sino que puede provocar la entrada en dormición de las semillas de teosinte. El laboreo en capas superficiales del suelo puede ser útil con la finalidad de promover la emergencia. Para realizar un efectivo retraso de siembra debe de tenerse en cuenta que se producen emergencias desde mayores profundidades a mayor temperatura. Por lo tanto, se debe de esperar a que se produzcan temperaturas elevadas y abundantes emergencias antes de eliminar dichas plántulas y sembrar un nuevo cultivo. En cuanto a la posibilidad de voltear el suelo y colocar las semillas en posiciones desfavorables para la germinación para promover su podrición, cabe decir que es necesario realizar ensayos complementarios en los que estudiar la posibilidad de emergencia desde mayores profundidades. Los resultados de los presentes ensayos muestran que en determinadas circunstancias de temperaturas elevadas y sustrato arenoso pue-

den producirse importantes emergencias desde 18 cm de profundidad, por lo que el enterrado debería ser hasta profundidades superiores a ésta.

Por ello, se propone que, en caso de nuevas infestaciones de campos de maíz con teosinte se lleve a cabo o bien a) un laboreo muy profundo (superior a 18 cm, aunque falta determinar cuál es la profundidad máxima a partir de la cual ya no pueden germinar) para dejar las semillas en una zona desfavorable para su germinación y no volver a repetir laboreo en varios años o bien b) realizar un laboreo superficial con temperaturas ya elevadas en capas de menos de 18 cm de profundidad para promover la germinación, mediante riego, de las semillas y posterior eliminación de las plántulas.

4. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de Fernando Arrieta, José Ángel Alins y Javier de Miguel. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto E-RTA2014-00011-C02 y C. Prado ha recibido una beca SEMh para la realización de su Proyecto Final de Grado que incluye este ensayo.

5. REFERENCIAS

- Balbuena A, González A, Pérez DJ, Franco AL and Sánchez S. (2009). Germinación y emergencia del teocintle con otras especies cultivables. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. XXX Congreso de la ASOMECEMA, Culiacán, Sinaloa, México, del 19 al 23 de octubre de 2009.
- DGA (2004). http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/AgriculturaGanaderia-MedioAmbiente/TEMAS_AGRICULTURA_GANADERIA/Areas/03_Sanidad_Vegetal/PUBLICACIONES_CSCCV/I_F_TEOSINTE.pdf.

Optimum and maximum depth for teosinte emergence

Summary: The aims of this work were to find out the optimum and maximum depth for emergence of the invasive weed *Zea mays* spp. *mexicana* ad. int. (teosinte). With this purpose three trials were established in greenhouse. In the two first ones, seeds were sown in pots at the depth of 0-18 cm in 2 cm intervals using two substrates and with different populations in each trial. In the third experiment both populations and substrates were used and sown between 10-18 cm. The optimum emergence of teosinte tended to be 2 cm for lower minimum temperatures and for 2 to 14 cm for higher minimum temperatures, decreasing with increasing depth being very low for seeds placed on the substrate surface. Emergence since 18 cm were recorded for both populations. Implications for mechanical control of this species are discussed.

Keywords: invasive plant, biology, *Zea mays* spp. *mexicana*.

Ensayo del Grupo de Trabajo de Biología y Agroecología de la SEMh: emergencia y desarrollo de *Avena sterilis*, *Centaurea diluta*, *Chrysanthemum segetum*, *Lolium rigidum* y *Ridolfia segetum*

Aritz Royo-Esnal¹, María Concepción Escorial², Ana Isabel Marí³, Fernando Cordero⁴, Manuel Vargas⁵, Milagros Saavedra⁶, Juan Antonio Lezáun⁷, José Antonio Paramio⁸, Carlos Sousa⁹, Jordi Izquierdo¹⁰, José Luis Fernández¹¹, Joel Torra¹, José María Urbano⁹

¹Dpt d'Hortofruticultura, Botànica i Jardineria, ETSEA, Agrotecnio, Universitat de Lleida, Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida

²Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Depto. Protección Vegetal, Lab. Malherbología, Ctra. La Coruña km 7,5, Madrid.

³Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA), Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza.

⁴Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Finca Experimental La Higuera, Santa Olalla, Toledo

⁵Field Trial Services Agroconsulting, P.I. Platino s/n, Edif. Delios p. 1, mod. 22, 41909, Salteras, Sevilla.

⁶Protección de Cultivos, IFAPA Alameda del Obispo, Avda. Menéndez Pidal s/n, 14080, Córdoba

⁷INTIA, Edif. Peritos, Avda. Serapio Huici 22, 31610, Pamplona, Navarra

⁸AIMCRA, c/ Villabáñez 201, 47012, Valladolid

⁹Depto. Ciencias Agroforestales, Universidad de Sevilla, Ctra. De Utrera km 1, 41013, Sevilla

¹⁰Dpt. Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya, Esteve Terradas 8, 08860, Castelfel·ls, Barcelona

¹¹ADAMA Agriculture España SA, Méndez Álvaro 20, 5ª planta, 28045, Madrid

✉ aritz@hbj.udl.cat

Resumen: En este trabajo presentamos los primeros resultados de emergencia de cinco especies malas hierbas preocupantes en España: *Avena sterilis* L., *Centaurea diluta* Ait., *Chrysanthemum segetum* L., *Lolium rigidum* G. y *Ridolfia segetum* L. Se sembraron semillas de estas especies en 13 localidades diferentes distribuidas por toda España. Para cada especie se utilizaron 100 semillas y hubo cuatro repeticiones. La siembra se realizó tras remover el suelo de 0 a 2 cm de profundidad, salvo en *A. sterilis* (de 0 a 10 cm), en marcos de plantación divididos en seis celdas, uno de testigo, de 0,25 x 0,25 m². Se realizaron muestreos de emergencia en intervalos de entre 2 y 7 días. Los resultados muestran que las especies más precoces fueron *C. diluta* y *L. rigidum*, seguidas por *A. sterilis*. Estas tres especies fueron también las que presentaron mayores porcentajes de emergencia.

Palabras clave: malas hierbas preocupantes, semillas, días después de la siembra, grados hidrotérmicos.

1. INTRODUCCIÓN

El estudio de la emergencia y el crecimiento de las malas hierbas es fundamental para entender la dinámica de poblaciones de las malas hierbas (Forcella et al., 2000) y establecer programas de manejo integrado, principalmente en lo referido a momentos de aplicación de métodos de control (químico o mecánico) (González-Andújar et al., 2016a). El conocimiento de los momentos adecuados para una intervención puede servir para optimizar el control (González-Andújar et al., 2016b), aumentando la efectividad del manejo, a la vez que, en algunos casos, puede prolongar en cierta medida la vida útil de determinados herbicidas al retrasar la aparición de resistencias (Rey-Caballero et al., 2017).

El grupo de Biología y Agroecología de Malas hierbas (BAMh) de la SEMh se creó con el fin de estudiar los aspectos biológicos de las malas hierbas y poder encontrar, en cada especie, características biológicas que puedan ser de utilidad de cara a su control. En verano de 2016 se coordinaron varios grupos de investigación (universidades, centros de investigación y empresas)

para establecer un experimento común cuyo objetivo era estudiar la emergencia y el crecimiento de cinco especies de malas hierbas (*Avena sterilis*, *Centaurea diluta*, *Chrysanthemum segetum*, *Lolium rigidum* y *Ridolfia segetum*). Las especies se seleccionaron según su importancia como malas hierbas en los cultivos de España.

En esta comunicación se presentan datos preliminares de la emergencia de estas cinco especies seleccionadas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Las semillas de las cinco especies seleccionadas fueron recogidas en julio de 2016, procedentes cada una de ellas de una sola población: Cubells – Lleida (*A. sterilis*), Sevilla (*C. diluta*), Sevilla (*C. segetum*), Solsona – Lleida (*L. rigidum*) y Sevilla (*R. segetum*). Las semillas, una vez secadas a temperatura ambiente durante una semana, se almacenaron a 4°C.

En septiembre de 2016 las semillas se distribuyeron entre los 11 grupos participantes: Asociación de Investigación para la Mejora del Cultivo de la Remolacha Azucarera (AIMCRA) de Valladolid, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria (CITA) de Zaragoza, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en Toledo, Field Trial Services Agroconsulting (FTS) en Sevilla, ADAMA en Sevilla, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera (IFAPA) de Córdoba, Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) en Madrid, Instituto Navarro de Tecnologías e Infraestructuras Agroalimentarias (INTIA) de Pamplona, Universidad de Sevilla, Universitat de Lleida y la Universitat Politècnica de Catalunya en Barcelona. Cada grupo sembró, entre octubre y noviembre de 2016, 100 semillas de cada especie en marcos de madera de 0,75 m × 0,50 m divididos en seis celdas de 0,25 m × 0,25 m (una celda por especie y un testigo, Fig. 1). La siembra se realizó distribuyendo a azar las semillas en las celdas correspondientes y realizando una remoción del suelo hasta una profundidad de dos cm (10 cm en el caso de *A. sterilis*). Se instalaron cuatro marcos (cuatro repeticiones)



Figura 1. Marcos de madera divididos en seis celdas (una por especie + testigo) con cuatro repeticiones en Valladolid (izquierda) y en Madrid (derecha).

directamente en el suelo y se realizaron muestreos periódicos del número de emergencias cada 2-7 días. Los marcos se cubrieron con una malla para evitar la depredación de las semillas.

En cada localidad se colocó un datalogger para registrar la temperatura y la humedad del suelo a dos cm de profundidad, datos que se utilizarán en un futuro para el desarrollo de modelos predictivos de emergencia y crecimiento. En el presente trabajo se presentan de modo preliminar los datos de emergencia en función del tiempo en número de días.

Los datos de porcentajes de emergencia se analizaron mediante ANOVA, tomando como único factor la localidad para cada especie, y posterior test de LSD (Least Significant Differences).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Lolium rigidum, *A. sterilis* y *C. diluta*, fueron las especies que presentaron mayores porcentajes de emergencia (Tabla 1). La emergencia de *L. rigidum* superó el 50 % en siete localidades, mientras que en tres de ellas (Sevilla FTS, Navarra y Toledo) este porcentaje fue de un 31-37 %. En *A. sterilis* solo se superó el 50% de emergencia en Zaragoza, en el resto de las localidades la emergencia osciló entre un 20-40%, salvo en Toledo y Sevilla ETSIA, que no alcanzó el 10%. En *C. diluta* también se superó el 50% de emergencia en dos localidades (Valladolid y Sevilla Jardín), en el resto de localidades los resultados fueron variables entre 16 y 49%, y de nuevo en Toledo no superó el 10% de emergencia. La emergencia de *R. segetum* fue menor que en las especies anteriores y bastante variable, entre 4 y 29%. *C. segetum* fue la especie que menor porcentaje de emergencia presentó, alcanzando emergencias del 26% y del 15% en Sevilla Jardín y Sevilla ETSIA, respectivamente en el resto de localidades no superó el 10% y no emergió en Toledo (Tabla 1). A pesar de las diferencias entre las localidades, se pueden intuir tendencias en cada especie de acuerdo a la dormición innata de cada una de ellas, que muy probablemente esté acrecentada o mitigada debido a las condiciones ambientales de las diferentes localidades. El hecho de que en todas las localidades se haya sembrado la misma población para cada especie enfatiza el efecto localidad sobre estas malas hierbas.

Tal como se puede observar en las figuras 1-5, cada especie presenta un patrón de emergencia diferente en función del número de días transcurridos desde la siembra. En general *C. diluta* y *L. rigidum* presentaron alto porcentaje de emergencia, con un pico temprano, hasta los 45 días aproximadamente, que luego se prolongó durante el invierno en la mayoría de las localidades (Figs. 1 y 2). En el caso de *A. sterilis*, la emergencia fue más tardía que en las dos especies anteriores (Fig. 3). Esto se puede deber a que sus umbrales de temperatura para poder germinar (y emerger) sean diferentes. En Sevilla FTS y Sevilla Dos Hermanas la emergencia se adelantó en comparación al resto de localidades (Fig. 3), aunque la siembra fue también más tardía (principios de noviembre en Sevilla *vs* mediados de octubre en el resto). Para *R. segetum* se observaron emergencias bastante tardías en general, aunque en algunas localidades (Lleida, Sevilla Dos Hermanas, Sevilla ETSIA) fue escalonada a lo largo de todo el otoño y el invierno. Finalmente, los resultados obtenidos para *C. segetum* fueron poco concluyentes, puesto que la emergencia fue muy baja en la mayoría de las localidades, y en las dos únicas en las que el porcentaje podría permitir un análisis más exhaustivo, los resultados fueron muy dispares, adelantándose en Sevilla Jardín y retrasándose en Sevilla ETSIA.

Tabla 1. Porcentajes de emergencia totales (+SE) ocurridos en cada una de las localidades donde se sembraron las especies. Diferentes letras indican diferencias significativas entre localidades para cada una de las especies

	<i>A. sterilis</i>	<i>C. diluta</i>	<i>L. rigidum</i>	<i>R. segetum</i>	<i>C. segetum</i>
Barcelona	-	17,8 ± 3,4 de	-	23,0 ± 2,8 ab	3,8 ± 1,4 ce
Córdoba	9,5 ± 1,7 de	40,8 ± 4,7 bc	56,4 ± 7,6 b	8,3 ± 1,4de	0,0 ± 0,0 e
Lleida	40,5 ± 5,7 b	35,3 ± 8,2 bc	55,5 ± 2,5 b	17,3 ± 2,1 bc	3,5 ± 0,9 ce
Madrid	35,3 ± 4,5 bcd	46,8 ± 1,9 abc	64,0 ± 6,3 b	28,8 ± 2,4 a	7,5 ± 1,5 c
Navarra	30,8 ± 1,1 bc	-	31,3 ± 3,7 c	-	-
Sevilla FTS	20,5 ± 3,9 d	16,2 ± 4,5 de	37,8 ± 5,6 c	7,8 ± 2,1 de	4,5 ± 0,9 ce
Sevilla Jardín	23,3 ± 2,6 cd	53,5 ± 8,3 ab	58,8 ± 2,1 b	10,5 ± 1,8 de	25,8 ± 3,0 a
Sevilla 2H	25,8 ± 5,5 cd	49,5 ± 6,7 abc	81,5 ± 2,7 a	5,5 ± 1,7 e	3,3 ± 0,5 ce
Sevilla ETSIA	8,5 ± 1,3 e	33,0 ± 8,1 cd	59,0 ± 4,8 b	11,8 ± 1,0 cd	14,8 ± 1,8 b
Toledo	9,5 ± 1,8 de	7,8 ± 1,7 e	36,3 ± 7,5 c	7,8 ± 0,25 de	0,0 ± 0,0 e
Valladolid	40,0 ± 2,9 b	63,0 ± 11,4 a	64,0 ± 1,6 b	4,3 ± 0,9 e	0,8 ± 0,5 e
Zaragoza	62,5 ± 6,3 a	49,8 ± 6,2 abc	91,0 ± 7,7 a	13,5 ± 3,4 cd	7,0 ± 3,1 c

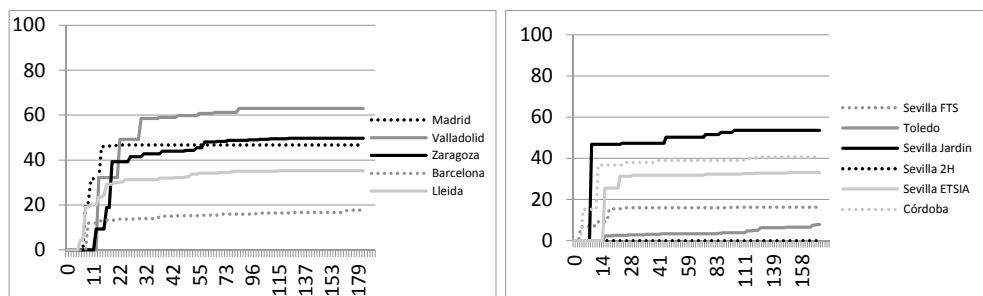


Figura 1. Ritmos de emergencia acumulada (en porcentaje) de *C. diluta* en las localidades de la mitad norte (izquierda) y en la mitad sur de España (derecha). En el eje de abscisas se refleja el tiempo en número de días desde el momento de siembra en cada una de las localidades.

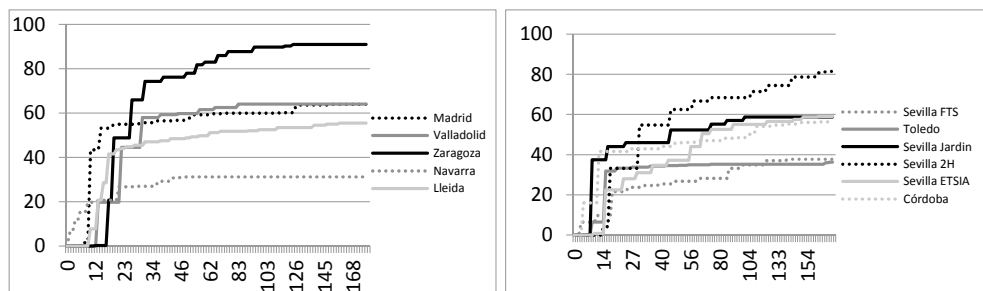


Figura 2. Ritmos de emergencia acumulada (en porcentaje) de *L. rigidum* en las localidades de la mitad norte (izquierda) y en la mitad sur de España (derecha). En el eje de abscisas se refleja el tiempo en número de días desde el momento de siembra en cada una de las localidades.

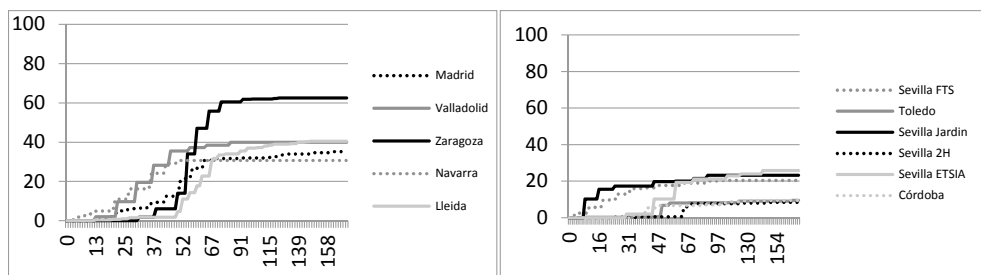


Figura 3. Ritmos de emergencia acumulada (en porcentaje) de *A. sterilis* en las localidades de la mitad norte (izquierda) y en la mitad sur de España (derecha). En el eje de abscisas se refleja el tiempo en número de días desde el momento de siembra en cada una de las localidades.

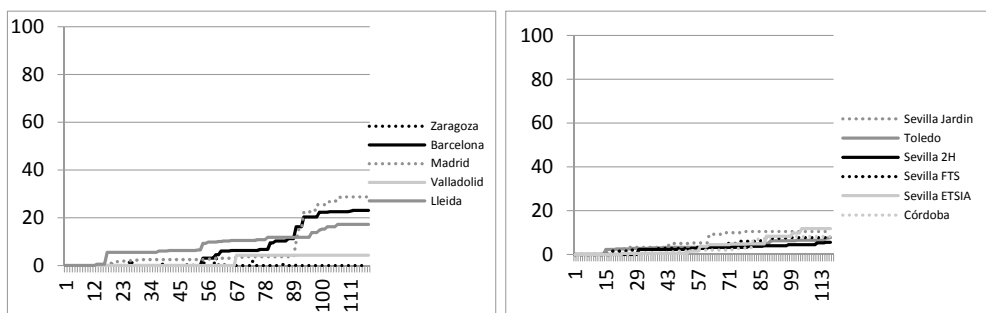


Figura 4. Ritmos de emergencia acumulada (en porcentaje) de *R. segetum* en las localidades de la mitad norte (izquierda) y en la mitad sur de España (derecha). En el eje de abscisas se refleja el tiempo en número de días desde el momento de siembra en cada una de las localidades.

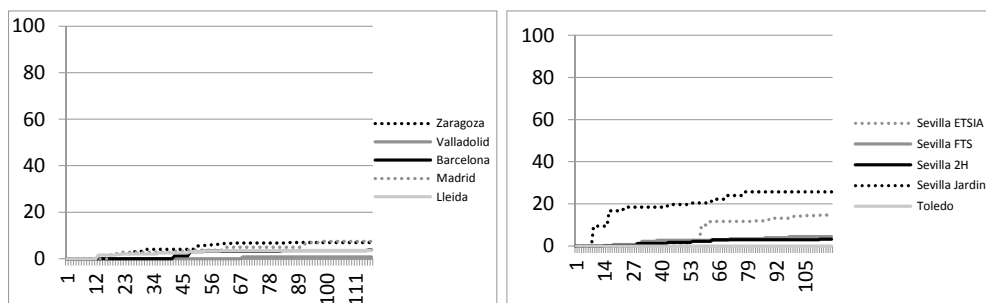


Figura 5. Ritmos de emergencia acumulada (en porcentaje) de *C. segetum* en las localidades de la mitad norte (izquierda) y en la mitad sur de España (derecha). En el eje de abscisas se refleja el tiempo en número de días desde el momento de siembra en cada una de las localidades.

Los resultados de porcentajes de emergencia presentados reflejan las diferentes condiciones ambientales en las que emergieron las cinco especies. A pesar de ello, los patrones de emergencia se parecen en la gran mayoría de las localidades, pero es necesario contrastar estos patrones una vez normalizados con los grados térmicos (TT), hidrotérmicos (HTT) o, en su caso, fotohidrotérmicos (PhHTT), para poder desarrollar en cada especie un modelo de emergencia que

pueda ser aplicado en futuras herramientas (aplicaciones, *softwares*...) para la predicción de su emergencia.

El desarrollo de modelos de emergencia en aquellas especies en las que no se han desarrollado, o la validación de modelos ya desarrollados, como en *L. rigidum* (Izquierdo et al., 2011) parece bastante plausible. La única excepción sería *C. segetum*, cuya emergencia fue inferior al 10% en la mayoría de las localidades y, por tanto, puede dificultar o directamente impedir con estos datos el desarrollo de un modelo de emergencia razonablemente fiable.

Todos los datos de emergencia de estas cinco especies se pueden consultar en la página: <http://www.adamacatedra.es/investigacion/>.

4. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto ha sido financiado por la Cátedra Adama de la Universidad de Sevilla y por la Sociedad Española de Malherbología. Así mismo, queremos agradecer a todas las personas que de una manera u otra han participado en la toma de datos de las diferentes localidades.

5. REFERENCIAS

- Forcella F, Benech-Arnold RL, Sánchez R and Ghersa CM (2000). Modeling seedling emergence. *Field Crops Research*, 67, 123-129.
- González-Andújar JL, Francisco-Fernández M, Cao R, Reyes M, Urbano JM, Forcella F and Bastida F (2016a). A comparative study between nonlinear regression and nonparametric approaches for modeling *Phalaris paradoxa* seedling emergence. *Weed Research*, 56, 367-376.
- González-Andújar JL, Chantre GR, Morvillo C, Blanco AM and Forcella F (2016b). Predicting field weed emergence with empirical models and soft computing techniques. *Weed Research*, 56, 415-423.
- Izquierdo J, Bastida F, Lezaun JA, Sánchez del Arco MJ and González-Andújar JL (2013). Development and evaluation of a model for predicting *Lolium rigidum* emergence in winter cereal crops in the Mediterranean area. *Weed Research*, 53, 269-278.
- Rey-Caballero J, Royo-Esnal A, Recasens J, González I and Torra J (2017). Management options for multiple-resistant corn poppy (*Papaver rhoeas*) in Spain. *Weed Science*, 65, 295-304.

Biology and Agroecology Group of the Spanish Weed Science Society (SEMh): emergence and growth of *Avena sterilis*, *Centaurea diluta*, *Chrysanthemum segetum*, *Lolium rigidum* and *Ridolfia segetum*

Summary: In the present work the results of the emergence of five worrying weed species in Spain are presented: *Avena sterilis*, *Centaurea diluta*, *Chrysanthemum segetum*, *Lolium rigidum* and *Ridolfia segetum*. Seeds of each species were sown in 13 locations distributed throughout Spain. For each species 100 seeds were sown disturbing the soil down to 2 cm (10 cm for *A. sterilis*) in planting marks divided in six 0.25 × 0.25 m² cells, with four replications. Samplings were performed every 2-7 days. The results show that *C. diluta* and *L. rigidum*, followed by *A. sterilis*, were the first emerging species. These three species were also those which showed higher emergence percentages.

Keywords: important weeds, seeds, days after sowing, hydrothermal time.

Evaluación de los cambios en la flora espontánea en Portugal para un periodo de 10 años. Proyecto ValBioTecCynara

Sofia Ramôa¹✉, João Portugal¹, Ilias Travlos³, Teresa Vasconcelos², Paulo Forte², Pedro Oliveira e Silva¹, Paula Nozes¹, Carla Pinto-Cruz⁴, Anabela Belo⁴, Paula Simões⁴, Ana Paulino⁵, Maria Fátima Duarte^{4,5}

¹Instituto Politécnico de Beja, Escola Superior Agrária, Rua Pedro Soares, Apartado 6158, 7800-908 Beja, Portugal

²Universidade de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, Apartado 354, 1349- 017 Lisboa, Portugal

³Agricultural University of Athens, Faculty of Crop Science, 75, Iera Odos str., GR11855, Athens, Greece

⁴Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM), Universidade de Évora, Pólo da Mitra, 7002-554 Évora, Portugal

⁵Centro de Biotecnologia Agrícola e Agro-Alimentar do Alentejo (CEBAL)/Instituto politécnico de Beja (IPBeja),

Rua Pedro Soares, Apartado 6158, 7800-908 Beja, Portugal

✉sramoa@ipbeja.pt

Resumen: El objetivo de este estudio fue analizar la dinámica temporal de la vegetación espontánea en un periodo de diez años (1997 y 2007), teniendo en cuenta los cambios en los sistemas culturales acaecidos con la adopción del riego. Los muestreos se realizaron siempre en las mismas parcelas. Se realizó un análisis de frecuencia, abundancia de las especies y grado de infestación. Para comparar los resultados en 1997 y 2007, se aplicó la metodología de análisis de varianza en los valores del índice Shannon-Wiener. El análisis canónico de la correspondencia se utilizó para complementar esta información. Nuestros resultados revelaron que la flora fue siempre muy diversa y, a pesar de la intensificación del sistema de producción agrícola, la biodiversidad aumentó con el tiempo. A continuación se hace una presentación del proyecto sobre la valorización económica del cardo (*Cynara cardunculus*) su variabilidad natural y aplicaciones biotecnológicas – ValBioTecCynara.

Palabras clave: cultivos, biodiversidad, clima mediterráneo, Análisis canónico de correspondencia, *Cynara cardunculus*.

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, con la implantación de nuevas áreas de riego en Alentejo (Portugal), la agricultura ha sido objeto de cambios graduales en los sistemas agrícolas tradicionales desde el año 2006 con la implementación de nuevos cultivos en regadío diversificando los modelos culturales. Estos cambios también están vinculados a la adopción de un modelo de producción más intensivo, cuyo impacto en los recursos naturales debe ser bien conocido. Las nuevas prácticas de gestión agrícola conducen a nuevos equilibrios en la flora espontánea y tal información es considerada de gran importancia. Los servicios ecológicos que este tipo de vegetación proporciona a los agroecosistemas no son despreciables y una agricultura moderna cada vez más intensiva conduce a una pérdida de biodiversidad (Storkey and Westbury, 2007; José-María et al., 2010; Sans et al., 2013), lo que amenaza la sostenibilidad, no solo de los servicios ambientales prestados por ella, mas también fuertes costumbres regionales. Por lo tanto, una cuestión muy importante es evaluar el efecto del tiempo en la composición de las comunidades florísticas, y su nivel de ocurrencia, para lograr una gestión eficaz de las malas hierbas teniendo en cuenta todos los servicios que suministran a los agroecosistemas. El objetivo de este estudio fue analizar la dinámica temporal de la vegetación espontánea en un periodo de diez años, que corresponde al punto de inflexión en el paradigma de la agricultura alentejana. En continuación se hace una presentación del proyecto ValBioTecCynara sobre la valorización económica del cardo (*C. cardunculus*) su variabilidad natural y aplicaciones biotecnológicas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Muestreos florísticos y recolección de datos. Los muestreos florísticos se realizaron en el distrito de Beja, en el sur de Portugal (Alentejo) durante 2 años, 1997 y 2007. En 1997, las parcelas fueron seleccionadas al azar. Se realizaron 100 muestreos florísticos, principalmente en trigo, pero también en parcelas de avena y cebada. Las parcelas muestreadas fueron todas referenciadas con GPS. En 2007, se realizaron 105 muestreos florísticos exactamente en los mismos lugares georeferenciados diez años antes. Encontramos parcelas con trigo, avena, cebada y otras nuevas que contienen olivos, pinar, barbecho y pasto, recientemente implantadas como resultado de las nuevas áreas de riego. Los muestreos se realizaron en abril y mayo, caminando alrededor del campo de manera aleatoria hasta que no se detectaron nuevas especies. A continuación, se creó una lista de presencia y ausencia de especies, en la que se agregó el nombre latino. La abundancia de especies utilizada fue la propuesta por Barralis (1976). Se determinó el grado de infestación, a partir de la frecuencia relativa y la abundancia media. Con el objetivo de evaluar los efectos que los diferentes sistemas de cultivos ejercen sobre la dinámica temporal de la flora espontánea se recurrió a estimar el índice de diversidad de Shannon-Wiener. Estos procedimientos fueron idénticos para ambos años.

2.2. Análisis de datos. Con el fin de evaluar los cambios en la flora espontánea, se utilizó la metodología de análisis de varianza (ANOVA) a partir de los valores del índice de diversidad estimado para 1997 y 2007, según un delineamiento completamente al azar con diferente número de repeticiones. Las diferencias entre los valores medios de los factores estudiados (tiempo y diversidad) y su interacción, se consideraron significativas para un nivel de significación de $p < 0,05$. Lo teste de Tukey para los niveles de significación $p = 0,05$ se aplicó en los casos en que el análisis de varianza reveló un efecto significativo para los factores analizados, con el fin de identificar diferencias entre valores medios. Cuando la interacción entre factores fue considerada significativa, lo teste de Tukey fue aplicado a los valores medios observados en uno de los factores, bajo niveles fijos de los otros factores. Se utilizó el método de análisis multivariado de ordenación directa, Análisis Canónico de Correspondencias (CCA), para complementar la información obtenida. Esta análisis CCA fue utilizado solo para el año 2007 para examinar la distribución de la vegetación espontánea y los diferentes cultivos. Para el procesamiento de datos se utilizó el software R-Project con el paquete Vegan.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Composición y diversidad de la vegetación de espontánea. En 1997, los muestreos se hicieron en cultivos arvenses de secano, en parcelas con cultivo del trigo, avena y cebada. En los muestreos realizados en 2007, se encontró una realidad diferente, Alrededor del 10% de los sitios estudiados comenzaron a tener cultivos de regadío, en particular olivar y otras parcelas de pasto sembrado, barbecho y pinar, aunque este último con muy baja expresión. En 1997, los 229 taxones identificados se distribuyeron en 40 familias. La familia con mayor representación fue Asteraceae, seguida de Poaceae y Fabaceae con 52, 41 y 24 taxones presentes por familia, respetivamente. En 2007, las 264 especies identificadas se distribuyeron en 42 familias. La familia con mayor representación fue Asteraceae, seguida de Poaceae y Fabaceae con 51, 45 y 38 taxones presentes por familia, respetivamente. En 1997 (Tabla 1), 7 especies presentes en más de la mitad del inventario de las parcelas muestreadas ($FR > 50\%$) y que son: *Polygonum*

aviculare, *Anagallis arvensis*, *Convolvulus arvensis*, *Phalaris minor*, *Avena sterilis*, *Lolium rigidum* y *Raphanus raphanistrum*. En el año 2007, solo existen 3 especies presentes en más de la mitad del inventario de las parcelas muestreadas (FR > 50%): *A. sterilis*, *L. rigidum* y *P. minor*.

Tabla 1. Número de especies presentes en los muestreos florísticos

Año	1997	2007
[100%; 50%]	7	3
[50%; 25%]	13	29
[25%; 10%]	39	43
≤ 10%	170	189
Σ	229	264

Tabla 2. Especies con grado de infestación muy alto y alto

Grado de infestación	1997	2007
Muy alto	<i>Lolium rigidum</i>	<i>Lolium rigidum</i>
	<i>Anagallis arvensis</i>	<i>Agrostis pourretii</i>
	<i>Galium aparine</i>	<i>Avena sterilis</i>
	<i>Lolium temulentum</i>	<i>Carthamus lanatus</i>
	<i>Oxalis pes-caprae</i>	<i>Chamaemelum mixtum</i>
	<i>Phalaris minor</i>	<i>Crepis vesicaria</i>
	<i>Polygonum aviculare</i>	<i>Cynodon dactylon</i>
	<i>Ranunculus trilobus</i>	<i>Bromus hordeaceus</i>
Alto	<i>Raphanus raphanistrum</i>	<i>Galium aparine</i>
		<i>Hirschfeldia incana</i>
		<i>Juncus bufonius</i>
		<i>Leontodon taraxacoides</i>
		<i>Stipa capensis</i>
		<i>Trifolium campestre</i>
		<i>Vulpia ciliata</i>

En relación al grado de infestación, *L. rigidum* fue la única especie con un muy alto grado de infestación, mientras que nuevas especies pasaron a tener altos grados de infestación.

3.2. Dinámica de la vegetación espontánea. Los resultados del ANOVA muestran que, para el nivel de significación del 5% (Tabla 3), ocurrió un aumento estadísticamente significativo en la biodiversidad a lo largo del tiempo.

Tabla 3. Efecto del factor tiempo

Años	Índice de Shannon-Wiener *	Error estándar	Test Tukey	
1997	2.8700	0.0487	b	CV = 16.1%
2007	3.0257	0.0464	a	

*valores medios.

La tabla 4 muestra la aplicación del CCA para los datos de las especies y los diferentes cultivos, para el año de 2007, para mostrar el patrón de distribución de la biodiversidad y sus relaciones sobre los tipos de cultivos. Los cultivos no presentaron problemas de colinealidad a través de los valores de VIF. La aplicación del CCA reveló diferencias significativas entre las comunidades florísticas (Tabla 4 y Fig. 1). Cerca de 10,5% de la variabilidad florística es explicada por la variable cultivo. El CCA ha producido valores altos para la varianza acumulada explicada por especies-cultivos, 34,4%, 51,9% y 66,1% en relación al eje canónico 1, eje 2 y eje 3, respectivamente. Esto significa que la ordenación constreñida dejó cerca del 34% de la varianza restante sin explicación. Por otra parte, el test ANOVA también indicó que la extracción de los 3 ejes de ordenación fue significativa en la ordenación de los cultivos.

Tabla 4. Análisis canónico de correspondencia (año 2007)

Ejes	2007				I _t	I _c
	CCA ₁ **	CCA ₂ **	CCA ₃ **	CCA ₄ ^{ns}		
Valores propios	0,195	0,099	0,082	0,063	5,373	0,566
Varianza acumulada explicada por especies (%)	8,1	12,7	16,6	19,6		
Varianza acumulada explicada por especies-cultivos (%)	34,4	51,9	66,1	77,2		
Trigo [*]	Avena ^{***}	Cebada ^{**}	Olivar ^{ns}	Barbecho ^{***}	Pasto ^{***}	Pinar ^{ns}

F_{modelo}=1,6315 (P=0,005); I_t=Inercia total; I_c=Inercia restringida; nivel de significación: *** 0,001;

** 0,01; * 0,05; ns no significativo; CCA_{1,2,3,4}: primero, segundo, tercero y cuarto eje canónico.

La figura 1 resalta que: la flora asociada al barbecho y pasto se relacionan positivamente con el eje 1 y en posición contraria al mismo eje; trigo, cebada y avena presentan una correlación negativa revelando, claramente, diferencias en la flora asociada a los cereales de secano y las zonas de barbecho y pasto, estas mucho más diversificada.

Estas diferencias derivan de la forma de gestión de las malas hierbas en los diferentes sistemas. Sin embargo, la avena, tiene una particular flora espontánea ya que su producción está dedicada a la alimentación de ganado, y el control de malas hierbas es menor, o incluso nulo, en relación a los campos de trigo y cebada, donde es habitual la aplicación de herbicidas. Las zonas de barbecho, por definición, no presentan control de malas hierbas. También, en las zonas de pastos sembrados emerge una flora muy distinta y característica que resulta del banco de semillas del suelo y de la inclusión de especies leguminosas.

4. CONCLUSIONES

El número de taxones identificados fue siempre muy alto, aunque la mayoría de las especies mostraron bajos valores de frecuencia y abundancia. Solo un pequeño grupo de especies, en ambos años, mostró niveles de frecuencia y abundancia que deberían preocupar a los agricultores. En 2007, la flora se presentó más rica y abundante en especies. El cambio gradual en los sistemas agrícolas tradicionalmente practicados en la región (arvenses de secano) impulsado por la introducción de riego (EFMA), así como la implantación de nuevas áreas de olivar asociado a

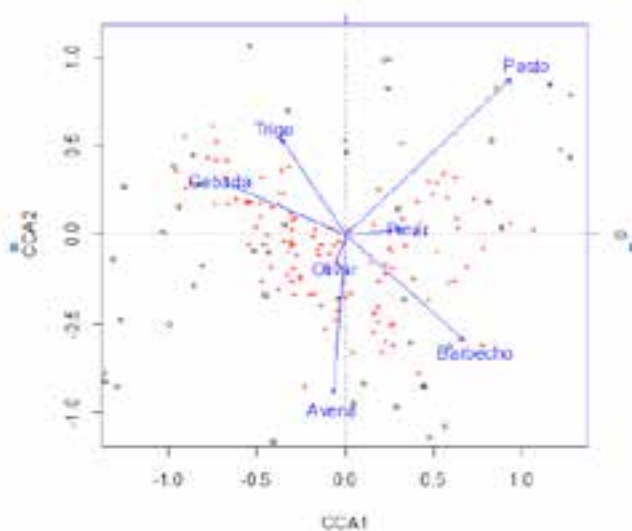


Figura 1. Diagrama de ordenación de análisis canónico de correspondencia (CCA), año 2007.

un sistema de agricultura más intensivo, explican las diferencias encontradas que, obviamente, ejercen presiones diferentes sobre el medio ambiente, creando condiciones favorables para su emergencia. Además, el impacto en el tiempo de las políticas de la PAC por lo que respecta a la implantación del *set-aside*, cultivos subvencionados (en particular las zonas de pastos y barbecho), tuvieron una gran expresión en la región del Alentejo. Los barbechos son particularmente ricos en flora arvense, que incluso son integrados en medidas agroambientales en determinadas áreas con el fin de aumentar la biodiversidad. La *C. cardunculus* ha sido una especie encontrada en este estudio como rara o de baja frecuencia y abundancia. Para allá de los servicios ambientales que presta su importancia, en Alentejo, tiene a ver con sus fuertes tradiciones regionales muy relacionadas con el fabrico artesanal de queso y su uso en la gastronomía regional. Sin embargo, este cardo, presenta múltiples usos aún por desarrollar y muy importantes al nivel de la medicina donde puede tener importancia para el tratamiento de úlceras gástricas, cáncer de estómago y de mama.

5. PROYECTO ValBioTecCynara

El Centro de Biotecnología Agrícola y Agroalimentaria del Alentejo (CEBAL), por la investigadora Fátima Duarte (PhD) en colaboración con seis entidades del sistema científico y tecnológico nacional portugués, ha sido el proponente e responsable del proyecto actualmente en curso 'ValBioTecCynara - Valorización económica del cardo (*C. cardunculus*) su variabilidad natural y aplicaciones biotecnológicas.' Este proyecto aborda una caracterización genética, molecular, morfológica y bioquímica de diferentes poblaciones de cardo, como una estrategia combinada para identificar la variabilidad genética natural e individuos con perfiles bioquímicos de interés. Es un proyecto innovador en el uso tradicional de las flores (pistilos) para la industria de la producción de queso así como en el desarrollar de nuevos productos basados en los compuestos bioactivos presentes en las hojas. Los objetivos generales son los siguientes: (1) evaluar la variabilidad ge-

nética natural de las poblaciones de cardo; (2) seleccionar los perfiles bioquímicos para nuevas aplicaciones biotecnológicas; (3) valorizar una flor de cardo (una población) para la producción de queso tradicional del Alentejo; (4) valorizar una hoja de una población para la extracción de compuestos de valor agregado, como nuevos productos farmacéuticos (extractos de cardo y cinaropictina) con potencial uso para el tratamiento de úlceras gástricas, cáncer de estómago y de mama; (5) crear un campo experimental de *C. cardunculus*. La caracterización morfológica de *C. cardunculus* L. es ejecutada por uno equipo de 7 investigadores del Instituto Politécnico de Beja y de la Universidad de Évora. El estudio se hace en 16 poblaciones espontáneas sobre 26 características morfológicas (tallo, hoja, flor y semilla), que se están analizando para relacionar con características bioquímicas de la flor y hoja para la selección de las mejores poblaciones de mayor interés biotecnológicos para lograr los objetivos del proyecto.

6. AGRADECIMIENTOS

Al proyecto ALT20-03-0145-FEDER-000038, designado por «ValBioTecCynara - Valorización económica del cardo (*Cynara cardunculus*) su variabilidad natural y aplicaciones biotecnológicas». Cofinanciado por el Programa Operacional Regional del Alentejo (ALENTEJO 2020), con la participación financiera FEDER.

7. REFERENCIAS


- Barralis G (1976). Méthode d'étude des groupements adventices des cultures annuelles à la Côte d'Or. 5ème Coll Int Ecol Biol Mauvaises Herbes. 1, 59-68.
- José-María L, Armengot L, Blanco-Moreno JM, Bassa M and Sans X (2010). Effects of agricultural intensification on plant diversity in Mediterranean dry land cereal fields. *Journal of Applied Ecology*. 47(4), 832-840.
- Sans FX, Armengot L, Bassa M, Blanco-Moreno JM, Caballero-López L, Chamorro L and José-Maria L. (2013). La intensificación agrícola y la diversidad vegetal en los sistemas cerealistas de secano mediterráneos: implicaciones para la conservación. *Ecosistemas*. 22, 30-35.
- Storkey J & Westbury DB (2007). Mini-review. Managing arable weeds for biodiversity. *Pest Management Science*. 63(6), 517-523.

Evaluation of weed flora dynamic over time, in Portugal. Project ValBioTecCynara

Summary: The aim of this study was to assess the composition of weed communities starting from a rainfed farming system (1997), to the early period of transformation in agricultural systems with the adoption of irrigation (2007). The floristic assessment was made within a 10-year interval always in the same plots. Weed flora was determined by means of relative frequency, abundance and weed infestation degree. The effect of time was also evaluated by applying the methodology of variance analysis on the values of Shannon-Wiener Index. Canonical Correspondence Analysis was used to complement this information only for 2007 to know how the flora was distributed by the different cultures. Our results revealed that in both cases weed flora was of high diversity and, despite the intensification of the agricultural production system, biodiversity increased over time. Following it is presented one project about the economic assessment of cardoon (*Cynara cardunculus*) its natural variability and biotechnological applications – ValBioTecCynara.

Keywords: crops, biodiversity, Mediterranean climate, plant biodiversity, Canonical Correspondence Analysis, *Cynara cardunculus*.

Morphological, and genetic characterization of *Abutilon theophrasti* accessions across a geographic gradient

Teresa Carvalho¹, Eugénia Andrade¹, Isabel M. Calha¹, Dragana Bozic², Sava Vrbnicanin², José Dorado³, Jordi Izquierdo⁴, Maja Scepanovic⁵, Klara Barić⁵, Stefano Carlesi⁶, Robert Leskovsek⁷, Dean Peterson⁸, Andrea Veres⁹, Vasileios Vasileiadis¹⁰, Roberta Masin¹⁰, Donato Loddo¹⁰

¹INIAV I.P. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, UEIS- Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal, Quinta do Marquês 2784-505, Oeiras, Portugal

²Faculty of Agriculture, University of Belgrade, Nemanjina 6, 11080 Zemun Serbia

³Institute of Agricultural Sciences, CSIC, Madrid, Spain

⁴ Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya, Castelldefels, Spain

⁵Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Croatia


⁶Scuola Superiore Sant'Anna (SSSA), Centro di Ricerche Agro-Ambientali «Enrico Avanzi» (CiRAA)Pisa, Italy

⁷ Agricultural institute of Slovenia Hacquetova ulica 17 1000 Ljubljana Slovenia

⁸USDA-ARS Soils Lab, Minnesota, MN, USA

⁹ SZIE Plant Protection Institute, H -2103 Godollo, Hungary

¹⁰Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale (IBAF), Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Legnaro (PD), Italy

 isabel.calha@iniav.pt

Summary: *Abutilon theophrasti* causes -severe yield losses in maize and soybean (70 % - 72%). *A. theophrasti* management is crucial for optimum crop production. Prevention is a pre-requisite to reduce weed pressure and investigation into weed bioecology is needed. This study characterized the morphological and genetic variation of eleven *A. theophrasti* accessions representative of a climatic gradient distribution range from north (47° N) to southeast Europe(39 ° N) and north America (43°N). To evaluate interpopulation variability, seed were characterized with morphological parameters (length; width; thickness; weight and volume of 100 seeds) and biomolecular markers: trnL-trnF; trnH-trnK; trnT-psbC and matK. Multivariate and univariate analyses were performed to estimate genetic diversity within and among populations. Populations from north and southern Europe were separated in two groups according to seed morphology. However it was not possible to associate seed morphological traits to genetic variability. All gene sequences (cpDNA genome) presented the same nucleotide sequence

Keywords: velvetleaf, interpopulation variability, seed morphology, molecular markers.

1. INTRODUCTION

Abutilon theophrasti Medic (velvetleaf) is an annual plant, belonging to *Malvaceae* family. It is originated from India or China and it was introduced into North America from Europe or Asia by accident, mixed in grains or crop seeds. In the genus *Abutilon*, only *A. theophrasti* occurs in temperate climates. The chromosome number is $2n=6X=42$ (Warwick and Black, 1988). Is a self-compatible, autogamous species with approximately 3% of seeds produced in field conditions originating from outcrossing (Andersen, 1988). Propagation is always by seeds, which are produced in large numbers. *Abutilon theophrasti* is among the most important weeds causing significant yield losses in maize and soybean. In absence of weed control these yield losses could reach an average of 70 % and 72% respectively (Campbell and Hartwig, 1982; Sterling and Putnam, 1987). The control of *A. theophrasti* is crucial for an optimum crop production. Prevention is a pre-requisite to reduce weed pressure in any crop and investigation into biological and ecological mechanisms is needed (Northworthy et al., 2012). To accurately infer identities and evolutionary histories of populations it is necessary to use multiple marker systems representing both rapidly evolving and more conserved DNA regions (Soltis and Soltis, 1998). Chloroplast DNA

(cpDNA) sequence variations have been widely used to access interspecific relationships among plants. Despite the low rate of evolution of these sequences, and consequently of their high conservation, Kurokawa and co-authors (2004) used them to distinguish two different haplotypes at the species level. Several authors reported that the non-coding regions have the highest frequency of mutations, as for instance, the *matK* and *trnL-trnF* regions (Taberlet et al., 1991; Nyffeler et al., 2005; Duarte et al., 2011). A collaborative experiment with twelve *A. theophrasti* accessions –representative from a climatic gradient distribution range– was set from 2013-2015 as a larger experiment on seedling emergence variability for European and North American populations (Loddo et al., 2015). In this study, the extent of between- and within-population variation in seed morphological parameters and biomolecular markers of the same *A. theophrasti* populations was investigated. Our hypothesis is that seed morphological traits and seedling emergence could be associated to genetic variability among populations.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Plant materials. A total of 12 accessions from the species *Abutilon theophrasti* were used (Table 1). All accessions were obtained from a common experiment (Loddo et al., 2015) being each one from a different country in Europe and USA. These populations are representati-

Table 1. Origin of sampled *A. theophrasti* accessions and morphological characteristics of seeds - average and standard error (SE)

Number	Pop. Code	Country	Site	Lat / Long	Length (mm)	Width (mm)	Thickness (mm)	Weight (g)	Volume (ml)
At 1	CAT	Spain	Lleida	41° 37' N 0° 38' E	3,72 0,25	2,98 0,16	1,57 0,17	0,92 0,01	6,80 0,10
At 2	CRO	Croatia	Čazma	45° 45' N 16° 37' E	3,62 0,25	2,95 0,15	1,55 0,15	0,95 0,02	6,80 0,10
At 3	GRE	Greece	Makrohor	40° 32' N 22° 14' E	3,70 0,25	3,00 0,00	1,85 0,23	0,96 0,01	6,80 0,10
At 4	HUN	Hungary	Rackeve	47° 09' N 18° 54' E	3,63 0,22	2,95 0,15	1,52 0,16	0,72 0,01	6,70 0,10
At 5	IOWA	Usa	Monona	43° 03' N 91° 23' W	3,55 0,15	2,98 0,16	1,63 0,26	0,95 0,01	6,90 0,10
At 6	VEN	Italy	Legnaro	45° 20' N 11° 58' E	3,78 0,25	2,98 0,09	1,75 0,25	0,88 0,01	6,70 0,10
At 7	MIN	Usa	Morris	45° 35' N 95° 54' W	–	–	–	–	–
At 8	POR	Portugal	Golegà	39° 24' N 8° 29' W	3,65 0,27	2,97 0,13	1,45 0,15	0,85 0,01	6,50 0,10
At 9	SER	Serbia	RimskiSancevi	45° 40' N 19° 05' E	3,67 0,24	3,00 0,00	1,50 0,13	0,89 0,01	6,70 0,10
At10	SLO	Slovenia	MurskiČrnci	46° 38' N 16° 06' E	3,60 0,31	2,98 0,09	1,48 0,25	0,84 0,01	6,90 0,10
At11	CAS	Spain	Arganda del Rey	40° 19' N 3° 29' W	3,35 0,23	2,98 0,16	1,50 0,00	0,87 0,01	6,70 0,10
At12	TOS	Italy	Pisa	43° 40' N 10° 20' E	3,57 0,31	2,97 0,13	1,80 0,25	0,86 0,01	6,70 0,10

ve of a climatic gradient distribution range from north (47° N) to southeast Europe (39° N) and north America (43°N). To evaluate interpopulation variability collected seed were characterized with morphological parameters: length; width; thickness; weight and volume of 100 seeds. Thirty seeds were analyzed for each parameter.

2.2. DNA extraction and PCR amplification. DNA was extracted from whole seeds, germinated seeds and seedlings using a CTAB-based method, DNeasy Plant MiniKit (Qiagen, Germany), XpertdirectXtract Kit (Grisp). The quality and the concentration of the DNA were evaluated by ND-2000 Nanodrop spectrophotometer (Nanodrop Technologies). Samples exhibiting the ratios between the absorbance at 260 nm and 280 nm and between 260 nm and 230 nm of 1.7-2.0 and above 2.0, respectively, were directly taken for further analysis. Whenever the values of the ratios were out of the acceptance interval, DNA extracts were purified through columns. Four regions of the chloroplast genome were amplified by using widely used primers (Table 2). The study started with the analysis of trnL/trnF primer pairs.

Table 2. Sources of primers used to amplify three non-coding *loci* from chloroplast genome

Fragment	Primer pairs	Forward and reverse PCR primer sequences (5'-3')	Amplified region
1	trnL/trnF	trnL: GGTTC AAGTCCCTCTATCCC trnF: ATTTGA ACTGGTGACACGAG	Intergenic spacer between <i>trnL</i> (UAA) 3' exon and the <i>trnF</i> .
2	trnH/trnK	trnH: ACGGGAATTGAACCCGCGCA trnK: CCGACTAGTTCGGGGTTCGA	Intergenic spacer between <i>trnH</i> and <i>trnK</i> non-coding intron
3	trnT-psbC	trnT: GCCCTTTTAACTCAGTG GTA psbC: GAGCTTGAGAAGCTTCTGGT	
4	matK	MatK2.1:- CCT ATC CAT CTG GAA ATC TTA G- MatK/5R: GTT CTA GCA CAA GAA AGT CG-	<i>matK</i> open reading frame <i>Maturase</i>
5	rbcl	rbcl_2F: GGA CAT A?? CAA TGC TTT AG rbcl_3R: ATG TCA CCA AAA ACA GAG ACT-	
	rbcl1	rbclF: ATG TCA CCA CAA ACA GA AAC rbclR: TCG CAT GTA CCT GCA GTA GC	

PCR reactions were conducted in 25 μ L total volume containing 75 ng of total DNA, 2.5 μ L of 10x PCR buffer, x μ L of 10 mM dNTP mixture, 0.5 μ L of Taq polymerase (Promega) and different concentration of primer pairs (Table 2). Amplification conditions were as follows: 45 cycles of 95 °C for 10 s, 49 °C for 30 s and 72 °C for 1 min. PCR products were observed on an agarose gel (2% m/v) stained with Gel Red and under UV light. After, the fragments were purified according to manufacturer's instructions. The size of the PCR products was assessed by sequencing.

2.3. Sequence analyses. The sequences of the amplified DNA fragments were determined in both directions using the BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (outsourced service – STABvida, Portugal). A multiple sequence alignment and analysis of the nucleotide sequences were performed using the BioEdit and ClustalW2.1 as a module of Geneious Pro 7.0.5 (Biomatters).

2.4. Sequence alignment and phylogenetic analysis. Sequences were aligned in a multiple sequence alignment and analysis of the nucleotide sequences were performed using the BioEdit and ClustalW2.1 as a module of Geneious Pro 7.0.5 (Biomatters). Bootstrap heuristics

inRAxML (Randomized Axelerated Maximum Likelihood Analysis on the individual data sets (markers) for each accession were performed (Stamatakis et al., 2008). Multivariate and univariate analyses were performed using R (R Development Core Team, 2013) to estimate genetic diversity within populations and among populations.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Seeds morphological characteristics. Only eleven populations were analysed because of seed shortage of population from Minnesota. Seed weight (1000 grains) ranged from 7.2 g to 9.6 g. The mean value 8.81 g of all population studies is in accordance with the Kew database. In general, plant species occupying closed or dry habitats usually produce larger seeds than those found in open or moisture-rich habitats (Zhang, 1997). According to multivariate analysis of our results, populations were classified in two homogeneous groups (Fig. 1): 1 – CAT (1), GRE (3), VEN (6), TOSC (11) with longer and thicker seeds; 2 – CRO (2); IOWA (5); SER (9); CAS (10) with higher volume of seeds. The other three populations could not be classified. The first group includes populations from south Europe, except Portugal (7), and group 2, populations from USA and northern Europe, except Serbia (8) and Hungary (4). Seed weight of *A. theophrasti* seeds varies according to the light conditions of original site. Large seeds were produced by plants in shaded conditions (Zangh et al.,2000). Our study has similar results and it can be attributed to differences in latitude correspondent to lower photoperiod in north (group 2) and longer photoperiod in south Europe (group 1) But the role of light quality (irradiance) and quantity (radiation) are also to be considered. Plant traits are commonly intercorrelated (Schlichting, 1986, 1989) and seed weight has been shown to correlate with other plant traits such as plant height and growth form (Mazer, 1989; Leishman et al., 1995). Thus, it is also worthwhile examining the pattern and degree of integration between seed weight and other traits across populations. Our hypothesis is that seed morphological traits and seedling emergence could be associated to genetic variability among populations.

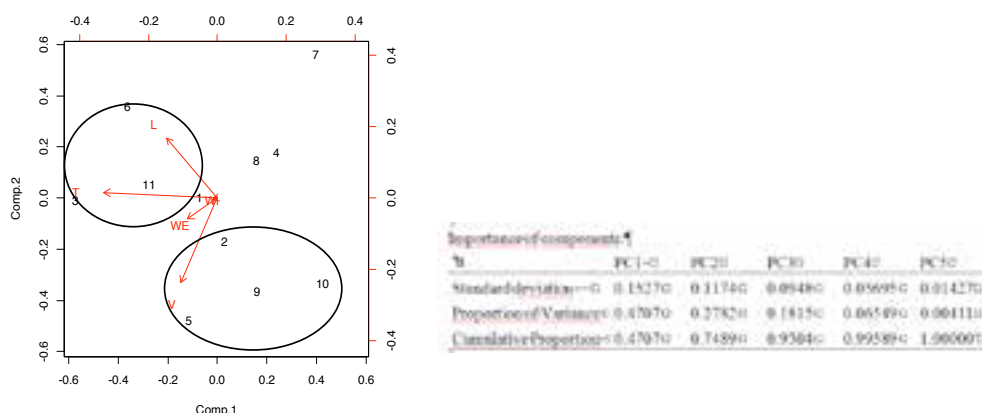


Figure 1. Multivariate analysis seed parameters of eleven populations of *Abutilon theophrasti*.

3.2. Sequence alignment and phylogenetic analysis. Twelve *A.theophrasti* accessions were considered for this study. For assorted technical reasons, some sequences for some markers still remain incomplete or missing but these sequences will soon be obtained and joined to the total combined plastid DNA data set.



Figure 2. Alignment of consensus trnF fragment from Portuguese population (*GenBank MF062945*) with other *Abutilon theophrasti* population.

Previous studies of the genetic relationship between cultivated and weedy *A. theophrasti* and on the phylogenetic analysis of *Eriotheca* and related genera have used a similar technique (Kurokawa et al., 2004; Duarte et al., 2011). Alignment of the *trnF-trnL* required no gaps between the 12 accessions. In contrast and surprisingly, when comparing the consensus sequence with those of the NCBI database, the insertion of several gaps was required (Fig. 2). These results were not similar to those of Kurokawa et al. (2004) who studied intra-species variation of 93 *A.theophrasti* weed populations from Japan, USA and Europe: It was possible to classify the weed populations with ‘ebony tegument seeds’ using chloroplast DNA (cpDNA) into two groups: haplotype A (presence of a one six-base-pair indel) and B (one 30-basepair inversion). Due to the lack of abundance of gene sequences of *Abutilon theophrasti*, we generated these sequences for all the populations used in this study. In our comparison the only variable region was the *rbcl* that allowed to separate the European populations from the American one (At 5 – IOWA) and the *trnF-trnL* region that showed to be different from the *Abutilon theophrasti* population used in the study conducted by Duarte et al (2011). All the sequences obtained, for all the other markers, were aligned. The European populations were equal to each other and to a Portuguese population originated from Azores (Sxhaefer et al., 2011). In our study the mother effect was

not strongly expressed as seeds from all populations came from a common experiment. The plastid is generally uniparentally inherited (Birky, 2001) and behaves as a single non-recombining *locus*, providing a strong signal of population and phylogenetic history (Petit and Vendramin, 2007) The amount of variation present over short regions may be too low to distinguish recently diverged taxa (Piredda et al., 2011). One reason for difficulty in differentiate populations using chloroplast genome could be a recent and common origin of European and American populations, compared to ancient Asiatic populations where this species is originated. *A.theophrasti* was recently introduced in Europe. In the Iberian Peninsula there are reports from the XIX century but it became a serious weed in summer crops in 1980's (Recasens et al., 2003).

4. CONCLUSIONS

Populations from north and southern Europe were separated in two groups according to morphological characteristics of *Abutilon theophrasti* seeds which, as a hypothesis could be attributed to differences in latitude, concerning light quality and quantity. Among the European populations was not observed variability, however, all showed to be different from a population from North America. Additionally, all the populations analyzed in this study showed to be different from a South American population. The preliminary results in this study did not allowed for a possible association between seed morphological traits and genetic variability among populations of *A.theophrasti*. One of the reasons may be the recent origin of the populations of *A.theophrast* as weeds in Europe. Still, they are indicative of higher levels of variation among the populations of different continents. AS few non-coding cpDNA regisions were surveyed, a larger number of genetic markers of the chloroplast and nucleus are needed to increase the probability to detect differences among populations.

5. REFERENCES

- Andersen RN, 1988. *Weed Science*, 36(5), 599-602.
- Campbell RT, Hartwig NL, 1982. *Proc. Northeastern Weed Science Society*, 36, 2-4.
- Kurokawa et al (2004). *Heredity*, 93, 603-609.
- Loddo et al (2015). 17th EWRS «Weed Manag Changing Environments», 23-26 June, Montpellier, F.
- McCauley DE (1995). *Trends in Ecology and Evolution*, 10, 198-202.
- Norsworthy et al. (2012). *WeedScience*, 60, 31-62.
- R Development Core Team (2013). *R: A Language and Environmt for Statistical Computing*. Vienna.
- Recasens et al. (2003). *Contribuciones al Conocimiento de las Especies Exóticas Invasoras. Grupo Especies Invasoras* Ed., G.E.I. Serie Técnica, 1, 213-215.
- Soltis DE, Soltis PS (1998) *DNA Sequencing*: 1-41. Kluwer Academic Publishers, Boston, MA, USA.
- Sterling TM, Putnam AR (1987). *Weed Science*, 35(3), 308-314.
- Warwick SI, Black L D (1988). *Canadian Journal of Plant Science*, 68, 1069-1085.
- Zhang et al. (1997). *Canadian Journal of Botany*, 75(9), 1614-1620.

Avances en la caracterización de dos genes candidatos que confieren rasgos de maleza al arroz maleza colombiano

Verónica Hoyos^{1✉}, Guido Plaza¹, Ana L. Caicedo²

¹ Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 No. 45-03, Edificio 500, Bogotá D.C., Colombia

² University of Massachusetts, Morrill Science Center, 611 North Pleasant Street, Amherst, MA 01003-9297, USA

✉ vhojos@gmail.com

Resumen: El arroz maleza (AM) es una problemática importante en cultivos del arroz presentando rasgos adaptativos como desgrane, coloración del pericarpio y latencia. El objetivo del estudio fue determinar la variabilidad molecular en los genes *sh4* (desgrane) y *Rc* (coloración del pericarpio), analizando secuencias de ADN de 96 accesiones, incluidas variedades cultivadas (15), malezas (71) y silvestres (10). Para todas las accesiones de AM, el gen *sh4* mostró la mutación G/T responsable del no desgrane en el arroz domesticado; sin embargo, presentan fenotipo desgranador. Para el gen *Rc*, todas las accesiones con pericarpio blanco presentaron la delección de 14-bp responsable de la pérdida de color en cultivos. El 80% de las accesiones (AM y silvestres) con pericarpio rojo presentan genotipo silvestre y 20% ostentan la mutación causal de la pérdida de color.

Palabras clave: *Oryza sativa*, desgrane, coloración del pericarpio.

1. INTRODUCCIÓN

Las especies de plantas malezas presentan un conjunto de características genéticas, fisiológicas, morfológicas y rasgos de historia de vida, algunos importantes para su éxito adaptativo (Radosevich et al., 2007). El éxito evolutivo de estas malezas está relacionado con la adquisición de características asociadas a plantas silvestres (mayor altura, desgrane y latencia de semillas) así como características de especies domesticadas (autofecundación, rápido crecimiento), siendo por lo tanto muy competitivas y con alta capacidad invasiva en los agroecosistemas actuales (Reagon et al., 2010). El arroz maleza pertenece al mismo género, y a veces a la misma especie que el arroz cultivado. Presenta morfología y fisiología similares a los cultivos, dificultando el manejo de estas especies, y dando como resultado mayores daños debido a la similitud en requerimientos del medio y provocando reinfestaciones mayores en los lotes de producción de arroz.

El arroz maleza posee características que permiten que sea altamente exitoso, tales como: excelente adaptación a prácticas agronómicas y condiciones ecológicas favorables al cultivo; ciclo biológico estrechamente sincronizado con el cultivo; alta producción de semillas ampliamente dispersables por desgrane fácil y precoz; rápida emergencia y crecimiento vegetativo vigoroso y competitivo; prolongada e intensa latencia de semillas (Delouche et al., 2007). En estado vegetativo, el arroz maleza es un mimico del cultivo (Valverde, 2005), la mayoría de tipos de arroz maleza son fenológica y morfológicamente muy similares al arroz cultivado desde el estado de plántula hasta la etapa reproductiva siendo difíciles diferenciarlos en campo (Delouche et al., 2007). En fase reproductiva presentan tres características indeseables: pericarpio de color rojizo y marrón, desgrane temprano de las panículas y latencia de semillas.

Para la comprensión de las bases moleculares de dos características indeseables del arroz maleza, se determinó la variabilidad molecular en los genes *sh4*, que regula la formación y función de la zona de abscisión responsable del desgrane, y *Rc*, responsable de la coloración del pericarpio.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizó un conjunto de datos de 96 accesiones incluidas especies cultivadas, malezas y silvestres. Se estudiaron 71 accesiones de arroz maleza proveniente de las cinco zonas productoras de arroz en Colombia, de las cuales 14 corresponden a la zona Centro, 16 a los Llanos, 18 a Bajo Cauca, 11 de la Costa Norte y 12 de la zona Santanderes. Se incluyeron cinco variedades comerciales de arroz cultivado (Cica 9, F2000, F50, F60 y Orizica 1) y diez variedades locales de arroz. Igualmente se contó con 4 accesiones de materiales silvestres diploides (*O. glumaepatula*) y 6 materiales silvestres tetraploides (2 de *O. grandiglumis*, 2 de *O. alta* y 2 correspondientes a *O. latifolia*).

2.1. Desgrane. Se diseñaron cebadores para amplificación por PCR y secuenciación directa de la región del gen *sh4* que confiere la característica de desgrane, determinando así la presencia/ausencia de la mutación (sustitución de un solo nucleótido G/T) en el segundo exón del gen. Se realizó el diseño de primers usando Primer3 (Untergasser et al., 2012), basados en el Popset de Thurber et al. (2010) (*sh4_01_for*: 5'-ACGGGCACCTGACTGCTACG-3'; *sh4_01_rev*: 5'-GAGGTGGGTGGTGGTGATGG-3'), con un fragmento esperado de 678 pares de bases. Las medidas fenotípicas de desgrane se tomaron 30 días después de floración utilizando un medidor de fuerza digital para registrar la fuerza máxima en gramos al extraer las semillas hasta que se liberen, promediando la fuerza de 10 semillas en la misma panícula (Thurber et al., 2010).

2.2. Coloración del pericarpio. Debido a que el enfoque de la secuenciación fue determinar la presencia/ausencia de la delección de 14-bp (u otras variaciones) presentes en el exón 7 del gen *Rc*, que determina la coloración del pericarpio, se diseñaron cebadores para abarcar esta región, éstos fueron diseñados usando Primer3 (Untergasser et al., 2012), basados en el Popset de Gross et al. (2010), *Rc_02_for* (5'-AGTGGCATCACCTGAAAATACC-3') y *Rc_02_rev* (5'-CGGCTTTA-TAGAAATAGAGGGAGT-3'), con un fragmento esperado de 509 pares de bases. La determinación del color del pericarpio se realizó visualmente en estado de maduración del grano.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Desgrane. Se registró el desgrane de las semillas en 86 accesiones (sin incluir los silvestres) (Fig. 1), donde las malezas requirieron menor fuerza para separar los granos de la panícula con un promedio general de 4,8 ($\pm 10,0$) g, seguido de las variedades comerciales colombianas, con

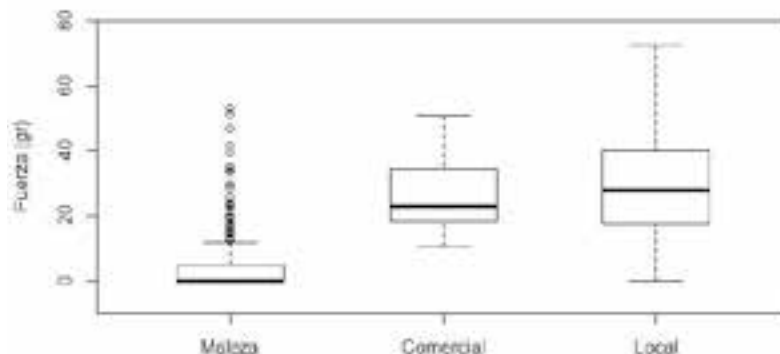


Figura 1. Fenotipo del desgrane de semillas de arroz maleza, variedades comerciales y locales de Colombia.

promedio de 25,5 ($\pm 10,9$) g, y finalmente las variedades locales con 30,3 ($\pm 16,7$) g, resultados que coinciden con lo reportado en estudios anteriores (Thurber et al., 2010, Nunes et al., 2014).

Para todas las accesiones de arroz maleza, los resultados de la secuenciación del gen *sh4* mostraron presencia de la mutación G/T asociada al debilitamiento de la función del gen, responsable del no desgrane en el arroz domesticado (Fig. 2); sin embargo, las malezas colombianas presentan fenotipo desgranador (Fig. 1). Estos resultados coinciden con lo reportado por Thurber et al. (2010), donde todas las malezas de Estados Unidos y arroces cultivados comparten la mutación de no desgrane.

Secuencia	Tipo
CGCTGCAGGAGAGGCTCATCTCTATCAAGGCGAAGCGCTGCGACGAGGAGCGCGCGCGCGCGCGGCTTGGAGATGGG	Silvestre
CGCTGCAGGAGAGGCTCATCTCTATCAAGGCGAAGCGCTGCGACGAGGAGCGCGCGCGCGCGGCTTGGAGATGGG---GG	Arroz maleza
CGCTGCAGGAGAGGCTCATCTCTATCAAGGCGAAGCGCTGCGACGAGGAGCGCGCGCGCGCGGCTTGGAGATGGG---GG	Variedades locales
CGCTGCAGGAGAGGCTCATCTCTATCAAGGCGAAGCGCTGCGACGAGGAGCGCGCGCGCGCGGCTTGGAGATGGG---GG	Variedades comerciales

Figura 2. Alineación de la secuencia parcial de la región reguladora del gen *sh4* para *Oryzas* silvestres, arroz maleza, variedades comerciales y locales de Colombia.

Sin embargo, existen cuatro genes asociados a esta característica, *qSH1* (Konishi et al., 2006), *sh4* (Li et al., 2006), *OsCPL1* (Ji et al., 2010) y *SHAT1* (Zhou et al., 2012), de los cuales en el presente estudio solo se estudió el gen *sh4*, el cual regula la formación y función de la zona de abscisión, explicando aproximadamente el 69% de la variación fenotípica entre una variedad índica tradicional y el progenitor silvestre *Oryza nivara* (Li et al., 2006).

3.2. Coloración del pericarpio. Se registró la coloración del pericarpio para 96 accesiones (Fig. 3), donde se puede observar que el arroz domesticado (variedades comerciales y locales) presenta todas las accesiones con color blanco; por el contrario, los *Oryza* silvestre presentan color rojo en el pericarpio. El 77% de las accesiones de arroz maleza colombiano presenta coloraciones rojizas. Estos resultados coinciden con los reportes del arroz maleza en Malasia, en el cual el 83% de las accesiones presentan pericarpio rojo y el 17% blanco (Cui et al., 2016).

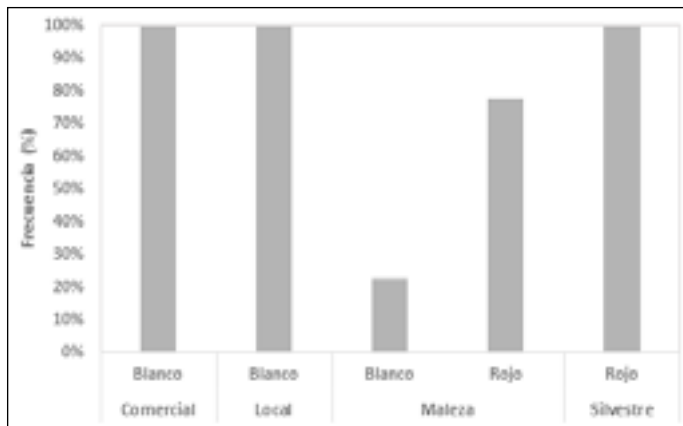


Figura 3. Fenotipo de coloración del pericarpio de semillas de arroz maleza, variedades comerciales y locales de Colombia y silvestres.

En cuanto al gen *Rc*, en todas las accesiones con pericarpio blanco (malezas y cultivos) se encontró la delección de 14-bp presente en el exón 7, responsable de la pérdida de color. En cuanto a accesiones con pericarpio rojo, el 80%, correspondiente a malezas y a *O. glumaepatula*, presentan el genotipo silvestre (no delección) y el 20% restante (malezas y silvestres tetraploides) ostentan la mutación causal de la pérdida de color.

Secuencia		Pericarpio	Tipo
AAATGGA	-----TGGCATCCA	Blanco	Arroz maleza
AAATGGA	-----TGGCATCCA	Blanco	Variedades locales
AAATGGA	-----TGGCATCCA	Blanco	Variedades comerciales
AAATGGA	-----TGGCATCCA	Rojo	Arroz maleza
AAATGGA	-----TGGCATCCA	Rojo	Silvestres tetraploides
AAATGGAACGCGIAAAATGCGTGGCATCCA		Rojo	Arroz maleza
AAATGGAACGCGIAAAATGCGTGGCATCCA		Rojo	Silvestre diploide

Figura 4. Alineación de la secuencia parcial de la región reguladora del gen *Rc* para *Oryzas* silvestres tetraploides (*O. grandiglumis*, *O. alta* y *O. latifolia*), silvestres diploide (*O. glumaepatula*), arroz maleza, variedades comerciales y locales de Colombia.

Los presentes resultados están de acuerdo con estudios anteriores los cuales muestran que las coloraciones blancas en el grano están asociadas con la delección de 14 bp (Furukawa et al., 2007; Sweeney et al., 2007). Igualmente, los resultados de arroz maleza con pericarpio rojo y presencia de la delección coinciden con estudios realizados en Tailandia (Prathepha, 2009), Estados Unidos (Gross et al., 2010), China (Li et al., 2014) y Malasia (Cui et al., 2016). Así mismo, concuerdan con estudios previos sobre el genotipo de *O. glumaepatula* (Gross et al., 2010; Li et al., 2014; Cui et al., 2016).

Para las accesiones de arroz maleza y silvestres tetraploides, que presentan el alelo *Rc* y fenotipo rojo, no se encontraron las demás mutaciones conocidas para el gen asociadas a la reversión en coloración del pericarpio, tales como *Rc^r* (Lee et al., 2009) y *Rc-g* (Brooks et al., 2008).

4. AGRADECIMIENTOS

Instituciones de apoyo: National Science Foundation (NSF), Estados Unidos y Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación Colciencias, Colombia.

5. REFERENCIAS

- Brooks SA, Yan W, Jackson AK and Deren CW (2008). A natural mutation in *rc* reverts white-rice-pericarp to red and results in a new, dominant, wild-type allele; *Rc-g*. *Theoretical Applied Genetics*, 117, 575-580.
- Cui Y, Song BK, Li L-F, Li Y-L, Huang Z, Caicedo AL, Jia Y and Olsen KM (2016). Little White Lies: Pericarp Color Provides Insights into the Origins and Evolution of Southeast Asian Weedy Rice. *G3: Genes[Genomes]Genetics*, 6, 4105-4114.
- Delouche JC, Burgos NR, Gealy DR, Zorrilla de San Martín G and Labrada R (2007). *Arroces maleza – origen, biología, ecología y control*. Estudio FAO producción y protección vegetal 188. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. 173 p.
- Furukawa T, Maekawa M, Oki T, Suda I, Iida S, Shimada H, Takamure I and Kadowaki K (2007). The *Rc* and *Rd* genes are involved in proanthocyanidin synthesis in rice pericarp. *The Plant Journal*, 49, 91-102.

- Gross BL, Reagon M, Hsu S-C, Caicedo AL, Jia Y and Olsen K (2010). Seeing Red: The Origin of Grain Pigmentation in US Weedy Rice. *Molecular Ecology*, 19, 3380-3393.
- Ji H, Kim SR, Kim YH, Kim H, Eun MY, Jin ID, Cha YS, Yun DW, Ahn BO, Lee MC, Lee GS, Yoon UH, Lee JS, Lee YH, Suh SC, Jiang W, Yang JI, Jin P, McCouch SR, An G and Koh HJ (2010). Inactivation of the CTD phosphatase-like gene OsCPL1 enhances the development of the abscission layer and seed shattering in rice. *The Plant Journal*, 61, 96-106.
- Konishi S, Izawa T, Lin SY, Ebana K, Fukuta Y, Sasaki T and Yano M (2006). An SNP caused loss of seed shattering during rice domestication. *Science*, 312, 1392-1396.
- Lee D, Lupotto E and Powell W (2009). G-string slippage turns white rice red. *Genome*, 52, 490-493.
- Li C, Zhou A and Sang T (2006). Rice Domestication by Reducing Shattering. *Science*, 311, 1936-1939.
- Li X-y, Qiang S, Song X-l, Cai K, Sun Y-n, Shi Z-h and Dai W-m (2014). Allele Types of Rc Gene of Weedy Rice from Jiangsu Province, China. *Rice Science*, 21, 252-261.
- Nunes AL, Delatorre CA and Merotto Jr A (2014). Gene expression related to seed shattering and the cell wall in cultivated and weedy rice. *Plant Biology*, 16, 888-896.
- Prathepha P (2009). Pericarp Color and Haplotype Diversity in Weedy Rice (*O. sativa* f. *spontanea*) from Thailand. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 12, 1075-1079.
- Radosevich SR, Holt JS and Ghersa CM (2007). *Ecology of Weeds and Invasive Plants: relationship to agriculture and natural resource management*. 3ra. edición. John Wiley & Sons, USA. 472 p.
- Reagon M, Thurber CS, Gross BL, Olsen KM, Jia Y and Caicedo AL (2010). Genomics patterns of nucleotide diversity in divergent populations of U.S. weedy rice. *BMC Evolutionary Biology*, 10, 180.
- Sweeney MT, Thomson MJ, Cho YG, Park YJ, Williamson SH, Bustamante CD and McCouch SR (2007). Global dissemination of a single mutation conferring white pericarp in rice. *PLoS Genet*, 3, e133.
- Thurber CS, Reagon M, Olsen J, Jia Y and Caicedo AL (2010) Molecular evolution of shattering loci in U.S. weedy rice. *Molecular Ecology*, 19, 3271-3284.
- Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M and Rozen SG (2012). Primer3 - new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Research*, 40, e115.
- Valverde BE (2005). The damage by weedy rice – can feral rice remain undetected?. *Crop Fertility and Volunteerism*. Ed. by Gressel J. pp. 279-294. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Zhou Y, Lu D, Li C, Luo J, Zhu BF, Zhu J, Shangguan Y, Wang Z, Sang T, Zhou B and Han B (2012). Genetic control of seed shattering in rice by the APETALA2 transcription factor Shattering Abortion1. *Plant Cell*, 24, 1034-1048.

Advances in the characterization of two candidate genes underlying weed-adaptive traits in Colombian weedy rice

Summary: Weed rice (WR) is an important problem in rice crops and has adaptive traits such as shattering, pericarp coloration and dormancy. The objective of the study was to determine the molecular variability in the sh4 (shattering) and Rc (pericarp color) genes, by analyzing DNA sequences from 96 accessions including cultivated varieties (15), weed (71) and wild (10). For all WR accessions, the sh4 gene showed the G/T mutation responsible for non-shattering in domesticated rice; however, they present a shattering phenotype. For the Rc gene, all the accessions with white pericarp presented the deletion of 14-bp, responsible for the loss of color in crops, 80% of the accessions (WR and wild) with red pericarp present wild genotype and 20% show the causal mutation of the color loss.

Keywords: *Oryza sativa*, shattering, pericarp color.

Emergencia de poblaciones de *Echinochloa crus-galli* de diferente origen

Aritz Royo-Esnaola¹✉, Kirsten B. Torresen², Donato Loddo³

¹Dept d'Hortofruticultura, Botànica i Jardineria, ETSEA, Agrotecnio, Universitat de Lleida, Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida

²Norwegian Institute of Bioeconomy Research (NIBIO), Division for Biotechnology and Plant Health, Ås, Norway

³Institute of Agro-Environmental and Forest Biology, CNR, Legnaro (PD), Italy

✉ aritz@hbj.udl.cat

Resumen: *Echinochloa crus-galli* es una mala hierba de cultivos verano, cuyo prolongado periodo de emergencia y rápido crecimiento dificulta su control. Se estudió, en Lleida, en Legnaro (Italia) y en Ås (Noruega), la emergencia de varias poblaciones de la mala hierba: dos comunes, procedentes de Italia y de Noruega, y tres poblaciones. 200 semillas de cada población se sembraron en macetas en octubre de 2015, con cinco repeticiones. Los muestreos se realizaron cada 2-3 días desde finales de marzo hasta julio-septiembre. El número de emergencias varió significativamente entre localidades para las poblaciones comunes. La población de Noruega fue la que menos emergencias tuvo en Lleida y Legnaro, pero la que más tuvo en Ås, donde la población italiana emergió menos. Por otro lado, el ritmo de emergencia fue similar entre las poblaciones.

Palabras clave: cambio climático, modelo de emergencia, grados hidrotérmicos, biotipos.

1. INTRODUCCIÓN

El grupo de trabajo de Germinación y Crecimiento Temprano (Germination and Early Growth) de la European Weed Research Society (EWRS) comenzó un experimento en común entre varios grupos distribuidos por Europa y Oriente Medio. La especie escogida fue *Echinochloa crus-galli*, ampliamente estudiada con anterioridad: solo en el scopus aparecen 31 trabajos poniendo como palabras clave «*Echinochloa crus-galli*» y «biology». Sin embargo, debido al cambio climático que se está experimentando en la actualidad, esta especie está migrando hacia el norte de Europa, extendiendo su presencia en áreas en las que su presencia era nula. Por ello, y dada la nocividad de esta especie (Holm et al., 1997), que puede ser severa debido al desarrollo de resistencias a herbicidas (Bagavatiannan et al., 2013), se decidió estudiar la emergencia (y desarrollo) de *E. crus-galli* en un total de 14 localidades distribuidas desde España en el Sudoeste de Europa, hasta Noruega y Suecia en el Norte de Europa, e Irán en el Este de Medio Oriente.

En el presente trabajo se muestran los resultados parciales de tres localidades, Lleida en España, Legnaro en Italia y Ås en Noruega, de las emergencias de poblaciones comunes y locales de cada país, y cuyo objetivo último será la validación o calibración de modelos de emergencia de *E. crus-galli* ya publicados en Norteamérica (Bagavatiannan et al., 2011) y su adaptación a poblaciones europeas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron semillas ya maduras de diversas poblaciones de *E. crus-galli*. Dos de estas poblaciones, procedentes de Ås y de Legnaro y recolectadas en cultivos de cereal y de maíz, respectivamente, se distribuyeron en todas las localidades del experimento, de manera que sirvieran para comparar el efecto de las diferentes climatologías sobre las poblaciones. Además, se sembraron, en cada localidad, tres poblaciones locales procedentes de diferentes cultivos. En Lleida

hubo una población procedente de maizal, otra de arrozales del Delta del Ebro, y otra de campos experimentales de la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) en Casteldefells; en Italia y en Noruega todas las poblaciones procedieron de maizales.

Cada grupo sembró, en octubre de 2015, 200 semillas de cada población correspondiente (las dos comunes y las locales) en macetas de 20 cm de diámetro y 20 cm de profundidad, utilizando cinco repeticiones por población. Previamente a la siembra se esterilizó el suelo que sirvió para rellenar las macetas. Las 200 semillas se sembraron removiendo el suelo de los 4 cm superiores de cada maceta. Las macetas, una vez pasado el invierno, se volvieron a remover (4 cm superiores) en primavera, simulando la preparación del suelo para la siembra del maíz. Al mismo tiempo que la remoción se aportó el equivalente a 50 kg/ha de N.

Una vez realizada la remoción de primavera, se tomaron datos de emergencia en cada población cada 2-4 días, desde finales de marzo hasta septiembre, dependiendo de la localidad. En el caso de Lleida y Legnaro, las macetas se regaron en función de las necesidades con una cantidad conocida de agua. El riego controlado de las macetas queda justificado dado que esta mala hierba afecta a cultivos de regadío y no sobrevive sin esta aportación extra de agua.

Los resultados de porcentajes de emergencia se analizaron mediante ANOVA, tomando como único factor la localidad para cada especie, y posterior test de LSD (Least Significant Difference).

Para representación gráfica de los resultados se estimaron, en cada localidad, los grados hidrotérmicos (HTT) según la fórmula basada en Roman et al. (2000):

$$HTT = \sum (HT \times TT)$$

En la que $HT = 1$ cuando el potencial hídrico es menor que el potencial hídrico base ($\psi < \psi_b$), si no $HT = 0$, y $TT =$ temperatura media diaria menos la temperatura base ($T - T_b$). Se ha considerado la temperatura media del suelo de los primeros cuatro cm de profundidad por ser donde estaban situadas las semillas, y el potencial hídrico a los seis cm de profundidad, por entender que para que ocurra la emergencia las semillas ya han desarrollado una radícula que alcanza esta profundidad. El cálculo de los HTT con el programa STM² (Spokas and Forcella, 2009). La T_b considerada fue de 9,7°C (Wiese & Binning, 1987) y el ψ_b de -1MPa (Masin et al., 2010).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las emergencias de las diferentes poblaciones de *E. crus-galli* se adelantaron o retrasaron en el tiempo en función de la climatología de cada lugar. Así, las primeras semillas germinadas en Lleida se detectaron en el momento de la remoción de primavera (24 de marzo) y las primeras emergencias se observaron el 5 de abril. En Legnaro también se observaron las primeras semillas germinadas el día de la remoción de primavera (29 de marzo), pero las primeras emergencias se observaron el 15 de abril. En Ås la remoción se realizó el 25 de abril y las primeras emergencias no se observaron hasta el 13 de mayo. Por otro lado, en Lleida no se observaron emergencias a partir del 7 de junio, tampoco en Legnaro a partir del 29 de junio, mientras que en Ås dejaron de observarse nuevas emergencias a partir del 5 de agosto.

Las poblaciones de *E. crus-galli* respondieron, en términos de porcentaje total de emergencia, a las condiciones climáticas de cada localidad según su origen y su hábitat de procedencia (Tabla 1). Así, entre las poblaciones comunes, ambas recolectadas en cultivo de maíz, se observó que la italiana era más constante, a pesar de emerger más en Lleida (37%) que en Legnaro (24%) y en Ås (25%), mientras que la noruega emergió muy bien en un clima frío como el de Ås (59%), pero su porcentaje de emergencia se redujo significativamente en Lleida (13%) y en Legnaro (7%). Entre las poblaciones locales, no hubo grandes diferencias entre las de Legnaro y tampoco entre las de Ås. En ambas localidades todas las poblaciones locales procedían de maizales. Pero en Lleida la población local de maizal (Local 1) el porcentaje de emergencia fue mayor (54%) que en la de los campos de experimentación (Local 3, 34%) y en ésta, a su vez, mayor que en la de arrozal (Local 2, 17%), demostrando que el porcentaje total de emergencia viene condicionado por las características del hábitat de procedencia (condiciones del cultivo).

Tabla 1. Porcentajes de emergencia totales (+error estándar) ocurridos en cada una de las tres localidades donde se sembraron las poblaciones de *E. crus-galli*. Diferentes letras indican diferencias significativas entre localidades para cada una de las especies. Las letras mayúsculas comparan las poblaciones comunes entre localidades y las minúsculas las poblaciones entre sí en cada localidad. Local 1, población de maizal en las tres localidades; Local 2, población de arrozal en Lleida, de maizal en Legnaro y Ås; Local 3, población de campos de experimentación de la UPC en Lleida, de maizal en Legnaro y Ås

	Italia	Noruega	Local 1	Local 2	Local 3
Lleida	37 ± 3,3 Ab	13 ± 7,0 Bc	54 ± 1,7 a	17 ± 2,6 c	34 ± 3,1 b
Legnaro	24 ± 2,9 Ba	7 ± 1,4 Bb	24 ± 1,8 a	25 ± 1,7 a	24 ± 1,5 a
Ås	25 ± 4,0 Bc	59 ± 6,1 Aa	51 ± 3,0 ab	54 ± 2,5 ab	45 ± 4,6 b

En cuanto a los ritmos de emergencia a lo largo del tiempo y basados en los HTT, se observó que en Lleida el mayor pico de emergencia ocurrió entre los 16 y 130 HTT, y sobre todo entre los 94 y 123 HTT (Fig. 1). Por el contrario, en Legnaro hubo dos picos de emergencia, aunque sin una separación clara entre ellos, el primero entre los 164 y 228 HTT y el segundo los 302 y 409 HTT (Fig. 2). En Ås el pico de emergencia se dio entre los 64 y 173 HTT. A pesar de las diferencias de los ritmos de emergencia entre localidades, y sin considerar las diferencias en el porcentaje de emergencia acumulada total, cada población respondió de manera similar en una misma localidad. Estos resultados demuestran que si se quieren validar modelos ya desarrollados para la emergencia de *E. crus-galli* se tienen que mejorar algunos de los parámetros considerados (T_b y ψ_b), considerar otras profundidades de suelo para el cálculo de los HTT, o bien las dos cosas a la vez. No se debe descartar tampoco la posibilidad de desarrollar nuevos modelos de emergencia.

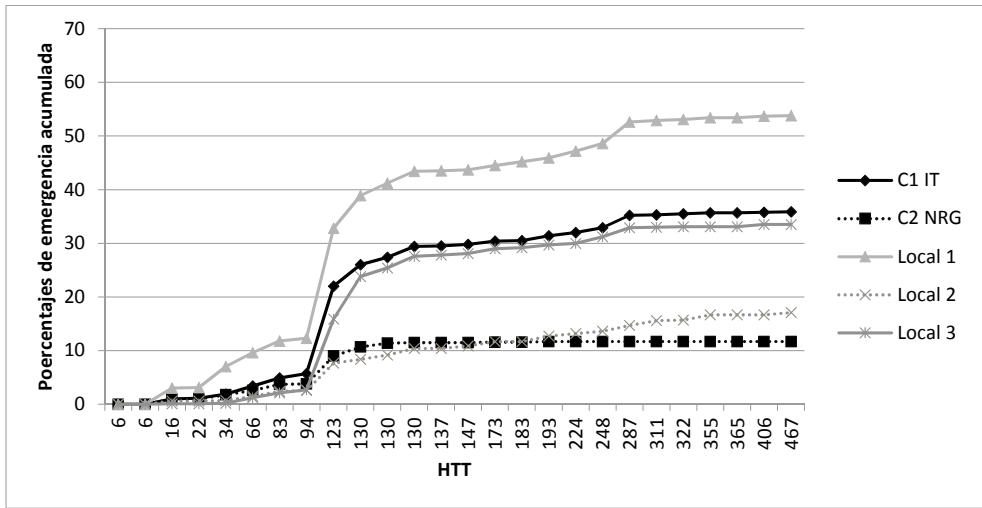


Figura 1. Porcentaje de emergencia acumulada de las cinco poblaciones de *E. crus-galli* en Lleida. C1 IT, población común de Italia; C2 NRG, población común de Noruega; Local 1, población de maizal; Local 2, población de arrozal; Local 3, población del campus de la UPC en Casteldefells.

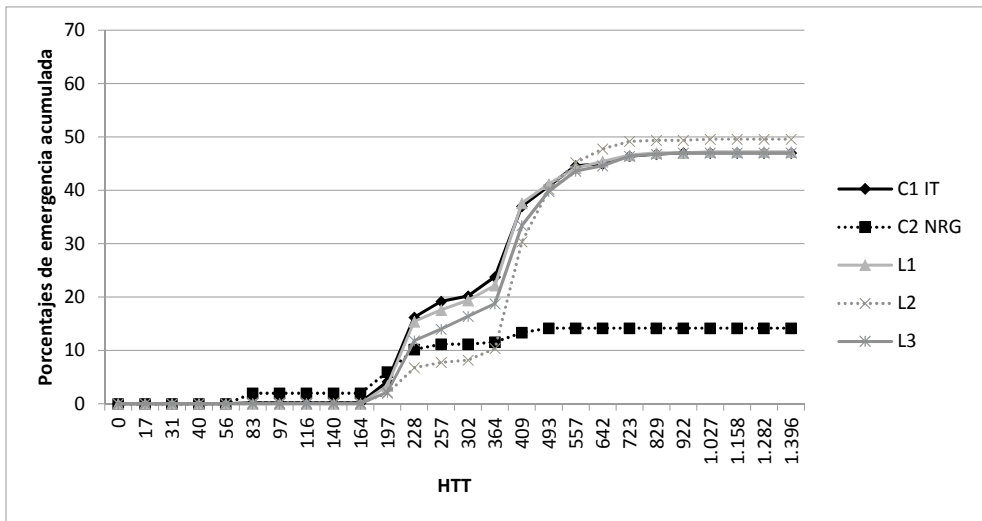


Figura 2. Porcentaje de emergencia acumulada de las cinco poblaciones de *E. crus-galli* en Legnaro. C1 IT, población común de Italia; C2 NRG, población común de Noruega; Local 1, Local 2 y Local 3, poblaciones de diferentes maizales de Legnaro.

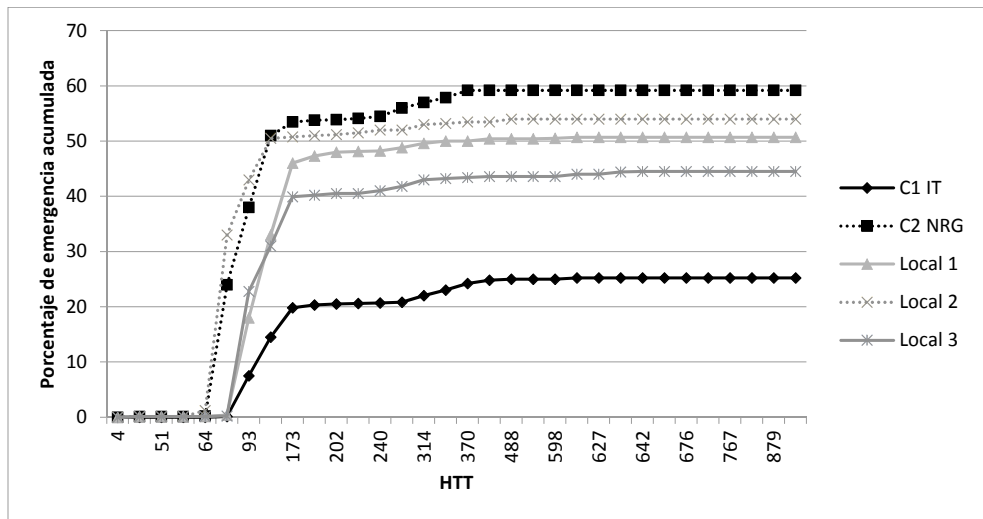


Figura 3. Porcentaje de emergencia acumulada de las cinco poblaciones de *E. crus-galli* en Ås. C1 IT, población común de Italia; C2 NRG, población común de Noruega; Local 1, Local 2 y Local 3, poblaciones de diferentes maizales de Ås.

4. AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sentido agradecimiento a los técnicos que nos han ayudado en el mantenimiento de los ensayos y en la toma de datos. También queremos agradecer a Jordi Izquierdo las semillas proporcionadas de los campos de experimentación de la UPC.

5. REFERENCIAS

- Bagavatiannan MV, Norstworthy JK, Smith KL and Burgos N (2011). Seedbank size and emergence pattern of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Arkansas. *Weed Science*, 59, 359-365.
- Bagavatiannan MV, Norstworthy JK, Smith KL and Neve P (2013). Modeling the evolution of glyphosate resistance in barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in cotton-based production systems of the Mid-southern United States. *Weed Technology*, 27, 475-487.
- Holm L, Doll J, Holm E, Pancho JV and Herberger JP (1997) *World Weeds: Natural Histories and Distribution*. John Wiley & Sons Inc., New York, 1152 pp.
- Masin R, Loddo D, Benvenuti S, Zuin MC, Macchia M and Zanin G (2010). Temperature and water potential as parameters for modeling weed emergence in central northern Italy. *Weed Science*, 58, 216-222.
- Roman ES, Murphy SD and Swanton CJ (2000). Simulation of *Chenopodium album* seedling emergence. *Weed Science*, 48, 217-224.
- Spokas K and Forcella F (2009). Software tools for weed seed germination modeling. *Weed Science*, 57, 216-227.
- Wiese AM and Binning LK (1987). Calculating the threshold temperature of development for weeds. *Weed Science*, 35, 177-179.

Emergence of *Echinochloa crus-galli* populations with different origin

Summary: *Echinochloa crus-galli* is a summer crop weed, whose long emergence period and fast growth makes its control difficult. In this work the emergence of several populations of this weed was studied in three locations: Lleida, Legnaro (Italy) and Ås (Norway). Two common populations plus three local populations in each site were sown. Sowing was performed in pots in October 2015 by disturbing the upper 4 cm of the soil. 200 seeds were sown per pot, with five replications. Sampling was done every 2-3 days, from late March to July-September. Emergences varied significantly between localities. The common population of Norway showed fewer emergences in Lleida and Legnaro, but it was the most abundant in Ås, where the Italian population emerged to a lesser extent. The emergence rate was similar between the different populations.

Keywords: climate change, emergence model, biotypes, hydrothermal time.

Persistencia de determinadas especies arvenses según sus caracteres funcionales en sistemas cerealistas

Valle Egea-Cobrero¹✉, María Eva Hernández-Plaza¹, Yesica Pallavicini¹,
José Luis González-Andújar¹

¹ Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), 14004 – Córdoba
✉ vegea@ias.csic.es

Resumen: Se analizaron dos conjuntos de datos para estudiar la relación entre los atributos funcionales de las especies arvenses y la abundancia y la presencia de dichas especies en campos de cereal. Para ello, se utilizaron tres variables indicativas de la abundancia y la frecuencia: la frecuencia de aparición (FR), la abundancia total (AbTot) y la abundancia relativa (AbRel). Los caracteres funcionales considerados fueron: altura, comienzo y duración de la floración, área foliar específica (SLA), peso de mil semillas y el número de cromosomas. Los resultados mostraron que las especies con mayor número de cromosomas, valores altos de SLA, mayor altura y peso de mil semillas presentaban una mayor frecuencia de aparición. Así como una mayor abundancia total y relativa se vio condicionada por un inicio de floración más temprano y una menor duración de la misma.

Palabras clave: carácter funcional, mala hierba, cereal.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente se reconoce que la flora arvense es un elemento importante en el funcionamiento de los agrosistemas (Sans et al., 2013) porque preserva la biodiversidad necesaria para mantener su estabilidad frente a las variaciones ambientales (Balvanera et al., 2006). Además de aportar un valor intrínseco de biodiversidad, contribuye al mantenimiento de otros taxones presentes en los campos de cultivo y a la provisión de determinados servicios ecosistémicos como la polinización o el control biológico de plagas y enfermedades (Marshall and Mooney, 2002).

Las condiciones ambientales presentes en los campos de cultivo permiten explicar la distribución de las especies arvenses a escala local y regional (Fried et al., 2012). Las diferentes prácticas llevadas a cabo en los sistemas agrarios (tipo de laboreo, dosis de fertilización, uso de herbicidas de síntesis, fecha de siembra del cultivo, etc.) pueden conceptualizarse como filtros que actúan sobre las características biológicas de las especies arvenses para determinar su distribución. En algunos casos, estas prácticas agronómicas podrían limitar la presencia de las especies arvenses en un determinado campo (exclusión), pero más frecuentemente determinarán la abundancia de las mismas. Tanto para el manejo de las comunidades arvenses como para la conservación de algunas de estas especies que pueden resultar de interés, es importante determinar que atributos funcionales están siendo seleccionados por las prácticas agrícolas. Este conocimiento permitiría determinar la relación entre determinadas prácticas agrícolas y la estructura y composición de las comunidades arvenses.

En este contexto, este trabajo analiza la relación entre la abundancia y la presencia de especies arvenses en campos de cereal y los valores del número de cromosomas y cinco caracteres funcionales.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Toma de datos en campo. En este estudio se han utilizado dos conjuntos de datos correspondientes a muestreos realizados en las campañas 2010-2011 y 2013-2014 respectivamente. En la primera campaña se seleccionaron 30 campos de cereal en Andalucía. En cada uno de ellos se identificaron las especies arvenses presentes y se registró su abundancia en cinco marcos de muestreo de 1m². Los marcos se distribuyeron en el centro de cada campo, siguiendo una diagonal, separados cada cinco metros y manteniendo al menos una distancia de 20 metros al borde del cultivo.

En la campaña 2013-2014, se muestrearon 31 campos de cereal localizados en Andalucía, Castilla-La Mancha, Madrid y Cataluña. En cada campo se identificaron las especies presentes y se midió visualmente la cobertura (% que se expresó posteriormente como los cm² ocupados de cada especie en el marco) de cada una de ellas en 10 marcos de 1m². Los marcos se localizaron distanciados entre sí 8 m, dejando un espacio de 5 m a cada uno de los bordes del campo.

2.2. Caracteres funcionales. Para la totalidad de las especies arvenses registradas (96) se obtuvieron el número de cromosomas y los valores de cinco caracteres funcionales utilizando floras regionales y bases de datos públicas: altura máxima (cm) de Castroviejo (1986-2012), Valdes et al. (1987) y Blanca et al. (2011). Comienzo y duración de la floración en meses (Castroviejo, 1986-2012), área foliar específica (SLA) en mm²/mg según Kleyer et al. (2008), peso de mil semillas en gramos (Royal Botanic Gardens Kew, 2017) y el número de cromosomas acorde a Missouri Botanical Garden (2017).

2.3. Análisis numéricos y estadísticos. En cada conjunto de datos se calculó la frecuencia de aparición (FR), la abundancia total (AbTot) y la abundancia relativa (AbRel) de cada especie. La FR corresponde al número de campos de cereal en los que cada especie fue detectada. La AbTot se define como la suma del número promedio de individuos (o cobertura) de cada campo muestreado. Por último, para obtener la AbRel de cada especie se utilizó la siguiente ecuación (Derksen et al., 1995):

$$\text{Donde: } AbRel = \frac{DRel + FRel}{2}$$

DRel (densidad relativa): es la proporción de la abundancia total (AbTot) de cada especie respecto al valor AbTot de todas las especies que aparecen en el conjunto de datos.

FRel (frecuencia relativa): es el ratio resultante de la proporción de cada especie arvense respecto a la proporción total de todas las especies en cada conjunto de datos.

La relación entre cada una de estas variables y los valores de los caracteres funcionales de cada especie se analizó mediante modelos lineales. Se utilizó una distribución de errores de tipo normal para las variables AbTot y AbRel, mientras que para FR se utilizó una distribución de errores de tipo Poisson. En cada caso, las asunciones de normalidad y homogeneidad de residuos se testaron gráficamente. Los análisis se realizaron separadamente para cada conjunto de datos en el entorno de R versión 3.3.0 (R Core Team, 2016).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las especies con mayor frecuencia de aparición en ambos conjuntos de datos fueron *Polygonum aviculare* L. y *Anagallis arvensis* L., seguidas de *Convolvulus arvensis* L., y *Avena sterilis* L. en 2010-2011 y de *Lolium rigidum* Gaudin y *Papaver rhoeas* L. en 2013-2014. *P. aviculare* y *Picris echioides* L. mostraron la mayor abundancia relativa y absoluta en 2010-2011, mientras que *L. rigidum* y *P. rhoeas* lo hicieron en 2013-2014. Los valores medios para los caracteres estudiados en el conjunto de especies registradas fueron: altura 90 cm (± 155), área foliar específica 26 mm²/mg (± 9), peso de mil semillas 12 g (± 74) y número de cromosomas 27 (± 16). La floración de las especies comenzaba en el mes de abril y duraba 4 meses.

Nuestros resultados indican la existencia de una relación entre ciertos caracteres funcionales y la frecuencia y abundancia de las especies arvenses en campos de cultivo de cereal. En ambos conjuntos de datos, las especies con un mayor número de cromosomas se encontraron más frecuentemente y con una mayor abundancia total y relativa en los campos de cereal analizados (Tabla 1). Los valores de SLA, peso de mil semillas, altura, duración e inicio de floración también estuvieron relacionados con la frecuencia de aparición y/o la abundancia de las especies arvenses en alguno de los conjuntos de datos analizados. En concreto, en 2013-2014 las especies con mayor SLA estuvieron presentes en más campos (Tabla 1). En 2010-2011, las especies con mayor peso de semillas y valores elevados de altura se registraron más frecuentemente, y aquellas con un inicio de floración más temprano y una menor duración de la misma, se relacionaron con una mayor frecuencia de aparición y una mayor abundancia total y relativa (Tabla 1).

Tabla 1. Valores del estadístico F (AbTot y AbRel) y Chi cuadrado (FR), resultantes de los modelos lineales ajustados tras analizar la relación entre los índices: FR (frecuencia total), AbTot (abundancia total), AbRel (abundancia relativa), y la variable número de cromosomas y cincocaracteres funcionales (altura máxima, mes comienzo floración, duración floración, área foliar específica y peso de mil semillas) con los datos obtenidos en los muestreos de parcelas cerealistas en los años 2010-2011 y 2013-2014

Carácter funcional	FR		AbTot		AbRel	
	2010-2011	2013-2014	2010-2011	2013-2014	2010-2011	2013-2014
	$F_{1,102}$	$\chi^2_{2,1,130}$	$F_{1,102}$	$\chi^2_{2,1,130}$	$F_{1,102}$	$\chi^2_{2,1,130}$
Altura máxima	4,2 *	3,6	0,3	0,8	0,04	0,6
Mes de comienzo de floración	9,7 **	0,2	11,1 **	2,4	7,5 **	1,6
Duración de floración	13,5 ***	1,1	7,1 **	0,4	6,7 *	0,05
Área foliar específica	$F_{1,71}$	$\chi^2_{2,1,101}$	$F_{1,71}$	$\chi^2_{2,1,101}$	$F_{1,71}$	$\chi^2_{2,1,101}$
	1,7	11,3 ***	0,8	1,8	0,3	1,5
Peso 1000 semillas	$F_{1,91}$	$\chi^2_{2,1,122}$	$F_{1,91}$	$\chi^2_{2,1,122}$	$F_{1,91}$	$\chi^2_{2,1,122}$
	15,6 ***	2,0	0,6	0,0007	0,9	0,4
Nº cromosomas	$F_{1,114}$	$\chi^2_{2,1,124}$	$F_{1,114}$	$\chi^2_{2,1,124}$	$F_{1,114}$	$\chi^2_{2,1,124}$
	35,9 ***	29,3 ***	4,8 *	9,9 **	4,5 *	10,32 **

Aparecen señalados en negrita los casos en los que las relaciones fueron significativas, siendo * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Los grados de libertad del modelo aparecen como subíndice de cada estadístico mostrado (F, χ^2).

Nuestros resultados coinciden con otros trabajos que identifican el mes de inicio de floración, la altura máxima y el peso de la semilla como caracteres funcionales que responden a las prácticas agrícolas (Storkey et al., 2010). La altura es un carácter funcional que se ha relacionado con la potencialidad de las plantas arvenses para alcanzar el dosel del cultivo y está fuertemente ligado a la adquisición y competencia por la luz (Garnier & Navas, 2012). Mientras que el SLA se ha señalado como un carácter importante para la producción primaria en las plantas (Westoby, 1998). Valores elevados de ambos caracteres podrían conferir a las especies arvenses una mayor capacidad de crecimiento y competencia con los cultivos siempre que no existan otras características ambientales limitantes (por ejemplo, una escasez de precipitaciones podría reducir la ventaja de valores elevados de SLA). La mayor abundancia y frecuencia de aparición de las especies con un inicio de floración temprano podría relacionarse con una mayor probabilidad de la especie para completar su ciclo y dispersar las semillas antes de la cosecha del cultivo. Por otra parte, valores elevados de peso de la semilla (o excepcionalmente reducidos) junto con valores de altura reducidos se han identificado como un síndrome que describe a especies arvenses actualmente en declive (Fried et al., 2012; Pinke & Gunton, 2014; Storkey et al., 2010). En este trabajo, existió una relación positiva entre el peso de mil semillas y la altura ($p < 0,05$, datos no mostrados). Este resultado sugiere que en las especies analizadas, un peso de semilla elevado podría proporcionar ventajas para la germinación y persistencia en el banco de semillas en las condiciones de los campos de cereal considerados. En cuanto a la duración de la floración, nuestros resultados contrastan con lo observado en otros trabajos que muestran una mayor duración de la floración en aquellas especies más comunes (Fried et al., 2012).

En cuanto al número de cromosomas, el interés de esta característica es su posible relación con otros caracteres funcionales y con las respuestas de las especies a las condiciones ambientales (Thompson et al., 2001). En los datos analizados en este trabajo, no encontramos relación entre el número de cromosomas y los caracteres funcionales considerados, a excepción de una marginal y positiva con el SLA en uno de los conjuntos de datos. Sin embargo, podrían darse relaciones con otros caracteres funcionales no analizados.

La relación del número de cromosomas, el contenido en ADN y diversos caracteres funcionales serán fruto de futuros trabajos en nuestro grupo de investigación.

Respecto a la metodología empleada en este trabajo es importante señalar que el mayor número de relaciones significativas detectado en el conjunto de datos de 2010-2011 puede explicarse por el tipo de muestreo realizado en esa campaña. En ese caso, la medida de abundancia utilizada fue el número de individuos presentes en cada marco, mientras que en el muestreo de la campaña 2013-2014, la AbTot y la AbRel se calcularon a partir de las medidas de cobertura de cada especie. Por otra parte, en nuestro análisis, no podemos adscribir inequívocamente la selección de estos atributos a las prácticas agrícolas, sino que en parte las especies responderán a otras características físico-químicas presentes en los campos muestreados.

Como conclusión, nuestros resultados señalan que las diferentes prácticas agrícolas llevadas a cabo en los cultivos de cereal analizados permiten una mayor frecuencia y/o abundancia de aquellas especies arvenses con un mayor número de cromosomas, mayor SLA y peso de mil semillas y con un inicio de floración más temprano y una menor duración de la misma.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por fondos FEDER y el plan Nacional de Investigación (I+D) del Ministerio de Economía y Competitividad (proyectos AGL2009-07883 y AGL2015-64130-R).

5. REFERENCIAS

- Balvanera P, Pfisterer AB, Buchmann N, He JS, Nakashizuka T, Raffaelli D and Schmid B (2006). Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecology letters*, 9, 1146-1156.
- Blanca G, Cabezudo B, Cueto M, Morales Torres C and Salazar C (2011). Flora vascular de Andalucía Oriental (2a Edición). Consejería de Medio ambiente, Junta de Andalucía. Sevilla.
- Castroviejo S (1986-2012). Flora ibérica 1-8, 10-15, 17-18, 21. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid.
- Derksen DA, Thomas AG, Lafond GP, Loepky HA and Swanton CJ (1995). Impact of post-emergence herbicides on weed community diversity within conservation-tillage systems. *Weed Research*, 35, 311-320.
- Fried G, Kazakou E and Gaba S (2012). Trajectories of weed communities explained by traits associated with species' response to management practices. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 158, 147-155.
- Garnier E & Navas ML (2012). A trait-based approach to comparative functional plant ecology: concepts, methods and applications for agroecology. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 32, 365-399.
- Kleyer M, Bekker RM, Knevel IC, Bakker JP, Thompson K, Sonnenschein M, Poschlod P, Van Groenendael JM, Klimeš L, Klimešová J, Klotz S, Rusch GM, Hermy M, Adriaens D, Boedeltje G, Bossuyt B, Danemann A, Endels P, Götzenberger L, Hodgson JG, Jackel AK, Kühn I, Kunzmann D, Ozinga WA, Römermann C, Stadler M, Schlegelmilch J, Steendam HJ, Tackenberg O, Wilmann B, Cornelissen JHC, Eriksson O, Garnier E and Peco B (2008). The LEDA Traitbase: a database of life-history traits of the Northwest European flora. *Journal of Ecology*, 96, 1266-1274.
- Marshall EJP & Moonen AC (2002). Field margins in northern Europe: their functions and interactions with agriculture. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 89, 5-21.
- Missouri Botanical Garden. (2017). Index to Plant Chromosome Numbers (IPCN). Recuperado 18 abril de 2017, a partir de: <http://www.tropicos.org/Project/IPCN>.
- Pinke G & Gunton RM (2014). Refining rare weed trait syndromes along arable intensification gradients. *Journal of vegetation science*, 25, 978-989.
- R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Royal Botanic Gardens Kew. (2017). Seed Information Database (SID). Versión 7.1. Recuperado 10 de mayo de 2017, a partir de: <http://data.kew.org/sid/>.
- Sans FX, Armengot L, Bassa M, Blanco-Moreno JM, Caballero-López B, Chamorro L and José-María L (2013). La intensificación agrícola y la diversidad vegetal en los sistemas cerealistas de secano mediterráneos: implicaciones para la conservación. *Revista Ecosistemas*, 22, 30-35.
- Storkey J, Moss SR and Cussans JW (2010). Using assembly theory to explain changes in a weed flora in response to agricultural intensification. *Weed Science*, 58, 39-46.
- Thompson JN, Reichman OJ, Morin PJ, Polis GA, Power ME, Sterner RW, Couch CA, Gought L, Holt R, Hooper DU, Keesing F, Lovell CR, Milne BT, Molles MC, Roberts DW and Strauss S. (2001). Frontiers of Ecology: As ecological research enters a new era of collaboration, integration, and technological sophistication, four frontiers seem paramount for understanding how biological and physical processes interact over multiple spatial and temporal scales to shape the earth's biodiversity. *AIBS Bulletin*, 51, 15-24.
- Valdes B, Talavera S and Fernandez-Galiano E (1987). Flora vascular de Andalucía Occidental. Ketres editora. Barcelona.
- Westoby M (1998). A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and soil*, 199, 213-227.

Persistence of certain weeds according to their functional characteristics in cereal systems

Summary: Two data sets were analyzed to study the relationship between the functional attributes of the weeds and the abundance and presence of these species in cereal fields. For this, three variables indicative of abundance and frequency were used: frequency of occurrence (FR), total abundance (AbTot) and relative abundance (AbRel). The functional characteristics considered were: height, start and duration of flowering, specific leaf area (SLA), seed mass and number of chromosomes. The results showed that the species with the highest number of chromosomes, high values of SLA, greater height and seed mass had a higher frequency of occurrence. As well, a greater total and relative abundance conditioned an earlier start of flowering and a shorter duration of flowering.

Keywords: weed, trait, cereal.

Redes neuronales artificiales para modelizar la emergencia de malas hierbas

Joel Torra¹, Aritz Royo-Esnal¹, Guillermo R. Chantre², Jordi Recasens¹

¹ Malherbología y Ecología Vegetal. Dpto HBJ. Agrotecnio, Universitat de Lleida. Avda. Rovira Roure 191, 25198-Lleida, España

² Departamento de Agronomía y CERZOS, Universidad Nacional del Sur/CONICET, 8000-Bahía Blanca, Argentina

✉ joel@hbj.udl.cat

Resumen: El objetivo del presente trabajo fue desarrollar redes neuronales artificiales (RNA) para predecir la emergencia del bromo (*Bromus diandrus*) y comparar su capacidad predictiva con los modelos sigmoidales (MS). Los tiempos termales e hídricos fueron usados como variables independientes de entrada (modelo bivariado) y la proporción de emergencia acumulada fue considerada la variable de salida, para un total de 16 escenarios distintos (con diferentes fechas de siembra y manejos del suelo), con el fin de comparar la bondad de los ajustes con la raíz del error medio cuadrático (REMC) entre las RNA y los MS. Los resultados indican que tanto las RNAs como los MS predicen satisfactoriamente la emergencia de *B. diandrus*. Sin embargo, se observó un mejor ajuste en 11 de los 16 escenarios evaluados utilizando RNA (REMCun 46% más bajos comparados con los MS).

Palabras clave: *Bromus diandrus*, mínimo laboreo, modelo no lineal sigmoidal, siembra directa.

1. INTRODUCCIÓN

La mayoría de los modelos predictivos desarrollados para predecir la emergencia de malas hierbas utilizan modelos no lineales de tipo sigmoidal (Forcella, 1998). Normalmente las variables predictivas son los tiempos termales (Izquierdo et al., 2009) o hidrotermales (Royo-Esnal et al., 2010), aunque también se ha observado que añadiendo el fotoperiodo (índice fotohidrotermal) se mejoran las capacidades predictivas (Royo-Esnal et al., 2015). En el caso del bromo (*Bromus diandrus* Roth.), los modelos desarrollados predicen satisfactoriamente su emergencia (García et al., 2013). En esta especie el momento de intervención para realizar una escarda química es crucial para maximizar la eficacia de los herbicidas. En este sentido, desarrollar herramientas predictivas de la emergencia de la mala hierba lo más precisas posibles serían de gran ayuda para su potencial implementación en sistemas de ayuda a la toma de decisiones.

Las redes neuronales artificiales (RNAs) son algoritmos de cálculo con funciones complejas de aprendizaje que emulan la funcionabilidad del cerebro (Çakmak and Yıldız, 2011). Las RNAs tienen un alto potencial de aplicabilidad en sistemas ecológicos gracias a su elevada capacidad para describir relaciones no lineales complejas entre múltiples variables. Son una herramienta prometedora para predecir de forma muy precisa la emergencia de malas hierbas. Sin embargo, hasta la fecha, solo han sido implementadas para predecir los patrones de emergencia de la especie cosmopolita *Avena fatua* L. (Chantre et al., 2012; Chantre et al., 2014), observándose una mayor capacidad predictiva comparativamente con los modelos sigmoidales tradicionales.

El objetivo del presente trabajo consistió en implementar RNAs para predecir la emergencia del bromo (*Bromus diandrus*) y comparar su capacidad predictiva con los modelos sigmoidales (MS) previamente desarrollados.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Datos de campo. Los datos de campo utilizados para desarrollar las RNAs y los modelos sigmoidales provinieron de dos ensayos de campo ubicados en una finca comercial de cereal de secano en la localidad de Agramunt (Lleida). El campo tenía una infestación natural de *B. diandrus*. En el primer ensayo se estudió la emergencia del bromo en tres fechas de siembra distintas, octubre, noviembre y diciembre en siembra directa. En el segundo ensayo se estudió la emergencia en cuatro tipos de manejo del suelo diferentes: siembra directa, chisel, subsolador y vertedera (Recasens et al., 2016). El diseño fue en tres bloques completamente al azar en ambos experimentos. La emergencia acumulada se evaluó durante tres campañas, 2008/09, 2009/10 y 2010/11 (García et al., 2013). Se realizaron conteos periódicos ubicando 5 marcos de 0.1 m² al azar en cada parcela elemental. Los datos climatológicos se obtuvieron de una estación experimental ubicada en el mismo campo. Los modelos no lineales desarrollados utilizaron la ecuación Chapman (García et al., 2013).

3.2. Desarrollo de la RNAs. Con los datos climatológicos de temperatura del aire y pluviometría, se estimaron la temperatura y el potencial hídrico del suelo usando el programa STM² (Spokas & Forcella, 2009). Los tiempos termales e hídricos fueron usados como variables independientes de entrada configurando modelos bivariados (Chantre et al., 2012) (Fig. 1). Se utilizó una arquitectura tipo feedforward con tres capas, una de entrada (variables tiempo térmico e hidrotiempo), una capa oculta y otra de salida representada por la emergencia acumulada (Fig. 1). Para el desarrollo de la red neuronal se utilizaron un total de 1610 pares de datos de entrada/salida correspondientes a tres años de campo en dos ensayos diferentes.

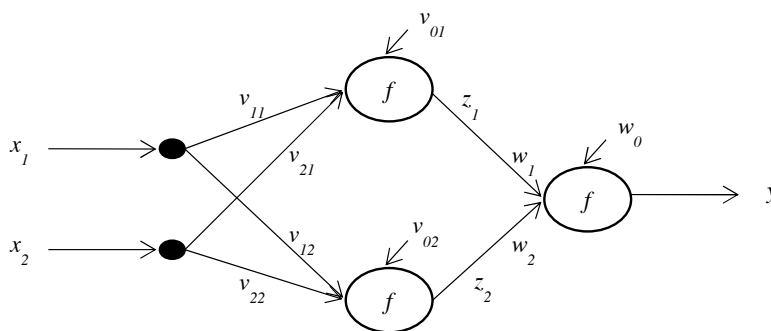


Figura 1. Red Neuronal Artificial con arquitectura feedforward de tres capas. La variables de entrada x_1 y x_2 , la capa oculta con dos neuronas, y la tercera capa conteniendo la variable de salida (y). f representa la función de procesamiento o activación de las neuronas; V_m son los pesos de las conexiones entre la primera y segunda capa; V_0 son los desvíos de las neuronas de la capa interna; Z_j son las salidas-respuesta de las neuronas de la capa oculta; W_j son los pesos de las conexiones entre la 2da y la 3er capa y W_0 el desvío de la capa de salida.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos se dividieron en sets de aprendizaje (i.e. entrenamiento) y testeo, 40 - 60% de los datos, respectivamente. Un total de 16 escenarios distintos (con diferentes fechas de siembra

y manejos del suelo) fueron modelizados con el fin de comparar la bondad de los ajustes entre RNAs y MS.

Utilizando como criterios de bondad del ajuste la raíz del error medio cuadrático (REMC) y el criterio de información de Akaike (CIA), se fue aumentando el número de neuronas en la capa oculta a fin de seleccionar la mejor RNA. Como se puede observar la tabla 1, el modelo de 3 neuronas resultaría seleccionado según el AIC.

Tabla 1. RNA de tres capas para predecir la emergencia de *Bromus diandrus* aumentando el número de neuronas de 1 a 4 en la capa escondida. Variables de entrada: tiempos termales e hídricos; variable de salida, emergencia acumulada relativa. Bondad del ajuste sobre el set de entrenamiento: REMC, Raízdel Error Medio Cuadrático; CIA, Criterio de Información de Akaike

Modelo	Nº neuronas	REMC	CIA
RNA1	1	0.082	-2.24
RNA2	2	0.082	-2.25
RNA3	3	0.083	-2.28
RNA4	4	0.084	-2.27

Sin embargo, a fin de poder seleccionar el modelo RNA más adecuado con fines predictivos se procedió a analizar el comportamiento gráfico de cada una de las RNA desarrolladas. Como se observa en la Fig. 2, las predicciones sobre el set de testeo (datos independientes) con las RNA de tres y cuatro neuronas muestran cierto grado de sobreajuste evidenciando fluctuaciones en la variable de salida. Sin embargo, la predicción resultó aceptable según los valores de REMC. Considerando el sobreajuste (i.e. sobre parametrización) evidenciado por el modelo de 3 neuronas, se seleccionó el RNA2 dada su mayor parsimonia y adecuada representación de la emergencia acumulada a campo del bromo.

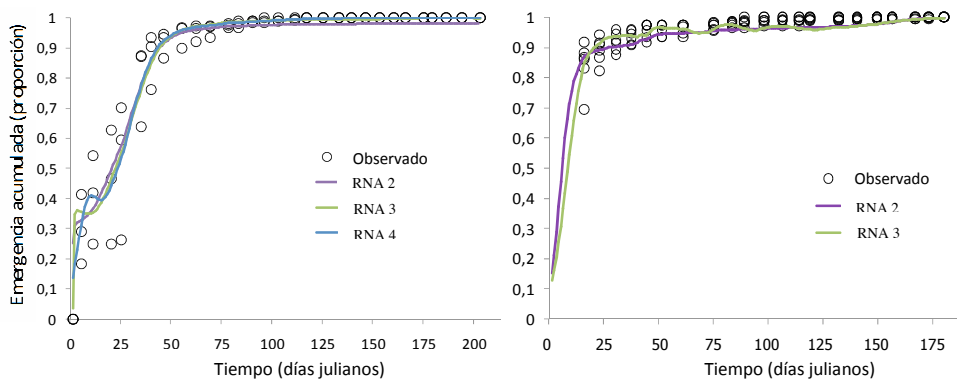


Figura 2. Emergencia acumulada observada (círculos) de *Bromus diandrus* para dos escenarios ejemplo (izquierda y derecha) del set de testeo y emergencia acumulada predicha (líneas) por RNA con número creciente de neuronas en la capa escondida, dos (RNA2), tres (RNA3) y cuatro (RNA4).

Luego de seleccionado el modelo RNA2 se procedió a comparar la bondad del ajuste con los MS ya desarrollados (García et al., 2013).

Tabla 2. Raíz del Error Medio Cuadrático (REMC) para la emergencia acumulada de *Bromus diandrus* durante tres campañas en 16 escenarios diferentes predicha mediante Redes Neuronales Artificiales (RNA), Modelos Sigmoidales (MS) y Modelos Sigmoidales conlag phase (+ lag phase)

Escenario		REMC		
		RNA	MS	+ lag phase
Octubre	10/11	6.2	11.4	
Noviembre	08/09	2.9	5.3	13.5
“	09/10	5.5	10.1	8.1
“	10/11	10.7	5.6	15.9
Diciembre	08/09	1.3	2.2	4.2
“	09/10	2.5	3.3	2.6
“	10/11	2.6	7.5	18.0
Subsolador	08/09	7.0	7.6	2.6
“	09/10	2.5	6.1	4.1
“	10/11	7.3	5.7	14.5
Chisel	08/09	8.4	5.9	1.3
“	09/10	2.8	6.0	4.0
“	10/11	6.6	4.4	17.6
Vertedera	08/09	6.5	4.1	3.6
“	09/10	10.7	14.2	11.8
“	10/11	11.3	11.9	14.0
	Media	5.9	7.0	9.1

Tanto las RNA como las MS predijeron satisfactoriamente la emergencia de *B. diandrus*, del set de testeo, con REMC por debajo de 20 en todos los casos (Tabla 2), lo que se considera como una buena capacidad predictiva (Royo-Esnal et al., 2015). La red RNA2 generó mejores predicciones que los MS (García et al., 2013; Recasens et al., 2016) en 11 de los 16 escenarios. De media, las RNA obtuvieron REMC un 46% más bajo comparado con los MS.

En resumen, la red neuronal artificial desarrollada con tres capas de neuronas (una de entrada, una interna con dos neuronas, y una de salida), evidencia una buena capacidad predictiva de la emergencia en campo del bromo. Por lo tanto, las RNA son buenas candidatas para ser implementadas en sistemas de ayuda a la toma de decisiones. Futuros trabajos requieren una ampliación de las técnicas de ajuste y selección de dichos modelos.

4. AGRADECIMIENTOS

Los datos utilizados en este trabajo corresponden a resultados de ensayos de sendos proyectos financiados por el Ministerio de Educación y Ciencia de España (AGL2007-60828 y AGL2010-22084-C02-01).

5. REFERENCIAS

- Çakmak G & Yildiz C (2011). The prediction of seedy grape drying rate using a neural network method. *Computers and Electronics in Agriculture*, 75, 132-138.
- Chantre GR, Blanco AM, Lodovichi MV, Bandoni AJ, Sabbatini MR, López RL, Vigna MR and Gigón R (2012). Modeling *Avena fatua* seedling emergence dynamics: An artificial neural network approach, *Computers and Electronics in Agriculture*, 88, 95-102.
- Chantre GR, Blanco AM, Forcella F, Van Acker RC, Sabbatini MR and González-Andújar JL (2014). A comparative study between Nonlinear Regression and Artificial Neural Network approaches for modelling wild oat (*Avena fatua*) field emergence. *Journal of Agricultural Science*, 152, 254-262.
- Forcella F (1998). Real-time assessment of seed dormancy and seedling growth for weed management. *Seed Science Research*, 8, 201-209.
- García AL, Recasens J, Forcella F, Torra J and Royo-Esnal A (2013). Hydrothermal emergence model for *Bromus diandrus*. *Weed Science*, 61, 146-153.
- Izquierdo J, González-Andújar JL, Bastida F, Lezáun JA and Del Arco MJS (2009). A thermal time model to predict corn poppy (*Papaver rhoeas*) emergence in cereal fields. *Weed Science*, 57, 660-664.
- Recasens J, García AL, Cantero-Martínez C, Torra J and Royo-Esnal A (2016). Long-term effect of different tillage systems on the emergence and demography of *Bromus diandrus* in rainfed cereal fields. *Weed Research*, 56, 31-40.
- Royo-Esnal A, Gesch RW, Forcella, Torra J, Recasens and Necajeva E (2015). The role of light in the emergence of weeds: Using *Camelina microcarpa* as an example. *PLoS ONE*, 10, e0146079.
- Royo-Esnal A, Torra J, Conesa JA and Recasens J (2010). Characterization of emergence of autumn and spring cohorts of *Galium* spp. in winter cereals. *Weed Research*, 50, 572-585.
- Spokas K & Forcella F (2009). Software tools for weed seed germination modeling. *Weed Science*, 57, 216-227.

Artificial neural networks to model weed emergence

Summary: The objective of the present study was to develop artificial neural networks (ANN) to predict the field emergence of brome (*Bromus diandrus*) and compare their predictive capabilities with non-linear sigmoidal models (NLM) previously developed (MS). Thermal and hydric times were used as independent input variables in bivariate models, while the proportion of cumulative emergence was used as the output variable, for a total of 16 different scenarios (with different sowing times and soil managements), with the aim of comparing the goodness of fit with the root-mean square errors (RMSE) between the ANN and NLM. Results indicate that both modelling approaches are able to predict satisfactorily *B. diandrus* emergence. However, in 11 of 16 scenarios tested, the RMSES were lower (46% on average) using ANN compared to NLM.

Keywords: *Bromus diandrus*, minimum tillage, no-linear model, direct drilling.

Cuantificación de parámetros térmicos vinculados con los cambios en el nivel de dormición y germinación de *Chloris virgata*

Sebastián Rodríguez¹, Betina C. Kruk¹✉, Emilio H. Satorre¹

¹Cátedra de Cerealicultura, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453 (1417)-Buenos Aires, Argentina
✉ bkruk@agro.uba.ar

Resumen: Se estudiaron los cambios en el nivel de dormición de semillas de *Chloris virgata* a los 0, 98 y 175 días luego de la dispersión. Se evaluó la dormición de semillas a través de parámetros que describen el efecto de la temperatura sobre la germinación a campo. Los valores de T_b , T_{opt} y T_{max} para este biotipo fueron 7°C, 28°C y 40°C, respectivamente, y se mantuvieron constantes independientemente del nivel de dormición. La temperatura del límite inferior para la germinación del 50 % de la población fue de 24°C, 19°C y 11°C a los 0, 98 y 175 días después de la dispersión y la temperatura del límite superior se mantuvo constante (40°C). Estos parámetros permitieron predecir el inicio de la germinación a mediados de septiembre en la región pampeana argentina.

Palabras clave: días desde la dispersión, dinámica de emergencia, modelos predictivos de emergencia, post-maduración, temperatura base, temperatura óptima, tiempo térmico.

1. INTRODUCCIÓN

Los modelos matemáticos basados en conocimientos sobre la ecofisiología y la genética de las plantas son una herramienta útil para predecir el comportamiento de las malezas. Estos modelos, pueden ser utilizados para evaluar estrategias de manejo sustentables que permitan mantener niveles bajos de infestación de malezas en el largo plazo (Martínez-Ghersa et al., 2000). Muchos de ellos se construyen a partir del análisis de las respuestas que generan las condiciones ambientales sobre la germinación de las semillas. En zonas templadas del mundo, el principal factor que determina la germinación de la mayoría de las especies es la temperatura (Baskin & Baskin, 1988), por lo tanto, el conocimiento del comportamiento de las malezas en respuesta a este factor podría ser útil para diseñar prácticas agrícolas que permitirían evitar o suprimir cambios evolutivos indeseables (Martínez-Ghersa et al., 2000; de Abelleira & Satorre, 2004).

Chloris virgata P. Durand es una gramínea anual C4 que se encuentra presente como maleza en los sistemas agrícolas de la región pampeana argentina (Leguizamón, 2007; Metzler et al., 2014). Debido a su capacidad de adaptación a diversos ambientes, se ha convertido en una maleza difícil de combatir en muchas partes del mundo (Osten, 2012) y se han reportado biotipos resistentes a herbicidas en varios países (Heap, 2017). Si bien, se ha estudiado la influencia de la temperatura y la concentración salina del medio sobre la germinación de semillas de esta especie (Zhang et al., 2015; Lin et al., 2015), poco se sabe acerca de su dormición y las condiciones ambientales que permiten modificar esta condición. La estimación de parámetros que permitan predecir su establecimiento a campo, puede ser una herramienta útil para direccionar el manejo de esta maleza en lotes agrícolas, especialmente en lugares donde el control se ha dificultado.

En este trabajo se estudió la germinación de semillas de la especie *C. virgata* bajo diferentes tratamientos de post-maduración en diferentes momentos del año para calcular algunos parámetros que permitan modelizar su comportamiento y predecir la dinámica de emergencia en condiciones de campo.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

En el mes de Febrero de 2016 se recolectaron semillas maduras de la especie *Chloris virgata* en varios lotes de producción agrícola de la región pampeana argentina (35°5'39"S, 62°12'45"O). Inmediatamente luego, se calculó la viabilidad de la población inicial de semillas a través de una prueba con tetrazolio (cloruro de 2, 3, 5-trifeniltetrazolio) al 1 % p/v (Delouche, 1962) para evitar lecturas erróneas de la germinación en los experimentos. Posteriormente, se sometieron diferentes poblaciones de semillas a cuatro procesos de post-maduración: a) almacenamiento en húmedo a 5°C en cajas de Petri; b) almacenamiento en seco a 5°C en bolsas de papel; c) almacenamiento en seco a 25°C en bolsas de papel; y d) en bolsas de polyster transparente (3 cm x 5 cm) con microporos abiertos, enterradas en campo a 2 cm de profundidad. Los tratamientos se mantuvieron durante 175 días y se hicieron extracciones de semillas a los 0, 98 y 175 días desde la dispersión inicial de semillas para cuantificar la germinación a regímenes de temperaturas ascendentes (IT), descendentes (DT) y temperaturas constantes (CTE). En el caso de las semillas enterradas, se registró la temperatura del suelo a intervalos de una hora con dos sensores conectados a datalogger (Pendant - HOBO modelo DTUA-001-08) enterrados junto con las semillas.

El test de germinación IT y DT se realizó según la metodología propuesta por Washitani (1987) y modificada por Kruk & Benech-Arnold (1998). La misma consiste en exponer a las semillas embebidas a incrementos graduales de temperatura de 5 °C dentro de un rango entre 5°C y 35°C (régimen IT) y a una disminución gradual de temperatura de 5°C para el rango inverso (régimen DT). Debido a que la tasa de germinación aumenta con la temperatura, la duración del período a cada temperatura constante fue variable. Las semillas permanecieron 8 días a 5°C, 6 días a 10°C, 5 días a 15°C, 4 días a 25°C, 3 días a 30°C y 2 días a 35°C. Se realizaron 4 repeticiones de 25 semillas colocándolas en cajas de Petri de 90 mm de diámetro con 3 capas de papel de filtro y 5 ml de agua destilada. Las semillas germinadas se registraron inmediatamente antes de cada variación de temperatura y luego fueron removidas. Como criterio de germinación se utilizó la protrusión de la radícula (Washitani, 1987). Con esta metodología se obtuvieron curvas de germinación para cada categoría de semillas consideradas en función de la temperatura y de las condiciones de post-maduración.

En el test de germinación CTE, las semillas recolectadas fueron incubadas a 10, 15, 25 y 30°C. Se colocaron 50 semillas en cajas de Petri de 90 mm de diámetro con 3 capas de papel de filtro y 5 ml de agua destilada. Se utilizó un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones. Cada cinco días (a los 98 días de post-maduración) o diariamente (a los 175 días de post-maduración) se realizaron conteos y posterior remoción de las semillas germinadas a lo largo de 30 días de duración del experimento. El tiempo (días) en que se alcanzó el 10 y 20% de germinación fue estimado para cada temperatura a través de un análisis de regresión no lineal. La tasa de germinación de cada una de dichas fracciones se graficó en función de la temperatura, quedando la temperatura base (T_b) determinada por la intersección de las rectas con el eje x (Steinmaus et al., 2000). Los porcentajes finales de germinación fueron sometidos a un análisis de varianza y las medias fueron comparadas mediante un test de Tukey ($\alpha < 0.05$).

Los parámetros que explican la dinámica de la entrada o salida de la dormición y la germinación en el sistema experimental utilizado se cuantificaron sobre la base de un modelo matemático modificado de Kruk & Benech-Arnold (1998) para las semillas que permanecieron enterradas

en el suelo durante diferentes intervalos de tiempo. El modelo describe la dinámica de la germinación de semillas en función del tiempo y la temperatura. Con los resultados obtenidos en el test de germinación y el modelo matemático se cuantificaron dos grupos de parámetros: (i) temperatura del límite inferior (T_l) y temperatura del límite superior (T_h) del rango permisivo para la germinación y dentro de ese rango; (ii) temperatura base (T_b), temperatura óptima (T_{opt}), temperatura máxima (T_{max}) y, tiempo térmico requerido para que germine el 50% de la fracción de semillas despiertas (TT_{50}).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El 97% de las semillas fueron viables al inicio de los experimentos. Sin embargo, las semillas recién dispersadas tuvieron niveles máximos de germinación de 16, 2 y 6% para los test de germinación IT, DT (Fig. 1) y CTE, respectivamente. Esto indica que las semillas presentaban altos niveles de dormición primaria, en coincidencia con lo sugerido por Osten (2012), quien indicó que las semillas de *C. virgata* requieren entre 6 y 10 semanas de post-maduración para disminuir el nivel de dormición.

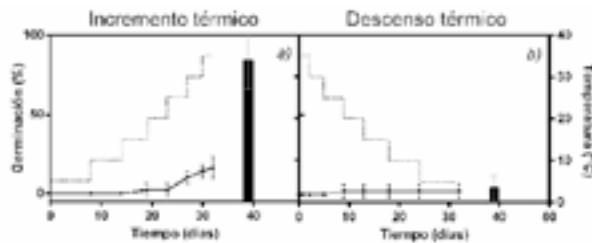


Figura 1. Porcentaje de germinación de semillas de *Chloris virgata* recién dispersadas bajo los regímenes Incremento térmico (IT) (a) y Descenso térmico (DT) (b). Las barras indican el porcentaje de germinación luego de exponer a las semillas a 24/10°C y 25°C en los regímenes IT y DT al finalizar el test de germinación. Líneas punteadas indican las temperaturas del test de germinación.

Luego de 98 días de post-maduración, el nivel de dormición dependió del tratamiento aplicado (Fig. 2a-h). Las semillas que permanecieron a 5°C con humedad y las enterradas en el campo presentaron los mayores niveles de germinación en todos los test. En el régimen IT, se alcanzaron porcentajes de germinación de 52.4% para las semillas enterradas y 86.3% para las semillas post-maduradas a 5°C con humedad, mientras que en los tratamientos a 5 y 25°C en seco, los niveles de germinación alcanzados fueron 18.2 y 22.2%, respectivamente. Bajo el régimen de temperaturas DT, los niveles de germinación final fueron similares a los indicados para IT, con la excepción que en el régimen DT la germinación se concentró en los primeros días, mientras que en el régimen IT la germinación aumentó continuamente a lo largo del experimento. En el ensayo a temperaturas constantes, la temperatura a la cual se observaron los mayores porcentajes de germinación fue 25°C, seguida por 30°C, independientemente del tratamiento. Esto podría confirmar que la temperatura óptima para la germinación de *Ch. virgata* estaría entre 25 y 30°C. Si bien los niveles de germinación a 10°C fueron bajos, la presencia de semillas germinadas a esta temperatura nos permitiría deducir que el valor de la T_b es menor a 10°C, debido a que por debajo de esta temperatura algunas semillas fueron capaces de germinar.

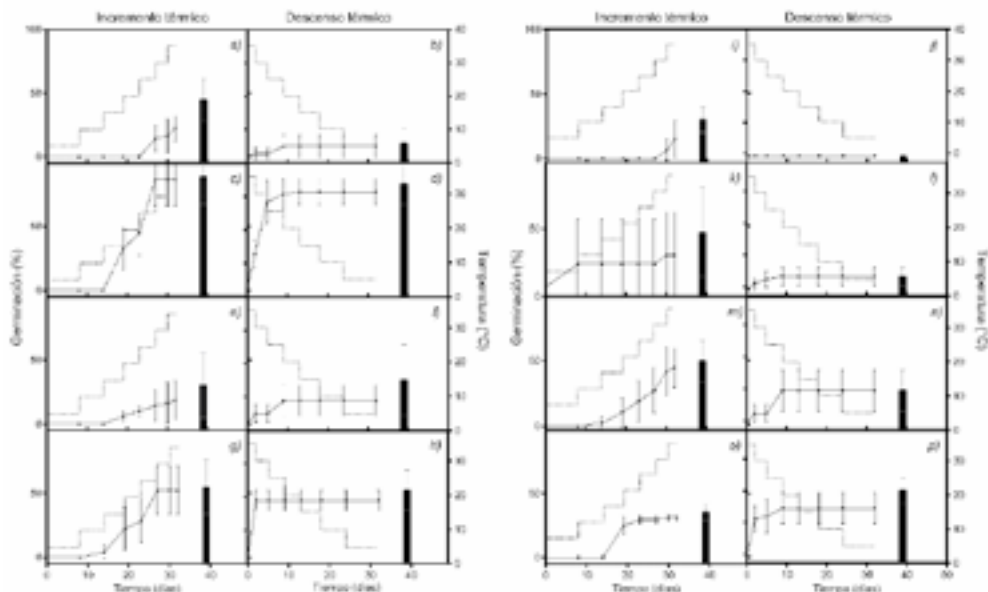


Figura 2. Porcentaje de germinación de semillas de *Chloris virgata* bajo los regímenes Incremento térmico (IT)(a, c, e, g, i, k, m, o) y (a) y Descenso térmico (DT)(b, d, f, h, j, l, n, p), medidos a los 98 días (a-h) y a los 175 días después de la dispersión (i-p). Tratamientos de post-maduración: 5°C seco (a-b, i-j); 5°C húmedo (c-d, k-l); 25°C seco (e-f, m-n); enterradas (g-h, o-p). Las barras indican el porcentaje de germinación luego de exponer a las semillas a 24/10°C y 25°C en los régimen IT y DT al finalizar el test de germinación. Líneas punteadas indican las temperaturas del test de germinación.

A los 175 días de post-maduración, los tratamientos que presentaron mayores porcentajes de germinación fueron el que mantuvo a las semillas a 25°C en seco y el de las semillas enterradas en el suelo (Fig. 2i-p). A temperaturas ascendentes, las semillas postmaduradas a 25°C en seco comenzaron a germinar a partir de los 10°C y alcanzaron 44.6% al final del test, mientras que las semillas enterradas a campo comenzaron a germinar a partir de los 15°C y alcanzaron el 31% de germinación. Los otros dos tratamientos no superaron el 15% de germinación. En cambio, bajo el régimen a temperaturas descendentes, el tratamiento que mayor porcentaje de germinación arrojó fue el de las semillas enterradas (38.4%) seguido por las semillas a 25°C en seco. Al igual que a los 98 días de post-maduración, en el test CTE las temperaturas que mostraron mayores porcentajes de germinación fueron 25 y 30°C.

A través de la germinación acumulada del tratamiento de semillas enterradas a campo bajo el régimen CTE, la T_b estimada fue de 7°C. El TT requerido para que germine el 10 y 20% de la población de semillas fue de 21 y 42°Cdía respectivamente y la T_{opt} fue 28 °C. Los valores de T_b y T_{opt} son similares a los presentados por Zhang et al. (2015) y Osten (2012).

La dinámica de germinación obtenida en los ensayos de régimen IT y DT se analizó a través del modelo propuesto por Washitani (1987) y modificado por Kruk & Benech-Arnold (1998) (Fig. 3). Los valores de T_b (7°C), T_{opt} (28°C) y T_{max} (40°C) se mantuvieron constantes en los tres momentos de medición (0, 98 y 175 días). El rango de temperaturas permisivo para que germine el 50% de la población fue establecido entre $24 \pm 5^\circ\text{C}$ y $40 \pm 6^\circ\text{C}$ en el momento inicial; $19 \pm 5^\circ\text{C}$ y $40 \pm 1^\circ\text{C}$ a los 98 días y $11 \pm 5^\circ\text{C}$ y $40 \pm 9^\circ\text{C}$ a los 175 días (Fig. 4). Estos resultados nos indican que a medida que las semillas fueron sometidas a las temperaturas bajas del invierno bajo

condiciones de humedad de campo, los niveles de dormición fueron descendiendo ampliando el rango de temperaturas permisivo para la germinación. De manera que cuando la temperatura del suelo superó la temperatura del límite inferior de dicho rango, la población de semillas estuvo en condiciones de germinar en el campo (Fig. 4). Bajo las condiciones de campo del año 2016 en la región pampeana argentina, este momento habría ocurrido alrededor del día 10/09/16, asemejándose al momento del año en los que otros trabajos determinaron el inicio de la emergencia de esta especie en la región pampeana (Metzler, 2014; Ustarroz, 2015).

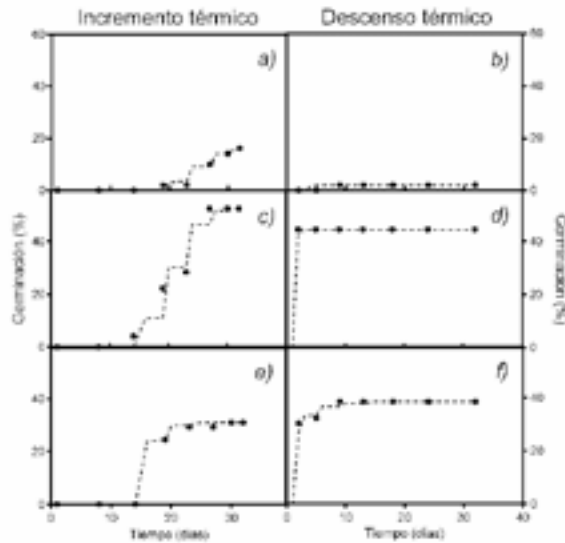


Figura 3. Germinación acumulada de *Chloris virgata* bajo los regímenes Incremento térmico (IT) a los 0 (a), 98 (c) y 175 días (d) de post-maduración y bajo el régimen Descenso térmico (DT) a los 0 (b), 98 (d) y 175 días (f) de post-maduración. Puntos negros indican germinación observada y líneas punteadas indican germinación esperada.

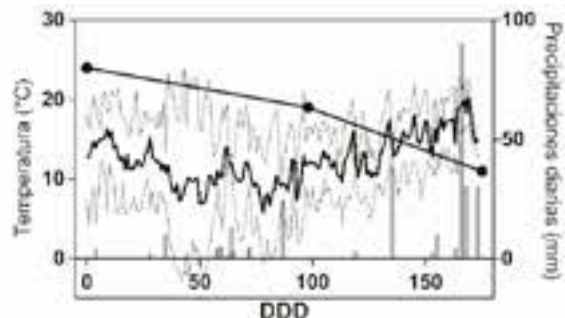


Figura 4. Evolución de la temperatura media diaria del suelo (línea sólida), temperaturas máximas y mínimas diarias del suelo (líneas punteadas), temperatura límite inferior para la germinación (línea sólida con puntos negros) y precipitaciones diarias (columnas) en la región pampeana argentina (35°5'39"S, 62°12'45"O). DDD: días desde la dispersión de *Chloris virgata*, año 2016.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Fondo para Investigación Científica y Tecnológica de Argentina (PICT 2013-2620) y la Universidad de Buenos Aires, Proyecto UBACYT 2014-2017. S. Rodriguez es becario de doctorado FONCYT. Se agradece la colaboración del Dr. Ignacio Alzueta por proveer el acceso a lote de producción e información climática del sitio.

5. REFERENCIAS

- Baskin CC & Baskin JM (1988). Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany*, 75, 286-305.
- DeAbelleyra D & Satorre EH (2004). Web-Supported System to estimate *Sorghum halepense* and *Cynodon dactylon* sprout emergence dynamics in the Argentine Pampas. *4th International Weed Science Congress*, Durban, Sudáfrica.
- Delouche JC (1962). The tetrazolium test for seed viability. Mississippi State University.
- Heap I (2017) The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Available online: <http://www.weedscience.org>.
- Kruk BC & Benesh-Arnold RL (1998). Functional and quantitative analysis of seed thermal responses in prostrate knotweed (*Polygonum aviculare*) and common purslane (*Portulaca oleracea*). *Weed Science*, 46, 83-90.
- Leguizamón ES (2007). El manejo de malezas: desafíos y oportunidades. *Revista Agromensajes*, 23 (12), 26-29.
- Lin J, Shao S, Wang Y, Qi M, Lin L, Wang Y and Yan X (2015). Germination responses of the halophyte *Chloris virgate* to temperature and reduced potential caused by salinity, alkalinity and drought stress. *Grass and Forage Science*, 71, 507-514.
- Martínez-Ghersa MA, Ghersa CM and Satorre EH (2000). Coevolution of agricultural systems and their weed companions: implications for research. *Field Crops Research*, 67, 181-190.
- Metzler M, Papa JC and Tucsca D (2014). *Chloris* spp. Un problema en franca expansión. *Revista «Para producir mejor»*, N° 51. E.E.A. INTA Oliveros, Santa Fe, Argentina.
- Osten V (2012). Feathertop Rhodes grass: a best weed management guide. Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, Queensland, Australia.
- Steinmaus SJ, Prather TS and Holt JS (2000) Estimation of base temperatures for nine weed species. *Journal of Experimental Botany*, 51, 275-286.
- Ustarroz D (2015). Dinámica de emergencia de *Chloris virgate* y su control con herbicidas. *Cartilla digital Manfredi*. ISSN On line 1851-7994. Estación Experimental Agropecuaria Manfredi. INTA (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria), Argentina.
- Washitani I (1987). A convenient screening test system and a model for thermal germination responses of wild plant seeds. *Plant, Cell & Environment*, 10, 587-598.
- Zhang H, Tian Y and Zhou D (2015). A modified thermal time model quantifying germination response to temperature for C3 and C4 species in temperate grassland. *Agriculture*, 5, 412-426.

Thermal parameters related to changes in dormancy and germination of *Chloris virgate*

Summary: Changes in seed dormancy levels of *Ch. virgate* were studied at 0, 98 and 175 days after seed dispersion. Thermal parameters of the germination and emergence dynamics of this weed under non-limiting water conditions were obtained. The values of T_{b} , T_{opt} and T_{max} for this biotype were 7°C, 28°C and 40°C respectively and were kept constant regardless of the level of dormancy. The lower limit temperature for germination of 50% population was 24°C, 19°C and 11°C at 0, 98 and 175 days after seed dispersion and the upper limit temperature was kept constant (40°C). These parameters may allow the prediction of the beginning of weed germination and establishment in the Pampas region.

Keywords: base temperature, days after dispersion, emergency dynamics, emergency predictive models, optimal temperature, thermal time.

Validación de modelos termales de la emergencia de *Abutilon theophrastri* en maíz

Valle Egea-Cobrero¹✉, Kevin Bradley², Isabel M. Calha³, Adam S. Davis⁴, José Dorado⁵, Frank Forcella⁶, John L. Lindquist⁷, Christy L. Sprague⁸, José Luis González-Andújar¹

¹Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), 14004 – Córdoba,

²University of Missouri, Division of Plant Science, 201 Waters Hall Columbia, MO 65211, USA

³Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P. Av. da República, Quinta do Marquês 2780-159-Oeiras, Portugal

⁴USDA-ARS, 1102 S. Goodwin Ave, Urbana, IL 61801, USA

⁵Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), Serrano, 117, 28001 Madrid

⁶USDA-ARS, 803 Iowa Ave Morris, MN, 56267, USA

⁷University of Nebraska, Dpto. Agronomy & Horticulture, Lincoln NE 68583-0817, USA

⁸University of Michigan, Dpto. Plant, Soil and Microbial Sciences, East Lansing, MI 48824, USA

✉vegea@ias.csic.es

Resumen: Entre las especies de malas hierbas que infestan el maíz se encuentra *Abutilon theophrastri* Med. que puede llegar a reducir la producción de este cultivo en un 80%. El desarrollo de modelos predictivos de la emergencia de malas hierbas puede facilitar la toma de decisiones de control óptimas por parte de agricultores y técnicos. Se ha especulado con la posibilidad de desarrollar modelos globales que permitan su utilización en diferentes localidades. Sin embargo existe poca información a este respecto. El objetivo de este trabajo fue validar y comparar dos modelos termales (Weibull y Logístico) de la emergencia de *A. theophrastri* con datos independientes obtenidos en localidades de EEUU, Portugal y España. Los resultados muestran que el modelo Weibull fue el más apropiado para predecir la emergencia de *A. theophrastri* de manera global.

Palabras clave: Weibull, Logístico, temperatura del suelo, tiempo termal.

1. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es uno de los cultivos básicos en la alimentación humana. Su rendimiento potencial es reducido por diversos factores, siendo las malas hierbas uno de los más importantes. Entre las especies que infestan el maíz se encuentra *Abutilon theophrastri* Med. que puede llegar a reducir la producción de este cultivo hasta un 80% (Lindquist et al., 1996).

Las malas hierbas son controladas principalmente mediante la aplicación de herbicidas. Pero los agricultores necesitan conocer el patrón de emergencia de las malas hierbas para controlarlas adecuadamente. Aplicar las medidas de control demasiado pronto, cuando todavía no se ha completado la emergencia de una especie, o demasiado tarde, cuando se ha superado el estadio de plántula, puede conllevar una penalización económica y medioambiental. Por ello resulta de la mayor importancia proveer de herramientas predictivas que permitan optimizar la toma de decisiones relacionadas con las tácticas de control químico. Los modelos de emergencia basados en la temperatura y/o la humedad en el suelo han demostrado ser buenas herramientas predictivas y suficientemente robustos (González-Andújar et al., 2006). Teóricamente, los modelos de emergencia pueden ser generalizados a cualquier localidad, ya que únicamente conociendo la temperatura (modelos termales) y humedad (modelos hidrotermales) se podría predecir la emergencia de cualquier mala hierba globalmente (Forcella et al., 2000). Sin embargo existe poca información a este respecto y algunos autores han puesto en duda tal generalización (ej. Dorado et al., 2009).

El objetivo de este trabajo fue validar y comparar dos modelos predictivos (Weibull y Logístico) existentes en la literatura sobre la emergencia de *A. theophrastri*, con datos independientes obtenidos en diversas localidades de EEUU, Portugal y España.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

La validación fue realizada con datos independientes de los utilizados para el desarrollo de los modelos validados y fueron obtenidos en localidades de EEUU (Minnesota, Nebraska, Illinois, Missouri and Michigan), España (Arganda del Rey) y Portugal (Golega).

En los experimentos llevados a cabo en EEUU, se colocaron 4 parcelas de 1 m² en cada sitio experimental. Cada parcela contenía cuatro hileras uniformemente espaciadas (0,25 m entre hileras) con 30 semillas de *A. theophrasti* sembradas en cada una. Las semillas se sembraron en octubre o noviembre de cada año. En la primavera siguiente, la emergencia de las plántulas se registró de forma no destructiva dos veces por semana. Durante este tiempo, todas las plántulas recién emergidas fueron marcadas con una etiqueta impermeable con un número de identificación. Los experimentos realizados en España y Portugal consistieron en la colocación de cuadrados permanentes de 66 cm x 33 cm (42 en Arganda del Rey y 28 en Golega) ubicados a lo largo de un transecto de 100 m. Las plántulas fueron contadas semanalmente (ver Dorado et al., 2009, para más detalles de los experimentos).

Las variables climáticas fueron obtenidas con sensores (HOBO data loggers) colocados cerca de los cuadrados permanentes en España y Portugal y de estaciones meteorológicas ubicadas en los experimentos en EEUU.

El proceso de validación se realizó con dos modelos desarrollados para *A. theophrasti*. El modelo Weibull desarrollado por Dorado et al. (2009): $EC = 99.8(1 - \exp(-(0.006TT)^{1.3}))$ y el modelo Logístico: $EC = 100 / (1 + \exp(18.86 - 3.21 \ln(TT)))$ establecido por Matthew et al. (2004). En ambos modelos EC es el porcentaje de emergencia acumulada y TT es el tiempo termal. La precisión de las predicciones de los dos modelos se evaluó comparando los valores predichos versus los observados, calculando el coeficiente de determinación R², y evaluando si la pendiente y el intercepto de las regresiones diferían estadísticamente de 1 y 0 mediante la prueba de la t de Student, respectivamente.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ambos modelos produjeron aceptables ajustes a los datos (Tabla 1). Pero el modelo Weibull produjo un mejor ajuste general (valor medio de R²=0,80±0,17) que el modelo Logístico (valor medio de R²=0,69±0,64). Un ejemplo de la divergencia en las predicciones de ambos modelos lo podemos ver en la figura 1.

Una posible explicación a esta diferencia es que el modelo Weibull ofrece mayor flexibilidad en el ajuste a los datos que el Logístico (González-Andújar et al., 2016). Considerando los interceptos y las pendientes, observamos que el modelo de Weibull fue el que menos se desvió estadísticamente, aunque es necesario observar que fue un peor predictor de las localidades europeas (Tabla 1).

Este trabajo sugiere la posibilidad de generalizar los modelos de la emergencia de malas hierbas de manera global. En el caso concreto que nos atañe, podemos considerar el modelo Weibull, basado en el tiempo termal, como un candidato apropiado para representar la emergencia de *A. teophrasti* de manera general bajo diferentes condiciones climáticas, aunque sería necesario ampliar a más localidades la validación para confirmar la generalidad del modelo.

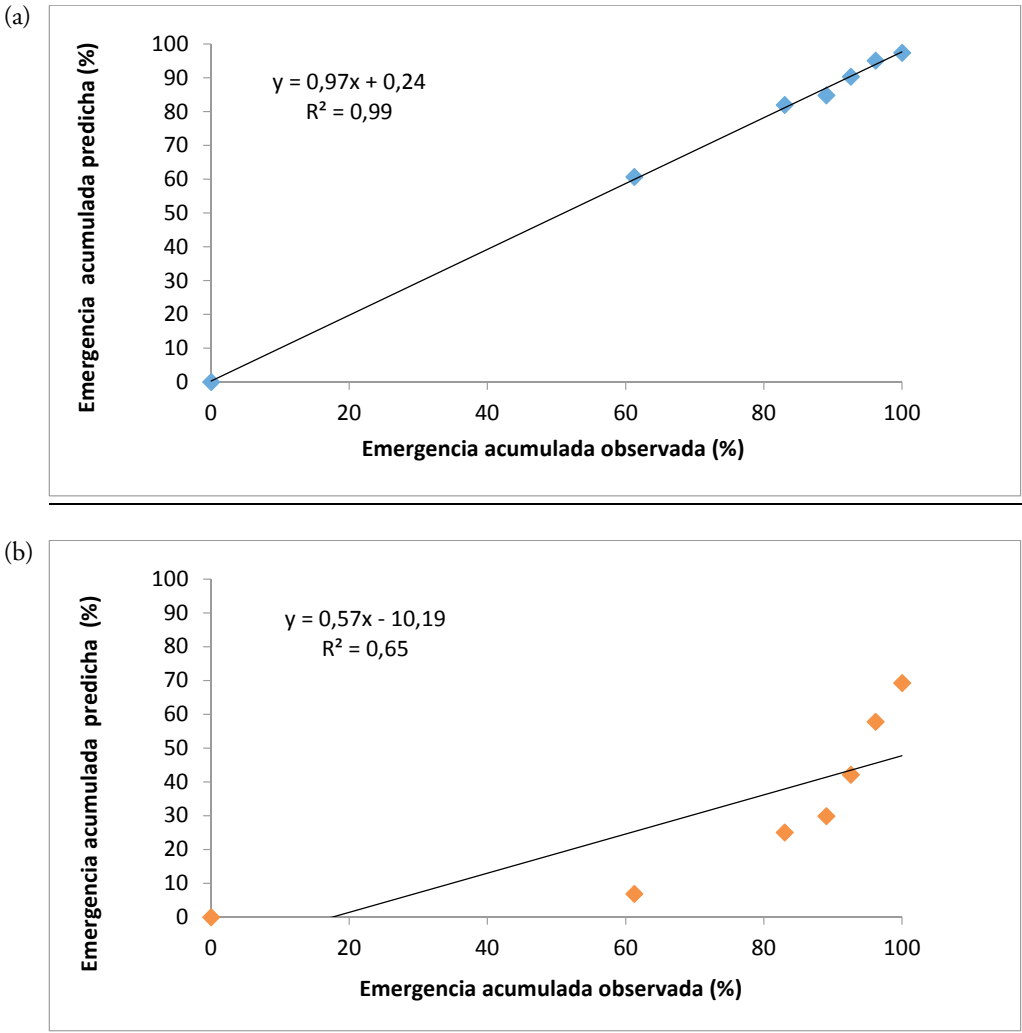


Figura 1. Relación entre las predicciones y las observaciones para Illinois. (a) Modelo de Weibull. (b) Modelo Logístico.

Tabla 1. Resultados para los coeficientes de determinación (R^2), los interceptos (diferentes de 0) y las pendientes (diferentes de 1) de las rectas de regresión entre los valores observados y predichos por los modelos Weibull y Logístico. S y NS indican valores significativos o no significativos ($P=0,05$) por la prueba de la t de Student

		Predicción del modelo Weibull			Predicción del modelo Logístico		
		Intercepto	Pendiente	R^2	Intercepto	Pendiente	R^2
MN	2012	NS	NS	0,76	NS	S	0,34
	2013	NS	NS	0,89	NS	S	0,30
IL	2012	NS	NS	0,99	NS	NS	0,65
MO	2013	NS	NS	0,61	NS	NS	0,70
MSU	2012	NS	NS	0,89	NS	NS	0,84
	2013	NS	NS	0,72	NS	S	0,34
NE	2012	NS	NS	0,78	NS	NS	0,94
	2013	NS	NS	0,91	NS	S	0,73
MD	2005	S	S	0,92	NS	NS	0,83
LS	2006	S	NS	0,69	NS	NS	0,97
	2007	S	NS	0,62	NS	NS	0,94

MN: Minnesota; IL: Illinois; MO: Missouri; MSU: Michigan; NE: Nebraska; MD: Madrid; LS: Lisboa.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por fondos FEDER y el plan Nacional de Investigación (I+D) del Ministerio de Economía y Competitividad (proyectos AGL2009-07883 y AGL2015-64130-R).

5. REFERENCIAS

- Dorado J, Sousa ME, Calha I, González-Andújar JL and Fernández-Quintanilla C (2009). Predicting weed emergence in maize crops under two contrasting climatic conditions. *Weed Research*, 49, 251-260.
- Forcella F, Benech-Arnold RL, Sanchez R and Ghersa CM (2000). Modeling seedling emergence. *Field Crops Research* 67, 123-139.
- González-Andújar JL, Chantre GR, Morvillo C, Blanco A and Forcella F (2016). Predicting field weed emergence with empirical models and soft computing techniques. *Weed Research*, 56, 415-423.
- Lindquist JL, Mortensen DA, Clay SA, Schmenk R, Kells JJ, Howatt K and Westra P (1996). Stability of corn (*Zea mays*)-velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) interference relationships. *Weed Science*, 44, 309-313.
- Mathew WM, Curran WS, VanGessel MJ, Calvin DD, Mortensen AA, Majek BA, Karsten HD and Roth GW (2004). Predicting weed emergence for eight annual species in the northeastern United States. *Weed Science*, 52, 913-919.

Validation of thermal models of the emergence of *Abutilon theophrasti* in maize

Summary: *Abutilon theophrasti* Med. is an important weed species in maize that can cause yield losses of 80%. The development of predictive emergence models of *A. theophrasti* can facilitate optimal decision-making by farmers and technicians. It has been speculated with the possibility of developing global models that allow their use in different locations. However, there is little information in this regard. The objective of this work was to validate and compare two thermal models (Weibull and Logistic) of the emergence of *A. theophrasti* with independent data obtained in USA, Portugal and Spain. The results show that the Weibull model was the most appropriate to predict the emergence of *A. theophrasti* globally.

Keywords: Weibull, Logistic, soil temperature, thermal time.

Pennisetum setaceum, planta invasora en expansión

Milagros Saavedra M¹✉ y Cristina Alcántara¹

¹IFAPA, CAPD. Apdo 3092, 14080-Córdoba
✉ mariam.saavedra@juntadeandalucia.es

Resumen: La especie de origen africano *Pennisetum setaceum*, considerada especie invasora muy peligrosa, está en la actualidad ampliamente distribuida por las costas del este y sur de la Península y en Canarias. En 2013 fue detectada su presencia en el interior de la Península, cerca de la ciudad de Córdoba, a lo largo de 3 km de la autovía de Andalucía en sus bordes y cunetas. El hecho se publicó por IFAPA y se dio a conocer a los responsables de la Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. Hasta el momento no se han tomado medidas de control. La planta continúa extendiéndose por esta vía de comunicación, aunque no se ha detectado en cultivos aledaños. Ante la facilidad de dispersión y agresividad de esta especie sería muy conveniente adoptar medidas de control para evitar el riesgo de futuros daños en cultivos y dehesas.

Palabras clave: especie invasora, planta exótica, especie autóctona, mala hierba, plumero, rabogato, pasto de elefante, gramínea ornamental.

1. INTRODUCCIÓN

Pennisetum setaceum (Forssk) Chiov (Figs. 1 y 2), conocida como plumero, rabogato o pasto de elefante, es originaria del nordeste de África, está muy adaptada a la sequía y se ha introducido como ornamental así como para estabilizar taludes. Tiene un crecimiento rápido y elevada capacidad de producir semillas que se dispersan con facilidad. Está considerada una especie invasora que se adapta a muy diferentes hábitats, desde los tropicales o subtropicales, hasta los áridos y semiáridos, desplazando a la flora autóctona, por lo que es considerada como una especie invasora muy peligrosa (Sanz-Elorza et al., 2004). Se encuentra en diversos lugares del mundo, como Hawái y Arizona (Estados Unidos), México, Sudáfrica y Australia y en España (Salinas et al., 2011), ocasionando graves problemas.

En España se introdujo en las islas Canarias en los años 40 y actualmente se encuentra distribuida también por la costa mediterránea y atlántica sur de la Península Ibérica (Fig. 3). En 2013 se constató la presencia de una población ya en el interior de la Península, en las proximidades de la ciudad de Córdoba, ocupando zonas de la cuneta de la autovía de Andalucía y carriles de servicio (Saavedra et al., 2015).

El objetivo de este artículo es volver a poner de manifiesto su presencia en el interior de España, donde, dadas sus características biológicas y ecológicas podría dar lugar a problemas importantes en los próximos años en espacios agrarios y forestales tan importantes como la dehesa o los cultivos leñosos.



Figura 1. Planta de *Pennisetum setaceum* en floración y dispersión de semillas. Fotografía tomada en la vía de servicio de la autovía de Andalucía en mayo de 2014.



Figura 2. Detalle de la panícula de *Pennisetum setaceum*.



Figura 3. Distribución de *Pennisetum setaceum* en la Península Ibérica. Fuente: Saavedra et al. (2015).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha prospectado en la provincia de Córdoba durante la primavera de 2017 el trayecto de autovía a lo largo de 80 km entre las localidades de Villa del Río y La Carlota, así como las carreteras secundarias que existen entre la ciudad de Córdoba y la localidad de El Carpio hasta 6 Km

de distancia a la autovía. Esta zona prospectada es la más próxima al foco de *P. setaceum* detectado anteriormente en 2013. Se realizaron recorridos en coche a velocidad lenta, dentro de los límites que establecen las normas de circulación y seguridad vial, tanto en la autovía (aproximadamente 80 km/h) como en carreteras y vías de servicio (unos 25 km/h). Se repitieron los recorridos cada mes desde febrero a mayo. Con este procedimiento solo es posible detectar plantas en floración que sobrepasan en altura al resto de la vegetación natural, por lo que las plantas en estados vegetativos quedan ocultas. Además, se transitó a pie o en coche por los caminos de las fincas agrícolas más próximos al foco inicial en la autovía. Se marcaron los puntos donde *P. setaceum* estaba presente y fue visualizada, sin tener en cuenta la densidad de planta.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha constatado que no se ha realizado ninguna medida de control sobre *P. setaceum* desde el año 2013 hasta mayo de 2017. La especie continúa en expansión en las dos direcciones de la autovía A-4, desde la intersección con el río Guadalquivir ($37^{\circ}53'26''$ N, $4^{\circ}41'50''$ O) hasta más allá de la carretera provincial CO-3105 ($37^{\circ}53'52''$ N, $4^{\circ}39'57''$ O). Además se han encontrado otros dos focos muy pequeños, uno hacia el norte, en la carretera CO-3105 a unos 750 m ($37^{\circ}54'15''$ N, $4^{\circ}40'07''$ O) y otro hacia el oeste, en la zona oeste de Córdoba en la circunvalación ($37^{\circ}33'10''$ N y $4^{\circ}48'29''$ O), que distan entre sí 12,35 km. Hasta el momento no se ha encontrado en zonas de cultivo, sino solo en las vías de comunicación. En la figura 4 se representa la ubicación de estos focos de *P. setaceum*.



Figura 4. Situación de la distribución de *Pennisetum setaceum* en los alrededores de la ciudad de Córdoba a fecha mayo de 2017.

La agresividad de la especie, la facilidad con que sus semillas se dispersan, la dificultad para controlarla y el hecho de que ya esté presente en el interior de la Península, y no solo en zonas costeras de la misma, hacen que esta especie deba considerarse una mala hierba potencialmente

muy peligrosa para los cultivos y espacios naturales, especialmente los olivares, viñedos, cultivos leñosos en general, dehesas y pastizales.

Aunque su expansión, por lo que se ha podido observar, está siendo relativamente lenta, consideramos que se está a tiempo de limitar su dispersión espacial, incluso su erradicación. No obstante, la dificultad de detectarla en estados vegetativos entre otras especies del mismo porte y de distinguirla de algunas que son muy parecidas si no tienen las inflorescencias, como *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf., que es muy frecuente y abundante, nos sugiere que se deben de programar adecuadamente medidas de supervisión y control durante varios años. Dado que hasta ahora solo se ha encontrado en vías de comunicación, consideramos que es más fácil realizar los controles, pero que son las Administraciones Públicas las responsables de hacerlo. El pequeño foco situado al oeste de Córdoba ha sido eliminado en junio por los responsables de su conservación, Consejería de Fomento y Vivienda de la Junta de Andalucía.

4. AGRADECIMIENTOS

A los Proyectos TRA.TRA. 201600.2 y AVA.AVA. 201601.17, financiados con fondos FEDER 80% e IFAPA.

5. REFERENCIAS

- Saavedra M, Hidalgo JC and Alcántara C (2014). *Pennisetum setaceum*, planta invasora con peligro potencial. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, 2014. 9 pp. <http://www.servifapa.es>.
- Salinas MJ, López-Escoriza A and Cabello J (2011). Expansión de la especie vegetal invasora *Pennisetum setaceum* (Forssk.) Chiov en las zonas áridas y semiáridas del Levante Andaluz (provincia de Almería). *Informe Técnico del Programa de Seguimiento de los Efectos del Cambio Global en Zonas Áridas y Semiáridas del Levante Andaluz (GLOCHARID)*. CAESCG (Centro Andaluz para la Evaluación y Seguimiento del Cambio Global).
- Sanz-Elorza M, Dana-Sánchez ED and Sobrino-Vesperinas E, eds. (2004). *Atlas de las Plantas Alóctonas Invasoras en España*. Dirección General para la Biodiversidad. Madrid, 384 pp.

***Pennisetum setaceum*, an expanding invasive plant**

Summary: *Pennisetum setaceum* is an African species recognised like a very dangerous invasive species. Nowadays is widely distributed along the East and South coasts of the Iberian Peninsula as well as in the Canary Islands. In 2013 it was detected in the inland of the Peninsula, near to Cordoba City in the gutter of the Andalusia highway along 3 km. This fact was published by IFAPA and the people responsables for these issues in the Ministry of Environment of the Andalusia Government were informed. At this moment the control measures have not been realised. The species go on spreading by the highway and although it has not been seen into the close crops will be advisable to perform control measures in order to avoid the risks of future damage to the crops.

Keywords: Crimson fountaingrass, invasive species, exotic plant, ornamental grasses, weed.

Importancia de la autopolinización en *Digitaria sanguinalis*

M. Teresa Mas¹✉, Antoni M. Verdú¹

¹Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia (DEAB), Escola Superior d'Agricultura de Barcelona (ESAB),
Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), c/ Esteve Terradas 8, 08860 Castelldefels (Barcelona)
✉ maite.mas@upc.edu

Resumen: Se realizaron dos experimentos para establecer el nivel de autopolinización de plantas de *Digitaria sanguinalis*. Para prevenir la polinización cruzada, las inflorescencias fueron tapadas. En la fase de senescencia se recolectaron las inflorescencias, se contaron los racimos espiciformes, se midió su longitud y se contaron y pesaron las espiguillas con cariósides aparentemente maduras. Utilizando las longitudes de los racimos se estimó el número potencial de cariósides que se hubieran formado en condiciones de campo, usando unas rectas de regresión logradas en un trabajo previo. Las inflorescencias mostraron una media alrededor de 4.0 racimos. Los valores de cariósides formadas por autopolinización se situaron respecto al número potencial entre 0 y 57.5%. Los resultados obtenidos evidencian la existencia de un cierto nivel de autopolinización en esta especie.

Palabras clave: autogamia, racimo espiciforme, raquis, espiguilla, cariósides.

1. INTRODUCCIÓN

Digitaria sanguinalis (L.) Scop. es reconocida como una mala hierba anual en muchos cultivos. Sin embargo, según de Wet (1992) la mencionada especie llegó a ser un importante cereal en Europa en la época de los romanos; y fue recolectada como mala hierba semi-domesticada en el sur de Europa durante el primer cuarto del siglo XIX. Luczaj et al. (2012) citan que esta especie se cultivó en áreas secas de Alemania y de Polonia, conocida con el nombre de «manna».

D. sanguinalis puede presentar un carbón causado por el hongo Basidiomicete del orden Ustilaginales *Ustilago syntherismae* (Schwein.) Peck. El estudio de esta interacción nos ha permitido observar experimentalmente que existe variabilidad fenotípica en las plantas para hacer frente a la entrada y posterior progreso del hongo biotrófico (Mas and Verdú, 2014).

El género *Digitaria* Haller pertenece a la tribu *Paniceae* de la subfamilia *Panicoideae* y comprende 170-330 especies que están distribuidas, en su mayoría, en regiones tropicales y subtropicales, con algunas especies en regiones templadas de ambos hemisferios (Giraldo-Cañas, 2004). Las inflorescencias de *Digitaria* están formadas por uno o varios racimos espiciformes, los cuales se disponen en verticilos o en forma alterna a lo largo de un eje principal (Cámara, 2001). Esos racimos poseen espiguillas comprimidas dorsiventralmente, binadas, en tríades, en tétradas o en grupos de cinco y, a veces, aparecen solitarias, cuya gluma inferior, generalmente reducida, se dispone en forma externa con respecto al raquis del racimo (Giraldo-Cañas, 2004).

Connor (1979) refiere que en el género *Digitaria* se ha determinado experimentalmente la existencia de autocompatibilidad, y así mismo en la antesis presenta una combinación de los mecanismos casmogamia y cleistogamia.

Dada la importancia que aún tienen en algunas zonas de África dos especies como son *D. exilis* y *D. iburua* (conocidas como «fonio millet»), existen diversos trabajos de caracterización genética de distintos materiales con la finalidad de efectuar mejora y de conservar los germoplasmas (Adoukonou-Sagbadja et al, 2007; Dwivedi et al, 2012). Esto nos ha animado a seleccionar

plantas de *D. sanguinalis* resistentes y susceptibles a *U. syntherismae*. Un primer paso, y este es el objetivo principal del trabajo, es conocer si *D. sanguinalis* presenta y cuál es su nivel de autopolinización. Además el grado de autocompatibilidad es una de las características asociadas a la capacidad de infestación de las malas hierbas (Basu et al., 2004).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron dos experimentos (I, en invernadero; CG, en cámara de germinación) para estimar el nivel de autopolinización de plantas de *D. sanguinalis*. Se partió de espiguillas recolectadas manualmente en Torre Marimon (Caldes de Montbui, Barcelona; 41°36'44"N 2°10'17"E/ UTM 31N 4607078N 431060E) en 2006 (CG) y en 2008 (I).

Ambos experimentos se iniciaron sembrando las espiguillas en macetas de plástico de 230 cc con sustrato universal que se dispusieron en el invernadero. Previo al llenado de las macetas los sustratos se llevaron a saturación con agua destilada. En el experimento I continuaron en el mismo emplazamiento hasta finalizar el experimento, i en el CG se trasladaron a la cámara de germinación en el momento en que las plantas tenían 2-3 hojas. La cámara permaneció a 20°C (12h oscuridad) / 30°C (12h luz) hasta el final del experimento. En ambos experimentos, las macetas se mantuvieron en bandejas de plástico con un nivel necesario de agua destilada.

Las plantas fueron tapadas con sobres de papel glassine para prevenir la polinización cruzada. En la fase de senescencia de las plantas se recolectaron las inflorescencias (47), se contaron los racimos espiciformes, se midieron los raquis (180) de cada inflorescencia y se pesaron y contaron el número de espiguillas con cariósides aparentemente maduras presentes en cada raquis (NCR). Para comprobar el grado de fiabilidad de los datos se obtuvo la recta de regresión entre los logaritmos neperianos del número de cariósides y del peso de espiguillas, una vez separadas de los raquis.

Con las longitudes de los raquis se estimó el número potencial de cariósides (NPC) que se hubieran formado en condiciones de campo, usando las siguientes rectas de regresión obtenidas por Gallart et al (2009) correspondientes a generaciones consecutivas de dos años que difirieron meteorológicamente:

$$(1) \ln(y+1) = 1.6668 \ln(x+1), \text{ and}$$

$$(2) \ln(y+1) = 1.8615 \ln(x+1),$$

donde x = longitud del raquis en cm; y = número de espiguillas con cariósides

El % de autopolinización (AP) se estimó usando el cociente entre el número de cariósides recolectadas (NCR) y el número potencial de cariósides (NPC), calculado promediando las dos estimaciones obtenidas mediante las rectas de Gallart et al (2009):

$$AP = (NCR/NPC) * 100$$

Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el paquete estadístico SAS® 9.4 (2016). Previo al análisis de la varianza del % de autopolinización estimada los valores fueron transformados utilizando la función arco seno.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los dos experimentos realizados se controlaron 30 plantas (10 en invernadero y 20 en cámara de germinación). Las plantas presentaron las características que se muestran en los estadísticos de la tabla 1. Los valores observados son congruentes con lo hallado en la bibliografía, en

la cual se especifica que las plantas de esta especie pueden presentar en campo inflorescencias de 2 hasta 50 racimos, aunque los valores más habituales están en el rango (2) 4 – 10; y en lo referente a la longitud del raquis se sitúa entre 2 (4) – 16 (18) cm, aunque puede superar los 20 cm (Hilty 2017; Clayton et al., 2006; and CABI, 2017).

Tabla 1. Estadísticos de las variables estudiadas y valores (%) del nivel de autopolinización en plantas de *Digitaria sanguinalis* autopolinizadas en dos experimentos conducidos en invernadero y en cámara de germinación. Los valores (%) del nivel de autopolinización (AP) se obtuvieron a partir del número de carióspsides recolectadas (NCR) en los dos experimentos mencionados y de los valores medios de carióspsides (NPC) estimados a partir de dos ecuaciones obtenidos por Gallart et al. (2009), $AP = (NCR / NPC) * 100$

	Experimento 1 (Invernadero, I)			Experimento 2 (Cámara de germinación, CG)		
	Media	Error estándar	Observaciones	Media	Error estándar	Observaciones
NIP	2.7 a	0.52	10	1.0 b	0	20
NRI	4.22 a	0.31	27	4.0 a	0.19	20
LR	7.63 a	0.29	100	5.92 b	0.21	80
NCR	78.2 a	19.87	23	89.6 a	7.41	20
NPC	551.4 a	115.68	23	330.5 a	56.71	20
AP	16.8 a	3.36	23	33.3 b	2.45	20

NIP = Número de inflorescencias por planta; NRI = Número de raquis por inflorescencia; LR = Longitud raquis; NCR = Número de carióspsides recolectadas; NPC = número potencial de carióspsides.

En cada fila, medias con distinta letra son significativamente diferentes a $P < 0.05$.

El coeficiente de regresión de la recta que relacionó los logaritmos neperianos del número de carióspsides y del peso de espiguillas registrados en los dos experimentos fue de 0.94 (ver Fig. 1). Se comprobó que el peso de 1000 espiguillas por estimación a partir de la ecuación de la mencionada recta era congruente con el que habíamos conseguido en diversas ocasiones en muestras de espiguillas recolectadas en campo y dejadas secar a temperatura ambiente en el laboratorio (Gallart et al., 2008).

El nivel estimado de autopolinización que presentaron las inflorescencias estudiadas estuvo en el rango comprendido entre el 0% y el 57.5%. Los valores registrados muestran diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las estimaciones medias de las plantas del experimento CG y las del I (Tabla 1).

Los resultados obtenidos evidencian la existencia de un cierto nivel de autopolinización en esta especie.

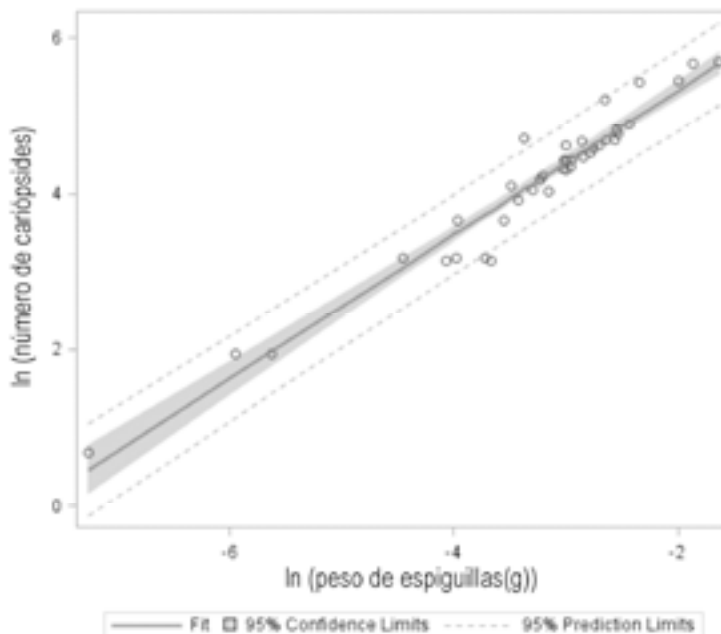


Figura 1. Valores de los pesos de espiguillas y del número de cariopsides cosechadas en el desgranado de los raquis de las inflorescencias de *Digitaria sanguinalis* obtenidas por autopolinización en dos experimentos realizados, en invernadero y en cámara de germinación, y recta de regresión obtenida una vez transformados mediante logaritmo neperiano (datos de ambos experimentos agrupados).

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha contado con la asistencia técnica de Maria Julià y Sheila Alcalá (DEAB, UPC). Nuestro agradecimiento al Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) por facilitarnos el trabajo en la finca de Torre Marimon (Caldes de Montbui, Barcelona).

5. REFERENCIAS

- Basu Ch, Halfhill MD, Mueller TC and Stewart CN Jr (2004). Weed genomics: new tools to understand weed biology. *Trends in Plant Sciences* 9: 391-398.
- CABI (2017). *Digitaria sanguinalis*. In: Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. <http://www.cabi.org/isc/datasheet/18916>. [accessed 31 March 2017].
- Cámara Hernández J. (2001). Morfología de la inflorescencia de *Digitaria sanguinalis* (Poaceae). *Boletín Sociedad Argentina de Botánica* 36: 87-95.
- Clayton, W.D., Vorontsova, M.S., Harman, K.T. and Williamson, H. (2006 onwards). GrassBase - The Online World Grass Flora. <http://www.kew.org/data/grasses-db.html>. [accessed 31 March 2017; 15:30 GMT].
- Connor HE (1979). Breeding systems in the grasses: a survey. *New Zealand Journal of Botany*, 17, 547-574.
- De Wet JMJ (1992). The three phases of cereal domestication. *Grass Evolution and Domestication*. Ed. by G.P. Chapman, pp. 176-198. Cambridge University Press. NY.

- Dwivedi S, Upadhyaya H, Senthilvel S, Hask Ch, Fukunaga K, Diao X, Santra D, Baltensperger D and Prasad M (2012). Millets: genetic and genomic resources. *Plant Breeding Reviews* vol. 35. Ed. by Janik J, pp. 247-375. Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ.
- Gallart M, Verdú AMC and Mas MT (2008). Dormancy breaking in *Digitaria sanguinalis* seeds: the role of the caryopsis covering structures. *Seed Science & Technology* 36: 259-270.
- Gallart M, Mas MT and Verdú AMC (2009). Effects of loose smut on *Digitaria sanguinalis* population depending on seedling emergence period. *Acta Oecologica* 35, 409-414.
- Giraldo-Cañas D (2004). Características micromorfológicas y anatómicas de la espiguilla y el antecio superior del género *Digitaria* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Caldasia* 26, 1-35.
- Hilty J (2017). Illinois Wildflowers. Grasses, Sedges, and Non-Flowering Plants of Illinois. http://www.illinoiswildflowers.info/grasses/plants/cm_crabgrass.htm. [accessed 31 March 2017].
- Luczaj LJ, Dumanowski J, Köhler P and Mueller-Bieniek A (2012). The use and economic value of manna grass (*Glyceria*) in Poland from the Middle Ages to the Twentieth Century. *Human Ecology* 40, 721-733.
- Mas, MT & Verdú AMC (2014). Within-population variation in resistance of *Digitaria sanguinalis* to *Ustilago syntherismae* resulting from different modes of seed germination and environment. *Plant Pathology* 63: 140-147.
- SAS Institute Inc. (2016). SAS®, Version 9.4. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.

Importance of self-pollination in *Digitaria sanguinalis*

Summary: Two experiments were carried out to evaluate the level of self-pollination in *Digitaria sanguinalis*. Before anthesis and to prevent cross-pollination, the inflorescences were covered. In the senescence stage of the plants, inflorescences were collected, spike like racemes were counted, the length of the rachises was measured, and the spikelets with caryopses were counted and weighted. The rachises length allowed estimating the potential number of caryopses that had formed under field conditions, using regression equations obtained in previous experiments. The inflorescences showed an average of about 4.0 spikes. The values of the number of caryopses observed by self-pollination ranged with respect the estimation of the potential number between 0 and 57.5%. The results obtained evidenced the existence of a certain level of self-pollination in this species.

Keywords: autogamy, spike, rachis, spikelet, caryopsis.

Control materno del comportamiento anual vs. bienal de la progenie a través del momento de dispersión de los aquenios en *Pallenis spinosa* (Asteraceae)

Fernando Bastida¹, Juan Francisco Peña¹, José Luis González-Andújar²

¹ Universidad de Huelva, Campus de La Rábida, Ctra. Palos s/n, 21819 Palos de la Frontera, Huelva

² Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), Alameda del Obispo s/n, 14080 Córdoba

 bastida@uhu.es

Resumen: Las plantas de *Pallenis spinosa* (Asteraceae) dispersan aquenios alados y ápteros escalonadamente desde otoño a principios de invierno. Realizamos dos experimentos para testar la hipótesis de que el momento de dispersión condiciona el comportamiento anual o bienal de la progenie. En un experimento en campo se evaluó el efecto de la precocidad de la cohorte y de la fertilización en el ciclo vital y la fecundidad. En un experimento en invernadero se estudió además el efecto del morfo de aquenio y de la población. La frecuencia de anuales aumentó significativamente con la precocidad de la cohorte y bajo fertilización. No se encontró efecto del morfo ni de la población sobre el tipo de ciclo vital, siendo este carácter dependiente en última instancia del crecimiento individual. Las plantas bienales mostraron una fecundidad 2,7-4,6 veces mayor que las anuales. Los resultados indican la existencia en la especie de un efecto materno directo sobre la historia vital de la progenie a través de un periodo de dispersión muy dilatado.

Palabras clave: bancos de rosetas, dispersión de semillas, heterocarpia, plantas bienales.

1. INTRODUCCIÓN

Pallenis spinosa (L.) Cass. es una Asterácea mediterránea descrita a veces como anual (Valdés et al., 1987) y a veces como anual a perenne (Blanca et al., 2011) que forma parte de comunidades nitrófilas viarias del Orden Onopordetalia acantho-nervosi. Es frecuente en los agro-ecosistemas del área mediterránea de la península Ibérica, donde vive en linderos de parcelas y márgenes de caminos. Esta especie es heterocárpica, produciendo dos tipos de aquenios en cada capítulo: aquenios periféricos alados y aquenios internos carentes de alas. Los aquenios de ambos morfos germinan rápidamente en condiciones favorables (González-Gregori, 2013). La floración tiene lugar desde mediada la primavera hasta principios de verano y los aquenios maduros no empiezan a abandonar las plantas madre hasta las primeras lluvias del otoño, prolongándose el periodo de dispersión hasta mediados de invierno (Macías et al., 2011), es decir, hasta mucho después de concluir el ciclo. La dispersión en los capítulos ocurre centrípetamente, de modo que los aquenios periféricos alados tienden a concluir la dispersión antes que los centrales ápteros (Macías et al., 2011). El dilatado periodo de dispersión sugiere que las distintas fracciones de la progenie, o cohortes, pueden diferir ampliamente en las condiciones ambientales que experimentan, lo cual podría condicionar su historia vital y, en última instancia, su aptitud biológica. Por ejemplo, en la especie norteamericana de clima templado *Campanula americana* se han descrito efectos maternos, mediados por la disponibilidad de luz y nutrientes, sobre el comportamiento anual o bienal de la progenie (Galloway, 2001). Sin embargo, un posible control del tipo de ciclo vital de la progenie a través del momento de dispersión de las semillas es una estrategia que, hasta donde llegan nuestros conocimientos, no ha sido descrita con anterioridad. El objetivo principal

de este trabajo fue testar la hipótesis de que 1) el momento de dispersión de los aquenios condiciona el tipo de ciclo vital que experimenta la progenie. Además, teniendo en cuenta que los dos morfos de aquenio germinan rápida y completamente en condiciones favorables, planteamos la hipótesis de que 2) no existen diferencias intrínsecas entre morfos que determinen el tipo de ciclo de la progenie. Por último, como en las plantas bienales facultativas la floración parece ocurrir si se alcanza un tamaño mínimo (Silvertown, 1984), planteamos la hipótesis de que 3) el crecimiento vegetativo individual condiciona en última instancia el tipo de ciclo vital. Para testar estas hipótesis se realizaron dos experimentos complementarios, en campo y en invernadero.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Experimento en campo. Entre noviembre de 2014 y noviembre de 2016 se realizó un experimento en una parcela experimental del Campus de La Rábida de la Universidad de Huelva. El propósito del experimento fue evaluar el efecto del momento de dispersión de los aquenios, a través del establecimiento de tres fechas de siembra seleccionadas para abarcar todo el periodo de dispersión de la especie (noviembre, diciembre y febrero), y la disponibilidad de nutrientes (adición de nitrato amónico 33% o sin adición) sobre la historia vital de las plantas (ciclo anual o bienal) y su fecundidad. Se establecieron parcelas elementales de 1 x 0.75 m siguiendo un diseño en bloques (3 x 1.5 m) al azar con 12 repeticiones. En cada parcela se sembró un número elevado de aquenios obtenido de varios capítulos completos previamente recolectados en una población local de *P. spinosa*. No se hizo distinción entre morfos de aquenio. La siembra se realizó de modo previo a episodios lluviosos y cuando fue necesario se aplicó riego por aspersión durante los 2-3 días siguientes a la siembra para facilitar la rápida germinación. En cada parcela se marcaron inicialmente 50 plántulas. Se llevaron a cabo escardas periódicas para mantener baja la competencia con otras especies. Para limitar la interacción entre las plantas marcadas, al comienzo de la primavera se realizó un aclareo dejando de 15 a 20 plantas por parcela. Se realizaron censos mensuales de supervivencia hasta fin de ciclo. Se midió el diámetro de la roseta al final de primavera del primer y segundo año y se contó el número de capítulos producidos por las plantas anuales y bienales.

2.2. Experimento en invernadero. Con el objetivo principal de testar la existencia de un efecto directo del morfo de aquenio en el comportamiento anual o bienal de *P. spinosa*, se llevó a cabo en 2015/2016 un experimento en umbráculo utilizando macetas de 1 l con sustrato de turba, arena y vermiculita en proporción 1:1:1, disponiendo una planta por maceta. Además del factor morfo se analizó la influencia en el tipo de ciclo de la fecha de germinación (tres cohortes según fecha de siembra: 4 de noviembre, 16 de diciembre y 5 de febrero), la disponibilidad de nutrientes (adición de nitrato amónico 33%, o sin adición) y la población (dos poblaciones, la población local y una población de Priego, provincia de Córdoba). El diseño del experimento fue en bloques al azar con 17 repeticiones y un total de 408 macetas iniciales. Se realizó riego periódico por aspersión para no limitar la disponibilidad hídrica. El experimento se mantuvo hasta mediados de verano. Entre otras variables, en cada planta superviviente se determinó el diámetro final de la roseta y la ocurrencia de floración.

2.3. Análisis estadísticos. Las hipótesis asociadas a cada uno de los dos experimentos se testaron mediante modelos lineales mixtos, tratando el bloque como factor aleatorio. Para la variable respuesta floración/ausencia de floración se utilizaron modelos generalizados con distribución

binomial y función de enlace logit. La fecundidad, estimada por el número de capítulos producidos por planta, se trató como variable continua y se analizó previa transformación logarítmica. Se establecieron inicialmente modelos completos incluyendo los factores principales e interacciones (Tabla 1). Finalmente se seleccionó el modelo adecuado más reducido vía eliminación progresiva de términos no significativos de sucesivos modelos ajustados por máxima verosimilitud. Los análisis se realizaron usando el paquete lme4 (Bates et al., 2015) en el entorno estadístico R (R Core Team, 2017).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el experimento en campo, la mayoría de las 995 plantas que alcanzaron la floración o sobrevivieron hasta el final se comportó como estrictamente anual (22,7%) o bienal (63,8%). No obstante, se constataron otras historias vitales, incluyendo un 11,6% de plantas que florecieron el primer año y rebrotaron con las primeras lluvias del otoño siguiente, llegando a florecer de nuevo en el segundo año. Estas plantas estuvieron principalmente localizadas en bloques expuestos a condiciones ambientales particularmente favorables. Por otro lado, un 2,9% de las plantas se mantuvo en estado de roseta después del segundo año. En los análisis, estos dos grupos de plantas se trataron como anuales y bienales, respectivamente. El experimento en campo demostró que la probabilidad de comportamiento anual dependió positivamente, de modo muy significativo, de la precocidad de establecimiento y de la fertilización (Tabla 1). Así, un 64,7% de las plantas de la cohorte temprana se comportó como anual, disminuyendo esta frecuencia hasta el 0,4% para la cohorte más tardía (Fig. 1a). La fertilización incrementó la frecuencia de anuales desde el 17,7% hasta el 51,0% (Fig. 1b). El tamaño final de la roseta también mostró una dependencia positiva muy significativa (Tabla 1) tanto de la precocidad como de la adición de fertilizante, sugiriendo que el comportamiento anual/bienal es en última instancia dependiente del tamaño que alcanza la planta en la época de floración. Las plantas de la cohorte precoz, intermedia y tardía registraron diámetros medios de las rosetas en la primavera del primer año de $10,9 \pm 3,7$, $7,6 \pm 3,3$ y $4,9 \pm 2,2$ cm, respectivamente. La fertilización supuso un incremento del diámetro medio de las rosetas, desde $6,8 \pm 3,5$ hasta $8,4 \pm 4,2$ cm en el conjunto de las cohortes. La fecundidad varió muy significativamente con la precocidad y con el tipo de ciclo, observándose además una interacción significativa entre fertilización y tipo de ciclo (Tabla 1). Las plantas fueron más fecundas cuanto más precoz fue la cohorte, y las bienales mostraron una fecundidad media entre 2,6 y 4,7 veces mayor que las anuales (Fig. 1c). La mayor fecundidad de las plantas bienales permite compensar la mortalidad adicional que experimentan durante el segundo año de vida en comparación con las anuales (De Jong et al., 1987). En el conjunto de plantas, la fertilización solo incrementó la fecundidad media de las plantas bienales (Fig. 1d). La supervivencia de las tres cohortes establecidas en el experimento de campo fue de al menos el 65% en todas las fases del ciclo vital (Tabla 2).

El experimento de invernadero demostró que ni el morfo de aquenio ni la población condicionaron la probabilidad de floración, resultando únicamente significativos los efectos de la precocidad de establecimiento y de la fertilización (Tabla 1), estos últimos en concordancia con los resultados del experimento de campo. Un 90,0% de las plantas de la cohorte temprana floreció, descendiendo esta frecuencia hasta el 39,8% en la cohorte tardía (Fig. 2a). La fertilización incrementó la frecuencia de floración desde el 28,6% hasta el 95,0% (Fig. 2b). La probabilidad de floración apareció en última instancia condicionada por el tamaño alcanzado por las plantas al comienzo de la época de floración. Las plantas que alcanzaron al menos 10 cm de diámetro de

roseta tuvieron una probabilidad de florecer superior al 90% (Fig. 2c). Los resultados indican que los aquenios alados, por el hecho de completar la dispersión antes que los aquenios ápteros y, por tanto, de germinar antes, dan lugar a una mayor frecuencia de plantas anuales que los ápteros, sin que este comportamiento se deba a factores intrínsecos de cada morfo. Un efecto materno directo similar ha sido recientemente descrito en *Anacyclus clavatus* (Afonso et al., 2014).

Tabla 1. Efectos testados mediante modelos lineales mixtos sobre la probabilidad de florecer (experimento en invernadero), y sobre la probabilidad de ciclo anual, tamaño final de la roseta en el primer año y fecundidad (experimento en campo). Las marcas indican las variables e interacciones incluidas en cada caso en los modelos iniciales y en color negro se indican las retenidas en los modelos reducidos finales. ***: $p < 0.001$, ns: no significativo

Variable explicativa	Experimento en campo			Experimento en invernadero	
	Variable respuesta			Variable respuesta	
	Prob. de florecer año 1	Tamaño roseta	Fecundidad	Prob. de florecer año 1	Prob. de florecer año 1
Cohorte	■ ***	■ ***	■ ***	■ ***	
Fertilización	■ ***	■ ***	■ ns	■ ***	
Cohorte*fert	□	□	□		
Morfo de Aquenio				□	
Población				□	
Cohorte*morfo				□	
Ciclo (anual/bienal)			■ ***		
Fertilización*ciclo			■ ***		
Cohorte*ciclo			□		
Cohorte*fert*ciclo			□		
Tamaño roseta					■ ***

Tabla 2. Tasas de supervivencia observadas en el experimento de campo para las distintas fases del ciclo vital de *P. spinosa*

Cohorte	Tasa de supervivencia (%)		
	global hasta floración de las anuales (fin abr. 2015)	de las bienales al verano (may. a oct. 2015)	de las bienales hasta floración (nov. 2015 a may. 2016)
Temprana	89,3	84,3	95,6
Intermedia	75,8	78,6	84,9
Tardía	91,4	64,7	88,2

En conclusión, el estudio indica que las plantas de *P. spinosa* modulan la historia vital de su progenie a través de un dilatado periodo de dispersión de aquenios que germinan rápidamente. La estrategia de generación de bancos de rosetas, asociada al comportamiento bienal, en lugar

de bancos de semillas, se ve favorecida en condiciones de elevada mortalidad de las semillas y de supervivencia de rosetas suficientemente alta. La primera puede estar mediada por depredadores de semillas, particularmente hormigas granívoras que son abundantes en comunidades pioneras mediterráneas en las que la producción de semillas es elevada y predecible en el tiempo (Wolff and Debussche, 1999). En los hábitats inestables característicos de la especie, incluyendo linderos y márgenes de camino, la frecuencia e intensidad de perturbaciones es menor que en las parcelas cultivadas adyacentes, posibilitando la supervivencia de las rosetas.

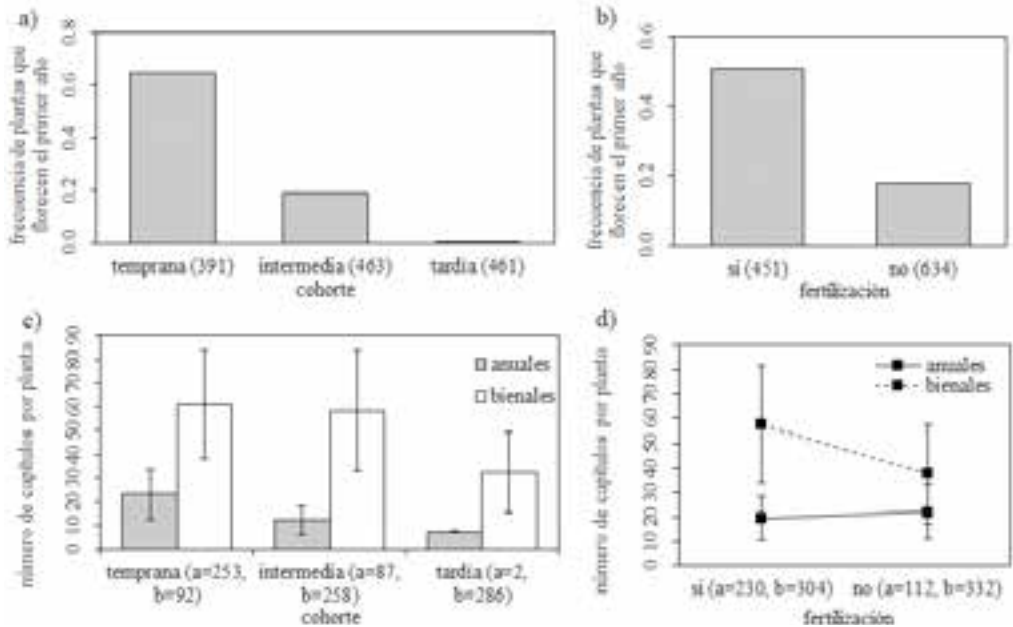


Figura 1. Experimento en campo: frecuencia de plantas anuales según a) precocidad de la cohorte y b) tratamiento de fertilización, y fecundidad de las plantas anuales y bienales en función de c) la cohorte y d) el tratamiento de fertilización. En c) y d) se indican valores medios (columnas) y desviaciones estándar (líneas verticales). Entre paréntesis se indica el número de plantas, a: anuales, b: bienales.

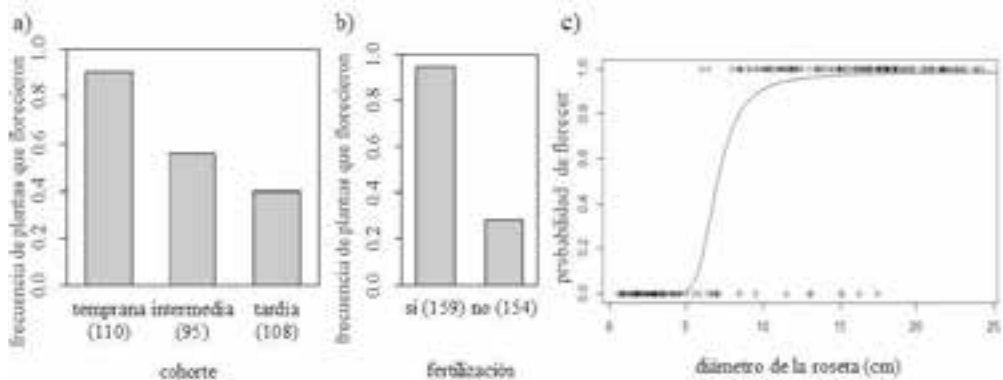


Figura 2. Experimento en invernadero: frecuencia de plantas que florecieron en función de a) la precocidad de la cohorte y b) el tratamiento de fertilización, y c) probabilidad de florecer en función del tamaño final de la roseta. En c) los puntos son valores observados y la línea es el modelo logístico ajustado. Entre paréntesis se indica el número de plantas.

4. REFERENCIAS

- Afonso A, Castro S, Loureiro J, Mota L, Cerca de Olivera J and Torices R (2014). The effects of achene type and germination time on plant performance and germination time in the heterocarpic *Anacyclus clavatus* (Asteraceae). *American Journal of Botany*, 101, 892-898.
- Blanca G, Cabezudo B, Cueto M, Salazar C y Morales Torres C (2011, eds.). *Flora Vascular de Andalucía Oriental*. Universidades de Almería, Granada, Jaén y Málaga, Granada.
- Bates D, Maechler M, Bolker B and Walker BS (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67, 1-48.
- De Jong TJ, Klinkhamer PGL and Metz JAJ (1987). Selection for biennial life histories in plants. *Vegetation*, 70, 149-156.
- Galloway LE (2001). Parental environmental effects on life history in the herbaceous plant *Campanula americana*. *Ecology*, 82, 2781-2789.
- González-Gregori D (2013). Desarrollo de un modelo de germinación de semillas de las Asteráceas heterocárpicas *Pallenis spinosa*. Proyecto Final de Carrera de Ingeniería Técnica Agrícola, Universidad de Huelva. Documento no publicado.
- Macías FJ, González-Andújar JL, Menéndez J y Bastida F (2011). Caracterización de la dispersión de semillas en *Pallenis spinosa* (Asteráceas) mediante inferencia bayesiana. *Plantas invasoras, resistencias a herbicidas y detección de malas hierbas. Actas del XIII Congreso Nacional de Malherbología*. 22, 23 y 24 de noviembre, San Cristóbal de La Laguna. Ed. por Arévalo JR, Fernández S, López, F, Recasens J y Sobrino E, pp. 239-242. Universidad de la Laguna, San Cristóbal de La Laguna.
- Silvertown JW (1984). Death of the elusive biennial. *Nature*, 310, 271.
- Valdés B, Talavera S y Fernández-Galiano E (1987, eds.). *Flora Vascular de Andalucía Occidental*. 3 vols. Ed. Ketres, Barcelona.
- Wolff A. & Debussche, M (1999). Ants as seed dispersers in a Mediterranean old-field succession. *Oikos*, 84, 443-452.

Maternal control of annual vs. biennial life history of the progeny is mediated by achene release timing in *Pallenis spinosa* (Asteraceae)

Summary: Individual plants of *Pallenis spinosa* form winged and wingless achenes which are released in a staggered fashion from autumn up to early winter. We performed two experiments to test the hypothesis of a direct effect of dispersal timing on annual vs. biennial life history. In a field experiment we evaluated effects of cohort earliness and nutrient availability on life history and fecundity. In a greenhouse experiment we additionally tested for achene morph and population effects. Frequency of annuals significantly increased with cohort earliness and with nutrient addition. Achene morph and population did not show any effect on life history, this trait being ultimately size-dependent. Fecundity of biennials was 2.7-4.6 fold higher compared to annuals. Results indicate a direct maternal effect on the progeny's life history mediated by a staggered achene release pattern.

Keywords: biennial plants, heterocarpy, seed release, rosette bank.

Diversidad genética del arroz maleza colombiano

Verónica Hoyos¹✉, Guido Plaza¹, Ana L. Caicedo²

¹ Universidad Nacional de Colombia, Carrera 30 No. 45-03, Edificio 500, Bogotá D.C., Colombia

² University of Massachusetts, Morrill Science Center, 611 North Pleasant Street, Amherst, MA 01003-9297, USA

✉ vhojos@gmail.com

Resumen: El arroz maleza (AM) colombiano presenta orígenes mezclados, estando relacionado con variedades de cultivo indica y aus. Para conocer la diversidad genética del arroz maleza según zonas arroceras y morfotipos de semilla, se evaluó la heterocigosidad esperada, el F_{ST} pareado y AMOVA, en 140 muestras de AM, 28 variedades de arroz cultivado colombianas, 26 cultivares aus, 46 indica y 56 japónica. Los cultivos comerciales colombianos y el morfotipo de AM con pericarpio blanco y poco aristado presentan la mayor diversidad genética ($H_e = 0,263$ y $0,256$, respectivamente). El F_{ST} pareado mostró baja diferenciación genética entre las subpoblaciones AM-comercial (0,109), AM-aus (0,102). El AMOVA reveló baja diferenciación genética entre zonas arroceras y morfotipos, aunque el grupo de accesiones sin aristados presenta el mayor porcentaje de malezas con tendencia indica.

Palabras clave: arroz rojo, heterocigosidad, diferenciación genética.

1. INTRODUCCIÓN

El arroz domesticado (*Oryza sativa*) es el alimento básico para aproximadamente la mitad de la población mundial, siendo cultivado en 113 países (FAO, 2013). En Colombia, este cultivo es el octavo producto agrícola en extensión y para el año 2016 se cultivó en 570.802 hectáreas, con una producción de 2.971.975 toneladas en paddy verde (arroz cáscara). Se sembró en 23 departamentos y 211 municipios del país, distribuidos en cinco zonas productoras: zonas Llanos con una participación del 45,3%, Centro con el 26,5% del área sembrada, Bajo Cauca 15,9%, Santanderes con 7,1% y zona Costa Norte con una participación en área del 5,3% (Dane – Fedearroz, 2017). Las principales variedades de arroz sembradas han sido liberadas por Fedearroz (Federación de arroceros de Colombia), y se clasifican como morfológicamente *Indica*.

En cualquier sistema de arroz las malezas son una de las principales restricciones biológicas para la producción, causando pérdidas significativas de las cosechas que van desde baja reducción en el rendimiento hasta pérdidas casi totales. El arroz maleza (*Oryza* spp.) es una maleza del arroz cultivado, considerado como uno de las principales problemas ya que compete fuertemente con el arroz cultivado, presentando características morfológicas, fisiológicas, requerimientos nutricionales y agroclimáticos similares al cultivo (Valverde, 2005). Esta maleza puede reducir los rendimientos hasta en un 80% (Olsen et al., 2007). En Colombia, una presencia de 24 plantas m^{-2} en etapas tempranas de crecimiento (40 días después de emergencia) puede reducir el rendimiento en un 50% (Fischer y Ramírez, 1993).

El origen del arroz maleza en diferentes regiones del mundo está influenciado por la variedad de cultivo predominante y por la disponibilidad de *Oryza* silvestre reproductivamente compatible (Cao et al., 2006; Ishikawa et al., 2005; Olsen et al., 2007). Sin embargo, en Colombia no hay evidencia de contribución de especies de *Oryza* silvestres locales (*O. glumaepatula*, *O. grandiglumis*, *O. alta* y *O. latifolia*) en la composición genómica del arroz maleza colombiano. Por su parte, el arroz maleza presenta orígenes mezclados, estando cercanamente relacionado con

variedades de cultivo indica y aus, existiendo una creciente evidencia de que los orígenes del arroz maleza están influenciados más por los grupos domésticos que por los arrozces silvestres (Hoyos et al., 2016).

Con el objetivo de conocer cuál es la diversidad genética de los arrozces maleza colombianos, agrupamos éstos según las cinco zonas arroceras del país y agrupaciones morfológicas de semilla.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se colectaron muestras de arroz maleza mediante un muestreo dirigido en lotes altamente infestados, en las diferentes zonas arroceras colombianas, seleccionando los principales municipios productores de cada región. Se obtuvo un total de 140 accesiones de arroz maleza colombiano, de las cuales 26 se colectaron en la zona Centro, 34 en los Llanos, 28 en Bajo Cauca, 26 en la Costa Norte y 26 en la zona Santanderes. Se contó con 9 variedades de arroz comercial suministradas por la Federación Nacional de Arroceros. Igualmente, se trabajó con 19 variedades locales de arroz (denominadas arrozces criollos) pertenecientes al banco de germoplasma de Fedearroz seccional Montería.

La clasificación de los diferentes tipos de arroz maleza se realizó teniendo en cuenta los descriptores morfológicos que permiten la diferenciación en campo de estos materiales. Estas características fueron: coloración de las glumillas fértiles (lema y pálea) y pericarpio, tamaño del grano (largo y ancho), presencia/ausencia, longitud y abundancia de las aristas. Se realizó análisis descriptivo (Excell) y análisis de correspondencias múltiples, con el programa estadístico Spad 5.6, con el fin de determinar la relación o semejanza entre las accesiones colectadas en campo y determinar agrupaciones.

Los análisis de diversidad genética se realizaron para una base de datos de 30.073 SNPs en todo el genoma detectados mediante genotipado por secuenciación (GBS) (Elshire et al., 2011). La medida de la diversidad genética para cada población se realizó evaluando la heterocigosidad esperada calculada para todos los loci, y para estimar las diferencias genéticas entre subpoblaciones se usó F_{ST} pareado. Adicionalmente se realizó AMOVA, el cual permite analizar la variación entre y dentro de poblaciones. Los cálculos fueron realizados con el *software* Arlequín versión 3.5.2.2.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo al análisis de agrupamiento basado en factores, se pueden encontrar diferentes grupos por similitud de las variables evaluadas. Para el presente estudio se obtuvieron 5 grupos: el morfotipo A, con 47% de participación, se caracteriza por la ausencia de aristas en las semillas; los morfotipos E y F (10% y 14% respectivamente) presentan semillas poco aristadas y la principal característica de diferenciación es el color del pericarpio, siendo rojo en el grupo E y blanco en el grupo F; los morfotipos G y H (8% y 20%, respectivamente) presentan semillas muy aristadas y en su diferenciación participan más de cuatro variables en las características de agrupación.

Los cultivos comerciales colombianos y el morfotipo de AM con pericarpio blanco y poco aristado (grupo G), presentan la mayor diversidad genética de acuerdo a la heterocigosidad esperada (0,263 y 0,256 respectivamente) (Tabla 1). Por el contrario, el arroz maleza presenta una menor diversidad genética (0,146), valores bajos al compararlos con el arroz maleza del nordeste de China ($H_e = 0,313$) (Cao et al., 2006) y altos de acuerdo a los resultados de Yu et al. (2005)

($H_e = 0,053$) en la misma región. Las diferencias en los resultados pueden ser atribuidas al número de muestras, metodología de genotipificación, lugares e historial del cultivo (antigüedad) (Cao et al., 2006; Grimm et al., 2013).

Tabla 1. Diversidad genética del arroz maleza Colombiano para tipo de arroz, zona geográfica y morfotipo (He: heterocigosis esperada)

Tipo	He	Zona geográfica	He	Morfotipo	He
Arroz maleza	0,146	Centro	0,188	Grupo A	0,144
		Llanos	0,168	Grupo E	0,184
		Bajo Cauca	0,198	Grupo F	0,256
		Costa Norte	0,199	Grupo G	0,238
		Santanderes	0,182	Grupo H	0,200
Criollo	0,197	–	–	–	–
Comercial	0,263	–	–	–	–

Los análisis de F_{ST} pareado fueron altamente significativos, mostrando baja diferenciación genética entre las subpoblaciones AM-comercial (0,109), AM-aus (0,102) (Tabla 2) y en todas las comparaciones de morfotipos de AM (datos no mostrados). La baja diferenciación genética para las comparaciones entre arroz maleza y variedades de arroz, confirma los resultados reportados por Hoyos et al. (2016), donde se evidencia el origen mezclado de esta especie en Colombia.

Tabla 2. F_{ST} pareado para arroz maleza y variedades de arroz

	Arroz maleza	Criollos	Comercial	Japónica	Aus	Indica
Arroz maleza	0					
Criollos	0,421	0				
Comercial	0,109	0,506	0			
Japónica	0,298	0,537	0,481	0		
Aus	0,102	0,488	0,124	0,417	0	
Indica	0,484	0,114	0,576	0,561	0,544	0

Los índices de fijación (estadísticos F) mostraron valores altos positivos (0,67 a 0,81) de F_{IS} y F_{IT} , lo que indica exceso de homocigotos en las poblaciones y, por tanto, la desviación del equilibrio de Hardy-Weinberg, explicado a partir del tipo de reproducción autógena de la especie. El valor F_{ST} , como medida de divergencia entre subpoblaciones, mostró diferenciación genética muy grande entre arroz maleza y arroces domesticados (0,35). Por el contrario, se evidenció poca diferenciación genética entre zonas arroceras y morfotipos evaluados (0,03 para cada análisis); sin embargo, el grupo de materiales no aristados (morfotipo A) presenta el mayor porcentaje de malezas con tendencia indica.

4. AGRADECIMIENTOS

Instituciones de apoyo: National Science Foundation (NSF), Estados Unidos y Departamento Administrativo de Ciencia y Tecnología e Innovación Colciencias, Colombia.

5. REFERENCIAS

- Cao Q, Lu B-R, Xia H, Rong J, Sala F, Spada A and Grassi F (2006). Genetic diversity and origin of weedy rice (*Oryza sativa* f. *spontanea*) populations found in Northeastern China revealed by simple sequence repeat (SSR) markers. *Annals of Botany*, 98, 1241-1252.
- DANE - FEDEARROZ (2017). 4° Censo Nacional Arrocerero Año 2016. Boletín técnico. Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE) y Federación Nacional de Arroceros (FEDEARROZ). Bogotá, Colombia. 35 p.
- Elshire RJ, Glaubitz JC, Sun Q, Poland JA, Kawamoto K, Buckler ES and Mitchell SE (2011). A robust, simple Genotyping-By-Sequencing (GBS) Approach for high diversity species. *PLoS ONE*, 6, e19379.
- FAO (2013). *FAO Statistical Yearbook*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Roma. p. 160.
- Fischer AJ & Ramírez A (1993). Red rice (*Oryza sativa*): competition studies for management decisions. *International Journal of Pest Management*, 39, 133-138.
- Grimm A, Fogliatto S, Nick P, Ferrero A and Vidotto F (2013). Microsatellite markers reveal multiple origins for Italian weedy rice. *Ecology and Evolution*, 3, 4786-4798.
- Hoyos V, Plaza G and Caicedo AL (2016). Entendiendo la evolución del arroz maleza Colombiano. *XXX Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas*. Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas (Brazilian Weed Science Society), pp. 81. Curitiba, Brasil.
- Ishikawa R, Toki N, Imai K, Sato YI, Yamagishi H, Shimamoto Y, Ueno K, Morishima H and Sato T (2005). Origin of weedy rice grown in Bhutan and the force of genetic diversity. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 52, 395-403.
- Olsen KM, Caicedo AL and Jia Y (2007). Evolutionary genomics of weedy rice in the USA. *Journal of Integrative Plant Biology*, 49, 811-816.
- Valverde BE (2005). The damage by weedy rice – can feral rice remain undetected?. *Crop Fertility and Volunteerism*. Ed. by Gressel J. pp. 279-294. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Yu G-q, Bao Y, Shi C-h, Dong C-Q and Ge S (2005). Genetic diversity and population differentiation of liaoning weedy rice detected by RAPD and SSR Markers. *Biochemical Genetics*, 43, 261-270.

Genetic diversity of Colombian weedy rice

Summary: Colombian weedy rice (WR) has mixed origins, related to indica and aus cultivar groups. To know the genetic diversity of weedy rice according to rice growing regions and seed morphotypes, the expected heterozygosity, pairwise FST and AMOVA, were evaluated in 140 samples of WR, 28 varieties of Colombian cultivated rice, 26 aus cultivars, 46 indica and 56 japonica. Colombian commercial crops and morphotype with white pericarp and short awns, present the greatest genetic diversity ($H_e = 0.263$ and 0.256 respectively). Pairwise FST showed low genetic differentiation among subpopulations WR-commercial (0.109), WR-aus (0.102). AMOVA revealed low genetic differentiation between rice zones and morphotypes, although the group of awnless accessions has the highest percentage of weeds related to indica.

Keywords: red rice, heterozygosity, genetic differentiation.


La interrelación entre la riqueza de arvenses y la fertilización condiciona la proteína del grano del trigo

María Eva Hernández-Plaza¹, Francisco Barro¹, Fernando Bastida², Yesica Pallavicini¹, Jordi Izquierdo³, Jose Luis González-Andújar¹

¹Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), Finca Alameda del Obispo, Apto 4084, 14080-Córdoba

²Campus de la Rábida, Ctra. Huelva - Palos de la Frontera, s/n 21071 - Palos de la Frontera

³Dept. Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universidad Politècnica de Catalunya, Esteve Terradas, 8. 08860- Castelldefels

 evahernandezplaza@gmail.com

Resumen: Se analiza la relación entre el contenido en proteína de cultivos de trigo y la diversidad de las comunidades arvenses. Presentamos un modelo multivariante que incluye la interrelación entre la biomasa del cultivo y la de las arvenses, la diversidad de estas y la disponibilidad de nutrientes. El modelo propuesto se ajustó con datos obtenidos en un muestreo de 26 campos de trigo. Los resultados muestran que el modelo propuesto es adecuado para explicar el contenido en proteína. El aumento de fertilización produce la pérdida de especies y el incremento en la producción primaria del cultivo y de las arvenses. La riqueza afecta positivamente a la producción primaria de estas y del cultivo. El contenido en proteína se relaciona positivamente con la fertilización y la abundancia de arvenses, y negativamente, con la riqueza y el peso del grano.

Palabras clave: diversidad, peso del grano, modelos de ecuaciones estructurales.

1. INTRODUCCIÓN

La vegetación arvense es un componente inherente a la propia agricultura y a los implicados en ella. Esta vegetación representa la mayor parte de la biodiversidad vegetal en los sistemas agrarios, y un gran número de las especies arvenses sirven como recurso (refugio, alimento, sitio de cría) para otros organismos, como aves, pequeños mamíferos e invertebrados (Kragten et al., 2008; White et al., 2007; Baraiibar 2013). Tradicionalmente el estudio de estas especies se ha centrado en el efecto negativo que su abundancia puede suponer para la producción del cultivo. Sin embargo, la relación entre la abundancia y la diversidad de estas especies con parámetros funcionales debe considerarse en un contexto amplio (Petit et al., 2011).

En este sentido es importante determinar la relación entre la diversidad de las comunidades arvenses y el funcionamiento de los agroecosistemas. Un aspecto fundamental de este funcionamiento es la producción y la calidad de los cultivos. En términos de calidad, el contenido en proteína del grano es un carácter importante. En el caso de los cultivos de trigo, son necesarios valores altos de proteína para la elaboración de harinas y semolinas adecuadas para la fabricación de panes y pasta.

El contenido en proteína en diversos cultivos muestra un componente genético. Sin embargo, una parte importante de la variabilidad encontrada en la cantidad de proteína responde a factores ambientales. En distintos cultivos se ha observado una relación positiva del contenido en proteína y la disponibilidad de nutrientes en suelo, en particular de nitrógeno (Nass et al., 2003), mientras que la relación entre el contenido en proteína y el rendimiento del cultivo o la abundancia de plantas arvenses es diversa (Chen et al., 2008; Motzo et al., 2004). Esta variedad de respuestas puede ser consecuencia de no contemplar la interrelación entre la disponibilidad de nutrientes, la abundancia de plantas arvenses y el rendimiento del cultivo. Por otra parte, no solo la abundancia, sino la diversidad y composición de las comunidades arvenses podría afectar

al contenido en proteína de los cultivos. Incorporar la diversidad como un factor que puede relacionarse con el contenido en proteína en los cultivos permitiría evaluar el efecto de las comunidades arvenses en un contexto funcional más amplio. Esta aproximación reconoce, también, el desarrollo teórico que se ha elaborado en ecología respecto a las relaciones entre la diversidad de plantas, la disponibilidad de recursos y la producción primaria y otras funciones de los ecosistemas (Cardinale et al., 2009). Este marco señala la dependencia de la producción primaria de los recursos disponibles, así como la relación entre la diversidad y la disponibilidad de recursos, y el efecto de la diversidad sobre las funciones del ecosistema.

En este contexto, el objetivo de este trabajo ha sido analizar la relación entre el contenido en proteína de cultivos de trigo y la diversidad de sus comunidades arvenses. Nuestra hipótesis de trabajo es que el contenido en proteína del grano no puede explicarse aisladamente de las relaciones existentes entre la biomasa del cultivo y de las arvenses, de la diversidad de éstas y de la disponibilidad de nutrientes. Por el contrario, proponemos un modelo multivariante para explicar el contenido en proteína del grano. En este modelo el contenido en proteína es función de la biomasa del cultivo y de las arvenses, de la diversidad de estas comunidades y de la disponibilidad de nutrientes. Asimismo, la disponibilidad de nutrientes controla la producción de biomasa del cultivo y de las arvenses y la diversidad de estas comunidades. Finalmente, incorporamos las relaciones de competencia entre cultivo y arvenses considerando una dependencia entre sus producciones de biomasa (Fig. 1).

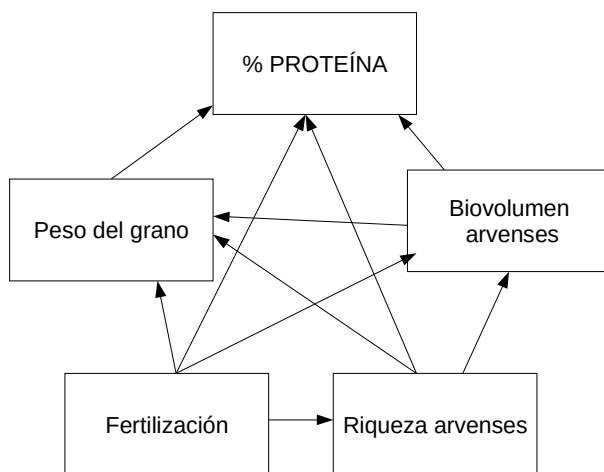


Figura 1. Esquema del modelo propuesto para explicar el contenido en proteína del trigo.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

En la campaña 2013-2014 se seleccionaron 26 campos de trigo distribuidos en Andalucía, Cataluña, Castilla La Mancha y Madrid. Quince de los campos seleccionados eran manejados usando herbicidas y fertilizantes inorgánicos, mientras que en el resto de los campos el manejo era ecológico.

2.1. Muestreos en campo y obtención de variables. En cada campo, durante el estado de ahijado del cultivo, se dispusieron aleatoriamente diez parcelas de muestreo ($1 \times 1 \text{ m}^2$) que se mantuvieron hasta la cosecha del cereal. Durante el estado de encañado del cultivo, en cada parcela se registró la cobertura (en cm^2) y la altura media de cada una de las especies arvenses presentes. Esos datos sirvieron para calcular la riqueza de especies y el su biovolumen (como el sumatorio del producto de la cobertura y la altura media de cada especie en la parcela de muestreo). Para poder observar el efecto de las arvenses durante todo el ciclo del cultivo, el muestreo en encañado no fue destructivo y el biovolumen se utilizó como una estima de su producción primaria. Inmediatamente antes de la cosecha del cultivo, en cada parcela de muestreo se contaron los tallos con espigas, se seleccionaron 30 de estos y se cortaron. En el laboratorio se pesaron las 30 espigas (después de 48 horas en estufa a 65°C) y se obtuvo su peso medio. Este dato se utilizó para calcular el peso total del grano en cada parcela de muestreo y como una estimación de la producción primaria del cultivo. Las muestras de trigo se molieron para obtener harina de un tamaño de partícula de $100 \mu\text{m}$ y el total de proteína presente en cada muestra se determinó según el método Kjeldahl según el método ICC n.105/2 (ICC 1994). Los resultados se expresan como el porcentaje de proteína ($\text{N} \times 5,7$) en el total de materia seca. En cada campo se obtuvo un valor de la fertilización medido como kg de N/ha , mediante una encuesta a los agricultores.

2.2. Análisis estadísticos. En primer lugar exploramos, mediante correlaciones de Pearson, las relaciones entre el contenido en proteína, el peso del grano, el biovolumen de las arvenses, la riqueza de arvenses y la fertilización ($\text{kg N}/\text{ha}$). Los resultados de estas correlaciones mostraron una elevada covariación entre las variables. Esto sugiere que un análisis que asuma la causalidad de las diferentes relaciones univariantes puede dar lugar a interpretaciones confusas de los mecanismos implicados. A su vez estos resultados refuerzan nuestra idea de un análisis multivariante de las relaciones propuestas.

Para testar nuestra hipótesis multivariante utilizamos modelos de ecuaciones estructurales (SEM). Nuestro modelo inicial aparece descrito en la figura 1. Este modelo fue comparado con un modelo en el que se omitió la riqueza arvense como factor explicativo de la cantidad de proteína en grano. El ajuste de los modelos se evaluó mediante un test de chi-cuadrado. Así, un valor de $p > 0,05$ indica que no existe una desviación estadísticamente significativa entre el modelo propuesto y los datos observados, y señala un buen ajuste del modelo. Además, se comprobó que todas las relaciones individuales eran significativas. Las variables contenido en proteína del grano, biovolumen de las arvenses y peso del grano fueron transformadas mediante logaritmos naturales antes del análisis. Todos los análisis se llevaron a cabo en el entorno de R (R Core Team, 2017) utilizando funciones de la librería lavaan (Yves Rosseel, 2012).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido en proteína y el rendimiento del trigo en los campos muestreados varió entre 8 y 21% (con una media de 13%) y 27 y $774 \text{ g}/\text{m}^2$ respectivamente. La fertilización aplicada se encontró entre 0 y $163 \text{ kg N}/\text{ha}$. El biovolumen arvense fue muy variable entre 5 y 82000 cm^3 , mientras que el número de especies arvenses encontradas varió entre 1 y 26.

3.1. Correlaciones entre las variables analizadas. Las correlaciones realizadas muestran una relación positiva y estadísticamente significativa del contenido en proteína con la

fertilización ($r=0,36$) y con el biovolumen arvense ($r=0,24$) y negativa con la riqueza de especies arvenses ($r=-0,60$). Por otro lado, el peso del grano se relacionó positivamente con la fertilización ($r=0,40$) y el biovolumen arvense ($r=0,24$). A su vez el biovolumen se relacionó positivamente con la fertilización ($r=0,32$) y negativamente con la riqueza de arvenses ($r=-0,19$). Finalmente la riqueza se relacionó negativamente con la fertilización ($r=-0,45$).

3.2. Análisis de un modelo multivariante para explicar el contenido en proteína del grano. Nuestros resultados mostraron que el ajuste del modelo inicial (Fig. 1) no era apropiado ($p<0.001$). En este modelo identificamos que el efecto del biovolumen arvense sobre el peso del grano no era significativo ($p>0.05$). Al eliminar esta relación el modelo resultante (modelo 2) presenta un ajuste adecuado ($X^2=0,019$ $gl=1$ $p=0,89$, $AIC=5762$; Fig. 2). Cuando comparamos este modelo con otro similar (modelo 3) en el que la riqueza arvense está excluida de la ecuación que modela el efecto de distintas variables sobre el contenido en proteína, el ajuste del modelo es inferior y presenta un mayor valor de AIC ($X^2=92,8$ $gl=2$ $p<0.001$, $AIC=5852$). Esto sugiere que el modelo 2 puede ser una adecuada representación de las covarianzas encontradas en nuestro conjunto de datos. En este modelo todas las relaciones son estadísticamente significativas ($p<0,05$), exceptuando la relación entre el contenido en proteína y el peso del grano. Sin embargo, la eliminación de la variable peso del grano no mejoró el modelo final.

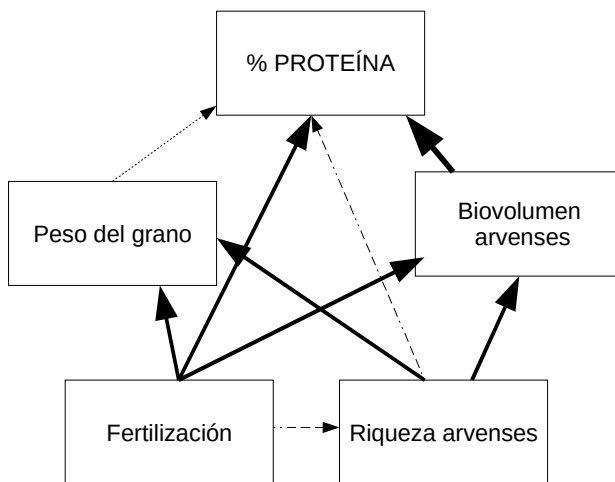


Figura 2. Modelo final para explicar el contenido en proteína del grano en cultivos de trigo. Las flechas continuas muestran relaciones positivas y estadísticamente significativas. La flecha de puntos indica una relación positiva pero no significativa, mientras que las flechas discontinuas señalan relaciones negativas y estadísticamente significativas. Los coeficientes de estas relaciones aparecen en el texto.

El modelo propuesto para explicar el contenido en proteína del grano indica un entramado de relaciones entre la producción de biomasa (en arvenses y cultivo), la riqueza de especies y la fertilización, que determinan, seguidamente, el contenido en proteína del grano. El aumento de fertilización está relacionado con la pérdida de especies arvenses (coeficiente=-0.04 $p<0.001$).

Este efecto ha sido descrito tanto en los agroecosistemas como en otros sistemas naturales (Harpole and Tilman, 2007). Por su parte, la fertilización supone un incremento en la producción primaria, que se refleja en un aumento en el peso del grano (coeficiente=0,004 $p<0,001$) y en el biovolumen de las arvenses (coeficiente=0,01 $p<0,001$). Asimismo, el modelo muestra un efecto positivo de la diversidad sobre la producción primaria del cultivo (coeficiente=0,02 $p<0,01$) y las arvenses (coeficiente=0,09 $p<0,01$). Este resultado se encuentra en la línea de lo propuesto por las teorías que relacionan la diversidad y el funcionamiento de los sistemas. Este cuerpo teórico propone que la riqueza de especies puede actuar como una variable independiente para determinar la eficiencia con la que una comunidad utiliza los recursos disponibles para convertirlos en biomasa (Hooper et al., 2005). Finalmente, el contenido en proteína del grano se relaciona positivamente con la fertilización (coeficiente=0,0001 $p=0,04$) y con el biovolumen arvense (coeficiente=0,0001 $p=0,04$). Mientras que la riqueza (coeficiente=-0,03 $p<0,001$) tiene un efecto negativo sobre el contenido de proteína.

Estos resultados indican que el contenido de proteína en el grano parece estar limitado por la disponibilidad de nitrógeno. Igualmente, la abundancia de arvenses se relaciona con valores altos de proteína. Esto puede relacionarse con otros trabajos que indican que ciertas condiciones de estrés para el cultivo, como el déficit hídrico, incrementan el porcentaje de proteína (Gholamhoseini et al., 2013). La riqueza de arvenses se relaciona positivamente con la abundancia de estas especies, de forma que existe un efecto indirecto y positivo de la riqueza sobre el contenido en proteína del grano. Sin embargo, observamos una relación directa y negativa entre el contenido de proteína en los casos de mayor riqueza de arvenses. Esto puede relacionarse con una mayor eficiencia de estas comunidades en el uso de los recursos conforme la riqueza aumenta. En este trabajo solo se ha cuantificado el contenido en proteína del cultivo, pero sería interesante determinar si el contenido en proteína del conjunto de la comunidad se incrementa conforme lo hace la riqueza de especies. Esto se ha observado en estudios que comparan el contenido en proteínas en cultivos para forraje de maíz con y sin arvenses (Gholamhoseini et al., 2013). Nuestros resultados también indican que un elevado rendimiento del cultivo no tiene por qué comprometer el contenido en proteína del grano. Asimismo, no se observa en este caso, una relación negativa entre la producción primaria del cultivo y la riqueza y producción primaria de arvenses.

Este trabajo pretende señalar que el manejo de las comunidades arvenses debe estar basado en un conocimiento de sus relaciones con el resto del sistema del que forman parte, destacando en este sentido la importancia de los procesos funcionales más relevantes.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por fondos FEDER y el plan Nacional de Investigación (I+D) del Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2015-64130-R). Agradecemos la colaboración de todas aquellas personas que nos permitieron el acceso a sus fincas para los muestreos de vegetación asociados a este trabajo.

5. REFERENCIAS

Baraibar B (2013). La depredación de semillas de malas hierbas, una función ecológica a conservar y potenciar. *Ecosistemas*, 22, 62-66.

- Cardinale BJ, Hillebrand H, Harpole WS, Gross K and Ptacnik R (2009). Separating the influence of resource 'availability' from resource 'imbalance' on productivity-diversity relationships. *Ecology Letters* 12, 475-487.
- Chen C, Neill K, Wichman D and Westcott M (2008). Hard red spring wheat response to row spacing, seeding rate, and nitrogen. *Agronomy Journal*, 100, 1296-1302.
- Gholamhoseini M, AghaAlikhani M, Mirlatifi SM, Modarres Sanavy SAM (2013). Weeds Friend or foe? Increasing forage yield and decreasing nitrate leaching on a corn forage farm infested by redroot pigweed. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 179, 151-162.
- Harpole WS & Tilman D. (2007). Grassland species loss resulting from reduced niche dimension. *Nature*, 446, 791-793.
- Hooper DU, Chapin FS, Ewel JJ, Hector A, Inchausti P, Lavorel S, Lawton JH, Lodge DM, Loreau M, Naeem S, Schmid B, Setälä H, Symstad AJ, Vandermeer J y Wardle DA (2005). Effects of biodiversity on ecosystem functioning: a consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75, 3-35.
- ICC (1994). Determination of crude protein in cereals and cereal products for food and for feed. International Association for Cereal Science and Technology. Method No. 105/2.
- Kragten S, Trimbos KB and de Snoo GR (2008). Breeding skylarks (*Alauda arvensis*) on organic and conventional arable farms in The Netherlands. *Agriculture Ecosystems & Environment* 126, 163-167.
- Motzo R, Fois S and Giunta F (2004). Relationship between grain yield and quality of durum wheats from different eras of breeding. *Euphytica*, 140,147-154.
- Nass HG, Ivany JA and MacLeod JA (2003). Agronomic performance and quality of spring wheat and soybean cultivars under organic culture. *American Journal of Alternative Agriculture*, 18, 164-170.
- Petit S, Boursault A, Le Guilloux M, Munier-Jolain N and Reboud X (2011). Weeds in agricultural landscapes. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 31, 309-317.
- R Core Team (2017). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- White SS, Renner KA, Menalled FD and Landis DA (2007). Feeding preferences of weed seed predators and effect on weed emergence. *Weed Science*, 55, 606-612.
- Yves Rosseel (2012). lavaan: An R Package for Structural Equation Modeling. *Journal of Statistical Software*, 48(2), 1-36. URL <http://www.jstatsoft.org/v48/i02/>.

Relationship between weed richness and fertilization controls wheat grain protein content

Summary: We analyzed the relationship between the protein content of wheat and the diversity of the weed communities of the fields where it was produced. We present a multivariate model that includes the cross relationship between wheat and weed biomass, weed richness and nutrient availability. The model was fitted with data from 26 fields. Our results show that the proposed model is adequate to explain the protein content of wheat. Increasing fertilization leads to a loss of weed species, and to the increase of crop and weed primary productivity. Weed richness positively affects crop and weed productivity. Protein content is positively related with fertilization and weed abundance, whereas it is negatively related with crop grain weight and species richness.

Keywords: biodiversity, grain weight, structural equation modeling.

Efecto a largo plazo de diferentes sistemas de laboreo sobre la biomasa de malas hierbas en una rotación cereal-leguminosa

María Eva Hernández-Plaza¹✉, Emilio Carbonell², Luis Navarrete³, José Luis González-Andújar¹

¹Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), Apdo 14080-Córdoba

²VIA, 46113 Moncada, Valencia

³IMIDRA, Finca El Encín, Autovía del Noreste A-2, Km. 38.200, Apdo 127-28800 Alcalá de Henares (Madrid)

✉ mehernan@ias.csic.es

Resumen: Los datos que se muestran en el presente trabajo fueron recogidos durante 5 campañas agrícolas, en un experimento de campo de larga duración, ubicado en la finca El Encín (Alcalá de Henares, Madrid) e iniciado en 1985, y que consiste en una rotación de trigo de invierno y leguminosa para forraje, bajo diferentes sistemas de laboreo (convencional, mínimo y siembra directa), en condiciones de secano. El objetivo ha sido evaluar el efecto de los sistemas de laboreo sobre la biomasa de las malas hierbas. Nuestros resultados indican que el efecto del laboreo depende del cultivo en rotación. Podemos concluir que existe un efecto del tipo de laboreo sobre la biomasa de las malas hierbas en la rotación de veza pero no en la rotación de trigo.

Palabras clave: laboreo convencional, laboreo de conservación, trigo, veza.

1. INTRODUCCIÓN

El laboreo ha sido un componente esencial de los sistemas agrícolas. Son numerosos los estudios realizados sobre la respuesta de la vegetación arvense al conjunto de los factores que se asocian a un determinado sistema de laboreo (o tipo de manejo) (Shrestha et al., 2002; Dorado y López-Fando, 2006). La introducción de nuevas prácticas de laboreo (ej. laboreo de conservación) generalmente causa cambios en la composición y abundancia de la flora arvense. Estudios previos han documentado que el laboreo de conservación incrementa la densidad y biomasa de las malas hierbas (Tuesca et al., 2003). Dichos estudios están basados principalmente en experimentos de corta duración y existe poca información sobre su efecto a largo plazo. El conocimiento de los efectos a largo plazo de los diferentes sistemas de laboreo sobre la vegetación arvense puede proporcionar una valiosa información para su manejo (Hernández-Plaza et al., 2015). Por ello sería recomendable disponer de datos obtenidos en periodos de estudio suficientemente amplios para minimizar la elevada variabilidad en la respuesta. En este sentido, el objetivo de este trabajo ha sido evaluar el efecto a largo plazo de tres sistemas de laboreo (convencional, mínimo y no laboreo) sobre la biomasa de las malas hierbas en una rotación de cereal-leguminosa.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Los datos que se muestran en el presente trabajo fueron recogidos durante 5 campañas agrícolas (2011/12 a 2015/16), en un experimento de campo de larga duración, ubicado en la finca El Encín (Alcalá de Henares, Madrid), e iniciado en 1985. En él se vienen comparando 3 sistemas de laboreo: convencional, con vertedera; mínimo, con chisel o cultivador y no laboreo, con sembradora de discos, en una rotación de trigo y veza para forraje, en condiciones de secano. El diseño experimental ha sido de bloques al azar con 4 repeticiones. El tamaño de la parcela, 800 m². El suelo, de textura franca, 1% de M.O. y pH de 7,7. Los cultivos fueron: veza cv. Senda en 2011 y Libia en

2013 y 2015; trigo blando cv. Avelino y Sarina en 2012 y 2014, respectivamente. La biomasa de la vegetación arvense fue estimada anualmente de la siguiente manera: cuando el cultivo fue trigo, el muestreo se realizó antes de la aplicación del herbicida de postemergencia, a mediados de febrero y mediados de abril, en 2014 y 2012, respectivamente. Cuando el cultivo fue veza no se aplicó herbicida en postemergencia y los muestreos se realizaron a mediados de marzo, mediados de abril y mediados de mayo en 2015, 2013 y 2011, respectivamente. En todos los casos se recogieron las arvenses presentes en 10 marcos rectangulares de 33 x 30 cm, distribuidos sistemáticamente en un recorrido en forma de «M» en cada parcela. Una vez separadas por especies, se obtuvo el peso seco del conjunto de cada una de ellas, tras pasar 48 horas en estufa a 80°C.

Los datos fueron analizados con un modelo lineal de medidas repetidas con los años, tratamientos (tipo de laboreo y rotación) y su interacción como factores. Se examinaron diferentes estructuras de covarianza para el efecto del año y se utilizó el Criterio de Información Bayesiano (BIC) para elegir la estructura más apropiada. El software R fue utilizado para realizar los análisis (R Development Core Team, 2011).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A lo largo del periodo de experimentación se encontraron un total de 36 especies arvenses (Tabla 1). Todas ellas son especies comunes en campos de cereales o leguminosas (González-Andújar & Saavedra, 2003). La mayoría de estas fueron dicotiledóneas (Tabla 1), siendo *Descurainia sophia*, *Papaver rhoeas* y *Veronica hederifolia* las especies más abundantes en los tres sistemas de laboreo.

Tabla 1. Especies encontradas

<i>Amaranthus blitoides</i> S. Watson	<i>Anacyclus clavatus</i> (Desf.) Pers.
<i>Asperugo procumbens</i> L.	<i>Atriplex patula</i> L.
<i>Bassia scoparia</i> (L.) Voss.	<i>Bombycilaena erecta</i> (L.) Smolj.
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	<i>Cardaria draba</i> (L.) Desv.
<i>Cnicus benedictus</i> L.	<i>Chenopodium album</i> L.
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	<i>Conyza canadensis</i> (L.) Cronq.
<i>Descurainia sophia</i> (L.) Webb. Ex Prantl	<i>Epilobium brachycarpum</i> C. Presl
<i>Fumaria officinalis</i> L.	<i>Fumaria parviflora</i> Lam.
<i>Galium tricornutum</i> Dandy	<i>Heliotropium europaeum</i> L.
<i>Hordeum murinum</i> L.	<i>Hypochaeris glabra</i> L.
<i>Lactuca serriola</i> L.	<i>Lamium amplexicaule</i> L.
<i>Lolium rigidum</i> Gaudin	<i>Malva sylvestris</i> L.
<i>Papaver rhoeas</i> L.	<i>Papaver hybridum</i> L.
<i>Polygonum aviculare</i> L.	<i>Portulaca oleracea</i> L.
<i>Roemeria hybrida</i> (L.) DC.	<i>Salsola kali</i> L.
<i>Sisymbrium irio</i> L.	<i>Sonchus asper</i> (L.) Hill
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	<i>Trigonella polyceratia</i> L.
<i>Urtica urens</i> L.	<i>Veronica hederifolia</i> L.

La tabla 2 muestra los resultados del modelo lineal ajustado. Todos los factores mostraron efectos significativos. La biomasa arvense fue muy dependiente del factor año, como corresponde a un experimento realizado en condiciones de secano en un clima mediterráneo, donde la abundancia y distribución de las precipitaciones condicionan el crecimiento de las plantas arvenses

y el cultivo. La interacción entre la rotación y el tipo de laboreo también fue significativa. Esto indica que el efecto del sistema de laboreo utilizado es dependiente del cultivo en rotación. Dado el patrón encontrado, los análisis posteriores incluyeron el efecto de la rotación (se ajustaron modelos separados para el trigo y la veza).

Tabla 2. Resultados del modelo lineal de medidas repetidas que analiza el efecto del año, la rotación y el tipo de laboreo (L) sobre la biomasa de las arvenses

Fuente	Df	MS	F test	p-valor
Rotación	1	120206104.52	27.85	>0.0001
Año (Rotación)	4	14508380.40	3.36	0.0149
Tipo de laboreo	2	45009701.97	10.43	0.0001
R x L	2	18142127.94	4.20	0.0194
Residuo	62	4316567.39		

Cuando los análisis se realizaron de esta forma se observó que en todos los sistemas de laboreo la biomasa de las malas hierbas en la rotación de veza fue mayor que en la de trigo (Tabla 3).

Tabla 3. Valor medio y error estándar de la biomasa arvense (g/m^2) en los tres sistemas de laboreo y en las dos rotaciones estudiadas

	Veza	Trigo
Mínimo	40,77±50,47	18,55±61,21
Convencional	26,23±36,72	14,03±61,21
No laboreo	24,34±50,47	13,62±36,72

En la rotación de trigo no se encontraron diferencias entre los tres sistemas de laboreo (Tabla 4, valores del triángulo inferior). Por el contrario, en la rotación de veza (Tabla 4, valores del triángulo superior), se encontró una diferencia estadísticamente muy significativa entre el laboreo mínimo y los otros dos tipos de laboreo, mientras que no se hallaron diferencias entre los valores de biomasa arvense encontrados en el laboreo convencional y el no laboreo.

Tabla 4. Valores de p resultantes de la comparación de medias entre los tres sistemas de laboreo estudiados en la rotación de trigo (valores en el triángulo inferior) y la rotación de veza (valores en el triángulo superior)

	Mínimo	No laboreo	Convencional
Mínimo		0.0014	<0.0001
No laboreo	0.5956		0.0674
Convencional	0.2308	0.5012	

Nuestros resultados indican que el efecto del laboreo sobre la biomasa de plantas arvenses depende del cultivo en rotación y del tipo de manejo que en este se realiza. En el experimento analizado, el manejo de las arvenses durante el cultivo de cereal incluye la aplicación de un herbicida de postemergencia. Esto, junto con la mayor capacidad de competencia de los cereales en relación a las leguminosas, condiciona que en este cultivo la abundancia de malas hierbas sea mucho menor (cerca del 50% de la biomasa encontrada en el cultivo de veza), y la variación en la misma debida al efecto del laboreo sea muy reducida. Cuando el cultivo en rotación fue veza, observamos una mayor biomasa de arvenses en el mínimo laboreo que en los otros dos sistemas. Estas diferencias podrían explicarse en función de los condicionantes que cada tipo de laboreo representa para la germinación y crecimiento de las diferentes especies arvenses. En trabajos anteriores (Hernández-Plaza et al., 2015) hemos mostrado como los sistemas de laboreo condicionan la composición de las comunidades arvenses actuando sobre los caracteres funcionales de estas especies (caracteres respuesta). A su vez la composición de las comunidades arvenses y los atributos funcionales de las especies que las conforman pueden determinar la producción primaria de estas comunidades.

Podemos concluir que existe un efecto del tipo de laboreo sobre la biomasa de las malas hierbas en la rotación de veza pero no en la rotación de trigo.

4. AGRADECIMIENTOS

Al equipo de Malherbología de la finca El Encín. Este trabajo ha sido financiado por fondos FEDER y el plan Nacional de Investigación (I+D) del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (proyectos AGL2015-64130-R y AGL2012-39929-C03-01).

5. REFERENCIAS

- Dorado J & López-Fando C (2006). The effect of tillage system and use of a paraplow on weed flora in a semiarid soil from central Spain. *Weed Research* 46, 424-431.
- Hernández-Plaza E, Navarrete L and González-Andújar JL (2015). Intensity of soil disturbance shapes response trait diversity of weed communities: the long-term effects of different tillage systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 207, 101-108.
- R Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Shresta A, Knezevic SZ, Roy RC, Ball-Coelho BR and Swanton, C. J. (2002). Effect of tillage, cover crop and crop rotation on the composition of weed flora in a sandy soil. *Weed Research*, 42, 76-87.
- Tuesca D, Puricelli E and Papa J (2001). A long-term study of weed flora shifts in different tillage systems. *Weed Research*, 41, 369-382.


Long-term effect of different tillage systems on weed biomass in a cereal-legume rotation

Summary: A field experiment, comprising the comparison of three tillage systems (conventional tillage, minimum tillage and no-tillage) in a winter wheat-legume rotation in rainfed conditions, has been conducted at El Encin experimental station (MIDRA, Alcalá de Henares, Madrid) since 1985. The objective was to evaluate the effect of tillage systems on weed biomass. Our results indicated that the effect of tillage depends on the crop rotation. We can conclude that there is an effect of the type of tillage on the weed biomass in rotation of vetch but not in the rotation of wheat.

Keywords: conventional tillage, conservation tillage, wheat, vetch.

Problemas de malas hierbas de los arrozales de Ross-Béthio (Senegal)

José María Osca¹, Inmaculada Bautista¹, Neus Sanjuan¹

¹Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y Medio Natural. Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022-Valencia.  josca@upv.es

Resumen: La dieta básica de Senegal se basa en el arroz, sin embargo este producto es mayoritariamente importado (alrededor del 80%). Por este motivo uno de los objetivos del país es impulsar la producción local de arroz. Una importante zona arroceras se encuentra en la región de Saint Louis donde el cultivo se realiza en parcelas irrigadas con agua proveniente del río Senegal. Sin embargo los rendimientos obtenidos por los productores locales son con frecuencia muy bajos, siendo una de las causas la competencia de las malas hierbas. En este trabajo se exponen los resultados de la evaluación preliminar de la problemática de las malas hierbas en la zona. La lucha contra las malas hierbas se basa en el control químico y la escarda manual. *Leptochloa* sp., *Echinochloa* sp., arroses espontáneos y ciperáceas son los principales problemas. Entre las mejoras propuestas, desde el punto de vista del manejo de las malas hierbas, destacar la inclusión de pendimetalina antes de inundar las parcelas, con resultados satisfactorios.

Palabras clave: arroz, malas hierbas, control, herbicidas, salinidad.

1. INTRODUCCIÓN

La dieta básica de la población de Senegal se basa en el arroz. Sin embargo la producción de arroz en este país no es suficiente para cubrir las necesidades, por lo que este producto es mayoritariamente importado (alrededor del 80%). Por este motivo, y con el fin de alcanzar la seguridad alimentaria, uno de los objetivos del país es impulsar la producción local de arroz, con el fin de disminuir la dependencia externa, situándose la tasa de cobertura media, o relación entre producción y demanda nacional, en estos últimos años en torno al 30% (Ness, 2016).

La climatología en Senegal presenta dos estaciones, la seca y la húmeda y en la producción de arroz se dan diferentes y variados escenarios. Así existen zonas en donde se da cultivo de arroz de tierras altas, donde el suministro de agua lo proporciona la lluvia (arroz pluvial). En otras zonas el cultivo es posible por la proximidad a fuentes de suministro de agua (ríos, lagos) y se cultiva arroz irrigado tanto en la estación húmeda como en la seca, que representa el 70% de la producción nacional. En cuanto al cultivo, se realiza tanto de la manera tradicional mediante preparación de semilleros y posterior trasplante, como cultivo en siembra directa.

Una importante zona de cultivo es el valle del río Senegal, en donde se han realizado importantes inversiones en infraestructuras, como la construcción de las presas de Manantali y de Diama, esta última cerca de la desembocadura del río Senegal (FAO, 1997), para poner en regadío nuevas zonas en donde se cultiva principalmente arroz. El cultivo está en manos de pequeños productores o agrupaciones de agricultores, que en ocasiones son mujeres.

Con el fin de ayudar a los productores locales, algunas organizaciones como Cáritas Española participan en proyectos de seguridad alimentaria en Senegal. Esta ayuda se materializa normalmente mediante la adquisición de medios para mejorar la producción del cultivo, como semillas, fertilizantes y productos fitosanitarios. Así ocurre con la Unión de Mujeres Productoras de Ross-Béthio, en la región de Saint Louis, en donde Cáritas Española y Cáritas Senegal participan en un proyecto de cultivo de arroz en 140 ha irrigadas (Fig. 1). Pese a los esfuerzos realizados se

observa que en ocasiones los rendimientos obtenidos en esta zona con frecuencia son muy bajos, situándose muy por debajo de los 5,5-6 t/ha, que pueden alcanzarse con el cultivo en esta zona.

Un equipo investigadores de la Universitat Politècnica de València se trasladó a Senegal para estudiar las causas que pueden dar lugar a estos bajos rendimientos y proponer alternativas a las prácticas habituales que permitan mejorar el cultivo. Entre los principales problemas encontrados cabe destacar: la calidad y salinidad de los suelos, recursos de producción limitados, inadecuadas prácticas de cultivo, daños por plagas y competencia por malas hierbas.

El objetivo de este trabajo es realizar una evaluación preliminar de la problemática de las malas hierbas y su control en la zona arrocera de Ross-Béthio y proponer alternativas para su manejo que puedan proporcionar una mejora del cultivo de arroz a la Unión de Mujeres de Productoras de Ross-Béthio.

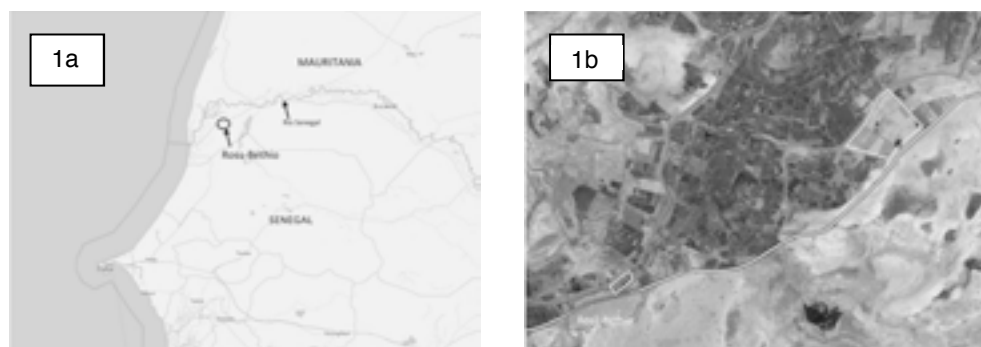


Figura 1. Zona de estudio. 1a) Ubicación de Ross-Béthio; 1b) Parcelas gestionadas por la Unión de Mujeres productoras de arroz (recuadros en blanco).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

En la campaña arrocera de la estación seca (febrero-junio) de 2016 se procedió a recopilar información sobre las prácticas de cultivo que realiza la Unión de Mujeres Productoras de Ross-Béthio en la región de Saint Louis. Para ello se confeccionó un cuestionario para la toma de datos, en el que se incluían cuestiones relativas a superficie cultivada, manejo del agua y todas las operaciones de cultivo, momentos de ejecución, horas de trabajo, etc. Este cuestionario lo pasaron a las beneficiarias del proyecto los colaboradores locales mediante entrevista personal. De esta manera se recogió información sobre labores preparatorias, fertilizantes y semilla utilizada, agua de riego, productos fitosanitarios empleados, producción, etc.

En junio de 2016, antes del inicio de la recolección del cultivo de arroz de la estación seca, se realizó el trabajo de campo. Para ello se visitaron parcelas de cultivo de las beneficiarias, registrando las principales especies de malas hierbas presentes que sobrevivieron a los métodos de control utilizados y se tomaron muestras de suelos de parcelas no cultivadas para su posterior análisis. Se mantuvieron entrevistas con las productoras para conocer de primera mano los métodos de control empleados. También se visitaron y se recogió información de distribuidores locales de productos fitosanitarios y de técnicos del Africa Rice Center que trabajan en la zona de Saint Louis.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Tipología de las parcelas, labores y cultivo. La zona de cultivo se encuentra sistemáticamente dividida en parcelas de planta rectangular de alrededor de 0,5 ha de superficie, que son abastecidas de agua a través de una red de canales con agua proveniente del río Senegal. De estos canales se bombea el agua a las parcelas de cultivo, no existiendo desagüe ni circulación de agua fuera de las parcelas. Se realiza cultivo en siembra directa sobre parcela inundada con arroz pregerminado, de manera similar a como se efectúa en muchas zonas arroceras de España. La variedad utilizada es la Sahel 108. Antes de sembrar, las labores preparatorias consisten en una labor profunda y una labor superficial y se intenta nivelar el suelo. Al entrar el agua se completa el nivelado mediante pase de tabla.

3.2. Métodos de lucha contra las malas hierbas empleados. La estrategia de lucha contra las malas hierbas se basa en el empleo de métodos químicos combinados con escarda manual. Los herbicidas habitualmente utilizados son 2,4-D, bensulfuron-metil y propanil. La realización de los tratamientos herbicidas se realiza con mochila de accionamiento manual y en ocasiones de forma muy precaria, diluyendo la dosis a aplicar por parcela en garrafas con agua y distribuyendo por la parcela el caldo así obtenido de forma manual sobre la lámina de agua.

3.3. Problemas de malas hierbas. En parcelas visitadas en dos zonas distintas de Ross-Béthio los problemas más importantes de malas hierbas al final del cultivo de estación seca correspondían a *Leptochloa* sp.¹, con unos niveles de infestación que en algunas parcelas llegaban al 100% de recubrimiento de la parcela. También abundantes, aunque con infestaciones menos severas eran arrozcos espontáneos (*Oryza* sp.²), *Bolboschoenus* sp., *Cyperus difformis* y *Echinochloa colona*. En los canales de riego el problema más importante era el ocasionado por *Thypha* sp. que casi llegaba a colapsar el curso de agua en algunos canales.

Leptochloa sp. ha sido de reciente introducción en la zona y en pocos años se ha expandido por toda esta zona arroceras de Senegal. Las plantas del género *Leptochloa* están bien adaptadas a condiciones de salinidad, por lo que en esta zona de suelos salinos se desarrollan sin dificultad. Al igual que ha ocurrido en otras zonas, como en Valencia (España), se han dado condiciones que han propiciado su rápida expansión. Destacar que ninguno de los herbicidas empleados (bensulfuron-metil, 2,4D y propanil, los dos últimos ya no autorizados en España) es efectivo para el control de *Leptochloa*. También es sabido que la maquinaria favorece la dispersión de las semillas de esta mala hierba. Al emplearse maquinaria comunitaria, es fácil que la semilla de parcelas infestadas sea trasladada con la maquinaria a otras parcelas, incluso a largas distancias. Otro fenómeno que se da en esta zona es la presencia de grandes rebaños de ganado vacuno perteneciente a pueblos nómadas, que se alimenta de los restos del cultivo y que recorre grandes distancias pastando. El trasiego del ganado entre parcelas puede facilitar la dispersión de la semilla, al quedar ésta adherida a las patas y pelo de los animales. Por último, el sistema de riego y la frecuencia de los

1 Aparentemente la mayoría de las plantas de *Leptochloa* correspondían a *Leptochloa fusca* spp. *uninervia*, pero dado los altos niveles de infestación y el hecho de que muchas estaban maduras y había caído el grano, no se descarta que pudiesen existir otros tipos.

2 Morfológicamente las plantas de arroz salvaje presentes correspondían a plantas de *Oryza sativa* fuera de tipo similares a muchas de las que aparecen en los arrozales españoles. No obstante técnicos del Africa Rice Center (comunicación personal) indicaban como problema *Oryza logistaminata*, hecho que no pudo ser confirmado.

mismos, no garantiza el que las parcelas mantengan una lámina permanente de agua, alternándose en los arrozales periodos de inundación con periodos con las parcelas sin agua, condiciones que favorecen especialmente al desarrollo de *Leptochloa* así como de otras malas hierbas.



Figura 2. Campos de arroz de Ross-Béthio (Senegal) con graves problemas de infestación por *Leptochloa* sp.

Puesto que el problema más importante en las parcelas es la *Leptochloa* (Fig. 2) y los métodos químicos empleados son inadecuados, se propusieron alternativas de control químico que incluían el tratamiento en presiembra con pendimetalina. Este herbicida está autorizado en el cultivo de arroz en Senegal y puede adquirirse en distribuidores de la zona, aunque no es conocido ni utilizado por los productores. Desde el punto de vista del control de las malas hierbas y a la vista de los resultados recibidos de los colaboradores locales, esta alternativa a resultado satisfactoria, mejorando el control de las malas hierbas. En lo referente a la mejora del cultivo, junto con el resto de medidas propuestas, todavía no pueden sacarse conclusiones con la información de esta primera estación de cultivo, máxime cuando hubieron importantes problemas de suministro de agua por avería en plena campaña de la estación de bombeo de agua.

A la vista del sistema de cultivo en la zona, de los importantes problemas de malas hierbas existentes y de la limitación de recursos, una alternativa que se planteó a las productoras fue la de cambiar el sistema de cultivo a un sistema de semillero y posterior trasplante de arroz. De esta manera se situaría al cultivo en condiciones ventajosas frente a las malas hierbas y se facilitaría la escarda manual o mecánica. Con el cambio de sistema de cultivo se haría más uso de mano de obra, lo que podría repercutir en la creación de trabajo, tan precario en esta parte de Africa. Sin embargo esta alternativa, quizás por la gran limitación de recursos y disponibilidad de mano de obra es descartada de momento por las productoras.

4. AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Cooperación para el Desarrollo de la Universitat Politècnica de Valencia que a través del programa de investigación ADSIDEO-Cooperación 2015 ha financiado el proyecto «Contribución a la sostenibilidad del cultivo del arroz en Saint Louis (Senegal)», en el que se enmarca este trabajo y a los colaboradores de Cáritas Saint Louis que han prestado su ayuda en el trabajo.

5. REFERENCIAS

- FAO (1997). *Irrigation potential in Africa: a basin approach*. Land and Water Development Division, Rome, Italy.
- Ness M (2016). Balance del sector del arroz en cinco países del Africa Occidental. *Dinámicas campesinas* nº42.
- Osca JM (2013). Expansion of *Leptochloa fusca* ssp. *uninervia* and *Leptochloa fusca* ssp. *fascicularis* in rice fields in Valencia, eastern Spain. *Weed Research*, 53, 479 - 488.

Weed problems in rice fields of Ross-Béthio (Senegal)

Summary:The basic diet of Senegal is based on rice, however this product is mostly imported (around 80%). For this reason one of the country's goals is to increase local rice production. An important rice area is located in the Saint Louis region, where paddy fields are watered from the Senegal river. However, the yields obtained by the local producers are often very low. One of the reasons is the weed competition. This paper presents the results of the preliminary evaluation of weed problems in the area. Weed management is based on chemical control and hand-weeding. *Leptochloa* sp., *Echinochloa* sp., wild rice and sedges are the main problems.

Keywords: rice, weeds, weed-control, herbicides, salinity.

The role of weeds in field margins in supporting wild pollinators in Mediterranean cereal agroecosystems

Jane Morrison^{1,2}, Jordi Izquierdo^{1✉}, María Eva Hernández-Plaza², José Luis González-Andújar²

¹Dept. d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Universitat Politècnica de Catalunya, 08860-Castelldefels

²Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), 14004-Córdoba

✉ jordi.izquierdo@upc.edu

Summary: Concerns about a global decline in pollinators have called for more knowledge about the drivers of wild pollinator abundance and diversity. In this study we observed pollinator foraging activity in 27 field margins, from 2014-2016, in order to investigate the role of native weeds in supporting wild pollinators in Mediterranean cereal agroecosystems. In total, 175 different plant species were identified and 1,959 wild pollinators were observed foraging on margin flora. The most visited floral species were *Papaver rhoeas* L. (251 pollinator visits), *Torilis arvensis* (Huds.) (229 visits) and *Malva sylvestris* L. (141 visits). Pollinator abundance increased with flower abundance, vegetation height and floral diversity. Pollinator visits increased initially with open flower richness, but began to decrease when high richness likely resulted in lower densities of individual species.

Keywords: biodiversity, field margin flora, habitat quality, pollinator declines.

1. INTRODUCTION

During the last century, a growing proportion of worldwide natural ecosystems have been transformed into agroecosystems. With these land use changes came increased monoculture and usage of pesticides and fertilizers, causing dramatic reductions in plant diversity (Andreasen et al., 1996) and changes in weed flora composition at the field scale (Romero et al., 2008). Reduced weed diversity and richness have been reported in Spain in the last decade, as well as throughout Europe (Chamorro et al., 2007).

Concerns have also been emerging about a global decline of wild pollinators. Not only is pollination essential for agricultural production, but also for the conservation of biodiversity as it ensures the reproduction of wild plants (Nielsen et al., 2011). With increasing proportions of agricultural land use, pollinators face numerous threats including: habitat loss, reduced food source diversity and abundance, fragmentation, pesticide use, introduced species and climate change (Hopwood, 2008; Marini et al., 2012). These concerns have sparked new interest in research aimed at protecting pollinator communities. Further knowledge is required about the drivers of wild pollinator diversity and abundance in agroecosystems.

Biodiversity conservation is a key factor in sustainable agricultural planning. Agricultural field margins present an excellent opportunity for an effective and minimally invasive way of supporting weed diversity and pollinators in agricultural zones. Margins and other semi-natural habitats in the landscape surrounding crops have been found to offer pollinators refuge by providing permanent, although often impoverished, floral and nesting resources (Kwaiser and Hendrix, 2008), and to support pollinator diversity and pollinator services in general (Marini et al., 2012). Studies have suggested that weed diversity is a good indicator of overall biodiversity because of their close relationship with other living organisms in the ecosystem (Gerowitt et al., 2003).

Rarely studies attempt to establish the beneficial relationship between weed diversity and pollination. Consequently, there is a need to know the role of native weeds in agroecosystems, and how they can support pollinators.

In this study we observed pollinator foraging activity in agricultural field margins with naturally diverse flora, not treated with herbicides nor sown with supplementary flowers, in order to investigate the role of native weeds in supporting wild pollinators in Mediterranean cereal agroecosystems. The objectives were to 1) determine which native floral species were most attractive to which pollinators, and 2) observe trends in the abundance of pollinator visits with overall margin floral characteristics.

2. MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out during three years, from 2014 to 2016, at 27 cereal field margins in Catalonia, Spain (Fig. 1). The climate throughout Catalonia is predominantly Mediterranean with moderate temperatures (Bassa et al., 2012). The mean monthly temperature in Catalonia from 2014 to 2016 was 18°C and mean yearly rainfall was 671 mm (World Weather Online).



Figure 1. Location of the 27 sample margins (black dots) in Catalonia, Spain.

We elected only field margins greater than 1 m wide, separating two crops, or a crop from a low traffic country road. For consistency, adjacent fields were restricted to cereal crops or fallow land. Each year, different margins were sampled and the minimum distance between margins was maintained at 2 km in order to ensure that the bee community sampled at each site was unique, taking into account that the typical foraging range of most native bee species collected in pan traps is less than 1 km (Greenleaf et al., 2007; Ricketts et al., 2008).

Each year, the study comprised four days of sampling per margin, dispersed evenly throughout the highest period of pollinator activity, May through July. Sampling consisted of observations of foraging activity and plant inventory. Each round of sampling occurred within the same week for

all margins. Sampling only took place in ideal weather conditions: temperatures of at least 13°C in 60% clear sky or 17°C in any sky, low wind velocity and no rain (Pywell et al., 2005).

Observations of pollinator foraging activity took place between 10h and 17h. The order and time of day that each margin was observed varied systematically. In each margin, five observation plots of 2x5 m were set approximately 10 m apart. During a five minute period for each observation plot (25 minutes/margin), each insect making contact with the sexual organs of a flower was recorded, as well as the species of the flower.

Before observations began, in 1x1 m quadrats within each observation plot, all living plant species were recorded and the coverage of each species was estimated visually as a percentage. Tree or shrub species were recorded if the canopy was present vertically over the quadrat. On each day of observations in each quadrat, flower abundance (the number of open floral units) was counted, the mean height of vegetation was measured and the plant species inventory was updated if necessary. One floral unit was defined as a single flower or collection of flowers that an average-sized insect could traverse by walking, without needing to fly (Grass et al., 2016). Plants were identified according to Flora Europaea (Tutin, 1964-1993).

At the end of the sampling season, mean vegetation height and total flower abundance were established for each margin. Total floral diversity was calculated with the Shannon index using the coverages all plant species present in each margin, omitting species belonging to the family Gramineae (Pielou, 1975). Total open flower richness was calculated as the total number of species with open flowers in the quadrats of each margin during sampling days. The data from all margins were compiled in order to determine which plant species were most attractive to which type of pollinator. Box plots were derived using R version 3.2.2 (R Development Core Team, 2015) in order to observe trends in the abundance of observed pollinators with total flower abundance, mean vegetation height, total floral diversity and total open flower richness.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The mean height of vegetation ranged from 45.0 to 99.3 cm (mean=63.3 cm) and total flower abundance ranged from 2 to 1305 floral units/m² (mean=330 floral units/m²). Floral diversity ranged from 0.27 to 2.57 nats (mean = 1.63 nats) and open flower richness ranged from 1 to 18 (mean = 6). In all three years, a total of 175 different plant species were identified, from 50 different families. Of the species identified, 149 were flowering (non-Gramineae) species. The flowering species found most frequently were: *Papaver rhoeas* L. (found in 59% of the margins), *Galium aparine* L. (52%), *Fumaria officinalis* L. (48%), *Convolvulus arvensis* L. (44%) and *Lactuca serriola* L. (41%).

A total of 1959 wild pollinators were observed foraging on margin flora. The most visited floral species were *P. rhoeas* (251 unique pollinator visits), *Torilis arvensis* (Huds.) (229 visits), *Malva sylvestris* L. (141 visits), *Quercus ilex* L. (110 visits) and *Euphorbia serrata* L. (108 visits) (Fig. 2). The most visited species for bees were *M. sylvestris* (70 visits), *Ligustrum vulgare* L. (56 visits), *Vicia villosa* (Roth.) (54 visits), *Rubus* sp. L. (38 visits), *P. rhoeas* (30 visits) and *T. arvensis* (30 visits). The most visited species for beetles and true bugs were *P. rhoeas* (201 visits), *Q. ilex* (109 visits), *T. arvensis* (73 visits), *M. sylvestris* (55 visits) and *Erucastrum nasturtiifolium* (Poirlet) (51 visits). The most visited species for hoverflies were *T. arvensis* (45 visits), *Diplotaxis eruroides* L. (28 visits), *E. nasturtiifolium* (21 visits), *P. rhoeas* (16 visits) and *Anacyclus clavatus* (Desf.) (9 visits).

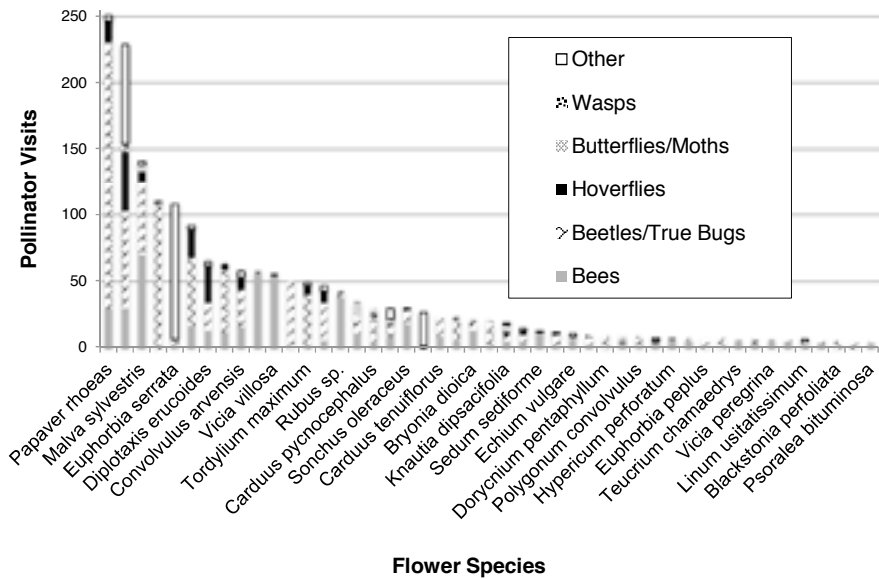


Figure 2. Total number of foraging pollinator visits per flower species (for species with more than five visits).

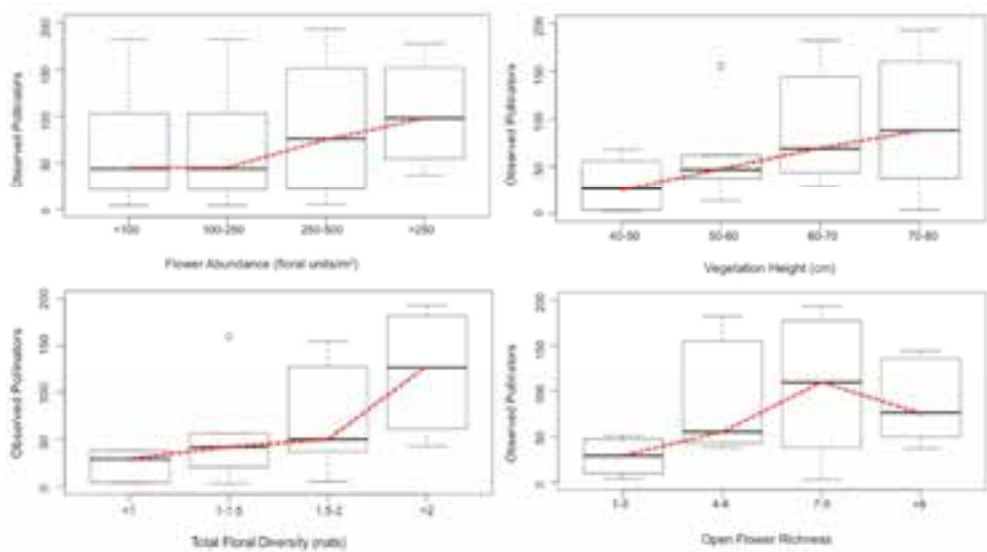


Figure 3. Box plots of number of total observed pollinators vs. total flower abundance, mean vegetation height, total floral diversity and total open flower richness.

According to the box plot analysis, the total number of observed pollinators appears to be increasing with increasing total flower abundance, mean vegetation height and total floral diversity (Fig. 3) although these differences were not found to be statistically significant. The total

number of observed pollinators increased initially with total open flower richness, then decreased for >9 open flower species.

Numerous other studies using visual observations and netting also reported positive influences of floral resources and vegetation height on pollinator abundance (Nicholls and Altieri, 2013; Rosa García and Miñarro, 2014). It is unsurprising that observed pollinator visits increased with floral richness as different pollinator species favour different plant species. Furthermore, as floral richness increases, so does variety in bloom periods and thus the overall temporal availability of pollen and nectar resources in the margin. The decrease in observed pollinator abundance as open flower richness increased past nine may be due to the fact that as richness increased, density of each individual species decreased.

Future analysis will examine functional relationships between the floral traits present in the margin (e.g., organ sizes, shape, colour, nectar availability, etc.) and the morpho-physiological features of wild bees to function as pollinators (e.g., body characteristics, behaviours, etc.) in order to attempt to understand the complex interdependences. A separate analysis will model relationships between biotic and abiotic margin characteristics, surrounding landscape structure and wild bee populations using generalized linear models. Using a variety of approaches, we aim to determine which factors have a statistically significant impact on wild pollinator abundance and diversity and how we may use this information to conserve pollinator biodiversity in agroecosystems.

This research is especially relevant under the reformed Common Agricultural Policy (CAP) to be implemented in Europe from 2014 to 2020 which aims to preserve the natural resources that agricultural productivity depends upon (European Commission, 2013). Hopefully this work will help lead the way for the development of appropriate management strategies for efficient and environmentally sustainable farming, shifting agricultural paradigms to create more robust agroecosystems.

4. ACKNOWLEDGMENTS

We greatly thank the farmers for their cooperation and allowing us access to their lands. We would also like to thank Javier Sagarra, Omaro Llopart Cogswell, Pere Noguera and Sheila Alcalá for assistance with field sampling. This work was supported by FEDER (European Regional Development Funds) and the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness grants (projects number AGL2012-33736 and AGL2015-64130-R). The Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) provided J.M. with a doctoral scholarship.

5. REFERENCES

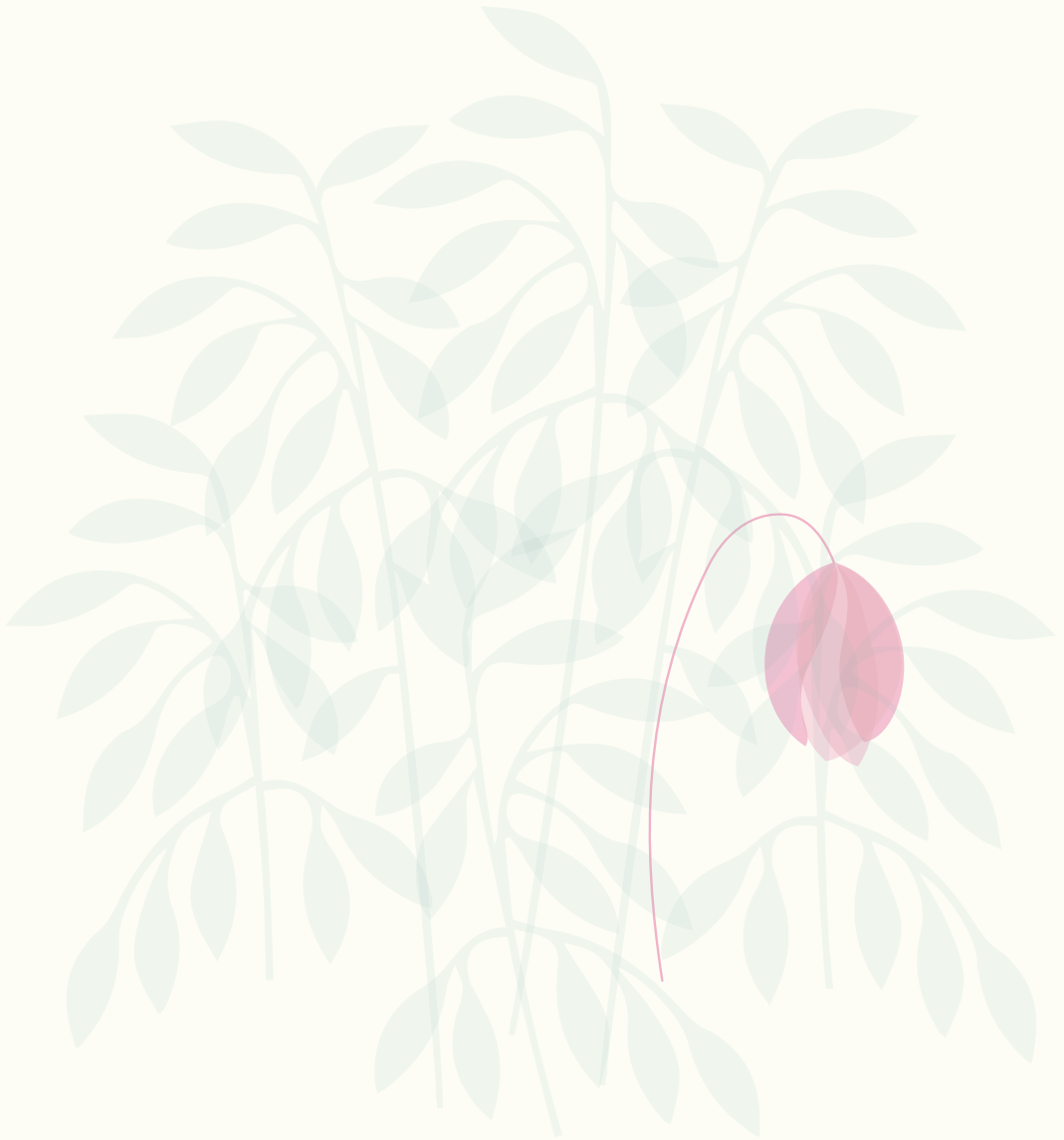
- Andreasen C, Stryhn H and Streibig JC (1996). Decline of flora in Danish arable fields. *Journal of Applied Ecology*, 33, 619-626.
- Bassa M, Chamorro L, José-María L, Blanco-Moreno JM and Sans FX (2012). Factors affecting plant species richness in field boundaries in the Mediterranean region. *Biodiversity and Conservation*, 21, 1101-1114.
- Chamorro L, Romero A, Masalles RM and Sans FX (2007). Cambios en la diversidad de las comunidades arvenses en los cereales de secano en Cataluña. *Proceedings of the XI Congreso de la SEMh*. Mansilla J et al. eds., pp. 51-56. Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete.
- European Commission (2013). Overview of the CAP Reform 2014-2020. Retrieved September 17, 2014 from: <http://ec.europa.eu/agriculture/cap-post-2013>.

- Gerowitt B, Bertke E, Hespelt SK and Tute C (2003). Towards multifunctional agriculture – weeds as ecological goods? *Weed Research*, 43, 227-235.
- Grass I, Albrecht J, Jauker F, Diekötter T, Warzecha D, Wolters V and Farwig N (2016). Much more than bees. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 225, 45-53.
- Greenleaf SS, Williams NM, Winfree R and Kremen C (2007). Bee foraging ranges and their relationship to body size. *Oecologia*, 153, 589-596.
- Hopwood JL (2008). The contribution of roadside grassland restorations to native bee conservation. *Biological Conservation*, 141, 2632-2640.
- Kwaiser KS & Hendrix SD (2008). Diversity and abundance of bees in native and ruderal grasslands of agriculturally dominated landscapes. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 124, 200-204.
- Marini L, Quaranta M, Fontana P, Biesmeijer JC and Bommarco R (2012). Landscape context and elevation affect pollinator communities in intensive apple orchards. *Basic Applied Ecology*, 13, 681-689.
- Nicholls C & Altieri M (2013). Plant biodiversity enhances bees and other insect pollinators in agroecosystems - A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 33, 257-274.
- Nielsen A, Steffan-Dewenter I, Westphal C, Messinger O, Potts SG, Roberts SP, and Petanidou T (2011). Assessing bee species richness in two Mediterranean communities: importance of habitat type and sampling techniques. *Ecological Research*, 26, 969-983.
- Pielou, E.C. (1975). Ecological diversity. Wiley Interscience, New York.
- Pywell RF, Warman EA, Carvell C, Sparks TH, Dicks LV, Bennett D, Wright A, Critchley CNR and Sherwood A (2005). Providing foraging resources for bumblebees in intensively farmed landscapes. *Biological Conservation*, 121, 479-494.
- R Development Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing (R Foundation for Statistical Computing, Vienna).
- Ricketts TH, Regetz J, Steffan-Dewenter I, Cunningham SA, Kremen C, Bogdanski A, Gemmill-Herren B, Greenleaf SS, Klein AM, Mayfield MM, Morandin LA, Ochieng' A and Viana BF (2008). Landscape effects on crop pollination services: Are there general patterns? *Ecological Letters*, 11, 499-515.
- Romero A, Chamorro L and Sans FX (2008). Weed diversity in crop edges and inner fields of organic and conventional dryland winter cereal crops in NE Spain. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 124, 97-104.
- Rosa García R & Miñarro M (2014). Role of floral resources in the conservation of pollinator communities in cider-apple orchards. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 183, 118-126.
- Tutin T (Ed.) (1964-1993). *Flora Europaea*. Cambridge University Press, United Kingdom.
- World Weather Online. Retrieved March 20, 2017 from: www.worldweatheronline.com.

Sesión 2

MANEJO INTEGRADO

O2.1.	Efecto del laboreo mínimo (chisel), la fertilización y los abonos verdes sobre la flora arvense y los rendimientos en una rotación de cultivos de cereales y leguminosas ecológicos	125
O2.2.	La secuencia de cultivos y la intensificación del uso de la tierra como herramientas para el manejo integrado de malezas	131
O2.3.	Rotaciones de cultivos herbáceos en agricultura de conservación y convencional en ambientes semiáridos y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal, 33 años de experimentación	137
O2.4.	El laboreo de verano para la gestión de malas hierbas en cereales de invierno	143
O2.5.	El uso de cubiertas vegetales y sus labores de implantación en el manejo de <i>Cynodon dactylon</i> en viñedo	147
O2.6.	Influencia del grado de translucidez de diferentes acolchados en el control de <i>Cyperus rotundus</i> L.	153
P2.1.	Evaluación de los efectos del sistema combinado de pastos-cultivo sobre las malas hierbas	159
P2.2.	Rotaciones de cultivos herbáceos en agricultura ecológica de ambientes semiáridos y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal, 24 años de experimentación	165
P2.3.	Interacción de densidades de siembra y rotaciones de cultivos en agricultura convencional y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal, 24 años de experimentación	171
P2.4.	Emergencia de teosinte en cultivos diferentes a maíz	177
P2.5.	Estabilidad espacio-temporal de la flora arvense en cereal	183
P2.6.	La integración de métodos culturales y químicos en el manejo de <i>Bromus diandrus</i> en cereales en siembra directa	189
P2.7.	Evaluación de métodos de control químicos, mecánicos y culturales para el control del bromo (<i>Bromus</i> spp.) y otras malas hierbas en cebada	195
P2.8.	Influencia de los sistemas de producción de cereales sobre las poblaciones de <i>Lolium rigidum</i> y <i>Papaver rhoeas</i>	201
P2.9.	Efecto de la Agricultura de Conservación y la fertilización nitrogenada en la población de plantas adventicias en una parcela de trigo en regadío	207
P2.10.	Adaptación de la flora arvense a diferentes sistemas de gestión del suelo en un viñedo de la Comunidad de Madrid	213
P2.11.	Evaluación del efecto de la fertilización sobre la presencia de malas hierbas en una parcela de viña en Navarra	219
P2.12.	Ensayo con productos orgánicos para el control de especies arvenses en agricultura ecológica	225
P2.13.	Control de malas hierbas en maíz. Opciones de manejo con herbicidas convencionales y glifosato	231
P2.14.	Evaluación del efecto de un incendio sobre la emergencia de malas hierbas en una parcela de cereal de invierno en Navarra	237



Efecto del laboreo mínimo (chisel), la fertilización y los abonos verdes sobre la flora arvense y los rendimientos en una rotación de cultivos de cereales y leguminosas ecológicos

Lourdes Chamorro^{1✉}, Paola Baldivieso¹, José Manuel Blanco-Moreno¹,
Laura Armengot^{1,2}, F. Xavier Sans¹

¹Universidad de Barcelona-IRBio, Av.Diagonal 643, 08028-Barcelona

²Research Institute of Organic Agriculture (FiBL), 5070 Frick, Switzerland

✉ lchamorro@ub.edu

Resumen: Entre 2011 y 2016 se realizó un experimento para evaluar el efecto del laboreo mínimo (chisel) respecto a arado de vertedera, de la fertilización con estiércol y de la siembra de abonos verdes antes de los cultivos de primavera, sobre los rendimientos del cultivo y la abundancia de las malas hierbas, en una rotación de 5 años (espelta, garbanzo, trigo, lenteja y espelta). El laboreo mínimo provocó un aumento significativo de las arvenses pero sin conllevar pérdidas significativas en los rendimientos de los cereales respecto a los rendimientos con el arado de vertedera. El abono verde ejerció un fuerte control sobre las malas hierbas, aunque este efecto no persistió durante el cultivo de la leguminosa inmediatamente posterior.

Palabras clave: gestión ecológica, flora arvense, laboreo de conservación, extensivos de secano, cultivos de cobertura.

1. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se han desarrollado diversas técnicas y prácticas agrícolas para la mejora y la conservación de la calidad del suelo. La agricultura ecológica muestra ventajas en cuanto a la calidad y fertilidad del suelo y la conservación de su biodiversidad. Las técnicas de agricultura de conservación (siembra directa, laboreo mínimo, abonos verdes) conllevan diversos beneficios medioambientales como conservar la fertilidad del suelo y prevenir la erosión (FAO, 2013). Un inconveniente del uso de la siembra directa y del laboreo mínimo puede ser el aumento de la abundancia de malas hierbas y al mismo tiempo un cambio en la composición de la comunidad de arvenses, a veces en beneficio de aquellas especies más difíciles de controlar (Gruber & Claupein, 2009; Peigné et al., 2007).

El laboreo del suelo sin inversión, como es el caso del chisel, puede concentrar las semillas de malas hierbas en la capa superior del suelo, incrementando la emergencia de las plántulas y, en consecuencia, aumentando la infestación de malezas (Gruber and Claupein, 2009). La infestación de malezas es una de las principales preocupaciones de los agricultores frente a la implementación de la labranza reducida, lo que requiere una gestión adecuada de las arvenses para una producción exitosa. El control mecánico con la grada de púas flexibles es un método de post-emergencia que resulta eficaz (Armengot et al., 2012), aunque debe ser realizado apropiada y oportunamente en relación con la fase de crecimiento de las hierbas y los cultivos (Pardo et al., 2008).

En 2011 se estableció un experimento a largo plazo en el marco de los sistemas de producción de cultivos herbáceos extensivos ecológicos, para testar la implementación de técnicas sostenibles como el laboreo mínimo (sin inversión de las capas del suelo) y la fertilización con estiércol

compostado combinada con el empleo de abonos verdes, con el objetivo de hacer compatibles los parámetros de productividad de los cultivos con el mantenimiento y la mejora de la calidad del suelo. Hasta el momento, esta experiencia piloto consta de una rotación de 5 años con cereales: espelta (*Triticum spelta*) y trigo (*Triticum aestivum*) y leguminosas: garbanzo (*Cicer arietinum*) y lenteja (*Lens culinaris*).

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto del laboreo mínimo (chisel) respecto al arado de vertedera, el efecto de la fertilización con estiércol compostado respecto a la falta de fertilización, y de la presencia o ausencia de abonos verdes antes de los cultivos de primavera, sobre los rendimientos y la abundancia de las malas hierbas de los diferentes cultivos.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio. El experimento se estableció en 2011 en el Espacio Rural de Interés Natural de Gallecs (Mollet del Vallès, a unos 25 km de Barcelona), en una finca comercial donde se había cultivado cebada convencional hasta el año 2006 y posteriormente diferentes cultivos extensivos ecológicos (2006-2010). El diseño de la rotación fue: espelta-garbanzo-trigo var. Montcada-lenteja-espelta-alfalfa (4 años).

El Espacio Rural de Interés Natural de Gallecs es un territorio de 747 hectáreas, eminentemente agrario con la excepción de pequeñas áreas de bosque, áreas recreativas y edificaciones rurales. La mayor parte del suelo agrícola está cultivado con cultivos extensivos de cereales (aproximadamente 71%), algunos gestionados de forma convencional (343 ha) y otros de manera ecológica (202 ha) siguiendo la normativa europea sobre agricultura ecológica. Actualmente el área rural de Gallecs es la zona de Cataluña donde hay una mayor concentración de cultivos extensivos en agricultura ecológica.

2.2. Diseño experimental. Se han evaluado 3 factores: el tipo de laboreo, laboreo mínimo (con chisel) versus inversión de capas (con arado de vertedera), la presencia o ausencia de fertilización con estiércol compostado y la presencia o ausencia de abonos verdes. Los abonos verdes solo se establecieron durante el otoño-invierno antes de los cultivos de primavera de leguminosas (garbanzo o lenteja) y consistieron en una mezcla de avena (*Avena sativa*), mostaza blanca (*Sinapis alba*), veza (*Vicia sativa*) y yero (*Vicia ervilia*). Estos tres factores dan lugar a 8 combinaciones experimentales, de las que se establecieron 4 réplicas, y hacen un total de 32 parcelas. Estas parcelas fueron distribuidas para poder facilitar las tareas de la maquinaria. La medida de las parcelas es de 12 m × 13 m (Fig. 1).

2.3. Establecimiento del cultivo y riqueza y abundancia de arvenses. En la fase de establecimiento del cultivo se evaluó la riqueza y abundancia de malas hierbas en el área interior (de 9 m × 8 m) dentro de cada parcela, donde se distribuyeron al azar 12 submuestras de 25 cm × 30 cm en las que se contabilizaron todos los individuos de cada especie arvense y del cultivo.

2.4. Rendimiento de cultivo y abundancia de arvenses en cosecha. Para la evaluación de los rendimientos de los cultivos y de la infestación de las malas hierbas en cada parcela, se tomaron 4 submuestras de 1 m × 1 m donde se recolectó toda la biomasa aérea del cultivo y de las especies arvenses, y se estimó visualmente la cobertura en el momento previo a la cosecha. Además, la cosecha de grano de cada cultivo se evaluó en cada una de las 32 parcelas con una microcosechadora.

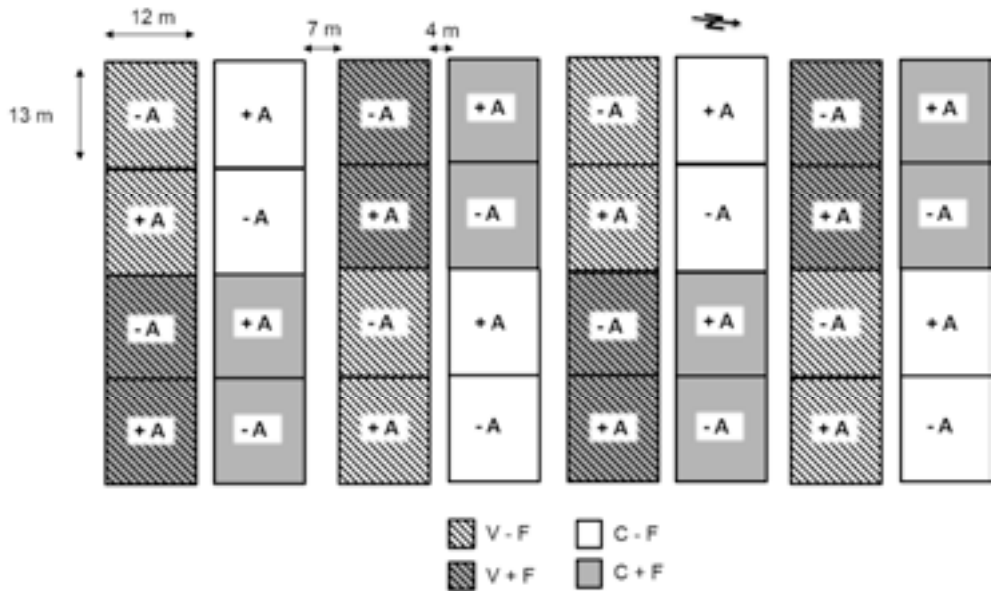


Figura 1. Diseño experimental con cuatro réplicas y tres factores: laboreo vertedera (V) vs. chisel (C), fertilización con estiércol compostado (+F) vs. no fertilización (-F) y empleo de abono verde previo al cultivo de primavera (+A) vs. ausencia de abono verde (-A).

2.5. Análisis estadístico. Los efectos del tipo de laboreo (vertedera vs. chisel), de la fertilización (presencia vs. ausencia) y de los abonos verdes (presencia vs. ausencia) y de sus interacciones sobre el establecimiento y los rendimientos de los diferentes cultivos, y sobre la riqueza, densidad, cobertura y biomasa aérea de las arvenses en los mismos fueron evaluados mediante modelos lineales mixtos. Para el cultivo de espelta del primer año no se analizó el factor de abono verde ya que éste se implementó en el otoño siguiente. El laboreo, la fertilización y el abono verde se evaluaron como factores de efectos fijos y el bloque se introdujo como un factor de efecto aleatorio. La normalidad de los datos se verificó mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad se evaluó mediante la prueba de Barlett. Para satisfacer los requisitos de normalidad y homocedasticidad, se utilizó la transformación logarítmica o raíz cuadrada en los datos cuando fue necesario. Todos los análisis se realizaron con la versión 3.2.2 de R (R Development Core Team, 2015) con el paquete lme4 (Bates et al., 2011) para el ajuste de modelos lineales de efectos mixtos.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Establecimiento del cultivo y rendimientos. Los rendimientos promedio entre todos los tratamientos en los cereales fueron de 3200 kg/ha en el trigo var. *Montcada* (2014), y de 2330 y 2145 kg/ha en la espelta en los años 2012 y 2016, respectivamente. En el cultivo de garbanzos (2013) se obtuvo un rendimiento promedio de 385 kg/ha y en el de lentejas no hubo cosecha debido a la fuerte sequía en la primavera-verano del año 2015. Tras practicar el laboreo mínimo con chisel durante 5 años de rotación, los rendimientos no fueron significativamente diferentes respecto a los rendimientos tras utilizar el arado de vertedera

durante dicho periodo. En cambio, la fertilización con estiércol orgánico compostado sí hizo variar los rendimientos, pero de manera diferente según el cultivo. Solo en los cultivos de espelta de 2012 y trigo se observó un aumento significativo de los rendimientos con la fertilización, mientras que este efecto no se observó en el rendimiento de la espelta de 2016, del garbanzo y en la biomasa de lenteja. El hecho de que no aumentaran los rendimientos en las leguminosas podría estar relacionado con la alta infestación de arvenses, debido probablemente a un control deficiente de las hierbas (Fig. 2).

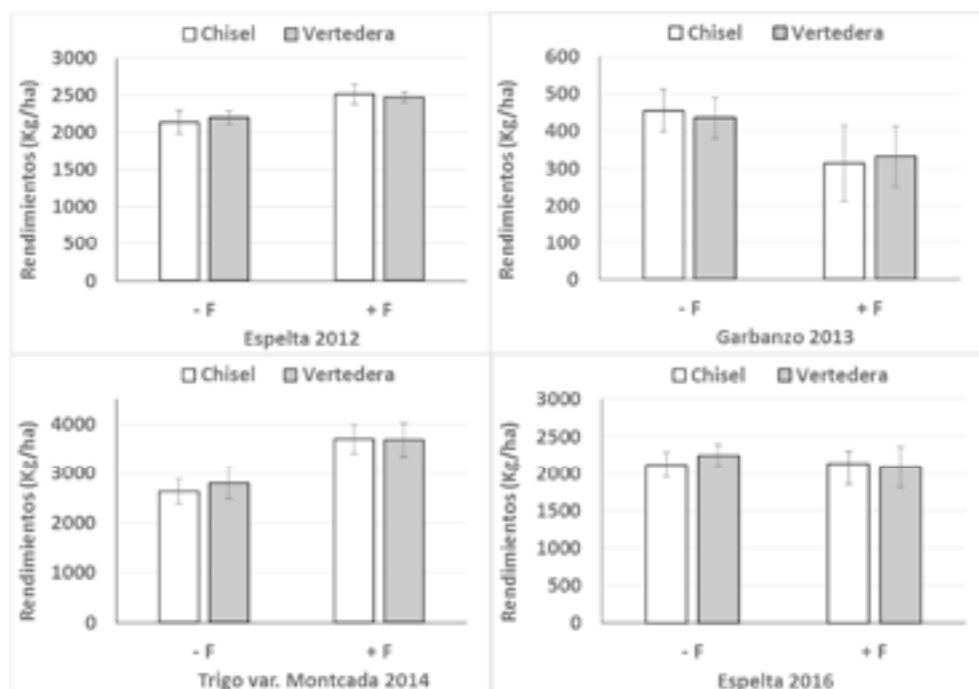


Figura 2. Rendimientos de cosecha de espelta (2012 y 2016), garbanzo (2013) y trigo var. Montcada (2014) en las parcelas labradas con arado de vertedera y con chisel; fertilización con estiércol compostado (+F) y sin fertilización (-F).

3.2. Abundancia (biomasa y cobertura) de la vegetación arvense. En el Espacio rural de Gallecs el control de las hierbas en los cultivos de cereales ecológicos se lleva a cabo generalmente con la grada de púas flexibles entre enero y febrero, en un momento favorable cuando las condiciones climáticas lo permiten. En el cultivo de garbanzo se pasó el cultivador entre las líneas de cultivo, las cuales estaban sembradas a una distancia de 75 cm para facilitar el desherbado con esta maquinaria. En cambio las lentejas se sembraron a una distancia de 12 cm, para intentar evitar la competencia de las hierbas, aunque la falta de lluvias provocó escaso desarrollo del cultivo y una fuerte competencia de las arvenses, principalmente de desarrollo estival como *Chenopodium album*. Las especies más frecuentes y abundantes en espelta y trigo fueron: *Polygonum convolvulus*, *Convolvulus arvensis*, *Polygonum aviculare* y *C. album*, mientras que en garbanzo y lenteja fueron *Diploaxis erucoides*, *Setaria viridis*, *C. album* y *P. convolvulus*. Después

de los 5 años de experiencia no se ha observado un aumento significativo ni en la abundancia ni en la riqueza de las malas hierbas. Al contrario, el cultivo de espelta del quinto año (2016) es el que ejerció un mejor control de las arvenses, las cuales presentaron una biomasa aérea muy baja, incluso en comparación con el cultivo de espelta en 2012 (Fig. 3).

La fertilización de los cultivos de cereales redujo significativamente la abundancia de arvenses por competencia del cultivo, mientras que en el de garbanzo no se vio ningún efecto y en el de lenteja se aumentó su biomasa. En las parcelas donde se había sembrado abono verde, previamente al cultivo de leguminosa, se observó un control de este cultivo de cubierta sobre las malas hierbas, aunque este efecto no se trasladó al periodo del cultivo de leguminosa.

En las parcelas labradas con chisel se detectó un aumento significativo de la abundancia de las malas hierbas solo en el tercer y cuarto año (cultivos de trigo y lenteja), aunque este aumento no conllevó cambios en los rendimientos de los cereales e hizo que se mantuvieran valores similares a los obtenidos en las parcelas labradas con el arado de vertedera (Tabla 1). En general, se observa que a pesar del aumento de la abundancia de arvenses los rendimientos no se reducen y se mantienen estables a lo largo de los cinco años de rotación, aunque haya cierta variabilidad entre los tratamientos.

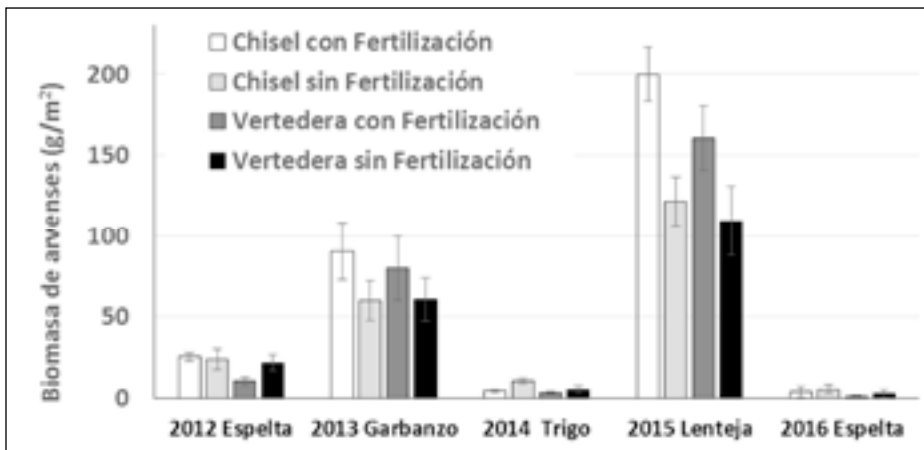


Figura 3. Abundancia de arvenses durante los cultivos de espelta (2012 y 2016), garbanzo (2013) y trigo var. Montcada (2014), y lenteja (2015) en las parcelas con arado de vertedera y con chisel; y con fertilización o sin ella. Las barras de error indican el error estándar de la media.

Tabla 1. Efecto de la fertilización (+F) y del arado de vertedera (P) respecto al chisel (C) en el rendimiento (kg/ha) y la biomasa aérea de malas hierbas (MH, en g/m²) en 5 años de rotación (> aumenta y < disminuye significativamente, = no hay efecto significativo). * Interacción significativa. El rendimiento de lenteja se estimó a partir de la biomasa aérea (g/m²)

	Espelta 2012		Garbanzo 2013		Trigo 2014		Lenteja 2015		Espelta 2016	
	+F/-F	P/C	+F/-F	P/C	+F/-F	P/C	+F/-F	P/C	+F/-F	P/C
Rendimiento	>	=	=	=	>	=	=	>	=	=
Biomasa MH	<	=*	=	=	<	<	>	<	=	=

Este experimento a largo plazo permite hacer una valoración de los beneficios e inconvenientes de las prácticas de conservación a lo largo del tiempo. El efecto de las prácticas de conservación puede variar entre los cultivos (disponibilidad de nutrientes, poblaciones de malas hierbas, capacidad competitiva del cultivo), particularmente entre cultivos de invierno y de primavera. Además, los cambios en el suelo (materia orgánica, biomasa microbiana, etc.) son lentos y el rendimiento de los cultivos varía de un año a otro debido fundamentalmente a las diferentes condiciones meteorológicas. La incorporación de nuevas prácticas por parte de los agricultores resulta más fácil si éstos pueden acceder a una información científicamente validada y que se ajuste a las condiciones climáticas de su territorio.

4. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la participación de todo el personal del grupo de investigación y de los diferentes colaboradores en el campo y el laboratorio y particularmente el apoyo técnico de Alejandro Pérez-Ferrer y la experiencia en maquinaria de Salvi Safont. Permitieron financiar este trabajo: el Ministerio de Economía y Competitividad de España a través del INIA, la CORE Organic Plus FP7 ERA-Net y la Comisión Europea a través de los proyectos TILMAN-ORG y FERTIL-CROP, y el Departament d'Agricultura de la Generalitat de Catalunya (proyectos 2011 AGECE 001, 2012 AGECE 00027, 53 05007 2015), y una beca del Ministerio de Educación, Cultura y Deportes de España concedida a Paola Baldivieso.

5. REFERENCIAS

- Armengot L, José-María L, Chamorro L and Sans FX (2012). Weed harrowing in organically grown cereal crops avoids yield losses without reducing weed diversity. *Agronomy for Sustainable Development*. 33, 405-411.
- Bates D, Maechler M and Bolker B (2011). lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and Eigen. *Journal of Statistical Software*. 65, 1-67.
- FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations (2015). What is conservation agriculture? [WWW Document]. URL <http://www.fao.org/ag/ca/1a.html>.
- Gruber S & Claupein W (2009). Effect of tillage intensity on weed infestation in organic farming. *Soil & Tillage Research*. 105, 104-111.
- Pardo G, Cirujeda A, Aibar J, Cavero J and Zaragoza C (2008). Weed harrowing in winter cereal under semi-arid conditions. *Spanish Journal of Agriculture. Res.* 6, 661-670.
- Peigné J, Ball BC, Roger-Estrade J and David C (2007). Is conservation tillage suitable for organic farming? A review. *Soil Use Management*. 23, 129-144.
- R Development Core Team (2015). R: A Language and Environment for Statistical Computing.

Effects of reduced tillage, fertilization and green manures on the weeds and crop yields in a cereal-legume crop rotation under organic farming

Summary: On 2011, we established a long-term experiment to evaluate the effects of reduced tillage (chisel vs mouldboard plough), fertilization with semicomposted manure and sowing of green manures before spring crops, on crop yields and weed abundance in a 5-year rotation (spelt, chickpea, wheat, lentil and spelt). After five years, there was not noticeable increment in weed abundance or richness. Reduced tillage caused a significant increase of weeds compared with mouldboard plough, but this increase did not cause significant yield loss in cereal crops. Green manures exerted a strong weed suppression, although this effect did not persist on the subsequent (legume) crop.


Keywords: organic management, arable weeds, conservation tillage, cover crops, dry cereal crops.

La secuencia de cultivos y la intensificación del uso de la tierra como herramientas para el manejo integrado de malezas

Betina Kruk¹, Elias Ruiz¹, Ignacio Alzueta²

¹Cátedra de Cerealicultura, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Av. San Martín 4453 (1417)-Buenos Aires, Argentina

²Chacra Bragado-Chivilcoy, AAPRESID, Argentina.

 bkruk@agro.uba.ar

Resumen: Se evaluó el efecto de distintas secuencias de cultivos sobre la composición florística de la comunidad de malezas y la abundancia de cada especie presente en el banco de semillas del suelo luego de la cosecha del cultivo de verano. Se extrajeron muestras de suelo superficiales de franjas continuas y paralelas sembradas con trigo/soja^{2da}, soja, maíz tardío, arveja/soja^{2da} y vicia-centeno/maíz en tres establecimientos ubicados en Buenos Aires, Argentina. El número de especies y la densidad de plántulas emergidas varió según la secuencia del cultivo, la tecnología de producción y el establecimiento. La secuencia trigo/soja^{2da} presentó el menor número de especies emergidas mientras que la secuencia vicia-centeno/maíz presentó la menor densidad. Al intensificar el uso de la tierra se logró un efecto supresor de las malezas.

Palabras clave: banco de semillas de malezas, composición florística de la comunidad de malezas, cultivos de cobertura, densidad de malezas, maíz, soja, tecnologías de producción.

1. INTRODUCCIÓN

El abordaje de la problemática de malezas resistentes y tolerantes a herbicidas requiere de la combinación de diversas medidas de manejo. La rotación de cultivos genera inestabilidad en los patrones de disturbios y en la oferta de recursos, lo que limita la disponibilidad de sitios seguros para el establecimiento de malezas (Kruk, 2015). La secuencia de cultivos, su intensidad (número de cultivos en el año) y las prácticas de manejo asociadas, i.e. fecha de siembra, arreglo espacial, fertilizantes, herbicidas, etc., actúan como restricciones ambientales capaces de filtrar atributos vegetativos, reproductivos o funcionales de las comunidades de malezas (Booth and Swanton, 2002). Dado que cada cultivo genera un ambiente particular durante su ciclo, podría impactar de manera diferencial sobre la emergencia, supervivencia, competencia y capacidad reproductiva de las especies maleza que componen la comunidad.

La mayoría de las especies malezas de la región agrícola pampeana argentina son especies terófitas o anuales (Mas et al., 2010) cuya perpetuación depende de la producción de semillas. Buhler et al. (2001) sostienen que el banco de semilla se constituye a partir de diferentes fuentes de semillas, pero la mayor contribución lo hacen las plantas que producen semillas dentro del mismo lote, y depende de los cultivos presentes y del manejo agronómico.

En los sistemas intensificados de cultivos se maximiza la captura de recursos disponibles en base anual y en consecuencia, se espera que la productividad de las malezas disminuya, principalmente, el número de propágulos. Existirían diferentes combinaciones de cultivos en la rotación y manejos que atenúen o incrementen la tasa de cambio según los componentes tecnológicos predominantes en el sistema.

El objetivo del trabajo fue estudiar el efecto de distintas secuencias de cultivos: a) trigo/soja^{2da}, b) soja, c) maíz tardío, d) arveja/soja^{2da} y e) vicia-centeno/maíz sobre la composición florística de la comunidad de malezas y la abundancia de cada especie presente en el banco de semillas del suelo luego de la cosecha del cultivo de verano.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio. Se evaluó la composición florística de la comunidad de malezas presentes en el banco de semillas del suelo de tres establecimientos del Sistema Chacra AAPRESID Bragado-Chivilcoy, en Buenos Aires, Argentina: Los Manuelitos (S-34°52'59,37''/ W-60°26'06,92''), El Progreso (S-34°42'01,79''/ W-60°02'52,17'') y Duffy-Romano (S-34°53'41,09''/ W-60°23'37,61''). La temperatura media anual de la región es 16°C con un amplio período libre de heladas. El régimen de precipitaciones es isohigro sin una estacionalidad marcada a lo largo del año y las medias anuales de precipitación oscilan entre los 1014 y 1037 mm.

2.2. Secuencia de cultivos y toma de muestras. Luego de la cosecha de los cultivos de verano (junio 2015) se extrajeron muestras de suelo superficiales de las siguientes secuencias de cultivos sembradas en el año 2014: a) trigo/soja^{2da}, b) soja, c) maíz tardío, d) arveja/soja^{2da} y e) vicia-centeno/maíz. En cada uno de los establecimientos se evaluaron diferentes secuencias de cultivo, las cuales estaban ubicada en un mismo lote en franjas continuas y paralelas de 90 m de ancho y 400 m de largo. Los cultivos vicia-centeno se utilizaron como cultivo de cobertura. En El Progreso, el maíz tardío se sembró el 18/12 y la soja de segunda (soja^{2da}) sobre el rastrojo de arveja, el 20/12. En Duffy-Romano y Los Manuelitos, se sembró el cultivo soja^{2da} sobre rastrojo de trigo, el 9/11 y el 14/12, respectivamente. En algunas secuencias se establecieron dos planteos productivos: tecnología de uso del productor (TP) y tecnología ajustada (TA) por el Sistema Chacra-AAPRESID que tiende a lograr el máximo rendimiento según las condiciones zonales de precipitaciones y radiación, sin limitaciones nutricionales y utilizando la mejor combinación de insumos y tecnología (i.e. densidad de siembra y dosis de fertilizantes óptima). En todas las secuencias de cultivo se aplicaron herbicidas según el esquema utilizado en cada establecimiento. Todos los cultivos se sembraron bajo siembra directa, sin remoción del suelo. En esta situación, las semillas de malezas dispersadas en los últimos años se ubican en los primeros 4 cm del suelo.

En cada secuencia de cultivo y establecimiento se tomaron 10 muestras de suelo superficiales (ca. 4 cm de profundidad) con una pala plana (1800 cm³). Para ello se recorrió cada franja a lo largo y en zigzag. Las 10 muestras de suelo de cada secuencia de cultivo de cada establecimiento se mezclaron, se homogenizaron y se colocaron en 4 bandejas de plástico (1740 cm³). Las mismas se ubicaron en el invernáculo de la Facultad de Agronomía, UBA, en Buenos Aires. El diseño experimental fue completo aleatorizado con 4 repeticiones por secuencia y establecimiento. A lo largo de 6 meses, las muestras fueron expuestas a ciclos de humedad y secado cada 15 días para disminuir el nivel dormición de aquellas semillas que lo requieran (Kruk, 2002). Una vez emergidas las plántulas, se identificaron las especies. Se cuantificó la riqueza (i.e. número de especies), la diversidad de especies (Índice Shannon-Wiener, Magurran, 2004) y la densidad de plántulas para cada establecimiento y secuencia de cultivo. El análisis estadístico (ANOVA) y la comparación medias mediante el test de de LSD Fisher ($\alpha=0.1$) se realizaron con el programa Infostat (Di Rienzo et al., 2008).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Composición florística de las comunidades de malezas. La riqueza de especies maleza emergida de los bancos de semillas y el índice de diversidad varió según los establecimientos y la secuencia de cultivos (Tabla 1). En total, emergieron 21 especies; *Cyperus* sp. estuvo presente en todos los relevamientos mientras que *Digitaria sanguinalis* L.Scopoli y *Portulaca oleracea* L. en el 90%. La riqueza del lote fue 11, 16 y 12 en los establecimientos Los Manuelitos, El Progreso y Duffy Romano, respectivamente. La secuencia maíz tardío en El Progreso presentó la mayor riqueza. En los establecimientos Los Manuelitos y Duffy Romano, el índice de diversidad de especies maleza fue mayor que en El Progreso (P=10) (2,79; 2,53 y 2,29, respectivamente). En Los Manuelitos, el banco de semillas que provenía de la secuencia trigo/soja^{2da}TA fue el que presentó mayor índice de diversidad (Tabla 1).

Tabla 1. Riqueza e Índice de diversidad de Shannon-Wiener de los establecimientos Los Manuelitos, El Progreso y Duffy-Romano correspondiente a las especies que emergieron del banco de semillas extraído de la secuencia de cultivo trigo/soja^{2da} TA (Tecnología ajustada) y TP (Tecnología del productor), soja^{1ra}, arveja/soja^{2da}, maíz tardío y vicia-centeno/maíz

Tratamiento	Riqueza			Índice de Shannon-Wiener		
	Los Manuelitos	El Progreso	Duffy Romano	Los Manuelitos	El Progreso	Duffy Romano
Trigo/soja ^{2da} TA	7			3,58a		
Trigo/soja ^{2da} TP	9			2,58bcd		
Soja 1 ^{ra}	9			2,18e		
Arveja/soja ^{2da}		8			2,26e	
Maíz tardío		15			2,33cde	
Trigo/soja ^{2da} TA			6			2,69b
Trigo/soja ^{2da} TP			9			2,28de
Vicia-centeno/maíz			8			2,62bc
Valor total en el lote	11	16	12	2,79A	2,29C	2,53B

Letras distintas indican diferencias significativas LSD Fisher, 10% (letra minúscula, entre tratamientos y establecimientos, y letra mayúscula, promedio entre establecimientos).

La heterogeneidad de la comunidad de malezas en cada establecimiento se asocia al ambiente específico que compone cada sitio, al cultivo establecido al momento de la toma de la muestra de suelo, a la secuencia de cultivo, a la intensificación del uso de los recursos y/ o a los distintos manejos tecnológicos planteados en cada situación. Por ejemplo, en la secuencia trigo/soja^{2da} TA, el índice de diversidad fue 3,58 en Los Manuelitos, mientras que en Duffy Romano fue 2,69. Sin embargo, para la misma secuencia pero con la tecnología utilizada por el productor (TP), los valores fueron 2,58 y 2,28, respectivamente) (Tabla 1). Hay algunas especies maleza que al aumentar la oferta de nitrógeno, aumentan el crecimiento y la cantidad de semillas producidas (Pino et al., 2015) mientras que otras, presentan mayor constancia cuando los niveles de nitrógeno (Blackshaw et al, 2003) o la densidad del cultivo son bajos. En este caso, los suelos del establecimiento Los Manuelitos son de menor productividad que los de Duffy Romano y al incorporar nitrógeno al sistema (TA), se estarían mejorando las condiciones para el crecimiento de especies nitrófilas.

3.2. Efecto de la secuencia de cultivos sobre la densidad de plántulas emergidas. En Los Manuelitos, *D. sanguinalis*, *P. oleracea*, *Chenopodium album* L., *Cyperus sp.* y *Euphorbia heterophylla* L. estuvieron presentes en todas las secuencias de cultivo sin mostrar diferencias significativas, mientras que la densidad de plántulas de *Eleusine indica* (L.) Gaertn y *Dichondra repens var. Microaalyx* Hallierf fue mayor ($P = 0,1$) en la secuencia trigo/soja^{2da} TP (Fig. 1).

En el establecimiento El Progreso emergieron 16 especies de las cuales solo algunas estuvieron presentes en las secuencias arveja/soja^{2da} y maíz tardío (Fig. 2), mientras que otras especies solo emergieron en una de ellas. En la secuencia arveja/soja^{2da}, emergieron *D. sanguinalis*, *Anoda cristata* (L.) Kunth y *Oxalis serpens* L. mientras que *Poa annua* L., solo estuvo presente con una alta densidad (ca. 400 plántulas m⁻²) en el banco extraído del cultivo maíz tardío (Fig. 2).

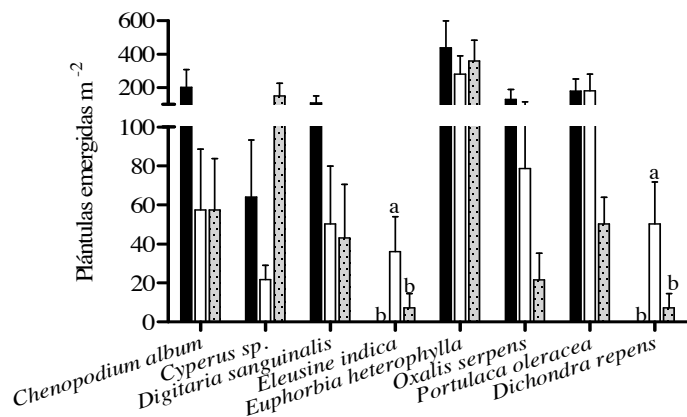


Figura 1. Densidad de plántulas emergidas del banco de semillas extraído de suelos con diferentes secuencias de cultivo: trigo/soja^{2da} TA (barra negra), trigo/soja^{2da} TP (barra blanca) y soja^{1ra} (barra gris punteada) del establecimiento Los Manuelitos. Líneas verticales indican el SEM. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada especie (LSD Fisher, 10%).

Si bien, *P. oleracea* emergió en ambos tratamientos, el número de plántulas emergidas fue mayor en el tratamiento cultivo maíz tardío que en arveja/soja^{2da} ($P=10$, ca. 100 y 25 plántulas m⁻², respectivamente) (Fig. 2). Tanto la riqueza de especies como la densidad de plántulas fue mayor cuando el banco de semillas se extrajo de la franja maíz tardío en comparación con la secuencia arveja/soja^{2da} (Fig. 2). En esta situación, el lote se encuentra mayor tiempo sin cultivo favoreciendo la emergencia de malezas en tiempo y espacio, principalmente, debido a las condiciones de temperaturas alternadas y calidad lumínica que favorece la terminación de la dormición en aquellas semillas que lo requieran (Kruk et al., 2006). Además, una vez emergidas, la disponibilidad de recursos es mayor (i.e. radiación y nutrientes no aprovechados por el cultivo) favoreciendo el crecimiento de las malezas, su tasa reproductiva y en consecuencia, la cantidad de semillas que ingresan al banco (Kruk, 2015).

En el establecimiento Duffy Romano emergieron 12 especies maleza. *Cyperus sp.*, *A. cristata*, *O. serpens* y *Sonchus oleraceus* L. estuvieron presentes en todas las secuencias de cultivo. Las restantes especies emergieron parcialmente en alguno/s de los tratamientos (Fig. 3). *Stellaria media* (L.) Vill., emergió en la secuencia trigo/soja^{2da} TP y AT y no emergió en la secuencia vicia-centeno/maíz ($P=10$). *Lamium amplexicaule* L. presentó el mayor número de plántulas emergidas (90

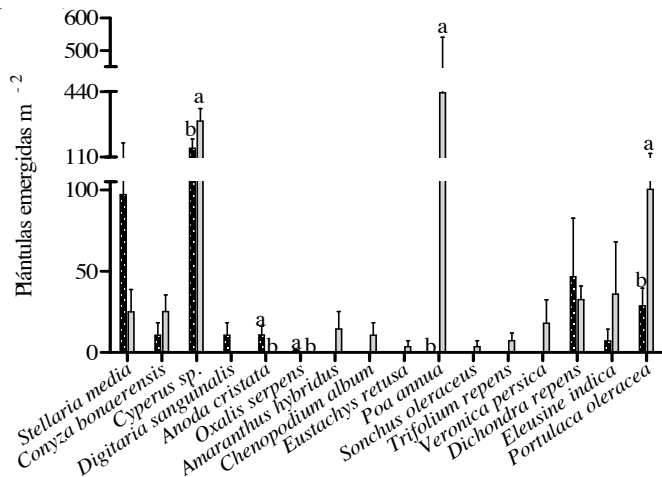


Figura 2. Plántulas emergidas del banco de semillas extraído de suelos con secuencia arveja/soja2^{da} (barra negra punteada) y maíz tardío (barra gris) en El Progreso. Líneas verticales indican el SEM. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada especie (LSD Fisher, 10%).

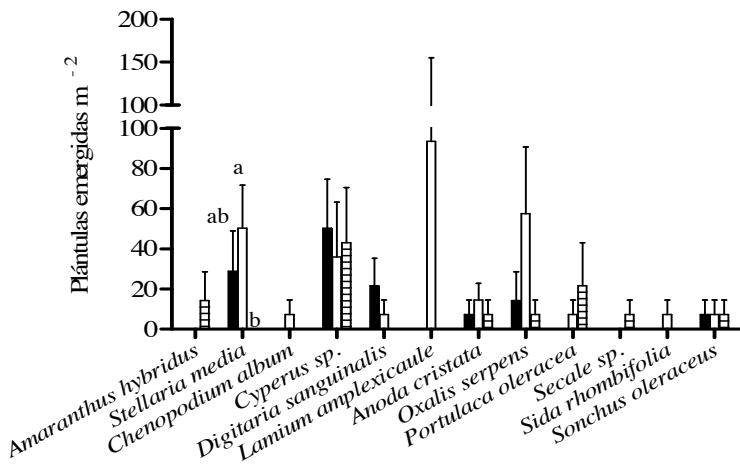


Figura 3. Densidad de plántulas emergidas del banco de semillas extraído de la secuencia trigo/soja2^{da} TA (barra negra), trigo/soja2^{da} TP (barra blanca) y vicia-centeno/maíz (barra rayada) del establecimiento Duffy Romano. Líneas verticales indican el SEM. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada especie (LSD Fisher, 10%).

plántulas m⁻²) si bien solo emergió en la secuencia trigo/soja2^{da} TP y no presentó diferencias significativas entre las secuencias de cultivo.

La riqueza de especies y densidad de plántulas emergidas varió según la secuencia del cultivo, la tecnología de producción y el establecimiento. En la secuencia trigo/soja2^{da} la riqueza de especies emergidas fue menor mientras que la secuencia vicia-centeno/maíz presentó la menor densidad. Es decir, al intensificar el uso de la tierra se logró un efecto supresor de las malezas. Sin embargo, la mayor densidad de plántulas emergidas a partir del estudio del banco de semillas, podría estar indicando

que las semillas permanecieron en el banco debido a que las condiciones ambientales generadas por la presencia del canopeo no fueron las adecuadas para la germinación durante el ciclo del cultivo o que el mayor número de semillas en el banco, podría ser el resultado de aquellas semillas que germinaron durante el ciclo del cultivo, crecieron con bajo nivel de competencia y en consecuencia, la tasa reproductiva fue alta, ingresando nuevas semillas al banco previo a la cosecha de los cultivos de verano. En este trabajo se demuestra que cada especie maleza que conforma la comunidad presenta una respuesta particular ante diferentes secuencias de cultivo. Es decir, según la especie maleza dominante el problema será conveniente planificar una determinada secuencia de cultivo. Además, un estudio *in situ* de la emergencia de malezas a campo inmediatamente luego de la cosecha de los cultivos de verano, complementaría la comprensión del funcionamiento del banco de semillas.

4. AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por Préstamo BID PICT 2013-2620 y Universidad de Buenos Aires, UBACYT 2014-2017. Se agradece la colaboración del Sistema Chacras-AAPRESID.

5. REFERENCIAS

- Blackshaw RE, Brandt RN, Janzen HH, Entz T, Grant CA and Derksen DA (2003). Differential response of weed species to added nitrogen. *Weed Science*, 51(4), 532-539.
- Booth BD & Swanton CJ (2002). 50th Anniversary-Invited Article. Assembly theory applied to weed communities. *Weed Science*, 50, 2-13.
- Buhler D, Kohler K and Thompson R (2001). Weed seed bank dynamics during a five-year crop rotation. *Weed Technology*, 15, 170-176.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M & Robledo CW (2008). InfoStat, versión 2008, Grupo InfoStat, FCA, U Nacional de Córdoba, Argentina.
- Kruk BC (2002). Análisis funcional y cuantitativo de la emergencia de especies maleza en un cultivo de trigo. Tesis Doctorado de la Universidad de Buenos Aires. 190 p.
- Kruk BC (2015). Disminución de la emergencia de malezas en diferentes escenarios agrícolas bajo siembra directa. *Revista Agronomía & Ambiente*. EFA. 35 (2), 179-190. FAUBA, Buenos Aires, Argentina.
- Kruk B, Insausti P, Razul A and Benech-Arnold RL (2006). Light and thermal environments as modified by a wheat crop: effects on weeds seed germination. *Journal of Applied Ecology*, 43, 227-236.
- Magurran AE (2013) *Measuring Biological Diversity* (eds John Wiley and sons). Blackwell Science LTD, Massachusetts, USA.
- Mas MT, Verdu AM, Kruk BC, de Aballeyra D, Guglielmini AC and Satorre EH (2010). Weed communities of transgenic glyphosate-tolerant soybean crops in ex-pasture land in the southern Mesopotamic Pampas of Argentina. *Weed Research*, 50, 320-330.
- Pino J, Recena R, Delgado A and Urbano JM (2015). Influencia del nitrógeno en la germinación de las malas hierbas. XV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Sevilla 2015.

Crop sequence and intensified cropping systems as tools for integrated weed management

Summary: We evaluated the effect of different crop sequences on the floristic composition of weed seed bank communities. Surface soil samples were obtained from cropping systems continuous and parallel plots in the same field: wheat/soybean, soybean, maize, pea/soybean, vicia-rye/maize in three farms located in Bs. As., Argentina, after harvesting the summer crop. By intensified cropping, a suppressive effect on weeds was achieved. The number of emerged species and seedlings varied according to crop sequence, production technology and farm. The wheat/soybean sequence had the lowest number of emerged species while the vicia-rye/maize sequence had the lowest seedlings density.

Keywords: cover crops, crop production technology, floristic composition seed bank, maize, soybean, weed seed bank, weed seedling density.

Rotaciones de cultivos herbáceos en agricultura de conservación y convencional en ambientes semiáridos y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal, 33 años de experimentación

Carlos Lacasta¹, Enrique Estalrich¹, Fernando Cordero¹

¹CSIC. Museo Nacional de Ciencias Naturales. Finca Experimental «La Higuera» 45530 Santa Olalla. Toledo. España
 c.lacasta@mncn.csic.es

Resumen: En un experimento de 33 años (1983-2016) donde se estudia el efecto de diferentes labores al suelo (veredera, chisel, cultivador y no laboreo) en rotación y en monocultivo de cebada, se ha hecho en los últimos 15 años (2002-2016) un seguimiento de la flora arvense. Los resultados indican que la pluviometría es la causante de la variabilidad en los rendimientos y en la mayor o menor abundancia de la flora arvense, y que el monocultivo tiene el doble de recubrimiento de malas hierbas y la mitad de rendimiento de grano que el cereal en rotación con otro cultivo. Las labores tienen poca incidencia en los rendimientos. Las especies *Lolium rigidum* y *Avena sterilis* están asociadas al monocultivo; *Bromus diandrus*, al no laboreo+monocultivo; *Scandix pecten-veneris*, al laboreo+monocultivo; y *Ononis spinosa* y *Cynodon dactylon*, al no laboreo.

Palabras clave: herbicidas, secano, garbanzo, veza, girasol.

1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas, se han llevado a cabo numerosísimos experimentos en distintos cultivos anuales, comparando sistemas convencionales de laboreo con otros que implican diferentes modalidades de laboreo de conservación, incluyendo el no laboreo o siembra directa. Los efectos del laboreo de conservación sobre el rendimiento de los cultivos y las malas hierbas han sido variables dependiendo de muchos factores, entre ellos: el suelo, la meteorología y la rotación empleada. Dentro de todos los experimentos de agricultura de conservación, merece una atención especial el realizado en la finca del Encín (IMIDRA), en Alcalá de Henares en el que están haciendo un seguimiento desde 1983 (Navarrete et al., 2009).

En los ambientes semiáridos donde la meteorología tiene una gran variabilidad pluviométrica los experimentos de larga duración dan una gran fiabilidad a los resultados, además de permitir evaluar la sostenibilidad de los métodos ensayados y estudiar las relaciones causa-efecto que gobiernan las tendencias de la productividad en un ambiente concreto.

La rotación de cultivos es un factor importante que afecta a la dinámica de poblaciones de malas hierbas, sobre todo reduciendo su densidad total. La razón es que una secuencia de cultivos difiere en el tiempo de siembra, maduración, competitividad, manejo del suelo, etc. De modo que la germinación, crecimiento y reproducción de las especies de malas hierbas se vería interrumpida al menos algunos años. La rotación puede causar un cambio en la flora adventicia a favor de especies que germinan en otoño y primavera y especies con germinación generalista (Santin et al., 2007).

En el presente trabajo se estudia, durante 15 años (2002-2016), la evolución de la flora arvense y su influencia en la producción de cebada en seis rotaciones ecológicas y una convencional, monocultivo de cebada; en un experimento que se estableció en 1992.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se viene realizando desde la campaña 1992/93 en la Finca Experimental «La Higuera» de Santa Olalla, Toledo (40°3' N, 4°26' W, 450 m), perteneciente al Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC).

El suelo es de textura arcillosa uniforme, profundo, con una gran capacidad de retención de agua, difícil de trabajar dada su dispar consistencia en los grados extremos de humedad, la velocidad de infiltración es pequeña y los mecanismos de expansión y contracción superan las posibles consecuencias de la suela de labor.

El diseño experimental es de bloques completos al azar con tres repeticiones.

Las variables fueron dos manejos de cultivo (rotación y monocultivo) con cuatro niveles en el manejo del suelo en la rotación: vertedera, chisel, cultivador (herbicida de contacto antes de la labor) y no laboreo; y dos niveles en el monocultivo: vertedera y no laboreo. La rotación fue de cebada con veza forraje (83-90), con girasol (90-98) y con garbanzo (98-16). La parcela elemental es de 520 m² (8 x 65 m). Los dos cultivos de las rotaciones se siembran todos los años. Se utilizaron los herbicidas más apropiados cada año y la fórmula de fertilización química fue 90-45-45. El nitrógeno se hizo en dos aplicaciones iguales, una en presiembra y la otra en pleno ahijamiento. Los cultivares de cebada han variado a lo largo del tiempo en función de la presencia o no de la variedad empleada en el mercado. Estos fueron desde el más antiguo: Nuevede, Reinete, Bolley e Icaria. La veza cv Senda, girasol cv Peredovik y garbanzo cv Eulalia.

Los datos meteorológicos se tomaron de la estación ubicada en la misma finca perteneciente al Centro meteorológico del Tajo con el indicativo 3,358 b.

El muestreo de malas hierbas, se realizó entre los años 2002-2016, en las parcelas de cebada y en el mes de mayo. Como muchas de las malas hierbas tienen una distribución no uniforme, se consideró que la medida que mejor representaría el efecto de las hierbas era la de recubrimiento del suelo, en tanto por ciento, de cada especie dentro de toda la parcela, a través de una estimación visual.

Para el análisis de los rendimientos de las parcelas se cosechó toda la parcela con una minicosechadora Hege, todos los años. Los resultados de producción fueron sometidos al análisis de la varianza, las diferencias entre tratamientos fueron separadas por medio del test de Tukey a un nivel de probabilidad de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Rendimiento por hectárea. El cultivo de cebada cuando se siembra en monocultivo tiene un rendimiento alrededor de 50% menor que cuando se siembra en rotación con otro cultivo (Tabla 1) y alrededor de un 20% más de recubrimiento de hierba (Tabla 2). En un experimento de larga duración como el que estamos comentando se pueden obtener otras informaciones. Por ejemplo: que la década de los años ochenta fue meteorológicamente más beneficiosa para los cultivos herbáceos de secano con valores medios en los rendimientos de todo el experimento de 3.362 kg/ha, mientras en la década de los 90 y la actual los rendimientos son menos de la mitad. La primera década de este siglo los rendimientos fueron un 34% menores que en la de los 80 del siglo pasado. De los 33 años, 22 dieron diferencias significativas a favor del manejo con rotación. Si se consideran las labores, hubo 6 años a favor del laboreo convencional con vertedera y otros 6 a favor del laboreo de conservación.

Tabla 1. Rendimiento en kg/ha de cebada en diferentes labores (rotación y monocultivo) durante el periodo 1983–2016

Años	Rotación de cultivos						Monocultivo de cereal		Pluvio anual mm				
	Vertedera	Chisel	Cultivador	No laboreo	vertedera	No laboreo							
83-84	5427	a	5498	a	5656	a	5339	a	4495	b	4568	b	481
84-85	5191	a	5184	a	5393	a	5246	a	3985	b	3647	b	458
85-86	3331	a	3220	ab	2874	c	3033	bc	2857	b	2668	b	299
86-87	3415	a	3829	a	3665	a	3840	a	2528	b	2602	b	509
87-88	2801	b	3333	ab	3599	a	3534	ab	1840	c	1650	c	611
88-89	1375	a	1117	a	1342	a	1079	a	1186	a	674	b	307
89-90	2856	a	2251	a	2336	a	2695	a	2608	a	2275	a	543
90-91	2756	a	2490	a	2768	a	2703	a	2551	ab	2134	b	432
91-92	229	ab	50	b	73	b	458	a	132	b	242	a	358
92-93	725	b	1266	ab	1321	ab	1846	a	247	c	457	c	413
93-94	2439	bc	1859	bc	2607	bc	3025	b	3807	a	3390	ab	454
94-95	0	a	0	a	0	a	77	a	80	a	168	a	275
95-96	2973	b	3097	ab	3273	ab	3325	a	2644	b	2178	c	535
96-97	2583	a	2200	a	2333	a	2117	a	2392	a	667	b	573
97-98	2631	a	2635	a	2755	a	2717	a	1693	b	1663	b	637
98-99	43	c	38	c	36	c	153	b	392	b	1098	a	292
99-00	4293	a	4070	ab	3810	ab	3401	b	2806	b	3215	b	437
00-01	651	a	682	a	533	a	634	a	353	b	696	a	649
01-02	4422	a	4524	a	4666	a	4548	a	3486	b	3040	b	542
02-03	4188	a	3088	b	3068	b	2882	b	915	c	458	c	500
03-04	4649	a	3262	b	3692	b	3948	b	894	d	1840	c	593
04-05	1199	a	833	b	786	b	599	c	440	cd	366	d	282
05-06	3385	a	2488	b	2722	b	1871	c	2062	bc	932	d	450
06-07	3211	a	2853	a	3114	a	2964	a	2218	b	1160	c	619
07-08	1084	a	963	a	1206	a	1088	a	450	b	452	b	354
08-09	2237	a	2050	a	2334	a	2051	a	2032	a	607	b	390
09-10	1536	a	1519	a	1662	a	1500	a	729	b	207	c	615
10-11	3120	a	2174	a	2754	a	3105	a	1229	b	975	b	459
11-12	288	a	199	a	243	a	323	a	178	b	69	b	221
12-13	1170	bc	2048	a	1868	b	835	c	654	c	1156	c	541
13-14	482	a	706	a	594	a	482	a	152	b	119	b	424
14-15	2737	a	3361	a	2977	a	2614	a	2228	b	1984	b	452
15-16	2595	b	2708	ab	2227	b	2342	b	2151	b	3205	a	481
Media	2425		2291		2372		2314		1709		1532		460
%	158		150		155		151		112		100		

Los valores seguidos con letras distintas en una misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$; test Tukey). Los valores en negrita son los más altos del año.

3.2. Pluviometría. El rendimiento esta muy supeditado en estos ambientes a la cantidad de lluvia y a su distribución. En la tabla 1 se observa que de los 33 años estudiados hay 20 que los rendimientos estuvieron por encima de la media y coincide con años donde la pluviometría estuvo por encima de los 400 mm/anales y con una distribución en otoño (SEP, OCT y NOV) del 34% sobre el total, en invierno (DIC, ENE, FEB y MAR) del 37% del total y en primavera (ABR y MAY) del 21% (Fig. 1). En cambio los años secos, la bajada de rendimiento se debe principalmente

a la disminución de las precipitaciones y el adelanto del déficit hídrico. Los años con menos de 1000 kg/ha se debe a esta causa. Ha habido 4 años que la disminución de los rendimientos es debido a la mala distribución de las precipitaciones, invierno con el 57% del total de las lluvias y una primavera seca (10%). En cambio la abundancia de malas hierbas se debe no al total de las precipitaciones sino a la distribución de de ellas (Fig. 2 y Tabla 3), otoños húmedos (40%), inviernos secos (28%) y primaveras normales (23%), poca hierba, pero otoños normales (31%), inviernos lluviosos (51%) y primaveras secas (13%) mucha hierba. En este experimento en que el control de hierba se hace con herbicidas, los inviernos lluviosos impide hacer el tratamiento en el momento adecuado.

Tabla 2. Porcentaje de recubrimiento medio de las especies más importantes en cada tratamiento durante el período 2002–2016 y el porcentaje sobre el total de malas hierbas

ESPECIE	Cebada en rotación								Cebada monocultivo				% sobre el total de Mh. Media 15 años
	Vertedera		Chisel		Cultivador		No labor		Vertedera		No labor		
	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub	
<i>Lolium rigidum</i> Gaudin	4	1,39	2	4,14	2	3,79	1	6,82	2	8,22	2	8,40	19,20
<i>Anacyclus clavatus</i> (Desf.) Per.	2	2,25	1	5,60	1	4,74	2	3,57	5	2,74			11,88
<i>Bromus diandrus</i> Roth											1	16,73	11,45
<i>Avena sterilis</i> L.									1	9,29	3	3,99	9,77
<i>Torilis nodosa</i> (L.) Gaertner	5	1,10	4	1,31	5	1,37			4	2,82	4	3,36	6,99
<i>Galium tricorutum</i> Dandy	1	2,28	3	2,30	3	2,51							5,49
<i>Scandix pecten-veneris</i> L.									3	4,27			5,22
<i>Convolvulus arvensis</i> L.			5	1,21	4	1,41	4	1,91					4,43
<i>Ononis spinosa</i> subsp. <i>Spinosa</i> L.							3	2,61			6	2,33	3,94
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.							5	1,86			5	2,47	2,95
<i>Ridolfia segetum</i> Moris	3	1,87											2,32
Recubrimiento suelo %		12,73		22,09		21,02		29,15		34,00		48,25	
Nº de especies en los 15 años		58		66		70		71		57		68	

3.3. Malas hierbas. La labor de vertedera en rotación es la que menos recubrimiento medio de hierba tiene, menos del 13%, mientras que los otros manejos del suelo en rotación tienen un recubrimiento menor del 30% de media anual, valores que no inciden de forma importante en los rendimientos. En cambio, el monocultivo genera problemas de malas hierbas (Tabla 2).

Se observa el aumento del % de recubrimiento de malas hierbas entre los años 2009-2014 (Tabla 3) y una disminución de la cosecha entre 2011-2014 (Tabla 1), consecuencia de una secuencia meteorológica de inviernos lluviosos con primaveras secas. De los 15 años hubo 6 con problemas de malas hierbas, más de un 30% de recubrimiento y 5 que no hubo ninguna especie de mala hierba que destacara de forma importante (Tabla 3).

Los datos medios de malas hierbas (Tabla 2), indican que las especies *Anacyclus clavatus* (Desf.) Per., *Lolium rigidum* Gaudin, *Bromus diandrus* Roth y *Avena sterilis* L., ocupan más de la mitad (52,30%) del recubrimiento total de malas hierbas en los valores medios de los 15 años en

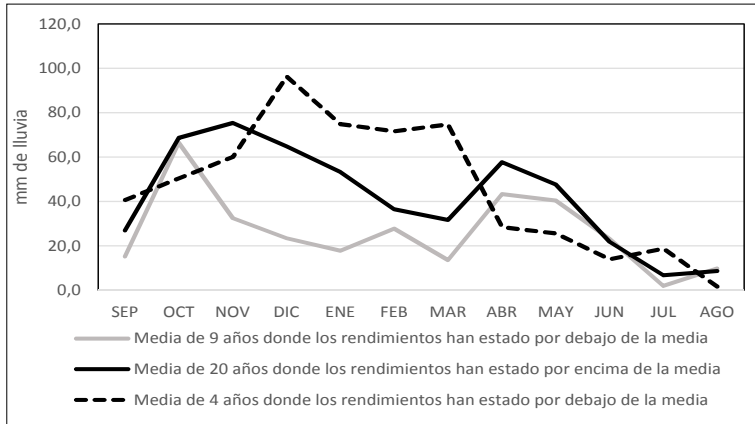


Figura 1. Evolución de la pluviometría a lo largo del año agrícola y rendimiento de la cebada.

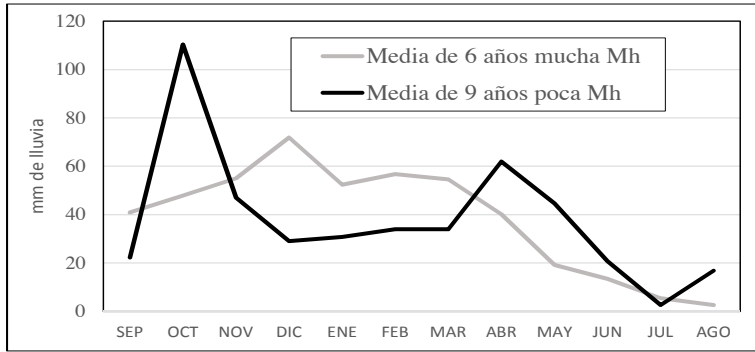


Figura 2. Evolución de la pluviometría a lo largo del año agrícola y abundancia de malas hierbas.

Tabla 3. Los valores medios en rotación y en monocultivo de las especies que superaron para ese año el 10% durante el periodo 2002-2016. Los valores sombreados son los que corresponden a la rotación. La pluviometría de invierno (DIC, ENE, FEB y MAR) y primavera (ABR y MAY) en mm

Especie	Años															
	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	
<i>Lolium</i>		13,8			13,0				11,3		11,2		27,0			
<i>Anacyclus</i>										18,7		24,3				
<i>Bromus</i>					13,3		32,0	10,1		34,3	70,3	10,2	44,6	29,1		
<i>Avena</i>														10,3		
<i>Scandix</i>		17,7	16,0				10,7									
<i>Ridolfia</i>												14,1				
Rec. total Mh medio	16,6	37,3	24,0	22,8	26,8	24,4	21,7	13,5	32,9	38,8	32,0	63,2	43,9	9,7	14,6	
Plu. invier	157	251	126	70	102	96	65	116	407	234	50	241	232	68	105	
Plu. primv	148	38	128	25	58	150	179	51	68	77	72	61	41	66	156	

Notas: *Bromus diandrus* solo se presenta en las parcelas de no laboreo.

el experimento. Otras especies importantes son: *Torilis nodosa* (L.) Gaertner, *Galium tricornerutum* Dandy, *Scandix pecten-veneris* L., *Convolvulus arvensis* L., *Ononis spinosa* subsp. *Spinosa* L., que ocupan el 26%. Estas 9 especies ocupan cerca del 80% de recubrimiento de las malas hierbas. El menor número de especies encontradas ha sido en el manejo de vertedera. Navarrete et al., 2015 encontraron más abundancia de flora arvense en no laboreo que en los otros tratamientos de labores, como encontramos aquí (Tabla 2). En los 15 años de estudio ha habido 96 especies en todo el experimento. Los años con un recubrimiento de malas hierbas superior al 30%, han sido 2003 y los comprendidos entre 2010-2014, destacando 2013 con un 63,32% de recubrimiento de malas hierbas. El año con menor recubrimiento fue 2015 (Tabla 3).

Las especies *Lolium rigidum* y *Avena sterilis*, están asociadas al monocultivo y al no laboreo (Tabla 2), la rotación con garbanzo de ciclo de primavera-verano permite el control de estas hierbas de otoño e invierno. *Bromus diandrus* está asociado al No laboreo + monocultivo. *Scandix pecten-veneris* al laboreo + monocultivo, *Ononis spinosa* y *Cynodon dactylon* al No laboreo. *Anacyclus clavatus* y *Galium tricornerutum*, se presentan tanto en monocultivo como en rotación y los valores más altos se presentan en las parcelas de rotación, porque en las parcelas de monocultivo el espacio está ocupado por otras hierbas que tienen una emergencia más temprana. Dorado et al. (1997) encontraron que cuando se combinaba el monocultivo con el no laboreo, aumentaba el número de plantas/m² de malas hierbas y que cada una de estas dos técnicas por separado no son capaces de explicar el incremento.

4. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Servicio de Investigación de la Consejería de Agricultura de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha por la financiación de los experimentos de larga duración que se realizan en la finca experimental La Higuera, así como a José María Gómez Camacho y a José Ramón Vadillo, por su dedicación a los trabajos experimentales de campo.

5. REFERENCIAS

- Dorado J, del Monte JP and López-Fando C (1997). Efectos de la rotación de cultivos y los sistemas de laboreo sobre la flora arvense en ambiente semiárido. VI Congreso de la SEMh, 41-46.
- Navarrete L, Sánchez del Arco MJ, Hernanz JL and Sánchez-Girón V (2009). Evolución de la vegetación arvense en cultivos de secano bajo diferentes sistemas de laboreo durante los últimos tres años. XII Congreso de la SEMh, 1, 122-126.
- Navarrete L, Sánchez MJ, Alarcón R, Hernanz JL and Sánchez-Girón V (2015). Respuesta de los cultivos y la vegetación arvense a la reducción de la fertilización y al tipo de laboreo en sistemas cerealistas de secano. XV Congreso de la SEMh, 2, 389-396.
- Santín Montanyá MI, Lorenzo Iñigo I, López Muñoz E, Tenorio Pasamón JL and García-Baudín JM (2009). Efecto de las rotaciones de cultivo en la flora adventicia de un campo en condiciones semiáridas. XII Congreso de la SEMh, 1, 347-350.

Rotations of arable crops in conservation and conventional agriculture in semi-arid environments and their effect on weeds and cereal yield, 33 years of experimentation

Summary: In a 33 years experiment (1983-2016) where the effect of different tillage on the soil (landfill, chisel, cultivator and non-tillage) in rotation and monoculture of barley is studied; a monitoring of the weeds has been made in the last 15 years (2002-2016). The results indicate that rainfall is the cause of the variability in the yields and in the greater or less abundance of the weeds. Monoculture has twice as much weeds covering and half grain yield as the cereal rotates with another crop. The tillage has little impact on yields. The species *Lolium rigidum* and *Avena sterilis*, are associated to the monoculture, *Bromus diandrus* to non-tillage + monoculture. *Scandix pecten-veneris* to tillage + monoculture and *Ononis spinosa* and *Cynodon dactylon* to non-tillage.

Keywords: herbicides, dry, chickpea, vetch, sunflower.

El laboreo de verano para la gestión de malas hierbas en cereales de invierno

Irache Garnica^{1,✉}, Juan Antonio Lezáun¹, Javier Delgado¹, Joaquín Garnica¹

¹Instituto Navarro de tecnologías e Infraestructuras Agrarias (INTIA), 31610-Villava
[✉] igarnich@navarra.es

Resumen: La falsa siembra, previa a la implantación de un cultivo, resulta útil para reducir la presión de las malas hierbas. En los cultivos de secano, la realización de una labor muy superficial después de la cosecha, junto con una humedad adecuada, provoca la nascencia de malas hierbas. De tal manera que pueden ser eliminadas por métodos químicos o mecánicos, antes de la implantación del cereal de invierno. Los factores más importantes para el éxito de esta práctica son la profundidad de la labor, que debe ser lo más superficial posible, y un nivel de humedad en el suelo adecuado.

Palabras clave: falsa siembra, labor de verano, labor superficial, mala hierba.

1. INTRODUCCIÓN

La eliminación casi total del laboreo profundo en los cereales de invierno de la zona media de Navarra ha provocado cierta inversión de la flora. Concretamente, ha habido un aumento de la presencia de bromo (*Bromus diandrus*) y las densidades de vallico (*Lolium rigidum*) han aumentado también dentro de las parcelas. Esta especie es muy sensible al enterrado profundo y no puede emerger. Sin embargo, al realizar labores muy superficiales o incluso al no realizarse (siembra directa), la mayor parte de las semillas son capaces de producir plántulas.

El uso de herbicidas se limita a un solo modo de acción por lo que el riesgo de selección de poblaciones resistentes en el monocultivo de la zona media es muy alto. Por lo tanto, es indispensable utilizar otras alternativas. Muchos agricultores ni siquiera disponen ya de vertederas. Sin embargo, cuando las condiciones climatológicas del verano-otoño son adecuadas (humedad), existe la posibilidad de hacer germinar gran parte de estas semillas de bromo antes de la siembra del cereal para poder eliminar las plántulas de forma química o mecánica. Esta posibilidad es la falsa siembra y consiste en preparar de alguna manera la tierra para favorecer la nascencia de las malas hierbas mediante una labor superficial pero sin presencia de cultivo. Esta técnica depende directamente de la presencia de humedad en el suelo. Si no hay lluvias entre la cosecha y la siembra posterior, esta técnica no funciona.

El objetivo principal de esta experiencia es demostrar la incidencia de las técnicas de laboreo en el control de malas hierbas y así reducir la dependencia de los herbicidas. Se pretende comparar el laboreo superficial con el no laboreo durante el verano en la misma parcela y valorar la nascencia de malas hierbas antes de la siembra del cereal.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio. Este estudio se ha localizado en varias localidades de la zona media de Navarra, donde el problema de control de las gramíneas en los cereales de invierno es cada vez mayor.

2.2. Diseño experimental. Estos estudios comenzaron en 2013 a modo de demostraciones en parcelas de agricultor. En los cuatro años de estudio, se escogieron 7 parcelas ya cosechadas

de cebada o trigo. Se hicieron cuatro pases con distintos aperos y distintas profundidades de labor alternándolos con zonas sin laborear.

2.3. Métodos de campo. Los conteos de la población de malas hierbas se llevaron a cabo poco antes de implantarse el cultivo siguiente. En cada una de las 4 repeticiones de cada variante se lanzó un décimo de metro cuadrado, contando e identificando cada una de las especies en su caso. Los datos se analizaron utilizando una ANOVA. Las diferencias significativas se basaron en un nivel de probabilidad de $p < 0,05$.

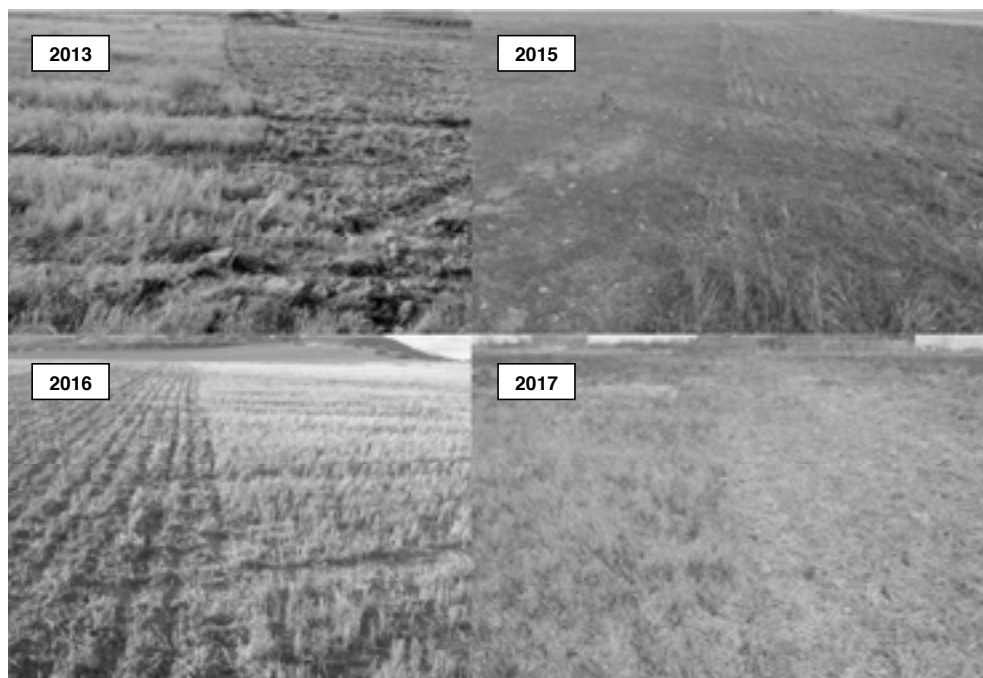


Figura 1. Distintos laboreos hechos en cada campaña.

En la tabla 1 se indican las fechas del laboreo de verano y el tipo de apero utilizado:

Tabla 1. Características de las demostraciones

Campana	Municipio	Fecha labor	Apero	Profundidad de labor
2013	Olite	2 agosto	Chisel	1-2 cm
2015	Olite	24 julio	Chisel	3-4 cm
2015	Oteiza	29 julio	Chisel	3-4 cm
2016	Dicastillo	1 agosto	Chisel	10-15 cm
2016	Arroniz	1 agosto	Chisel	10-15 cm
2017	Tafalla	28 julio	Grada rotativa	1-2 cm
2017	Olite	28 julio	Grada rotativa	1-2 cm

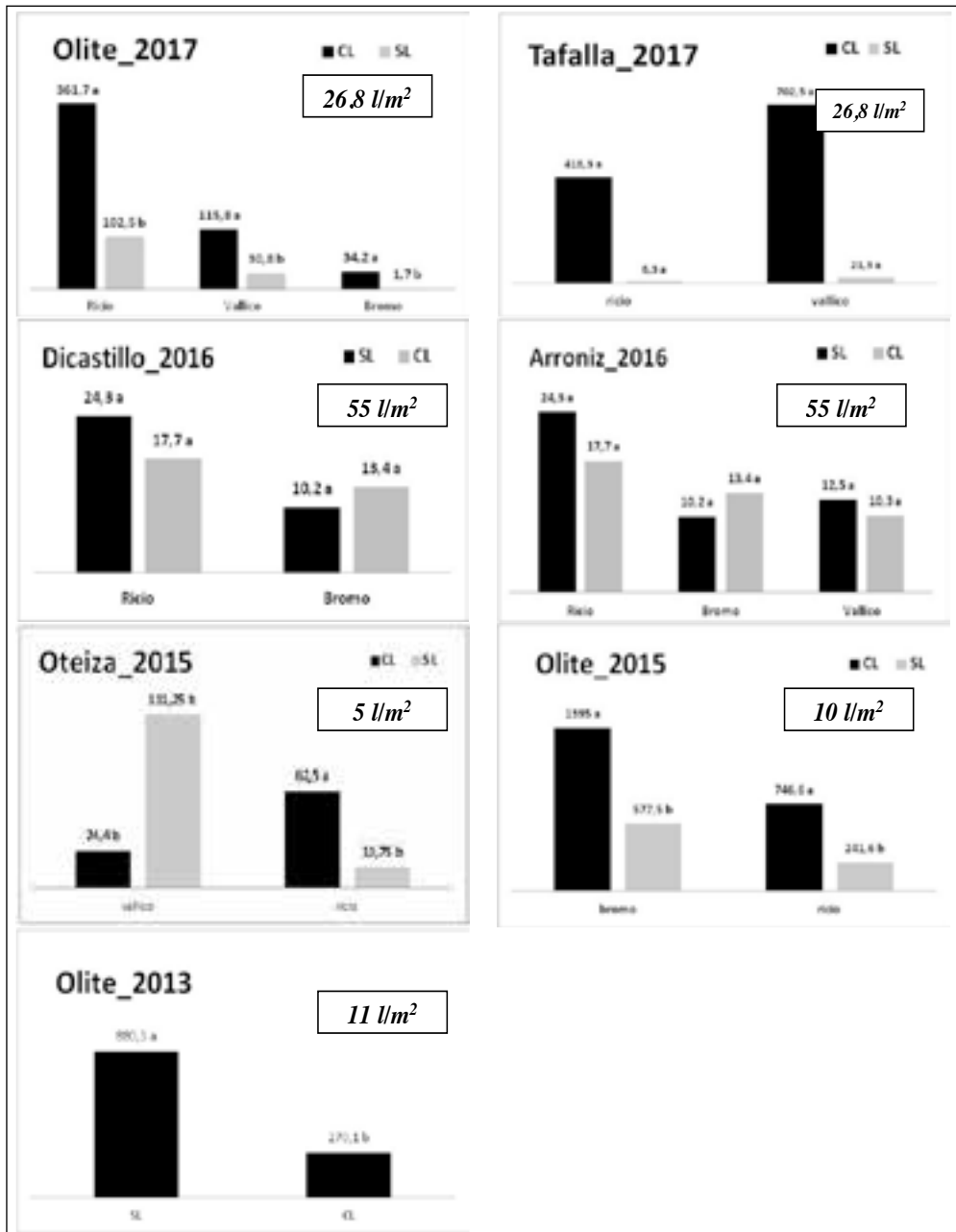


Figura 2. Número de plantas por metro cuadrado en parcelas con laboreo (CL) y sin laboreo (SL), ANOVA ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante los cuatro años de estudio, se hicieron conteos de las malas hierbas nacidas durante el verano, poco antes de hacer la siembra del cultivo siguiente. Las cuatro campañas fueron diferentes en cuanto a higrimetría del suelo y precipitaciones y también en cuanto al tipo de labor realizada.

Según los resultados obtenidos, uno de los factores principales es la humedad del suelo. Sin una humedad adecuada, las semillas de las malas hierbas no germinan. Pero además, incluso con una humedad adecuada, la profundidad de la labor realizada es otro factor principal. Cuanto mayor sea la profundidad de dicha labor, las semillas que están en superficie serán enterradas y las plántulas no emergerán antes de la implantación del cultivo siguiente. Por tanto, la labor de verano ha de ser lo más superficial posible (1-2 cm).

Incluso con una pluviometría adecuada, si la labor no es correcta, el resultado no será satisfactorio como ocurrió en la campaña 2016. De la misma manera, siendo la labor adecuada, si no hay una humedad suficiente, el resultado tampoco será satisfactorio (Oteiza_ 2015).

Los resultados de la campaña 2017 y Olite 2015 y 2013, demuestran que una labor muy somera y una humedad del suelo adecuada, favorecen la germinación de las malas hierbas

En la figura siguiente se muestran los resultados de los conteos de las 7 demostraciones durante las cuatro campañas. Además se indica los litros acumulados de lluvia desde que se realizó la labor, hasta que se hizo el conteo.

4. AGRADECIMIENTOS

Los estudios realizados desde 2015 han sido financiados por el Proyecto Life Agrotegra. Se agradece en especial la colaboración de los técnicos de INTIA, Javier Delgado, Juan A. Lezáun y Joaquín Garnica, y el trabajo realizado por Paco del equipo de INTIA de Tafalla. Además, se agradece la colaboración prestada por todos los agricultores que han cedido sus parcelas.

Weed management in winter cereals systems by tilling in summer time

Summary: To promote the germination of weeds (false seedling) before de winter seedlings is beneficial by reducing weeds pressure. In not irrigated lands, a superficial tilling on fallow after de harvest and an optimal humidity of soil (rain), benefit the germination of weeds. As a result, these weeds will be eliminated before the following seedling by herbicides or mechanical methods. There are two key factors for success: humidity of soil and depth of tilling. The more humidity of soil and the less depth of tilling, will give the best results.

Keywords: false seedling, summer tilling, superficial tilling, weed.

El uso de cubiertas vegetales y sus labores de implantación en el manejo de *Cynodon dactylon* en viñedo

Francisco Valencia¹✉, Neus Mas¹, Jordi Recasens¹

¹Grupo de Malherbología y Ecología Vegetal. Dpto. Hortofruticultura, Botánica y Jardinería. Agrotecnio-ETSEA. Universitat de Lleida. Av. Alcalde Rovira Roure 191, 25198 Lleida.

✉ francisco.valencia@hbj.udl.cat

Resumen: Durante las campañas 2015 y 2016, en los viñedos de Raimat (Lleida), se evaluó la capacidad competitiva de distintas cubiertas vegetales (constituidas por gramíneas anuales, plurianuales o leguminosas) y el efecto de las labores del suelo, como preparación para instalar la cubierta, permiten reducir de forma significativa los niveles de infestación de grama (porcentaje de cobertura) independientemente del nivel de infestación inicial, pero, sin embargo, favorecen la dispersión de estolones y rizomas de la mala hierba a zonas no infestadas del viñedo (aumenta su presencia). Las cubiertas instaladas dieron un resultado desigual, siendo la cebada (*Hordeum vulgare*) la más eficaz en reducir la superficie cubierta por grama (56%) y la festuca (*Festuca arundinacea*) en reducir su nivel de presencia (55%).

Palabras clave: malas hierbas, cebada, festuca, bromo, vulpia, medicago, manejo integrado, labores, viña.

1. INTRODUCCIÓN

El manejo de malas hierbas en viñedo se ha llevado a cabo tradicionalmente mediante el laboreo y/o uso de herbicidas. Ambos métodos son eficaces para controlar la mayoría de especies de malas hierbas, pero comporta ciertos riesgos dado que pueden provocar erosión del suelo o bien seleccionar biotipos resistentes a herbicidas (Gago et al., 2007). La instalación de una cubierta vegetal se baraja como una herramienta eficaz en el manejo de malas hierbas y aporta, a su vez, una serie de ventajas tanto agronómicas como medioambientales: limita fenómenos como la escorrentía y la erosión hasta en un 99% (Gómez et al., 2011), permite mejorar el microclima de los racimos (Valdés-Gómez et al., 2008), permite un mejor control de las malas hierbas (Baumgartner et al., 2008) y constituye una herramienta sostenible que en ocasiones, logra aumentar la calidad del mosto y del vino (Ibáñez, 2015). Las cubiertas vegetales pueden ser naturales (formadas por la vegetación natural) o sembradas. En este caso, se utilizan especies anuales cuyo ciclo evite la competencia con la viña y puedan autosemillarse, o bien especies plurianuales que soporten bien los frecuentes pases de maquinaria que se llevan a cabo en el viñedo. Un aspecto poco conocido sobre el uso de cubiertas vegetales es su efecto sobre las malas hierbas, y en concreto, sobre una de las especies más problemáticas, la grama (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.). Una correcta selección de una especie como cubierta vegetal, en función de su ciclo y estacionalidad, puede permitir una mayor competencia por luz y generar un efecto opresor sobre la grama. A su vez, las labores preparatorias para la instalación de la cubierta pueden reducir la superficie ocupada por la mala hierba. Los objetivos de este estudio son, por un lado, evaluar sobre la grama, la presión que pueden ejercer distintas especies vegetales utilizadas como cubiertas en viña, y por otro, evaluar en qué medida las labores de implantación de la cubierta son eficaces en el control de la mala hierba, o si por el contrario, favorecen su dispersión.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionó una parcela de viña (*Vitis vinifera* L.) 'Pinot noir' plantada en febrero de 2015 en la localidad de Raimat (Lleida) con un marco de plantación de 2,40 x 1,70 m, conducida en espaldera, con poda en cordón doble y riego por goteo bajo la línea de cultivo. Tras su plantación, se observó en verano 2015, una alta infestación natural de grama en forma de rodales, tanto en las calles como bajo las líneas de cultivo.

En octubre de 2015 se realizaron labores para la instalación de todas las cubiertas, consistentes en dos pases de cultivador. Esta labor se repitió en octubre 2016 para las cubiertas anuales al tener que sembrarse de nuevo.

En esta parcela se establecieron tres ensayos distintos:

1. *Estudio del efecto de la labor sobre distintos niveles iniciales de infestación de grama de forma previa a la instalación de las cubiertas.*

Se estimó la presencia y el porcentaje de superficie ocupada por la grama antes (octubre 2015) y después (noviembre 2015) del laboreo.

2. *Estudio del efecto competitivo de distintas cubiertas vegetales sobre la grama.*

Se evaluó la presencia y porcentaje de grama en un periodo interanual: octubre 2015 y noviembre 2016, coincidente con el primer año de establecimiento de las cubiertas. En este ensayo, se sembraron por separado, en distintas calles, diferentes especies anuales (gramíneas y leguminosas) y una gramínea plurianual (*Festuca arundinacea*) (esta última se sembró el primer año). Las cubiertas consideradas y su correspondiente dosis de siembra fueron: C1: *Hordeum vulgare* (150 kg/ha); C2: *Festuca arundinacea* (40 kg/ha); C3: mezcla de *Bromus rubens* y *Bromus hordeaceus* (20 kg/ha); C4: *Vulpia ciliata* (20 kg/ha); C5: *Medicago rugosa* (35 kg/ha). Las cubiertas de *Hordeum vulgare* y *Festuca arundinacea* se sembraron con una sembradora de pratenses, el resto a voleo. Después de la siembra se hizo un pase de rulo.

3. *Estudio de la posible dispersión de grama mediante las labores.*

Se seleccionaron en octubre 2015 diferentes espacios libres de grama y se estimaron los valores de presencia y cobertura de grama en diciembre 2016.

Cada unidad de muestreo abarcaba una superficie de 3 x 10 m subdividida en 120 subunidades de 0,5 x 0,5m. En cada una de estas subunidades se anotó la presencia de grama y el porcentaje de superficie cubierta.

Durante el ensayo, el control de las malas hierbas bajo las líneas de cultivo se llevó a cabo mediante la aplicación de glufosinato amónico 15% p/v a 4 l/ha en los meses de abril, junio, julio y agosto 2016 y una aplicación de glifosato 36% p/v a 4 l/ha en diciembre 2016.

Para evaluar el efecto de la labor (otoño 2015) sobre distintos porcentajes iniciales de infestación, se llevó a cabo un análisis de regresión lineal con el programa JMP de SAS entre los valores del porcentaje de superficie cubierta por grama antes y después de realizar el laboreo.

Para evaluar la capacidad competitiva de cada cubierta, se estimó el incremento o la reducción del porcentaje de cobertura de la mala hierba a lo largo de las distintas fechas de muestreo, así como el número de subunidades con presencia o ausencia de la misma.

Para evaluar el efecto de la labor sobre la dispersión de la grama, se cuantificó, en diciembre 2016, la presencia y el porcentaje de superficie cubierta de grama, en aquellas unidades de muestreo que en octubre 2015 estaban libres de mala hierba. Para el tratamiento estadístico de los datos se utilizó el programa JMP. La comparación entre manejos se realizó mediante un análisis de varianza y la comparación de medias empleando el test de Tukey ($P < 0.05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Efecto de la labor en función del nivel de infestación inicial de grama.

En la figura 1 se representa una relación lineal entre el nivel de infestación inicial (antes) y final (después del laboreo) ($R^2 = 0.88$). El porcentaje de superficie cubierta por grama tras la labor de otoño 2015 disminuyó, en promedio, un 58%.

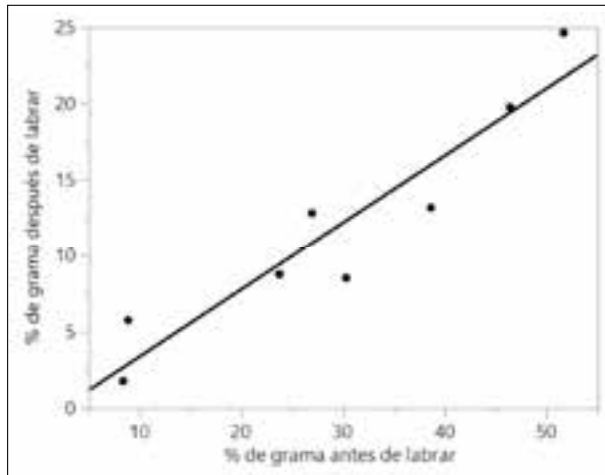


Figura 1. Relación entre el porcentaje de grama antes y después del laboreo.

3.2. Capacidad competitiva de las distintas cubiertas en el control de grama.

Las cubiertas anuales de gramíneas mostraron un desigual efecto opresor de grama: desde un 27% en el caso de *Vulpia ciliata* hasta un 56% en el caso de *cebada*. Por el contrario, en las calles con cubierta de *Medicago rugosa*, la superficie cubierta de grama aumentó un 27%. En cuanto a los niveles de presencia de grama, ésta se vio incrementada (entre un 13% y un 78%) en todas las cubiertas anuales ensayadas. Solamente disminuye su presencia (-55%) en la cubierta plurianual de *Festuca arundinacea*.

Tabla 1. Variación en el porcentaje de superficie cubierta y de la presencia de grama entre octubre 2015 y noviembre 2016. Los datos representan los valores promedio de las diferentes unidades de muestreo

Especie implementada como cubierta vegetal	Variación de la superficie cubierta de grama (%)	Variación de la presencia de grama (%)
C1. <i>Hordeum vulgare</i>	-56 a	+13 b
C2. <i>Festuca arundinacea</i>	-52 a	-55 a
C3. <i>Bromus</i> spp.	-39 ab	+24 b
C4. <i>Vulpia ciliata</i>	-27 ab	+40 b
C5. <i>Medicago rugosa</i>	+27 b	+78 b

En cada columna, manejos con distinta letra son estadísticamente diferentes ($P < 0,05$) según la prueba de comparaciones múltiples HSD de Tukey.

3.3. Efecto labor sobre la dispersión de grama en función de la especie de cubierta. Tras un año de manejo, la grama colonizó las unidades de muestreo que al inicio del ensayo se encontraban libres de mala hierba (Tabla 2). Los resultados reflejan valores bajos de superficie cubierta por la grama y sin diferencias significativas, pero su presencia a lo largo de la unidad de muestreo resultó muy alta para todas las especies anuales (entre un 50 y un 74%), siendo menor solo en la de *Festuca arundinacea* (7%). La figura 2 refleja, para esas fechas, la distribución espacial de grama en una unidad de muestreo de cada tipo de cubierta ensayada.

Tabla 2. Promedio de superficie cubierta y de presencia de grama en diciembre 2016 en las unidades de muestreo no infestadas inicialmente y tras un año de manejo de distintas cubierta vegetales

Especie implementada como cubierta vegetal	Superficie cubierta por grama (%)	Presencia de grama (%)
C1. <i>Hordeum vulgare</i>	2,8	72 b
C2. <i>Festuca arundinacea</i>	1,16	7 a
C3. <i>Bromus</i> spp.	1,64	50 b
C4. <i>Vulpia ciliata</i>	2,13	60 b
C5. <i>Medicago rugosa</i>	2,3	74 b

En cada columna, manejos con distinta letra son estadísticamente diferentes ($P < 0,05$) según la prueba de comparaciones múltiples HSD de Tukey.

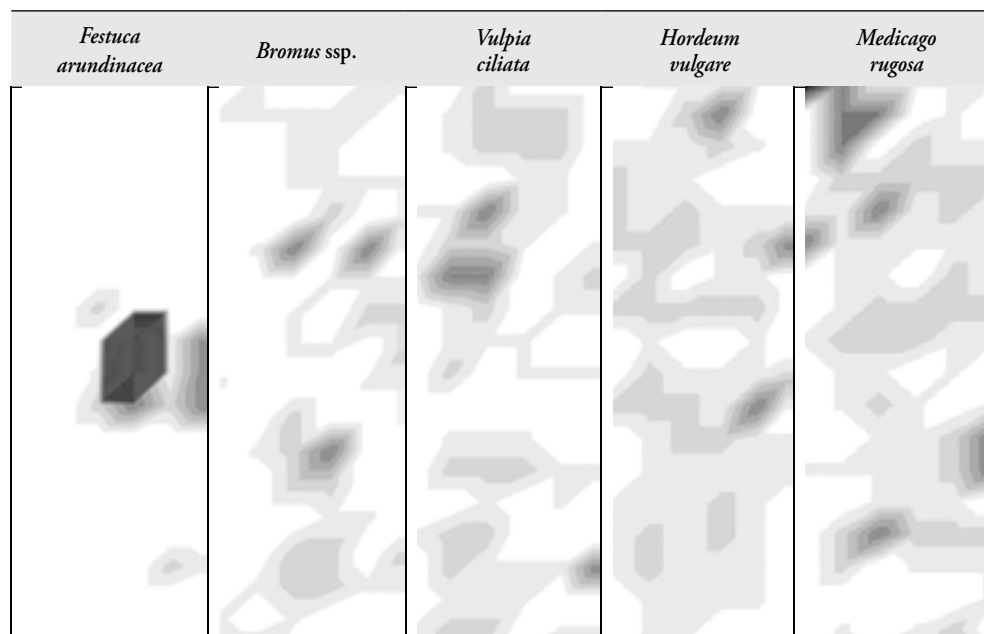


Figura 2. Distribución de grama en diciembre 2016 en una unidad de muestreo de cada tipo de cubierta vegetal implementada en octubre del año anterior.

Las cubiertas vegetales ensayadas a base de gramíneas mostraron una fuerte competencia frente a la grama, provocando una reducción de su cobertura entre un 27% y un 56%, siendo las de *Hordeum vulgare* y de *Festuca arundinacea*, las que ejercieron una mayor presión (con reducciones superiores al 50% en ambos casos). Por otro lado, si bien el laboreo, e independientemente del nivel de infestación inicial, disminuyó en promedio un 58% la infestación (cobertura) de grama, su uso facilitó la dispersión de la misma a través de la calle del viñedo, aumentando su presencia en zonas no infestadas aunque mostrando coberturas muy bajas (< 2%).

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiada por el MINECO (subproyecto AGL2014-52465-C4-2-R.) y se ha contado con una beca predoctoral otorgada por la Universitat de Lleida al primer autor. La finca donde se ha llevado a cabo la investigación, así como la maquinaria empleada, ha sido cedida por Codorniu S.A., a quienes mostramos nuestro agradecimiento.

5. REFERENCIAS

- Baumgartner K, Steenwerth K.L and Veilleux, L. (2008). Cover-crop systems affect weed communities in California Vineyard. *Weed Science*, 56, 596-605.
- Gago P, Cabaleiro C and García J. (2007). Preliminary study of the effect of soil management systems on the adventitious flora of a vineyard in northwestern Spain. *Crop Protection*, 26 (2007) 584-591.
- Gómez J.A, Llewellyn C, Basch G, Sutton P.B, Dyson J.S and Jones C.A. (2011). The effects of cover crops and conventional tillage on soil and runoff loss in vineyards and olive groves in several Mediterranean countries. *Soil Use and Management*, 27(4), 502-514.
- Ibáñez, S (2015). Mantenimiento del suelo en el viñedo mediante cubiertas vegetales., Logroño. Ed. Gobierno de La Rioja. 167 p.
- Valdés-Gómez H, Fermaud M, Roudet J, Calonnet A and Gary Ch. (2008). «Grey mould incidence is reduced on grapevines with lower vegetative and reproductive growth». *Crop Protection*, 27, 1174-1186.

Cover crops and their seedbed preparation to manage *Cynodon dactylon* in vineyards

Summary: The potential to reduce Bermuda grass infestation (*Cynodon dactylon* L. Pers.) of different cover crops (annual and perennial grasses as well as legumes) via seedbed preparation were studied in 2015 and 2016 in Raimat vineyards (Lleida, Spain). Adequate seedbed preparation methods can significantly reduce levels of Bermuda grass infestation (percentage of cover), regardless of the severity of initial infestation; nevertheless, such management favours the dispersion of grass stolons and rhizomes to non-infested areas of the vineyard, thus increasing its presence. Different degrees of control were observed depending on the cover crop. Barley has been the most effective in reducing the area of grass cover (56%) and fescue was effective in reducing levels of grass presence (55%).

Keywords: weeds, barley, fescue, brome, vulpia, medicago, integrated management, tillage, grapevine.

Influencia del grado de translucidez de diferentes acolchados en el control de *Cyperus rotundus* L.

Ana Isabel Mari¹✉, Gabriel Pardo², Alicia Cirujeda²

¹Unidad de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Av. Montañana 930. 50059-Montañana, Zaragoza, España

²Unidad de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930; 50059- Zaragoza, España.
✉ aimari@aragon.es

Resumen: El grado de translucidez que tienen los acolchados que se usan en agricultura puede resultar clave a la hora de controlar infestaciones de *Cyperus rotundus* L. Por ello, se evaluó esta propiedad y su efecto sobre el desarrollo de la juncia con 4 plásticos y 7 papeles, con diferente grado de translucidez. El diseño experimental fue completamente aleatorizado con cuatro repeticiones y tuvo lugar la primavera-verano de 2015. En un contenedor de 19 l se colocaron 7 tubérculos a 8 cm de profundidad y se cubrieron con los materiales a estudiar. Al final del ensayo se contabilizaron la parte aérea y la parte subterránea generadas por la juncia. Los plásticos impiden el paso de la luz pero algunos son perforados por la juncia y el desarrollo de la planta continúa; en cambio, los papeles no son perforados pero los traslúcidos favorecen su desarrollo debajo del material en mayor medida que los plásticos.

Palabras clave: plásticos biodegradables, papel, juncia, perforaciones, tubérculos.

1. INTRODUCCIÓN

La juncia (*Cyperus rotundus* L.) es una especie de difícil control, siendo un problema grave en cultivos hortícolas que utilizan el acolchado de PE (polietileno) como método de control de la flora arvense. Esta especie es de las pocas capaces de perforar este material y como no tiene problemas de sombreo ni competencia por parte de otras malas la seleccionamos por lo que prospera compitiendo con el cultivo. La juncia es una planta C4, por lo que tiene una alta eficiencia a elevadas temperaturas pero a su vez es muy sensible al sombreo y ha sido demostrado en diversos estudios donde la producción de masa vegetal fue reducida drásticamente en distintas condiciones de sombra (Neeser et al., 1997). No obstante, la juncia es capaz de perforar láminas de plástico ya que las hojas emergen plegadas y son puntiagudas. En el caso de PE transparente este fenómeno no ocurre, las hojas se abren al llegar a la superficie al entrar en contacto con la luz (Chase et al., 1998) pero con láminas negras opacas el control no es bueno. Los plásticos biodegradables, introducidos como alternativa al PE (Cirujeda et al., 2012) son de color negro pero una proporción de luz pasa a través del material y son perforados con facilidad. El papel negro es el material que mejores resultados ha mostrado sobre todo enfocado al control de la juncia (Cirujeda et al., 2012), ya que su dureza impide que las hojas perforen el material. Otra alternativa la constituye una gama de papeles de color marrón claro cuya cantidad de luz que pasa a través de ellos es mayor aunque varía entre las diferentes calidades. Por ello, se planteó un ensayo en condiciones de campo donde se evaluaron materiales de acolchado con una graduación en el grado de translucidez para ver el efecto de esta propiedad a la hora de inhibir el desarrollo de *C. rotundus*.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en la finca de San Bruno perteneciente al CITA (Montañana, Zaragoza), de mayo a noviembre de 2015. Se planteó un ensayo de campo bajo condiciones semi-controladas. Para ello se utilizaron contenedores de 19 l (29 cm alto) en los que se colocaron 7 tubérculos de juncia a 8 cm de profundidad y se rellenaron con tierra franco-arcillosa procedente de una parcela libre de juncia hasta 1 cm por debajo del borde. Los contenedores se cubrieron con 12 materiales de acolchados plásticos y de papel (Tabla 1) y se añadió un contenedor sin acolchado como testigo. Los tratamientos fueron organizados en un diseño completamente aleatorizado con cuatro repeticiones y las macetas se enterraron en dos zanjas para imitar las condiciones de temperatura del suelo. Se incorporó un sistema de riego por microgotero sectorizado según las necesidades hídricas: suelo desnudo, papeles y plásticos. Los materiales de acolchado fueron elegidos de manera que hubiera una graduación en el porcentaje de luz que los atraviesa (Tabla 1). Con el ceptómetro AccuPAR se midió la cantidad de radiación que pasa a través de cada material (PAR [Photosynthetically Active Radiation]) en unidades $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El valor de PAR utilizado fue la media de 6 mediciones tomadas a lo largo de 1 m^2 de material, en posición horizontal al suelo a las 12:00 PM con el cielo completamente despejado. Como testigo se anotó la radiación al aire libre sin material medido a la misma altura.

A lo largo del período de ensayo se anotaron semanalmente el número de perforaciones en los distintos materiales. Al final del ciclo se obtuvo la materia seca de la parte aérea de la juncia y se extrajeron los tubérculos de cada contenedor, se cortaron las raíces y los rizomas y se contabilizaron. Se calculó la tasa de reproducción neta considerándola el ratio de la población total de tubérculos al final del ciclo sobre la población inicial de tubérculos (Neeser et al., 1997). Se calculó el porcentaje de tubérculos muertos encontrados respecto al total de encontrados. El análisis estadístico se realizó utilizando MiniTab13 (MiniTab Inc. State College, PA, USA) y SAS V. 9.4. (SAS Institute, Cary, NC, USA). La homogeneidad de las varianzas y la normalidad de los datos fueron verificadas antes del análisis; en caso de no cumplirlas, se siguieron las recomendaciones Box-Cox para realizar las transformaciones pertinentes. Los datos de la tasa de reproducción neta y el peso seco de la parte aérea fueron analizados mediante análisis de varianza. Cuando el resultado fue significativo para un nivel $p < 0,05$ se utilizó el test de SNK para la separación de medias. La relación entre los valores de PAR de cada material y el promedio de tubérculos generados fue ajustada a una regresión lineal.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Perforaciones de los materiales de acolchado, crecimiento vegetativo y tasa reproductiva de la juncia. El número de perforaciones en los materiales producidas por la juncia fue mucho menor de lo esperado, sobre todo en los plásticos (Tabla 2) ya que en ensayos de campo previos se ha comprobado que los plásticos son perforados fácilmente por la juncia (Cirujeda et al., 2012). La simulación de las condiciones de campo reales no siempre consigue el efecto deseado y en este caso parece probable que los materiales no se tensaron lo suficiente y por ello las hojas de la juncia no consiguieron atravesar los materiales.

Otra posibilidad es que, como el material no estaba en contacto directo con el suelo, situándose entre 1 y 2 cm entre la lámina y el suelo, las hojas se desplegaron antes de entrar en contacto con ésta y ya no tuvieron la fuerza necesaria para atravesarla tal como ocurrió en el trabajo de

Webster (2005). La cantidad de materia seca bajo los diferentes acolchados fue muy variable en nuestro caso. En los papeles negros, en el PE y en el Mater-Bi® las hojas estaban desecadas y marrones al final del ciclo como también encontró Webster (2005). En cambio, en los papeles translúcidos (Arrosi), la parte aérea generada bajo éstos fue abundante (datos no presentados), estando en estado verde y fresco, presionando los materiales de acolchado.

Tabla 1. Nombre del material, tipo de acolchado, color, grosor o gramaje, procedencia y valores PAR de los distintos materiales de acolchado utilizados en el ensayo de traslucidez en el año 2015

Material	Tipo Acolchado	Color	Grosor/gramaje	Procedencia	Par
PE	Plástico	Negro	15 μ	Petróleo	0,0
Mater-Bi®	Plástico	Negro	15 μ	Almidón de maíz	3,8
Sphere6®	Plástico	Negro	15 μ	Almidón de patata	123,5
Bioflex®	Plástico	Negro	15 μ	Derivados vegetales	16,2
Mimgreen®	Papel	Negro	85 g/m ²	Celulosa de madera	6,0
Arrosi 240	Papel	Marrón claro	80 g/m ²	Celulosa de madera	103,7
Arrosi 69	Papel	Marrón claro	80 g/m ²	Celulosa de madera	186,8 (2014)
Arrosi 69	Papel	Marrón claro	80 g/m ²	Celulosa de madera	345,0 (2015)
Arrosi 130	Papel	Marrón claro	100 g/m ²	Celulosa de madera	33,0
Arrosi 70/90	Papel	Marrón claro	90 g/m ²	Celulosa de madera	109,8
Verso®	Papel	Gris oscuro	72 g/m ²	Celulosa de madera	11,7
Stora-Enso1®	Papel	Negro	105 g/m ²	Celulosa de madera	16,8
Testigo sin desherbar	-	-	-	-	1563,4

Producción de tubérculos. En el testigo sin acolchado se generó un promedio de 1845 tubérculos m⁻², lo cual corresponde a alrededor de 18 veces más del número de tubérculos iniciales (Tabla 2). Los materiales que más tubérculos generaron fueron el papel A69_15 y el plástico Sphere6®. Bajo estos materiales se generaron una densidad cercana a 1300 y 1500 tubérculos m⁻² en un período de 155 días desde la siembra, lo que supuso un aumento de casi 13 y 15 veces su densidad inicial. La tasa de reproducción fue inferior a uno en algunos materiales, lo que indica que hubo menos tubérculos al final de la campaña en comparación con el inicio, lo cual es deseable desde el punto de vista de control. Se esperaba este resultado solo para los papeles pero también bajo los plásticos PE, Bioflex® y Mater-Bi® no se generó prácticamente ningún tubérculo nuevo, al igual que bajo los papeles opacos Mimgreen®, Verso® y Stora1® probablemente debido a la falta de tensión de los materiales comentado anteriormente. Los papeles translúcidos de color marrón han favorecido el desarrollo de los tubérculos en distinto grado. Incluso el papel A130 con una tasa de reproducción de 2,89 no sería un material adecuado para el control de la juncia, ya que con esta tasa rápidamente la juncia aumentaría su densidad (Horowitz, 1972). En otros ensayos con acolchados el comportamiento de los plásticos fue diferente, la juncia los atravesó y se desarrolló sin problema en éstos e incluso tuvo un comportamiento similar a un testigo sin acolchar (Webster, 2005), es decir, que se reproducía en mayor medida en los plásticos que en los papeles (Cirujeda et al., 2012).

Tabla 2. Número de perforaciones de los materiales de acolchado por *Cyperus rotundus*, peso seco (g) de la parte aérea de *C. rotundus* generada bajo los materiales de acolchado y tasa neta reproductiva (nº tubérculos generados al final del ciclo frente al nº de tubérculos iniciales) a los 155 días después de la siembra. Letras distintas en la misma columna indican diferencias significativas para $p < 0,005$ con el test de SNK

Material	Nº perforaciones	Peso seco (g) / Parte aérea	Tasa reproductiva neta
PE	0,3	0,0 b	0,39 b
Mater-Bi®	0,5	0,0 b	0,46 b
Sphere6®	0,8	13,7 a	13,61 a
Bioflex®	0,5	0,0 b	0,43 b
Mimgreen	0,0	0,1 b	0,57 b
A240	0,0	14,2 a	7,57 b
A69_14	0,0	9,2 a	5,36 b
A 69_15	0,0	16,3 a	15,43 a
A130	0,0	7,7 a	2,89 b
A 70/90	0,0	5,7 ab	4,75 b
Verso®	0,0	0,0 b	0,43 b
Stora1®	0,0	0,0 b	0,25 b
Testigo	1,5*	13,1 a	17,93 a

* Testigo: emergencias.

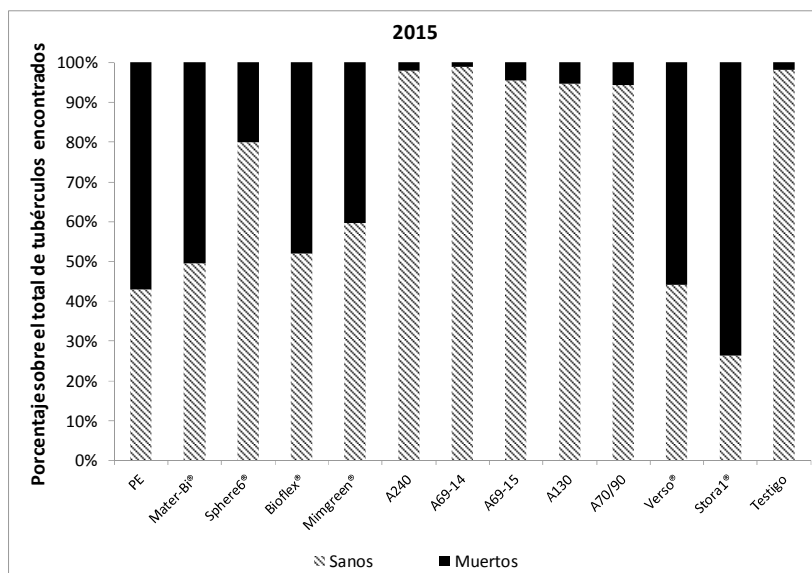


Figura 1. Proporción de tubérculos muertos y sanos respecto al número de tubérculos totales en cada contenedor en los distintos materiales de acolchado al final del ciclo del ensayo.

En el ensayo se encontraron tubérculos vacíos, casi secos, y se interpretó que éstos estaban o bien muertos o bien ya habían brotado siendo la parte externa de un tubérculo agotado. Bajo algunos plásticos se encontró una proporción de tubérculos muertos elevada con respecto al número de tubérculos iniciales, siendo los papeles negros bajo los que más tubérculos muertos se encontraron (Fig. 1) contribuyendo a una menor multiplicación de esta especie.

A pesar de que algunos materiales fueron rompiéndose a lo largo del ensayo debido a su degradación, vemos que hay una relación lineal ($R^2 = 0,75$) entre la cantidad de luz que dejan pasar los distintos materiales intactos y el promedio de los tubérculos generados (Fig. 2) como ya se observó en los trabajos de Neeser et al. (1997). Los materiales que se degradan en mayor medida permanecen intactos al menos durante primer mes y esto hace que las diferencias de PAR afecten al desarrollo inicial de la juncia.

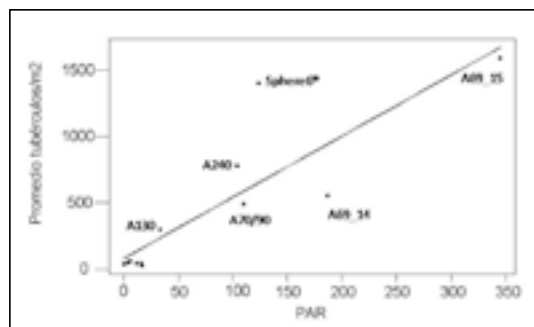


Figura 2. Regresión lineal entre el promedio de tubérculos generados al final del ciclo y la cantidad de radiación PAR que los distintos materiales de acolchado dejan pasar a través de ellos. Ecuación de regresión $y = 79,5010 + 4,61503 x$, $R^2 = 0,75$, $p < 0,001$.

Podemos concluir que las condiciones de instalación de los materiales de acolchado afectan al desarrollo de la juncia, ya que la existencia de espacio entre la lámina de acolchado y el suelo provocará que la juncia perfora en menor medida ese material y generará menos parte aérea. El grado de translucidez de los materiales también afecta a la juncia, ya que si la cantidad de luz que pasa a través de ellos es elevada, la juncia crece y se desarrolla bajo los materiales en igual o mayor medida que una vez atravesados los plásticos generando suficiente cantidad de tubérculos asegurando la reinfestación de la parcela tras retirar el material. En caso de infestación con juncia se debe elegir un material opaco y resistente a la perforación o, si es traslúcido, elegir un cultivo que sombre para evitar la proliferación de la juncia

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue llevado a cabo con la financiación del proyecto INIA: RTA2011-00104-C04-00. Agradecer a José Ángel Alins, a Javier Carrascón y a Fernando Arrieta por su colaboración en la realización de los ensayos.

5. REFERENCIAS

- Cirujeda A, Anzalone A, Martín-Closas L, Meco R, Moreno MM, Pardo A, Pelacho AM, Rojo F, Royo-Esnal A, Suso ML and Zaragoza C (2012). Biodegradable mulch instead of polyethylene for weed control of processing tomato production. *Agronomy for Sustainable Development*, 32, 4, 889-897.
- Chase C, Sinclair T, Shilling D, Gilreath J and Locascio S (1998). Light effects on rhizome morphogenesis in nutsedges (*Cyperus* spp.) implications for control by soil solarization. *Weed Science*, 46, 575-580.
- Horowitz M (1972). Growth, tuber formation and spread of *Cyperus rotundus* L. from single tubers. *Weed Research*, 12, 348-363.
- Neeser C, Agüero, R and Swanion, CJ (1997). Incident photosynthetically active radiation as a basis for integrated management of purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.). *Weed Science*, 45, 777-783.
- Webster TM (2005). Mulch type affects growth and tuber production of yellow nutsedge (*Cyperus esculentus*) and purple nutsedge (*Cyperus rotundus*). *Weed Science*, 53, 834-838.

Influence of the degree of translucency of different mulching materials in the control of *Cyperus rotundus* L.

Summary: The degree of translucency of the mulching materials used in agriculture could be the key in order to control *Cyperus rotundus* L. infestations. Thus, this property was evaluated and its effect on the growth of purple nutsedge with 4 plastic films and 7 papers, all with different degree of translucency. The experimental design was a randomized complete block design with four replicates and took place during spring-summer of 2015. In a pot of 19 l 7 tubers were placed 8 cm deep below the soil surface and were covered with the mulches. At the end of the cycle both under and above material generated by purple nutsedges was accounted. Shoots of purple nutsedges pierced them plastics and the growth continued, instead, dark paper film can't be pierced but translucent material allow it growth under them.

Keywords: biodegradable plastics, paper, purple nutsedge, punctions, tubers.

Evaluación de los efectos del sistema combinado de pastos-cultivo sobre las malas hierbas

José Dorado¹, Dionisio Andújar¹, Carolina San Martín², José Manuel Martín¹, David Campos¹, César Fernández-Quintanilla¹

¹Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), 28006 Madrid

²Columbia Basin Ag. Research Center - OSU, Adams, Oregon 97810

[✉]jose.dorado@csic.es

Resumen: Para estudiar la viabilidad de un sistema combinado de pastos-cultivo y sus efectos sobre las malas hierbas, se ha establecido en 2015 un experimento en la finca La Poveda (Arganda del Rey, Madrid) comparando cuatro especies gramíneas perennes de verano (*Brachiaria* spp., *Cynodon dactylon*, *Eragrostis curvula* y *Panicum maximum*) combinadas con un cultivo de cebada de invierno. *Brachiaria* spp. y *P. maximum* no consiguieron sobrevivir al primer invierno, por lo que solo quedaron dos especies de pasto: *C. dactylon* y *E. curvula*. Tras dos años de experimentación, se ha observado una disminución significativa de la biomasa, densidad y diversidad de malas hierbas en las parcelas con sistema combinado de pastos-cebada, principalmente en aquellas con *C. dactylon*. Los resultados de nascencia, desarrollo y producción de cebada fueron similares en todos los tratamientos.

Palabras clave: malas hierbas, pastos C4 perennes, pastos de verano, sistema cerealista.

1. INTRODUCCIÓN

Uno de los objetivos principales de la Política Agrícola Común es conseguir el *greening* de la agricultura europea, con el fin de alcanzar una mayor sostenibilidad de sus sistemas productivos. Por otro lado, la Directiva 2009/128/CE y el Real Decreto 1311/2012 sobre el uso sostenible de productos fitosanitarios establecían como pauta prioritaria para todos los usuarios profesionales el ajustarse a los principios y a las prácticas de la Gestión Integrada de Plagas. Por tanto, existe una evidente demanda de nuevas estrategias de gestión que reduzcan nuestra dependencia en el uso de plaguicidas y, al mismo tiempo, garanticen un nivel adecuado de control de los organismos plaga (incluidas las malas hierbas) y unos rendimientos económicos satisfactorios. De acuerdo con los principios generales en los que se basa la Gestión Integrada de Malas hierbas (GIM), la prevención de la vegetación arvense debe lograrse mediante técnicas de cultivo adecuadas (e.g., rotación de cultivos, fechas de siembra, etc.). Aunque el laboreo del suelo y los tratamientos herbicidas han sido las herramientas habituales contra la flora arvense en cultivos cerealistas, ambas prácticas pueden ocasionar efectos negativos sobre el medio ambiente. Por ello, es deseable hacer compatible un menor uso de labores con una menor dependencia en el uso de herbicidas.

Recientemente se ha propuesto un «sistema combinado de pastos-cultivo» (Corleto et al., 2009; Descheemaeker et al., 2014; Lawes et al., 2014) que se ajusta a la política comunitaria de *greening* al incluir varios cultivos en la rotación, además de fomentar técnicas de no-laboreo. Este sistema consiste en sembrar cultivos anuales sobre un pasto perenne ya establecido, con el objetivo de obtener los ingresos principales del cultivo de cereal de invierno y mantener la producción de pastos durante el verano-otoño. En ambientes donde el agua es una limitación, el grado de competencia entre el cultivo anual y el pasto perenne es el factor crítico que determinará el éxito

de este sistema de producción. Por tanto, es fundamental la elección de las especies cultivadas. El empleo de pastos perennes subtropicales puede ajustarse a este requerimiento por permanecer «durmientes» durante los meses de invierno-primavera, evitando la competencia con el cereal. Por otro lado, al tratarse de especies C₄, se adaptan mejor al periodo estival por realizar un uso eficiente del agua, optimizando la relación CO₂ fijado y agua transpirada. El cultivo de perennes de ciclo estival conlleva ventajas económicas (e.g., aumento de la producción en zonas de cultivo marginales) y ambientales (e.g. reducción de la erosión durante el verano-otoño, aumento de la biodiversidad), además de ajustarse a los principios de la GIM como método de control de malas hierbas, similar al uso de cubiertas vegetales. En efecto, partimos de la hipótesis de que el sistema combinado pastos-cultivo sirve para controlar las malas hierbas más importantes de los cereales por impedir su emergencia durante los meses de otoño en los que el pasto forma una cubierta vegetal, al tiempo que maximiza la productividad de los agrosistemas cerealistas de ambientes semiáridos caracterizados por una parada estival y reduce los riesgos de erosión durante los meses de verano-otoño. No obstante, la utilización de pastos perennes en este sistema debe ajustarse de tal forma que no suponga una competencia importante contra el cultivo principal de cereal, que finalmente es el más rentable.

A pesar de todas las ventajas potenciales del sistema combinado de pastos-cultivo referidas anteriormente, quedan por conocer muchos aspectos relacionados con su manejo agronómico, rentabilidad y adaptación a zonas marginales de nuestro país. En este estudio, los objetivos planteados eran: 1) evaluar la capacidad de adaptación de 4 especies perennes a los ambientes semiáridos del Centro de España; 2) analizar los efectos del sistema combinado de pastos-cultivo sobre las malas hierbas; y 3) valorar la productividad de la cebada como cultivo principal en un sistema combinado de pastos-cultivo comparado con el sistema tradicional de monocultivo de cebada.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio comenzó con la elección de las especies perennes de ciclo de verano que mejor pudieran adaptarse a las condiciones ambientales del Centro de España, para lo cual se llevó a cabo una búsqueda bibliográfica con objeto de identificar especies gramíneas perennes de origen subtropical (plantas C₄ con ciclo de verano) previamente utilizadas en ambientes similares (e.g. Corleto et al., 2009 en Italia, Descheemaeker et al., 2014 en Australia, Lawes et al., 2014 en Australia). Se seleccionaron cuatro especies de pastos: *Brachiaria* spp. (*Brachiaria ruziziensis* × *B. decumbens* × *B. brizantha*), *Cynodon dactylon*, *Eragrostis curvula* y *Panicum maximum*.

El diseño experimental fue de bloques al azar con 4 repeticiones, incluyendo como variable la utilización o no de la especie perenne de verano: 1) sistema combinado pasto-cultivo; 2) cebada sin pasto; y 3) pasto sin cebada. Las parcelas tenían una dimensión de 15 m × 3 m (esta última medida coincidente con el ancho de la sembradora). Existen dos fechas viables para la siembra de las especies perennes: otoño y primavera, que coinciden con la mayor probabilidad de encontrar unas condiciones ambientales favorables (temperatura superior a 18°C con alta posibilidad de lluvias). En nuestro ensayo llevado a cabo en la Finca La Poveda (Arganda del Rey, Madrid), las especies perennes se sembraron durante la primavera del primer año (mayo de 2015) con densidades de siembra que oscilaban entre 10 y 20 kg/ha dependiendo de las especies. El establecimiento de los pastos durante el primer verano fue apoyado con riego, el cual se suprimió en años sucesivos (2016 y 2017). Después de la siega otoñal, se realizó la siembra de la cebada, cultivada

exactamente igual que la cebada sin pasto salvo que en el caso de ir sobre la cubierta vegetal se utilizaba una sembradora de siembra directa tras un tratamiento de glifosato (el cual no afectaba al pasto por encontrarse éste en parada vegetativa). Aprovechando la parada invernal de la especie perenne se completó el ciclo del cereal, durante el cual se utilizaron prácticas convencionales de cultivo. Tras la cosecha del cereal en el mes de junio, la especie perenne con ciclo de verano ocupó el espacio que dejaba libre el cereal y así durante los años sucesivos. Tras el primer año, se comprobó la supervivencia de los pastos tras los meses invernales y el grado de auto-perpetuación en los años siguientes.

Para valorar la posibilidad de incluir el sistema combinado pastos-cultivo como herramienta GIM, se llevó a cabo un seguimiento de las malas hierbas estudiando la densidad, biomasa y número de especies arvenses presentes en el cultivo de cereal bajo el sistema combinado y en los controles sin pastos y con pastos exclusivamente. Los muestreos se realizaron coincidiendo con el momento adecuado para el control de malas hierbas en cultivo de cereal, es decir, en primavera de los años 2016 y 2017. En relación al cultivo de cebada, se evaluaron diversos parámetros relacionados con la nascencia (años 2016 y 2017) y la productividad (año 2016), para de este modo comprobar el grado de competencia causado por el sistema combinado pasto cultivo. Todos los datos fueron analizados estadísticamente mediante el procedimiento Modelo Lineal General univariante y la prueba de comparación múltiple *post hoc* de Bonferroni ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A pesar del buen desarrollo de *Brachiaria* spp. (Fig. 1a) y *P. maximum* (Fig. 1b) durante el año de implantación (2015), estas especies no consiguieron sobrevivir al primer invierno, quedando reducido el experimento a dos especies de pasto: *C. dactylon* y *E. curvula*.

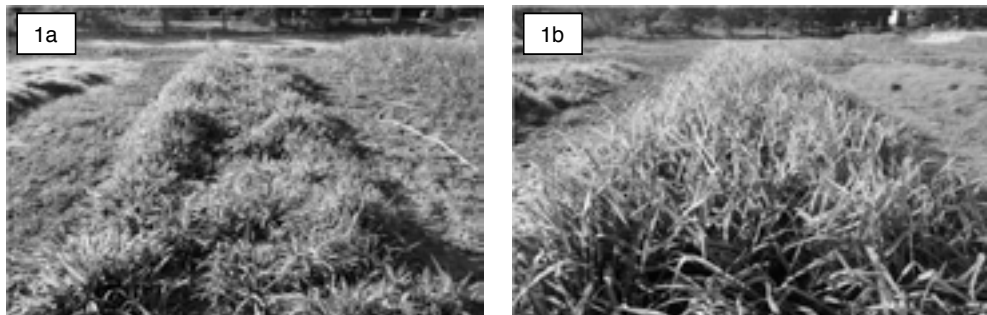


Figura 1. Imágenes tomadas el 8 de septiembre de 2015 en las parcelas de *Brachiaria* spp. (1a) y *Panicum maximum* (1b) mostrando la implantación de estas especies durante el primer verano.

3.1. Influencia del sistema combinado con pastos sobre el cultivo. En las dos campañas siguientes a la implantación de los pastos (e.g. 2016 y 2017), el establecimiento y desarrollo del cultivo de cereal fue satisfactorio en todas las parcelas (Fig. 2), registrándose unos datos de nascencia similares en el cereal sobre pastos y en el cereal en monocultivo (Tabla 1). En relación a los rendimientos (producción de espigas y grano), no se observaron diferencias significativas en ningún tratamiento durante la cosecha realizada en 2016, único año en que por el momento se han registrado los datos (Tabla 1).

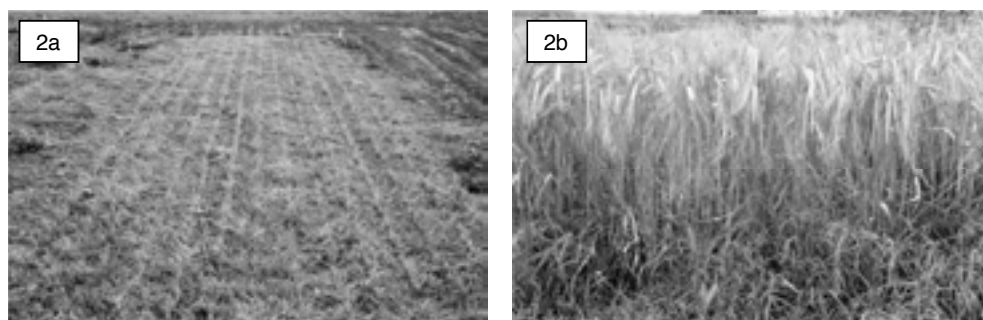


Figura 2. Detalles del cereal sobre pasto de *C. dactylon*: 2a) nascencia (8 de enero de 2016); 2b) madurez del cultivo mostrando las espigas de cebada sobre el pasto ya emergido (23 de mayo de 2016).

Tabla 1. Parámetros del cultivo de cebada tomados en nascencia (densidad de planta, años 2016 y 2017) y en cosecha (densidad de espiga, peso por espiga y rendimiento en grano en 2016) en parcelas con monocultivo y con sistema combinado cereal-pasto

	Nº plantas de cebada m ⁻²		Parámetros cosecha (2016)		
	ene 2016	ene 2017	Nº espigas m ⁻²	g espiga ⁻¹	Grano (kg ha ⁻¹)
Cereal	255±27 a	230±14 a	522±98 a	0,98±0,14 a	3700±666 a
Cereal + <i>C. dactylon</i>	261±28 a	216±10 a	538±78 a	1,08±0,15 a	4100±374 a
Cereal + <i>E. curvula</i>	289±25 a	238±16 a	500±139 a	1,04±0,18 a	3821±958 a

En cada columna, las medias con la misma letra no son significativamente diferentes, según la prueba de Bonferroni ($p < 0,05$).

3.2. Influencia del sistema combinado de pastos-cultivo sobre las malas hierbas. En la primera campaña (Tabla 2), la biomasa de malas hierbas fue similar en todas las parcelas de cereal, con independencia de utilizar o no el sistema combinado de pastos-cultivo. Solo en las parcelas mantenidas exclusivamente con pastos de *C. dactylon* y *E. curvula* observamos una biomasa de malas hierbas significativamente inferior que en las de cebada. Sin embargo, ya en este primer año registramos una disminución significativa de la densidad y la diversidad de especies arvenses en aquellas parcelas donde se incluían pastos, bien como especies únicas o bien en sistema combinado de pastos-cultivo. La mayor abundancia de malas hierbas en las parcelas de monocultivo de cebada se debía fundamentalmente a las siguientes especies: *Fumaria officinalis* L., *Papaver hybridum* L., *Papaver rhoeas* L. y *Polygonum aviculare* L.

En la segunda campaña (Tabla 3) se acentuaron estas diferencias, encontrándose una reducción significativa de los tres parámetros (biomasa, número de especies y densidad de malas hierbas) en las parcelas con sistema combinado de pasto-cebada, principalmente en aquellas con *C. dactylon*. De forma similar, esta reducción fue registrada en las parcelas sembradas exclusivamente con pastos de *C. dactylon* y *E. curvula*.

Tabla 2. Datos de malas hierbas observados el 29 de marzo 2016 (biomasa, número de especies y densidad total y de las especies mayoritarias) en parcelas con monocultivo de cebada, *Cynodon dactylon* y *Eragrostis curvula*, así como sistemas combinados cereal-pastos

Año 2016	Cereal	Cereal+C. dactylon	C. dactylon	Cereal+E. curvula	E. curvula
Biomasa (g m ⁻²)	6,7±5,7 a	3,3±4,6 ab	0,0±0,0 b	6,1±9,7 a	0,0±0,1 b
Nº especies m ⁻²	4,8±1,0 a	2,4±0,8 b	0,5±0,8 c	2,0±1,3 b	0,9±1,2 c
Nº plantas m ⁻²					
Total	122,4±48,3 a	34,4±19,2 b	4,6±7,3 b	35,2±26,5 b	21,4±41,9 b
FUMOF	5,4±7,3 a	0,8±2,7 b	0,0±0,0 b	0,0±0,0 b	0,0±0,0 b
PAPHB	10,7±10,2 a	1,5±3,6 b	0,0±0,0 b	3,1±6,0 b	0,0±0,0 b
PAPRH	29,9±18,4 a	13,0±12,7 b	0,0±0,0 b	9,2±12,4 b	1,5±3,6 b
POLAV	49,0±31,9 a	10,7±13,5 b	0,0±0,0 b	12,2±15,3 b	1,5±3,6 b

En cada fila, las medias con la misma letra no son significativamente diferentes, según la prueba de Bonferroni (p<0,05). Especies arvenses: FUMOF (*Fumaria officinalis* L.), PAPHY (*Papaver hybridum* L.), PAPRH (*Papaver rhoeas* L.), POLAV (*Polygonum aviculare* L.).

En cuanto a la composición florística, la mayor densidad de malas hierbas en el monocultivo de cebada se debía fundamentalmente a una especie, *P. aviculare*, la cual suponía el 80 % de las plántulas en estas parcelas. Estas diferencias podrían justificarse por el laboreo convencional utilizado en el tratamiento con monocultivo de cebada, laboreo que ha sido citado como factor causante de la proliferación de este especie en condiciones similares a las de este estudio (Dorado and López-Fando, 2006).

Tabla 3. Datos de malas hierbas observados el 6 de marzo 2017 (biomasa, número de especies y densidad total y de las especies mayoritarias) en parcelas con monocultivo de cebada, *Cynodon dactylon* y *Eragrostis curvula*, así como sistemas combinados cereal-pastos

Año 2017	Cereal	Cereal+C. dactylon	C. dactylon	Cereal+E. curvula	E. curvula
Biomasa (g m ⁻²)	73,2±54,3 a	3,4±7,6 b	0,4±1,7 b	23,5±32,9 b	0,9±2,9 b
Nº especies m ⁻²	4,7±1,5 a	1,8±0,7 c	1,4±1,0 c	2,8±1,1 b	1,7±0,6 c
Nº plantas m ⁻²					
Total	719,7±921,5 a	55,1±35,2 b	84,9±127,6 b	118,8±92,3 b	273,2±353,4 b
CHEAL	6,9±28,2 b	1,2±3,1 b	2,3±6,3 b	0,6±2,3 b	108,5±247,3 a
LACSE	20,3±25,2 a	5,2±10,6 b	0,0±0,0 b	12,6±14,2 ab	0,0±0,0 b
POLAV	578,1±896,2 a	19,5±33,0 b	11,5±22,4 b	18,9±20,2 b	120,0±237,6 b

En cada fila, las medias con la misma letra no son significativamente diferentes, según la prueba de Bonferroni (p<0,05). Especies arvenses: CHEAL (*Chenopodium album* L.), LACSE (*Lactuca serriola* L.), POLAV (*Polygonum aviculare* L.).

En base a los resultados de este estudio, podemos concluir que el sistema combinado de pastos-cultivo ha permitido controlar las malas hierbas ajustándose a los principios de la GIM, sin perjuicio de un buen establecimiento y desarrollo del cultivo de cebada. No obstante, conviene recordar la dificultad que conlleva el establecimiento durante el primer año de las gramíneas

perennes de ciclo estival en zonas con escasa pluviometría, circunstancia que puede paliarse si se dispone la posibilidad de riego de apoyo en esta época crítica. Por otro lado, hay que considerar estos resultados como preliminares. Para una mayor profundización en estas técnicas de cultivo, hemos comenzado en 2017 un experimento a mayor escala y a largo plazo con objeto de confirmar la hipótesis establecida en este estudio.

4. AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por el CSIC (Proyecto Intramural Especial 201540E030).

5. REFERENCIAS

- Corleto A, Cazzato E, Ventricelli P, Cosentino SL, Gresta F, Testa G, Maiorana M, Fornaro F and De Giorgio D (2009). Performance of perennial tropical grasses in different Mediterranean environments in southern Italy. *Tropical Grasslands*, 43, 129-138.
- Descheemaeker K, Llewellyn R, Moore A and Whitbread A (2014). Summer-growing perennial grasses are a potential new feed source in the low rainfall environment of southern Australia. *Crop & Pasture Science*, 65, 1033-1043.
- Dorado J & López-Fando C (2006). The effect of tillage system and use of a paraplow on weed flora in a semiarid soil from central Spain. *Weed Research*, 46, 424-431.
- Lawes RA, Ward PR and Ferris D (2014). Pasture cropping with C₄ grasses in a barley-lupin rotation can increase production. *Crop & Pasture Science*, 65, 1002-1015.

Evaluation of the effects of the combined perennial grass-crop system on weeds

Summary: In order to study the viability of a combined perennial grass-crop system and its effects on weeds, an experiment was designed in 2015 at La Poveda farm (Arganda del Rey, Madrid) to compare four summer perennial grass species (*Brachiaria* spp., *Cynodon dactylon*, *Eragrostis curvula* and *Panicum maximum*) combined with a winter barley crop. *Brachiaria* spp. and *P. maximum* did not survive the first winter, so only two grass species were left: *C. dactylon* and *E. curvula*. After two years of experimentation, a significant decrease in biomass, density and weed diversity was observed in plots with combined perennial grass-crop system, mainly in those with *C. dactylon*. The results of growth and yield of winter barley were similar in all treatments.

Keywords: weeds, perennial C₄ grasses, summer-growing grasses, cereal rotation.

Rotaciones de cultivos herbáceos en agricultura ecológica de ambientes semiáridos y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal, 24 años de experimentación

Carlos Lacasta¹, Enrique Estalrich¹, Fernando Cordero¹

¹CSIC. Museo Nacional de Ciencias Naturales. Finca Experimental «La Higuera» 45530 Santa Olalla. Toledo. España
 c.lacasta@mncn.csic.es

Resumen: En un experimento de larga duración (24 años) de agricultura ecológica de cultivos herbáceos en ambientes semiáridos se ha evaluado durante 17 años (1999-2016) la evolución de la flora arvense y los rendimientos de cereal en las rotaciones ecológicas (cebada-barbecho, cebada-veza forraje, cebada-veza enterrada, cebada-girasol y cebada-garbanzo) y se ha comparado con dos monocultivos de cebada, uno con fertilización y escarda química y el otro en manejo ecológico. Los resultados indican que el aumento de las densidades de malas hierbas y las especies dominantes están determinadas por la meteorología y por los manejos implícitos en las diferentes rotaciones y éstas, a su vez, van a incidir en los rendimientos. La agricultura convencional de monocultivo de cebada tiene rendimientos menores que algunas rotaciones ecológicas.

Palabras clave: herbicidas, secano, cereal, garbanzo, veza, girasol.

1. INTRODUCCIÓN

Este trabajo es la continuación del trabajo presentado en el XII Congreso de la SEMh en 2009 (Lacasta et al., 2009), incluyendo 8 años más de duración. Las conclusiones de entonces fueron que el monocultivo de cebada convencional no era viable económicamente en las condiciones climáticas de los ambientes semiáridos, que la abundancia de las malas hierbas en agricultura ecológica estaba relacionada con la precipitación de primavera, y que las rotaciones ecológicas, cuando sus ciclos de cultivo son diferentes, controlan la abundancia de la flora arvense a niveles similares a los herbicidas.

Una secuencia de cultivos está concebida para reducir la densidad de malas hierbas y mantener la diversidad de especies existentes en el campo, previniendo así la dominación de un número escaso de malas hierbas. Una rotación de cultivos afecta a la comunidad de malas hierbas por el cultivo en sí mismo y la gestión que lleva asociado puede crear diferentes hábitats para las especies de malas hierbas, de manera que cada secuencia de cultivos difiere en el tiempo de maduración, competitividad, manejo del suelo, etc., interrumpiendo la germinación, crecimiento y reproducción de las especies de malas hierbas (Santin et al., 2009).

En el presente trabajo se estudia, en un experimento que se estableció en 1992, la evolución de la flora arvense durante 17 años (1999-2016), así como su influencia en la producción de cebada en seis rotaciones ecológicas y una convencional, monocultivo de cebada.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se viene realizando desde la campaña 1992/93 en la Finca Experimental «La Higuera» de Santa Olalla, Toledo (40°3' N, 4°26' W, 450 m), perteneciente al Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC).

El suelo es de textura arcillosa uniforme, profundo, con una gran capacidad de retención de agua. El diseño experimental es de bloques completos al azar con tres repeticiones. Las variables fueron seis rotaciones ecológicas: cebada-barbecho (C-B), cebada-veza forraje (C-VF), cebada-veza enterrada (C-VE), cebada-garbanzo (C-GAR), cebada-girasol (C-GIR) monocultivo de cebada (c-c); y una convencional: monocultivo de cebada (C-C). La parcela elemental es de 400 m² (20 x 20 m). Los dos cultivos de las rotaciones se siembran todos los años. Los datos meteorológicos se tomaron de la estación ubicada en la misma finca perteneciente al Centro meteorológico del Tajo con el indicativo 3.358 b.

El monocultivo convencional se fertiliza con abonos complejos antes de la siembra y con nitrato amónico cálcico en el inicio del ahijado con una fórmula 90-45-45. La fertilización de las rotaciones ecológicas se basa en la fijación de nitrógeno de los cultivos de leguminosas, cuando existen, y en los residuos de cosecha. Todas las labores son superficiales, menos de 15 cm. Para la escarda en C-C se utilizaron diferentes herbicidas. La veza enterrada para abono verde se incorporó al suelo con gradas en mayo.

El muestreo de malas hierbas se realizó todos los años (1999-2016) en el mes de mayo y en las parcelas de cebada. Las malas hierbas tenían una distribución agregada por lo que se consideró que la medida que mejor representaría el efecto de las hierbas era la de recubrimiento de suelo, en tanto por ciento, de cada especie dentro de cada parcela, a través de una estimación visual.

Los resultados de producción fueron sometidos al análisis de la varianza, las diferencias entre tratamientos fueron separadas por medio del test de Tukey a un nivel de probabilidad de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La media de los 24 años en los rendimientos de cebada sigue poniendo de manifiesto los resultados obtenidos hace 8 años, observándose que el monocultivo de cebada convencional con fertilización y escarda química es muy poco productivo en los ambientes semiáridos donde se desarrolla el experimento, teniendo producciones inferiores a la mayoría de las rotaciones ecológicas (Tabla 1).

En los 17 años de seguimiento de la flora arvense ha habido 129 especies, repartidas en 26 familias botánicas. El año con mayor densidad de hierba fue 2011, seguido de 2010, 2013, 2012 y 2004 y hubo 9 años con más de 50 especies, siendo los años 2002 y 2004 los años con mayor diversidad, con más de 70 especies.

El comportamiento de las malas hierbas en las rotaciones con manejo ecológico es diferente a las rotaciones con manejo convencional. Mientras en manejo con agroquímicos la abundancia de malas hierbas está relacionada con los inviernos lluviosos y las primaveras secas (Lacasta et al., 2017), en agricultura ecológica la relación principalmente se debe a las primaveras lluviosas (Fig. 1). En agricultura convencional el problema es un problema de eficiencia del herbicida aplicado en invierno y una disminución de la capacidad de competencia del cultivo en primavera al no poder usar el fertilizante nitrogenado por déficit hídrico en primavera. En el caso de la agricultura ecológica la disminución de competencia del cultivo por falta de nutrientes, permite el desarrollo de las hierbas pero esto no significa que no se obtengan cosechas aceptables como ocurrió las campañas 03-07 y 12-13.

En el experimento hay 2 especies que destacan sobre las demás (*Anacyclus clavatus* (Desf.) Per. y *Lolium rigidum* Gaudin), que representan el 41,62% de cobertura media sobre el total de malas hierbas, y 9 especies (*Convolvulus arvensis* L., *Cirsium arvense* (L.) Scop., *Avena sterilis* L., *Papaver rhoeas* L., *Torilis nodosa* (L.) Gaertner, *Scandix pecten-veneris* L., *Galium tricornerutum*

Tabla 1. Rendimiento en kilos por hectárea y año en diferentes rotaciones ecológicas y convencional

Años	Rotaciones ecológicas						Convencional
	C-B	C-VE	C-VF	C-GAR	C-GIR	c-c	C-C
92-93	267 a	334 a	331 a	401 a	481 a	412 a	206 a
93-94	3.056 a	3.137 a	3.092 a	2.879 a	3.136 a	1.454 b	2.783 a
94-95	949 a	279 bc	250 c	130 c	865 ab	63 c	258 c
95-96	3.195 a	3.039 a	2.684 a	2.888 a	2.917 a	1.995 b	2.832 a
96-97	2.494 a	2.151 ab	2.094 ab	1.032 c	1.440 bc	1.506 bc	1.812 b
97-98	1.600 a	1.545 a	1.589 a	1.582 a	1.528 a	435 b	1.893 a
98-99	2.717 a	1.888 bc	1.996 ab	1.342 cd	517 e	771 de	1.071 de
99-00	1.763 a	2.023 a	2.400 a	1819 a	2531 a	1319 b	2129 a
00-01	981 a	559 bcd	755 abc	453 e	513 d	58 e	121 e
01-02	2.058 b	2.093 b	2.774 a	2051 b	1366 c	2219 ab	2435 ab
02-03	3.518 a	1.576 c	2.468 b	1535 c	2818 ab	124 d	1435 c
03-04	2.593 ab	2.109 b	2.811 a	1183 c	2667 ab	372 d	1176 c
04-05	1.378 abc	1.550 ab	1.614 a	342 de	774 cd	72 e	508 de
05-06	3.608 a	1.810 d	2.358 bc	1736 d	2338 bc	1285 d	2873 abc
06-07	2.701 a	2.646 a	2.945 a	918 b	2508 a	823 b	1162 b
07-08	1.205 a	1.232 a	1.467 a	151 b	385 b	41 c	336 b
08-09	1.786 a	1.387 ab	1.438 ab	469 cd	999 bc	215 d	647 c
09-10	831 a	770 a	726 a	251 a	840 a	392 a	578 a
10-11	1.447 a	1.126 a	1.092 a	469 b	533 ab	145 d	240 c
11-12	810 a	646 ab	951 a	123 c	447 bc	88 c	138 c
12-13	2.027 a	1.891 a	1.085 b	749 c	1.227 b	601 c	1.697 ab
13-14	757 c	1.011 b	1.337 a	319 dc	1.162 ab	186 c	494 d
14-15	1.594 ab	936 c	1.379 abc	1.119 bc	1.063 bc	542 d	1.678 a
15-16	1.785 a	2.353 b	2.047 b	1.258 c	2.357 b	584 d	1.513 c
Media	1.880	1.587	1.737	1.050	1.476	654	1.251
%	150	127	139	84	118	52	100

Los valores seguidos con letras distintas en una misma fila difieren significativamente ($P < 0,05$; test Tukey). Los valores en negrita son los más altos del año.

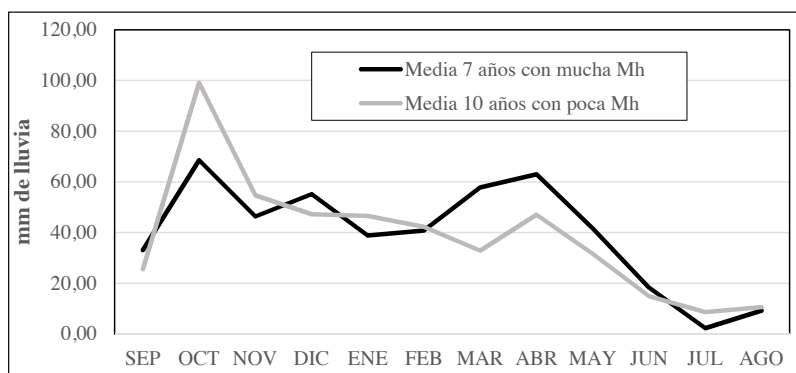


Figura 1. Evolución de la pluviosidad a lo largo del año agrícola y abundancia de malas hierbas.

Dandy, *Filago pyramidata* L., *Lactuca serriola* L.) que cubren el 42,55%. Estas 11 especies representan el 84,17 % de la cobertura de todas las hierbas.

Las rotaciones ecológicas C-B, C-VE, C-VF y C-GIR tienen un comportamiento similar de recubrimiento de malas hierbas del suelo al monocultivo de cebada con herbicida (C-C) (Tabla 2), todas con un recubrimiento medio del suelo de malas hierbas entre el 20%-30%. La rotación C-GAR está cerca del 40% de recubrimiento. El testigo de monocultivo sin herbicida y sin fertilización llega al 60% de recubrimiento haciéndole prácticamente inviable económicamente, pero es incluso más viable que el C-C ya que su mantenimiento, considerando solo los costes de los agroquímicos, supera los ingresos económicos que se obtienen por los 1.251 kilos de cebada (Tabla 1).

A. clavatus se encuentra en todas las rotaciones entre las 2 hierbas más importantes (Tabla 2). *L. rigidum* se encuentra en todas las rotaciones entre las 4 hierbas más importantes. *C. arvensis*, hierba perenne, también está en este grupo de hierbas importantes, pero tiene más dificultad en establecerse en la rotación c-c, ya que en ésta hay mayor competencia con otras hierbas. *C. arvensis* tiene importancia en las rotaciones C-VE, C-GAR y c-c, lo que indica que las labores de barbecho, la siega de la veza o el uso de herbicidas lo controlan correctamente. *A. sterilis* se encuentra relacionada con las rotaciones con veza C-VF y C-VE, ya que en la fecha que se siega o se entierra, la avena está ya madura y se incorpora al banco de semillas del suelo. *P. rhoeas* tiene importancia en la rotación con barbecho y en el monocultivo de cereal convencional, esto quizá sea debido a la mayor disponibilidad de nutrientes en estas dos rotaciones. Las demás hierbas tienen una importancia relativa en todas las rotaciones.

En las figuras 2 y 3, se detalla la evolución a lo largo de los 17 años en los diferentes tratamientos de las dos especies más importantes en el experimento *A. clavatus* y *L. rigidum*. El tratamiento con menor recubrimiento de *A. clavatus* es la rotación c-c por ser el que más competencia tiene con otras hierbas y el de mayor recubrimiento es en la cebada que rota con garbanzo (C-GAR). Las demás rotaciones controlan el *A. clavatus* al mismo nivel que el tratamiento con herbicida C-C e incluso mejor. Debido a las condiciones meteorológicas expuestas anteriormen-

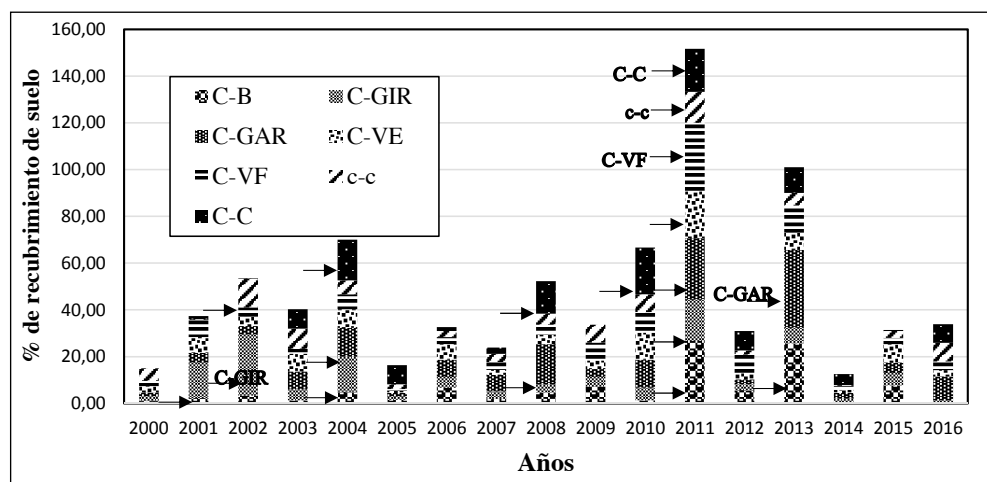


Figura 2. Evolución de *Anacyclus clavatus* (Desf.) Per. a lo largo de los 17 años. La flecha indica las rotaciones que en ese año tuvieron un recubrimiento mayor del 10%.

Tabla 2. Las 5 hierbas más importantes en cada rotación en % recubrimiento medio (17 años)

ESPECIE	Rotaciones ecológicas											A Conv		
	C-B		C-VE		C-VF		C-GAR		C-GIR		c-c		C-C	
	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub	Nº orden	% recub
<i>Anacyclus clavatus</i> (Desf.) Per.	1	6,16	1	5,87	1	6,28	1	9,25	1	6,98	2	5,44	2	7,31
<i>Lolium rigidum</i> Gaudin	4	1,79	2	5,35	2	5,25	2	7,81	3	2,52	1	12,03	1	9,71
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	2	4,82	4	3,01	4	3,07	4	2,93	2	2,86			4	1,43
<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.			3	3,36	9	0,76	3	3,56			3	4,91		
<i>Avena sterilis</i> L.			5	2,62	3	3,82					5	3,08		
<i>Papaver rhoeas</i> L.	3	3,50											3	2,27
<i>Scandix pecten-veneris</i> L.											4	4,24		
<i>Galium tricornutum</i> Dandy	5	1,43					5	1,73						
Recubrimiento suelo %		26,88		29,52		28,34		38,28		22,82		60,08		26,43
Nº de especies en los 17 años		78		81		81		87		88		78		68

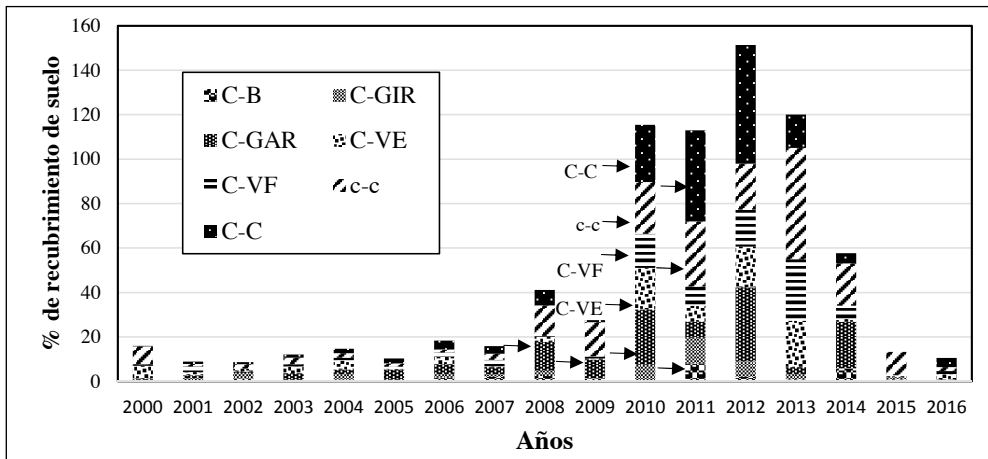


Figura 3. Evolución *Lolium rigidum* Gaudin, a lo largo de los 17 años. La flecha indica las rotaciones que en ese año tuvieron un recubrimiento mayor del 10%.

te, hay un aumento de recubrimiento en 2011 y 2013 en todas las rotaciones. A diferencia de *A. clavatus* que ha sido importante todos los años, *L. rigidum* ha sido una hierba importante entre 2010-2014. El resto de los años fue una hierba secundaria. Los monocultivos son los que peor controlan *L. rigidum*. La razón es que las rotaciones C-B y C-GIR, permiten que las labores de otoño-invierno controlen su nascencia y en el caso de C-VE y C-CF, ha sido el enterrado o la siega en primavera los que han impedido que complete su ciclo.

En un entorno que favorece la presencia de malas hierbas como es el tratamiento de monocultivo de cereal en ecológico (c-c), las hierbas se van alternando bien por factores exógenos o endógenos. Las condiciones ambientales entre 2000-2003 fueron favorables a *C. arvensis*, en 2003-2007 a *S. pecten-veneris*, 2008-2013 a *L. rigidum* y 2013-2016 a *A. sterilis*.

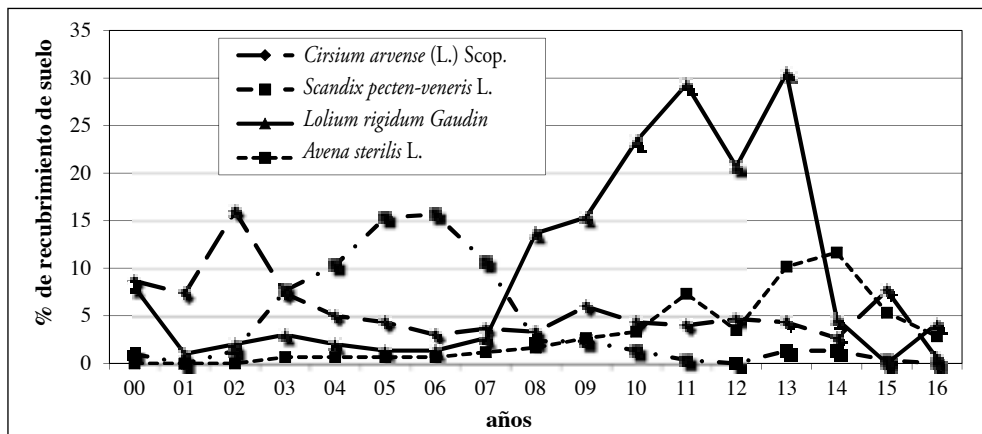


Figura 4. Evolución de cuatro hierbas en la rotación c-c, a lo largo de los 17 años.

4. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Servicio de Investigación de la Consejería de Agricultura de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha por la financiación de los experimentos de larga duración que se realizan en la finca experimental La Higuera, así como a José María Gómez Camacho y a José Ramón Vadillo por su dedicación a los trabajos experimentales de campo.

5. REFERENCIAS

- Lacasta C, Estalrich E, Meco R and Benítez M (2009). Rotaciones de cultivos herbáceos en agricultura ecológica de ambientes semiáridos y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal. XII Congreso de la SEMh, 1, 341-345.
- Lacasta C, Estalrich E, Cordero, F. (2017). Rotaciones de cultivos herbáceos en agricultura de conservación y convencional en ambientes semiáridos y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal, 33 años de experimentación. XVI Congreso de la SEMh.
- Santín Montanyá MI, Lorenzo Iñigo I, López Muñoz E, Tenorio Pasamón JL and García-Baudín JM (2009). Efecto de las rotaciones de cultivo en la flora adventicia de un campo en condiciones semiáridas. XII Congreso de la SEMh, 1, 347-350.


Rotations of herbaceous crops in ecological agriculture of semi-arid environments and their effect on the flora and cereal yield, 24 years of experimentation

Summary: In a long-term experiment (23 years) in organic agriculture of arable crops in semi-arid environments we studied the evolution of weeds and cereal yields in ecological rotations (barley-fallow, barley-forage vetch, barley-underground vetch, barley-sunflower, barley-chickpea) and in two monocultures of barley, one with chemical fertilization and another in ecological management. The results indicate that the increase of weeds and cereal yields was determined by the meteorology and management involved in the different rotations. Conventional barley monoculture has lower yields than some organic rotations.

Keywords: herbicides, dryland, cereal, vetch, sunflower.

Interacción de densidades de siembra y rotaciones de cultivos en agricultura convencional y su efecto sobre la flora arvense y el rendimiento del cereal, 24 años de experimentación

Carlos Lacasta¹, Enrique Estalrich¹, Fernando Cordero¹

¹CSIC. Museo Nacional de Ciencias Naturales. Finca Experimental «La Higuera» 45530 Santa Olalla. Toledo. España
 c.lacasta@mncn.csic.es

Resumen: En un experimento de 24 años (1992-2016) en el que se evalúa la interacción de dos formas tradicionales de control de malas hierbas, rotación de cultivos y densidades de siembra y su efecto sobre la productividad del cereal se ha realizado en los últimos 15 años (2002-2016) un seguimiento de la flora arvense. Los resultados indican que el monocultivo tiene el doble de recubrimiento de malas hierbas que las parcelas sometidas a rotación de cultivos. El efecto del herbicida se ha notado en todas las rotaciones. *Avena sterilis* está relacionada con el monocultivo y la rotación con veza forraje, y *Lolium rigidum*, solo con monocultivo. En el monocultivo hay alternancia en las especies de malas hierbas, pasando algunas de ser importantes a secundarias.

Palabras clave: herbicidas, secano, cereal, veza, girasol.

1. INTRODUCCIÓN

Este trabajo es la continuación del trabajo con el mismo título que se presentó en el XI Congreso de la SEMh (Lacasta, et al., 2007) y otro que se presentó en el VI Congreso de la SEMh (García Muriedas et al., 1997). Ahora el experimento tiene ya 24 años y el seguimiento de la flora arvense 15 años (2002-2016). Se evalúa la interacción de dos formas tradicionales de control de malas hierbas (rotación de cultivos y densidades de siembra) y su efecto sobre la productividad del cereal en las condiciones de secano semiárido.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se viene realizando desde la campaña 1992/93 en la Finca Experimental La Higuera de Santa Olalla, Toledo (40°3' N, 4°26' W, 450 m.s.n.m.), perteneciente al Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC).

El suelo es de textura arcillosa, uniforme, profundo, con una gran capacidad de retención de agua, difícil de trabajar dada su dispar consistencia en los grados extremos de humedad, la velocidad de infiltración es pequeña y los mecanismos de expansión y contracción superan las posibles consecuencias de la suela de labor.

El diseño experimental es en bloques completos al azar con tres repeticiones. Las variables fueron: tres manejos de cultivos: rotación de cebada-veza forraje (C-VF), cebada-girasol (C-GIR) y monocultivo de cebada (C-C) y cuatro manejos de densidad de siembra en el cultivo de cebada: 80 = 80 kg/ha (200 semillas/m²), 80+H = 80 kg/ha (200 semillas/m²) + herbicida, 160 = 160 kg/ha (400 semillas/m²), 240 = 240 kg/ha (600 semillas/m²). Los dos cultivos de las rotaciones se siembran todos los años. Se utilizaron los herbicidas más apropiados cada año. Los cultivares a lo largo del tiempo han variado en función de la presencia o no de la variedad empleada en el

mercado. Las cebadas fueron Nuevede, Reinnete, Volley e Icaria, la veza cv Senda y girasol cv Peredovik se han mantenido constante en el tiempo. La fertilización solo se ha aplicado en el cultivo de la cebada. La fórmula de fertilización química fue 90-45-45, el nitrógeno se hizo en dos aplicaciones iguales, una en presiembra y la otra en pleno ahijamiento.

El muestreo de malas hierbas, se realizó entre los años 2002-2016, en las parcelas de cebada y en el mes de mayo. Como las malas hierbas tienen una distribución agregada, se consideró que la medida que mejor representaría el efecto de las hierbas era la de recubrimiento del suelo, en tanto por ciento, de cada especie dentro de cada parcela y a través de una estimación visual.

Los resultados de producción fueron sometidos al análisis de la varianza, las diferencias entre tratamientos fueron separadas por medio del test de Tukey a un nivel de probabilidad de $P < 0,05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A excepción del 2002, todos los demás años los rendimientos de la cebada en rotación han sido superiores con diferencias significativas al monocultivo (Fig. 1). Los dos últimos años, 2015 y 2016, el rendimiento de la cebada en rotación con veza ha tenido un comportamiento similar al monocultivo, por el aumento de *Avena sterilis*. El recubrimiento total de Mh en el experimento ha sido importante y superior al 30% los años 2003, 2004, 2010, 2011, 2013 y 2014 (Fig 2 y tabla 1), los años con menor recubrimiento de hierba han sido 2009 y 2012 este último, fue el año más seco de los últimos 69 años. Se observa que los años secos (1995, 1999, 2005 y 2012) inciden negativamente en los rendimientos de cebada, otros años es el efecto del monocultivo, de las malas hierbas o simplemente mala distribución de las precipitaciones como los años 1993, 2001, 2014, 2015 y 2016 (Fig. 1).

El efecto del herbicida (80+H) se ha notado en todas las rotaciones, dando un recubrimiento menor en relación a las otras densidades de la misma rotación (Tabla 2). Con respecto a las densidades de siembra, no hay gran diferencia en el número de especies por tratamiento. En el manejo de monocultivo de cebada el recubrimiento de hierba es muy superior a los encontrados en el cultivo de cebada en rotación con otro cultivo. El manejo que mejor controla las malas hierbas, en el cultivo de cebada, es cuando se rota con girasol, teniendo estas una presencia prácticamente testimonial.

La densidad de siembra influye en los rendimientos de cebada en función de la rotación (Fig. 3). En la rotación con girasol la densidad baja (80) tienen un menor rendimiento de un 13% con respecto a la densidad de 240 kg/ha, pero cuando se utiliza herbicida en la densidad baja (80+H) la diferencia solo es del 6% en los datos medios, y con diferencias significativas un año a favor del tratamiento 80+H (93-94) y otro año a la densidad más alta de 240 kg/ha de siembra (95-96). En la rotación con veza forraje la pérdida de rendimientos es de un 24% en la densidad de 80 kg/ha cuando se compara con las densidades más altas, y se debe un 10% al número de plantas por m², este valor se obtiene al comparar la densidad de 80+H con la de 160 y 240 kg/ha y un 13% por la competencia de la hierba, que se obtiene de comparar los tratamientos de densidad 80+H y 80. En monocultivo, en el tratamiento con herbicida (80+H) es donde se obtiene mayor rendimiento, dando un rendimiento medio superior del 29 % con respecto al tratamiento de 80 kg/ha, de un 10% en relación al tratamiento de 160 kg/ha y de un 6% con respecto al tratamiento de 240 kg/ha y solo hay cuatro años con diferencias significativas, por tanto, la disminución de rendimiento, más de un 50%, entre este manejo y el de la cebada en rotación, se debe principalmente al mal control de hierba en este manejo, a pesar del tratamiento de herbicida.

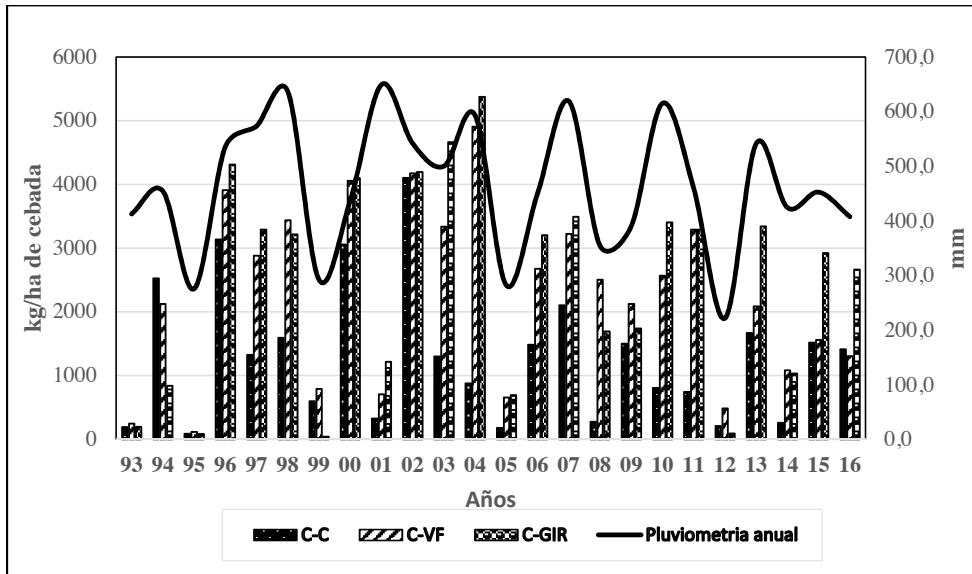


Figura 1. Evolución de los rendimientos de cebada en el experimento y de la pluviometría a lo largo de los 24 años.

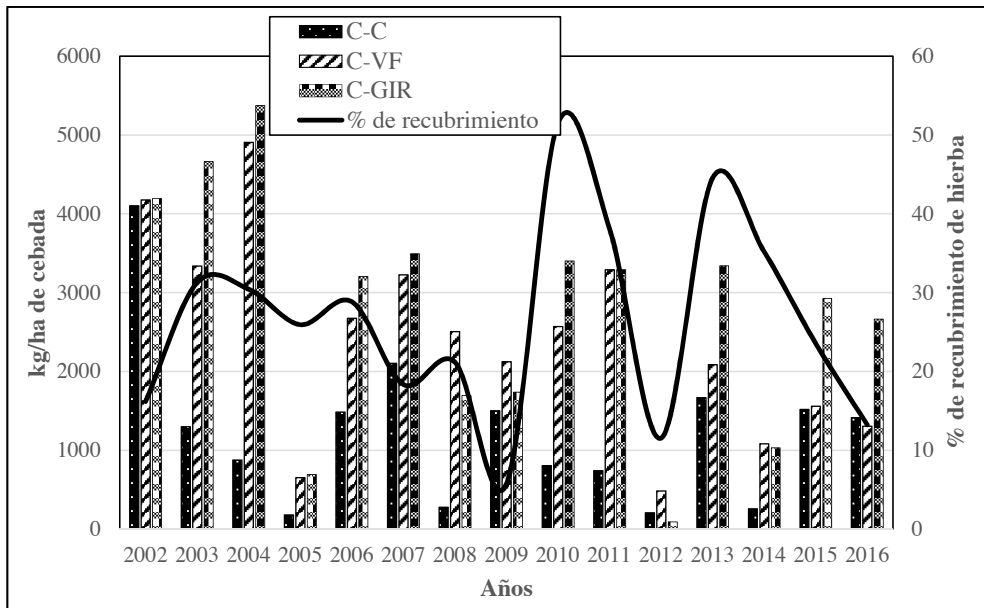


Figura 2. Evolución de los rendimientos de cebada en el experimento y de las malas hierbas a lo largo de los 15 años.

Tabla 1. Recubrimiento del suelo por malas hierbas en tanto por ciento en diferentes tratamientos

Años	Monocultivo de cebada				Rotación cebada-veza forraje				Rotación cebada-girasol			
	80+H	80	160	240	80+H	80	160	240	80+H	80	160	240
01-02	25	32	14	16	8	27	17	13	8	5	3	6
02-03	46	82	66	58	7	21	22	19	9	12	5	5
03-04	49	66	63	71	15	21	28	22	4	10	8	8
04-05	13	66	56	70	11	25	22	19	6	13	6	4
05-06	28	54	43	42	16	67	38	34	2	4	7	9
06-07	31	43	51	46	2	9	6	9	4	8	7	4
07-08	45	50	42	50	9	12	17	12	5	4	4	4
08-09	3	21	21	17	3	3	0	0	0	0	0	1
09-10	27	65	43	46	39	52	35	10	31	38	25	27
10-11	55	79	89	81	14	31	22	23	6	16	9	17
11-12	27	31	13	10	1	40	10	2	1	2	1	1
12-13	33	86	54	56	18	32	23	35	27	49	39	19
13-14	67	96	80	72	14	20	4	9	8	18	9	5
14-15	21	59	49	32	10	45	29	11	3	10	8	6
15-16	3	31	29	16	3	26	26	16	1	3	3	2
Nº especies	46	47	50	49	45	50	45	44	45	48	49	45
Media	38	57	48	46	11	29	20	16	8	13	9	8
%	100	150	126	121	29	76	53	42	21	34	24	21

Nota: El sombreado de la celda indica el tratamiento que ha sido más afectado por la casuística de ese año y donde los rendimientos han disminuido. En la mayoría de los casos hay una coincidencia entre disminución de cosecha y presencia de malas hierbas. Hay dos casos en que a pesar de tener un recubrimiento cercano al 40%, no ha ido acompañado por una disminución de cosecha (celdas con sombreado negro y número en blanco).

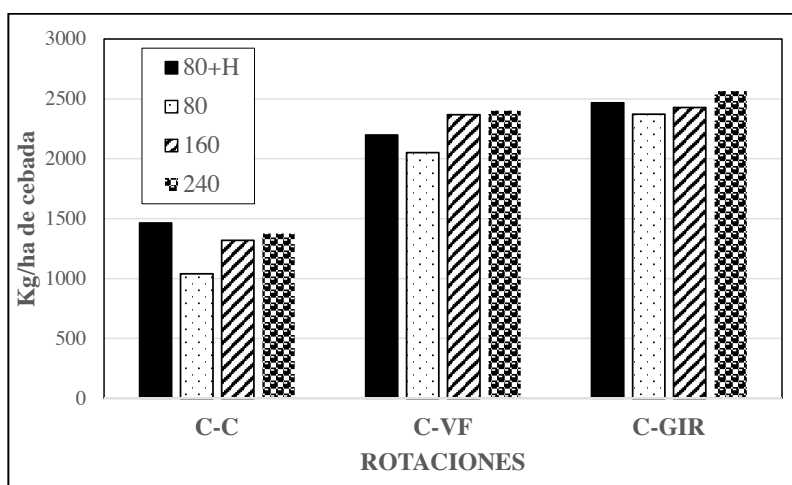


Figura 3. Medias de rendimiento de 24 años de cebada en diferentes rotaciones con diferentes densidades de siembra de cebada en kg/ha.

Las dos especies más importantes en el experimento han sido *Avena sterilis* L. y *Lolium rigidum* Gaudin (Figs. 4 y 5). La presencia de *Avena sterilis* en la rotación C-GIR es testimonial mientras en los otros dos tratamientos su presencia es importante afectando a los rendimientos en las densidades bajas de siembra. González Ponce et al. (1991), encontraron que cuando aumentaba las densidades de siembra, disminuía significativamente el crecimiento y la producción de semillas. *Lolium* es importante en monocultivo. Es natural que encuentre mejores condiciones para su expansión en cultivos pertenecientes a la misma familia con características similares en cuanto a ciclo y necesidades; siendo ésta una razón que pueda justificar su mayor presencia en parcelas con monocultivo de cebada (Dorado et al., 1997).

En la figura 6, se aprecia en el tratamiento de monocultivo de cebada, la rotación de hierbas en el tiempo. Las hierbas importantes entre 2002 a 2007 fueron: *Galium tricornutum*, *Torilis nodosa* y *Scandix pecten-veneris*, es a partir de 2008 donde *Lolium rigidum*, empieza a ser importante y a partir de 2010 *Avena sterilis*, desplazando a *Galium*, *Torilis* y *Scandix*.

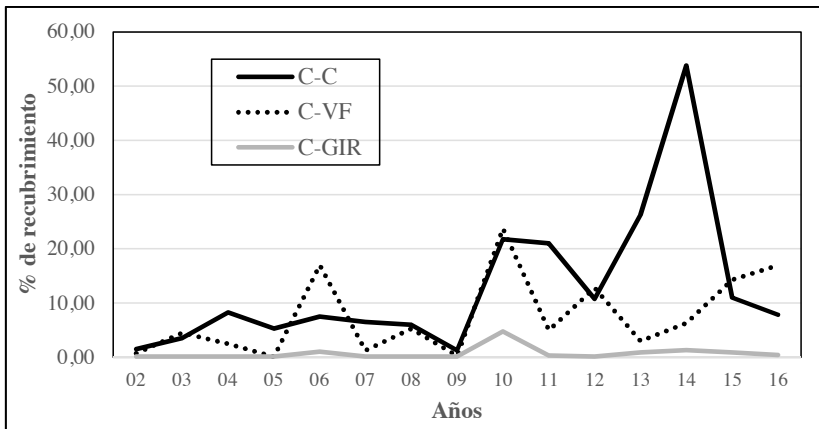


Figura 4. Evolución de *Avena sterilis* L. a lo largo de los 15 años en monocultivo de cebada (C-C) y en las rotaciones cebada-veza forraje (C-VF) y cebada girasol (C-GIR).

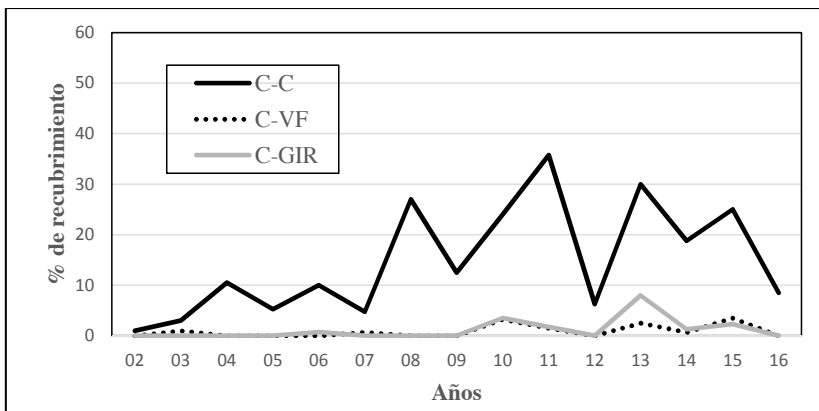


Figura 5. Evolución de *Lolium rigidum* Gaudin a lo largo de 15 años, donde se observa que solo en el monocultivo de cebada es una hierba importante.

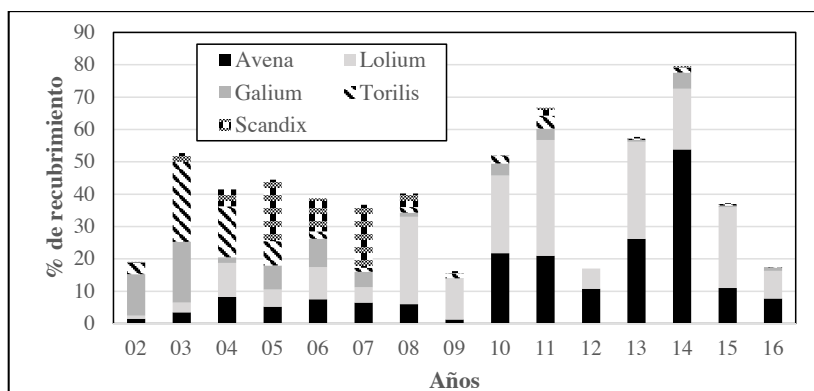


Figura 6. Evolución de las 5 hierbas más importantes en el monocultivo de cebada. Donde se aprecia que hay 4 años (2002, 2009, 2012 y 2016) con infestaciones de Mh inferiores a 20%.

4. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Servicio de Investigación de la Consejería de Agricultura de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha por la financiación de los experimentos de larga duración que se realizan en la finca experimental La Higuera, así como a José María Gómez Camacho y a José Ramón Vadillo, por su dedicación a los trabajos experimentales de campo.

5. REFERENCIAS

- Dorado J, del Monte JP and López-Fando C (1997). Efectos de la rotación de cultivos y los sistemas de laboreo sobre la flora arvense en ambiente semiárido. VI Congreso de la SEMh, 41-46.
- García Muriedas G, Estalrich E, Lacasta C and Meco R (1997). Efecto de las rotaciones de cultivos herbáceos de secano sobre las poblaciones de adventicias. VI Congreso de la SEMh, 33-36.
- González Ponce R, Salas ML, Herce A, Lacasta C and Molina F (1991). Competencia diferencial de dos variedades de cebada a diversas dosis de siembra con *Avena sterilis* ssp. macrocarpa Mo. II Congreso de la SEMh, 92-96.
- Lacasta C, Estalrich E, Meco R and Benítez M (2007). Interacción de diferentes escardas y fertilizaciones sobre el control de la flora arvense y el rendimiento del cereal. XI Congreso de la SEMh, 197-202.

Interaction of seed densities and crop rotations in conventional agriculture and its effect on weeds and cereal yield, 24 years of experimentation

Summary: In a 24 years experiment (1992-2016) in which we evaluated the interaction of two traditional forms of weed control, crop rotation and seed densities and their effect on cereal productivity, in the last 15 years (2002-2016) a monitoring of the weeds. The results indicate that monoculture has twice as much weed overlay as plots subject to crop rotation. The effect of the herbicide has been noted at all rotations. *Avena sterilis* is related to monoculture and rotation forage vetch and *Lolium rigidum* only with monoculture. In monoculture there is alternation in weed species, going from being important to secondary.

Keywords: herbicides, dryland, cereal, vetch, sunflower.

Emergencia de teosinte en cultivos diferentes a maíz

Alicia Cirujeda^{1✉}, Gabriel Pardo¹, Ana Isabel Marí¹, Santiago Fuertes², Joaquín Aibar³

¹Unidad de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930; 50059 Zaragoza, Spain

²Centro de Sanidad y Certificación Vegetal. Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza

³Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). ✉ cirujeda@aragon.es

Resumen: En este trabajo se presentan los resultados del seguimiento de parcelas con elevada infestación de la mala hierba invasora *Zea mays* spp. *mexicana ad. int.* (teosinte) en las que se han sembrado cultivos diferentes al maíz para poder controlar mejor esta especie. Se han visitado 13 parcelas desde junio 2015 hasta septiembre 2016. La mayoría de parcelas fueron sembradas con alfalfa en junio 2015 después de cultivar cebada o bien en septiembre tras guisante. Se observa una rápida reducción en el número de plantas de teosinte emergidas en el tiempo especialmente al incluir guisante en la rotación y no se observan plantas adultas dentro de la alfalfa, al ser eliminadas con las siegas. No obstante, preocupa la presencia de individuos junto a estructuras de riego y en márgenes, que no siempre son eliminados, por lo que hay que extremar las precauciones para evitar la resiembra.

Palabras clave: rotaciones de cultivo, siega, plantas invasoras, guisante, cebada, alfalfa, proyecto E-RTA.

1. INTRODUCCIÓN

En agosto de 2014 técnicos del Centro de Sanidad y Certificación Vegetal de Aragón (CSCV) y del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA) tuvieron conocimiento de la existencia de una nueva gramínea en algunos campos de maíz en el valle del Ebro (DGA, 2014). Las visitas a parcelas afectadas confirmaron que se trataba de *Zea mays* spp. *mexicana ad. int.* (teosinte). La gran similitud biológica del teosinte con el cultivo de maíz imposibilita el uso de herbicidas eficaces para su control que sean selectivos para el cultivo. Además, el gran parecido de las plántulas complica la detección precoz y el desherbado manual dentro del cultivo. Su capacidad competitiva es muy elevada pudiendo reducir la cosecha hasta un 60% según los resultados de ensayos realizados en México (Balbuena et al., 2009).

Por ello, después de las primeras reuniones con técnicos de ATRIAS, representantes de cooperativas, etc. la Dirección General de Alimentación y Fomento Agroalimentario del Gobierno de Aragón estableció una serie de medidas fitosanitarias cautelares siendo de obligado cumplimiento por parte de los agricultores afectados. Entre estas medidas se encuentran, para aquellas parcelas que muestran una afección alta de teosinte, la prohibición de sembrar maíz o sorgo durante tres años y la práctica del pastoreo. En las parcelas con baja afección se permite la siembra de maíz pero se obliga a controlar cualquier emergencia de teosinte y a limpiar las cosechadoras y empacadoras tras realizar los trabajos de recolección. En todo caso, se debe eliminar cualquier planta de teosinte que vaya apareciendo, no solo en la parcela sino, además, en cunetas, márgenes, bordes de caminos, etc. En el año 2015 estaban afectadas por la resolución 72 parcelas correspondientes a 685 ha y en 2016 14 parcelas nuevas más siendo la superficie total afectada de 797 ha. Se ha considerado esencial la visita periódica de algunas de las parcelas afectadas para poder evaluar la eficacia de la medida. El objetivo de esta comunicación es presentar los resultados de las emergencias observadas en las parcelas seleccionadas para tal efecto.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el año 2015 se seleccionaron 13 parcelas del término municipal de Candanos (Huesca, Aragón). En 10 de ellas se había detectado teosinte en 2014 con una afección considerada «alta» obligando a cambiar de cultivo. En otras tres se detectó teosinte durante 2015 (Tabla 1). Dentro del primer grupo, 2 parcelas fueron sembradas directamente con alfalfa en la primavera después de cosechar el maíz; en 4 parcelas se sembró cebada en el invierno después de cosechar el maíz y posteriormente se implantó la alfalfa y en las 4 restantes se sembró guisante y posteriormente alfalfa (Tabla 1). De las 3 parcelas escogidas en las que se detectó teosinte en el maíz sembrado en 2015 una de ellas mantuvo este cultivo (afección baja de teosinte y arrancado manual), en otra se sembró alfalfa en primavera de 2016 y en la tercera se sembró cebada en invierno 2015 sin implantar ningún cultivo posteriormente. Pese a esta diversidad de manejos, en la mayoría de parcelas se ha implantado alfalfa y donde no, se ha realizado una eliminación manual o bien mecánica de las plántulas de teosinte emergidas.

Tabla 1. Historial de cultivo de las diferentes parcelas muestreadas; s: siembra, inv.: invierno

Parcela	Cultivo en 2015	Cultivo en 2016
1	Alfalfa (s. primavera)	Alfalfa
2	Alfalfa (s. primavera)	Alfalfa
3	Cebada (s. inv. 2014), alfalfa (s. verano 2015)	Alfalfa
4	Cebada (s. inv. 2014), alfalfa (s. verano 2015)	Alfalfa
5	Cebada (s. inv. 2014), alfalfa (s. verano 2015)	Alfalfa
6	Cebada (s. inv. 2014), alfalfa (s. verano 2015)	Alfalfa
7	Guisante (s. inv. 2014), alfalfa (s. verano 2015)	Alfalfa
8	Guisante (s. inv. 2014), alfalfa (s. verano 2015)	Alfalfa
9	Guisante (s. inv. 2014), alfalfa (s. verano 2015)	Alfalfa
10	Guisante (s. inv. 2014), alfalfa (s. verano 2015)	Alfalfa
11	Maíz (detección de teosinte en 2015)	Maíz
12	Maíz (detección de teosinte en 2015)	Alfalfa (s. primavera 2016)
13	Maíz (detección de teosinte en 2015)	Cebada (s. inv. 2015), rastrojo 2016

Las parcelas fueron visitadas en junio y septiembre de 2015 y en mayo, junio y septiembre de 2016. En las primeras dos visitas se contabilizaron las plantas emergidas en cuatro puntos de muestreo fijos por parcela, pero la escasa presencia de plantas emergidas en posteriores visitas obligó a cambiar el sistema de evaluación asignando un valor de peligrosidad de la infestación asignado según la escala mostrada en tabla 1. Se ha considerado baja peligrosidad la presencia de plantas en los márgenes o líneas de aspersores y también la presencia de plantas con semillas inmaduras. Por lo contrario, se considera alta peligrosidad la presencia de plantas dentro del cultivo y, especialmente la presencia de plantas con semillas viables (Tabla 2).

Tabla 2. Escala descriptiva de la peligrosidad de las infestaciones de teosinte utilizada para describir la infestación de teosinte en parcelas seleccionadas para realizar un seguimiento de la presencia de esta mala hierba

Valor	Descripción
0	No se observan plantas de teosinte ni en el campo, ni en las líneas de aspersores ni en los márgenes.
1	Se encuentra alguna planta aislada en líneas de aspersores o en márgenes (sin semillas viables).
2	Se encuentran numerosas plantas en líneas de aspersores o en márgenes (sin semillas viables).
3	Se encuentra alguna planta dentro del campo (sin semillas viables).
4	Se encuentra alguna planta aislada en líneas de aspersores o en márgenes con semillas viables.
5	Se encuentran numerosas plantas en líneas de aspersores o en márgenes con semillas viables.
6	Se encuentran numerosas plantas dentro del campo sin semillas viables.
7	Se encuentra alguna planta dentro del campo con semillas viables.
8	La infestación alcanza más de un 10% de la superficie de la parcela con plantas con o sin semillas viables.
9	La infestación alcanza más de un 20% de la superficie de la parcela con plantas con o sin semillas viables.
10	La infestación alcanza más de un 30% de la superficie de la parcela con plantas con o sin semillas viables.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En general, se ha observado un descenso en las infestaciones por teosinte y en la peligrosidad de las mismas a lo largo del tiempo en la mayoría de parcelas, aunque se observan ciertos repuntes (Fig. 1). Cabe recalcar que no se han vuelto a encontrar plantas con semillas viables ni infestaciones preocupantes dentro de ninguno de los campos (valores de 6 o menores). Durante el año 2016 (dos años después de las infestaciones elevadas que provocaron la prohibición de siembra de maíz) en un caso (7% de los campos muestreados) se encontraron numerosas plantas dentro del campo (sin semillas viables), en 36% de los campos se encontró alguna planta dentro del cultivo (sin semillas viables), en 29% de los campos no se observaron plantas de teosinte, en un campo (7%) se encontró alguna planta de teosinte aislada en líneas de aspersores y en otro campo (7%), numerosas plantas en líneas de aspersores y márgenes.

Comparando la evolución agrupando campos que han seguido una misma secuencia de cultivos se observa como las diferentes densidades iniciales lógicamente condicionan la posterior evolución. Por ejemplo, en los campos sembrados con alfalfa directamente se observa como en uno de ellos la emergencia y peligrosidad decrece más rápidamente que en el otro, en el que la infestación inicial fue más elevada (en la Fig. 1 se muestra la media). En las parcelas sembradas con cebada antes de implantar la alfalfa se observa que partiendo de infestaciones importantes (nivel 8) en 3 de los 4 casos la reducción ha sido más rápida en unos casos que en otros. El motivo de estas diferencias es probablemente el mayor o menor interés que se toman los agricultores en retirar plantas de teosinte de las proximidades de aspersores o de los márgenes o de su habilidad de segar la alfalfa acercándose más o menos a los aspersores, ya que la siega de la alfalfa reduce mucho la posibilidad de que las plantas de teosinte terminen su ciclo.

En el caso de los guisantes es llamativo que la densidad de partida de los muestreos tras cosechar el guisante fue muy baja en las 4 parcelas muestreadas (plantas ausentes en las 4 parcelas en

junio 2015) (Fig. 1). Esto posiblemente sea debido a que este cultivo haya favorecido la germinación del teosinte al tratarse de un cultivo con escasa y lenta cobertura del suelo, en comparación con la densa cobertura producida por el cereal, posibilitando mayores emergencias de teosinte en primavera y entre los meses de junio a septiembre reduciendo el banco de semillas. Estas plantas emergidas fueron eficazmente controladas con herbicidas antigramíneas autorizados en guisante (Pardo et al., 2017). Después de la primera valoración, en las cuatro parcelas el grado de infestación ascendió a nivel 3 y posteriormente decreció a nivel 0 en 3 de las cuatro parcelas.

Dentro de los campos la presencia de plantas de teosinte generalmente se ha observado en zonas menos pobladas de alfalfa, por lo que parece que la ausencia de luz inhibe su germinación. No obstante, en un par de campos con una densidad de teosinte inicial particularmente elevada sí que se han observado plantas de teosinte creciendo junto a plantas de alfalfa de mucho vigor, por lo que no se descarta la germinación de la mala hierba incluso en condiciones de poca luz y competencia.

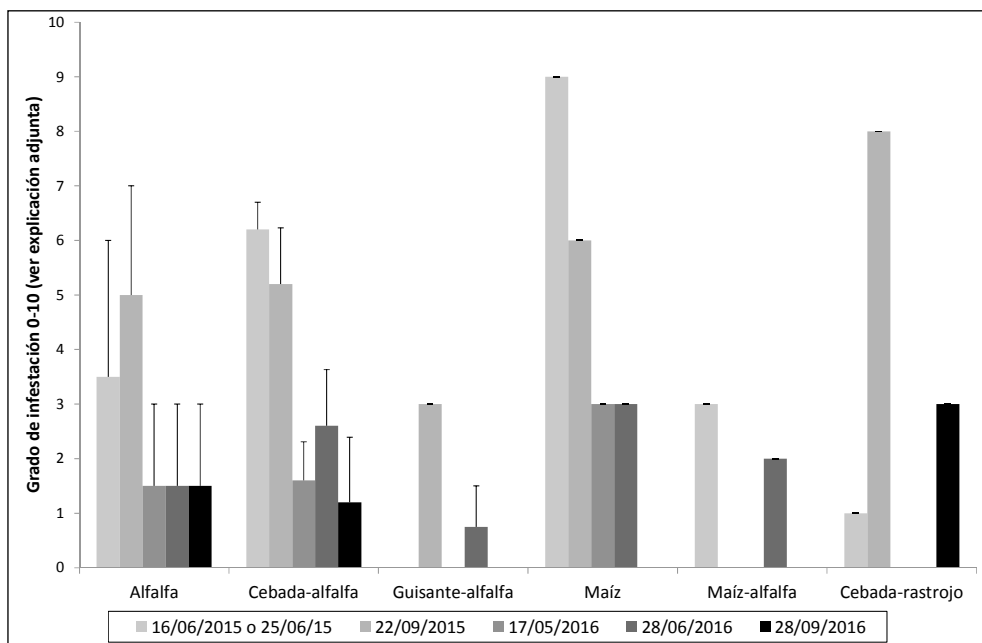


Figura 1. Grado de infestación de teosinte observado en 14 parcelas durante los muestreos realizados en 2015 y 2016. Todas las parcelas han estado sembradas de maíz en 2014. Media de dos parcelas de alfalfa, cuatro de cebada-alfalfa y cuatro de guisante-alfalfa con barras de error estándar. Alfalfa: sembrada en primavera 2015; cebada-alfalfa: cebada sembrada en invierno 2014 y alfalfa en verano 2015; guisante-alfalfa: guisante sembrado en invierno 2014 y alfalfa en verano 2015; maíz: monocultivo con baja infestación de teosinte; maíz-alfalfa: maíz en 2015 y siembra de alfalfa en primavera 2016; cebada-rastrujo: maíz en 2015, cebada en invierno 2015, posteriormente rastrojo.

Es importante recalcar que las plantas de teosinte observadas durante las prospecciones dentro de los campos han estado en la mayoría de los casos en estado vegetativo, ya que las siegas periódicas de la alfalfa que se producen aproximadamente mensualmente, no permiten a estas plantas terminar su ciclo. Una excepción fue el caso de dos parcelas, con un gran banco de

semillas que, pese a estar fuera del período considerado óptimo de emergencia de teosinte en septiembre, dieron lugar a plantas de teosinte tras la siembra de alfalfa y alcanzaron su madurez reproductiva muy pronto con un cultivo todavía poco desarrollado. Afortunadamente, la alfalfa y las plantas de teosinte con semillas todavía inmaduras, fueron segadas sin aportar nuevas semillas fértiles al banco de semillas. Resaltamos estos casos para remarcar que la siembra de otro cultivo por sí misma no resuelve el problema de la presencia de teosinte sino que necesita el acompañamiento de técnicas agronómicas adecuadas para evitar la resiembra y reducir las infestaciones. En los aspersores y márgenes de los campos se han encontrado plantas con espigas inmaduras, las cuales fueron arrancadas manualmente. Cabe insistir a los agricultores la importancia de eliminar estas plantas para evitar una reinfestación de los campos.

4. AGRADECIMIENTOS

A Fernando Arrieta, José Ángel Alins y Jorge Pueyo. Este trabajo ha sido financiado por el proyecto E-RTA2014-00011-C02.

5. REFERENCIAS

- Balbuena, A., González, A., Pérez, D.J., Franco, A.L. and Sánchez, S. (2009). Germinación y emergencia del teocintle con otras especies cultivables. Facultad de Ciencias Agrícolas, Universidad Autónoma del Estado de México. *XXX Congreso de la ASOMECIMA, Culiacán, Sinaloa, México*, del 19 al 23 de octubre de 2009.
- DGA (2014). http://www.aragon.es/estaticos/GobiernoAragon/Departamentos/AgriculturaGanaderiaMedioAmbiente/TEMAS_AGRICULTURA_GANADERIA/Areas/03_Sanidad_Vegetal/PUBLICACIONES_CSCV/I_F_TEOSINTE.pdf.
- Pardo, G., Fuertes, F., Marí, A., Aibar, J., Cirujeda, A. (2017). Evaluación de distintos herbicidas en el control de teosinte en cultivos diferentes al maíz. *XVI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Pamplona-Iruña*, 2017. Aceptado para su publicación.

Emergence of teosinte in crops different to maize

Summary: This work describes the changes observed in emergence of the invasive weed *Zea mays* spp. *mexicana* ad. *int.* (teosinte) in plots sown with other crops than maize to better control this species. 13 plots have been visited from June 2015 to September 2016. Most of the plots were sown with alfalfa in June 2015 after cropping barley or in September after peas. A fast reduction in the emergence of teosinte plants has been observed in time especially when peas were included in the rotation and no adult plants were detected inside the alfalfa crop as they are eliminated by mowing. However, the presence of individual plants next to irrigation structures and in field edges which are not always eliminated are a concern and preventive measures need to be taken to avoid re-sowing of the weed.

Keywords: crop rotations, mowing, invasive plants, peas, barley, alfalfa, Project E-RTA.

Estabilidad espacio-temporal de la flora arvense en cereal

Jordi Izquierdo^{1✉}, Barbara Baraibar², Aritz Royo-Esna³, Joel Torra³, Jordi Recasens³

¹Escola Superior d'Agricultura, UPC, C/ Esteve Terradas, 8. 08860-Castelldefels

²Penn State University, State College, Pennsylvania 16802, USA

³Dept. HBJ. Agrotecnio. Universitat de Lleida, 25198-Lleida

✉jordi.izquierdo@upc.edu

Resumen: Se ha estudiado, durante tres años, la distribución espacial de la flora arvense en campos con laboreo mínimo y en siembra directa. Se ha estimado su cobertura en cuadrados de 1 m² situados en una malla de 10x10 m analizándola a través de variogramas en dos direcciones, y su estabilidad temporal a través de pseudo-variogramas omnidireccionales. Los resultados indican que la flora arvense de los campos de siembra directa muestra un mayor grado de agregación que la del laboreo mínimo, con una mayor dependencia espacial en la dirección de la cosechadora. En ambos sistemas de manejo del suelo la estabilidad espacio-temporal resulta poco consistente, siendo necesario realizar un estudio por especie.

Palabras clave: Siembra directa, laboreo mínimo, rodal, pseudo-variograma, cobertura, flora arvense.

1. INTRODUCCIÓN

La realización de tratamientos localizados para el control de las poblaciones arvenses en campos de cereal requiere de un sistema de localización de los rodales que sea efectivo y de bajo coste. Actualmente se están realizando muchos estudios sobre detección de hierbas in situ mediante sensores colocados en el tractor (Gerhards and Christensen, 2003) o bien mediante fotos o imágenes realizadas por algún dispositivo aéreo (López-Granados et al., 2016) que en todos los casos permiten elaborar mapas de distribución que son incorporados al ordenador de a bordo para que éste active o no los pulverizadores cuando el tractor pasa por la zona donde está el rodal. Sin embargo, los sensores en tiempo real, si bien discriminan bien lo que es suelo desnudo de planta tienen problemas para discriminar entre flora arvense y cultivo si ambos tienen la misma o semejante arquitectura foliar (Giselsson et al., 2013). Por lo que hace referencia a la elaboración de mapas de infestación a partir de imágenes aéreas, también se requiere de un tratamiento de las imágenes, apareciendo los mismos problemas que en el caso de utilizar sensores. La elaboración de mapas a partir de un muestro de campo proporciona datos mucho más precisos de la distribución de las especies pero es más costoso, pues requiere más tiempo y mano de obra. En ambos casos el coste podría ser asumible si los mapas de distribución mantuvieran su vigencia varios años sin variar significativamente (Colbach et al., 2000).

Muchos estudios de estabilidad espacio-temporal de rodales se han realizado en campos en los que se realiza laboreo del suelo. El laboreo tiende a homogeneizar la distribución de las semillas en el suelo por arrastre (Marshall and Brain, 1999), por lo que en teoría es más difícil detectar rodales o zonas de mayor densidad de plantas. Otro sistema de manejo del suelo bastante utilizado en cereales es la siembra directa. En ella apenas hay remoción del suelo, por lo que el efecto dispersivo del laboreo sobre las semillas desaparece y es esperable encontrar un mayor grado de agregación. En esta situación, los mapas de distribución espacial elaborados, ya sea a partir de muestreos en campo o de una imagen aérea, podrían tener un periodo de vigencia mucho mayor que en el caso del laboreo convencional o laboreo mínimo, abaratándose los costes.

Los objetivos del presente trabajo son: 1) comprobar la hipótesis de un mayor grado de agregación de las plantas arvenses en siembra directa en relación al laboreo mínimo, y 2) estudiar la estabilidad espacio-temporal de los rodales en ambos sistemas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Diseño experimental. En primavera de los años 2012, 2013 y 2014 se muestrearon tres campos de cereal con laboreo mínimo (LM: Balaguer, Bellmunt y Vilanova de Bellpuig) y cuatro con siembra directa (SD: Agramunt, Bellmunt, Mas de Melons y Vilanova de Bellpuig). Los campos con siembra directa tenían una antigüedad de un mínimo de 3 años con este sistema. El muestreo se realizó en forma de malla de 10 m x 10 m adaptada a la geometría de cada campo, dando una superficie muestreada total de unos 10.000 m². Al año siguiente se restituía la malla con GPS. En cada punto de la malla se colocaba un cuadrado de 1 m² y se estimaba el porcentaje ocupado por el conjunto de especies arvenses presentes en su interior.

2.2. Análisis estadístico. Para determinar el grado de agregación de la flora arvense, se estimó su distribución espacial mediante semivariogramas calculados según la dirección del paso de la maquinaria (laboreo y/o cosecha) y perpendicular a ella. A estos variogramas experimentales se les ajustaron modelos esféricos y se determinaban sus parámetros (meseta, pepita y rango). Para el estudio de la estabilidad espacio-temporal, se calcularon los pseudo-variogramas entre años, siguiendo una metodología semejante a la propuesta por Webster y Oliver (2000), en la cual se calculan las diferencias entre parejas de puntos de muestreo de años diferentes situados a una misma distancia y estas diferencias se representan gráficamente para cada distancia analizada para construir el pseudo-variograma. Una vez obtenido el pseudo-variograma experimental, se ajusta un modelo. En nuestro caso, se ajustaron modelos esféricos y se determinaron sus parámetros. Para cada variograma y pseudo-variograma creado se calculó el índice de Dependencia Espacial (IDE) según Cambardella y Cambdell (1999). Los variogramas y los modelos ajustados se realizaron con GENSTAT y los pseudo-variogramas y sus modelos con MatLab.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Características de la distribución espacial de la flora arvense en campos de siembra directa y laboreo mínimo. En los campos con siembra directa se observó que la flora arvense tenía una distribución agregada en al menos una de las direcciones analizadas. Esta dirección coincidía con la dirección de movimiento de la cosechadora. En localidades como Bellmunt, en 2012, y Mas de Melons, todos los años, se observó además dependencia espacial en ambas direcciones. En los campos con laboreo mínimo se detectó menos dependencia espacial: solo un año en Balaguer aunque en ambas direcciones y dos en Bellmunt en una misma dirección. La tercera localidad, Vilanova de Bellpuig, presentó agregación los tres años en la misma dirección. En todas las localidades siempre se observó dependencia espacial en la dirección del laboreo y la cosecha (Tabla 1). El efecto dispersivo y homogeneizador del laboreo sobre las semillas de arvenses probablemente determinó que se pudieran ajustar un menor número de modelos a los variogramas en Balaguer, Bellmunt y Vilanova de Bellpuig debido a la falta de dependencia espacial. En cambio, en los campos con siembra directa se encontró siempre, y como mínimo, una

dirección de dependencia espacial que se mantuvo constante los tres años y que coincidía con la dirección de la cosechadora. Aunque la cosechadora contribuye también a dispersar las semillas, hasta 18 m según Blanco-Moreno et al. (2004), su efecto homogeneizador ha sido menor que el del laboreo, hecho que ha permitido mantener una cierta dependencia espacial.

Tabla 1. Parámetros de los modelos esféricos ajustados a los variogramas experimentales en cada uno de los campos muestreados. Solo se muestran las localidades y años en los que se ha podido ajustar un modelo. *IDE: Índice de dependencia espacial; A: alta; M: moderada; B: baja. SD: siembra directa. LM: laboreo mínimo

Localización	Año	Dirección	Pepita	Meseta	Rango	IDE*
Agramunt SD	2011	Este-Oeste	0,038	0,104	53,1	36,5 (M)
	2012	Este-Oeste	0,016	0,028	50,4	56,4 (M)
	2013	Este-Oeste	0,012	0,033	29,1	36,4 (M)
Bellmunt SD	2011	Norte-Sur	0,078	0,218	96,1	35,8 (M)
	2012	Norte-Sur	0,014	0,071	44,3	19,7 (A)
		Este-Oeste	0,069	0,088	34,8	78,4 (B)
	2013	Norte-Sur	0	0,47	38,8	0 (A)
Mas de Melons SD	2011	Norte-Sur	0,124	0,177	54,1	70,0 (M)
		Este-Oeste	0,056	0,138	53,99	40,6 (M)
	2012	Norte-Sur	0,035	0,133	43,1	26,3 (M)
		Este-Oeste	0,073	0,094	33,2	77,7 (B)
	2013	Norte-Sur	0,022	0,084	18,2	26,2 (M)
		Este-Oeste	0,035	0,073	28,3	47,9 (M)
Vilanova SD	2011	Norte-Sur				
	2012	Norte-Sur	0,056	0,165	29,1	33,9 (M)
	2013	Norte-Sur	0,136	0,198	66,3	68,7 (M)
Balaguer LM	2013	Norte-Sur	0,077	0,121	30,4	63,6 (M)
		Este-Oeste	0,046	0,114	18,0	40,4 (M)
Bellmunt LM	2011	Este-Oeste	0,002	0,027	56,6	7,4 (A)
	2012	Este-Oeste	0,069	0,088	34,8	78,4 (B)
Vilanova LM	2011	Norte-Sur	0,039	0,108	49,4	36,1 (M)
	2012	Norte-Sur	0,035	0,104	39,5	33,7 (M)
	2013	Norte-Sur	0,060	0,220	27,2	27,3 (M)

3.2. Estabilidad espacio-temporal de la distribución espacial de la flora arvense en campos de siembra directa y laboreo mínimo. La distribución espacial de la flora arvense no fue estable ni en el espacio ni en el tiempo, de forma consistente, en la mayoría de localidades. Si bien hay pseudo-variogramas en las localidades con siembra directa que tienen un modelo con una pendiente inicial que indica que hay una relación moderada entre algunos años

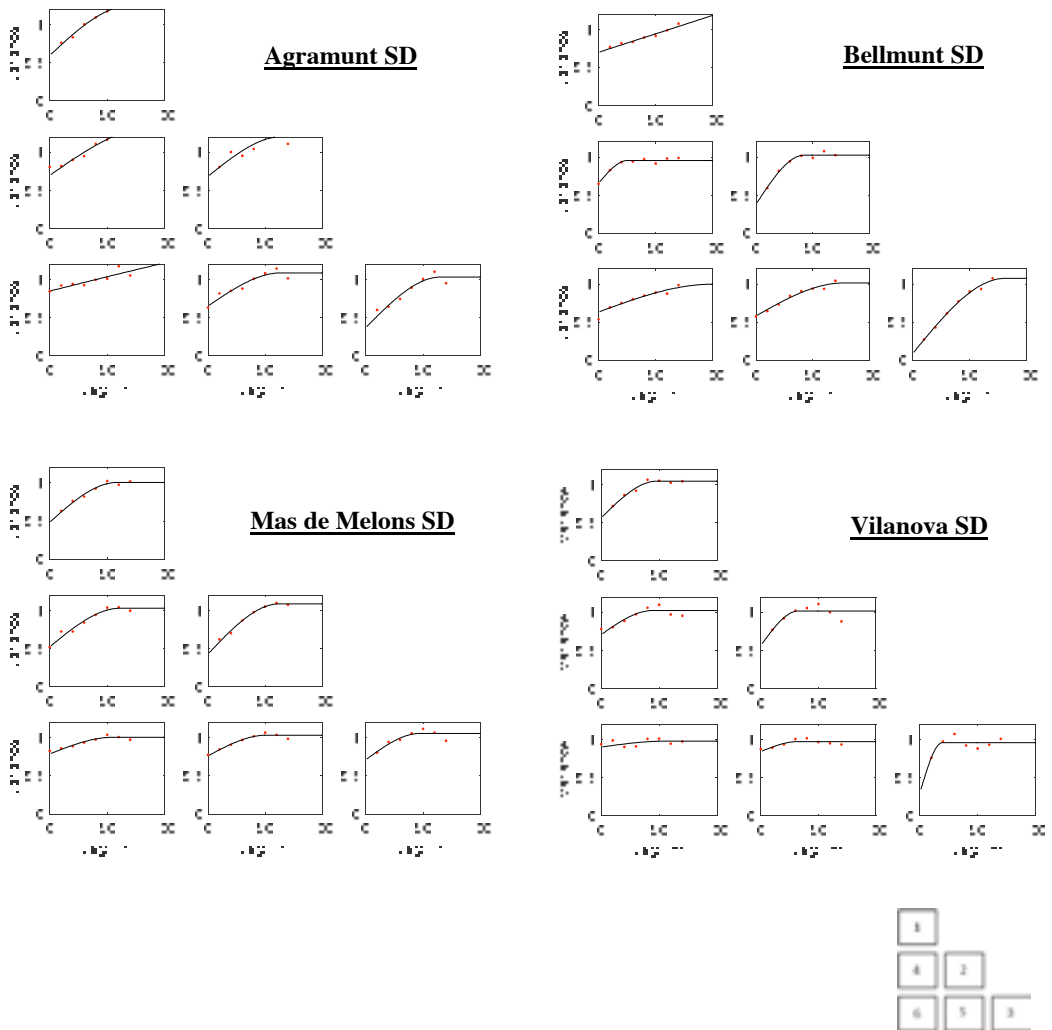


Figura 1. Pseudo-variogramas anuales (1: 2011; 2: 2012 y 3: 2013) y cruzados (4: 2011/2012; 5: 2012/2013 y 6: 2011/2013) de la flora arvense para los campos en que se ha realizado siembra directa (SD). Ver esquema adyacente.

(Fig. 1: Agramunt 5; Bellmunt 4, 5 y 6; Mas de Melons 4 y 5; Vilanova 4) y un valor del índice de dependencia espacial situado entre 25% y 75% (dependencia moderada), esta relación no se mantiene todos los años en la misma localidad. Lo mismo sucede con las localidades con laboreo mínimo. En Bellmunt hay una estabilidad moderada entre años indicada por la pendiente inicial del modelo (Fig. 2: Bellmunt 4, 5 y 6) y por los índices de dependencia espacial (valores situados entre 9,7% y 62,1%) mientras que en las otras dos localidades dicha estabilidad no es consistente pues solo se observa relación entre una de las tres comparaciones (Fig. 4: Balaguer 6; Vilanova 6).

Aunque los muestreos se realizaron cada año en la misma época, la cobertura de la flora real es una variable dependiente de las condiciones climatológicas del año previas al muestreo. Si se

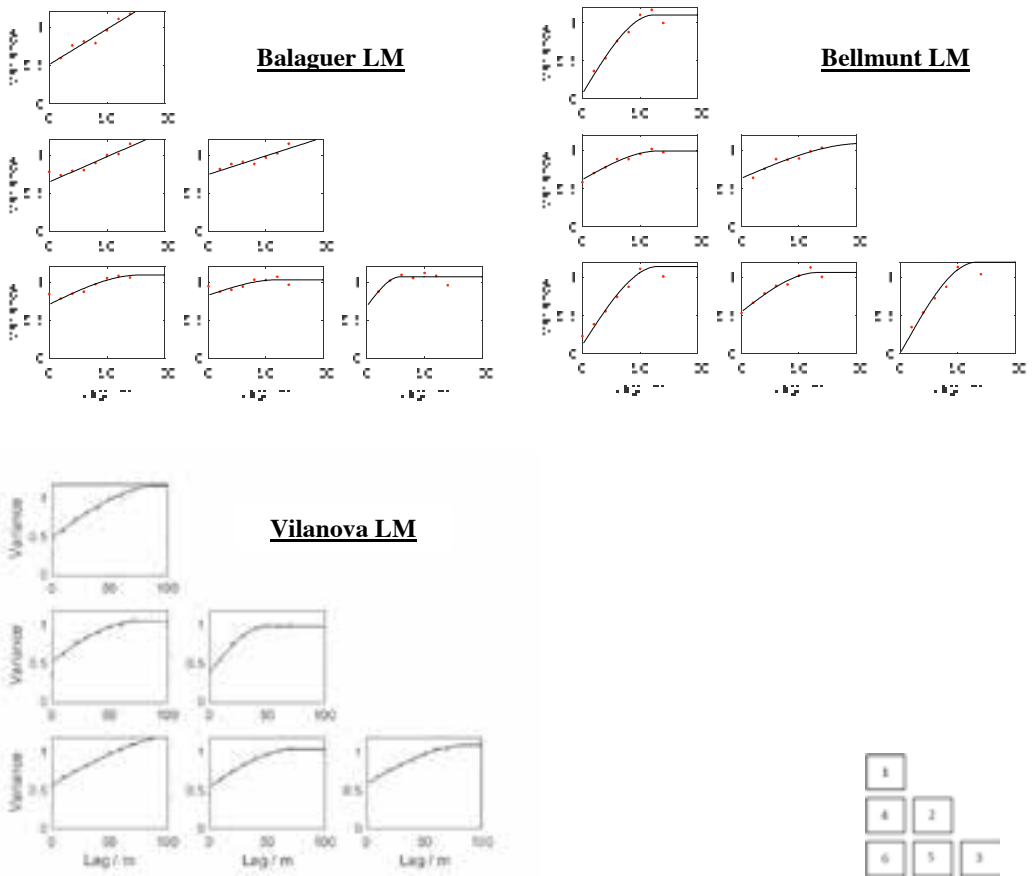


Figura 2. Pseudo-variogramas anuales (1: 2011; 2: 2012 y 3: 2013) y cruzados (4: 2011/2012; 5: 2012/2013 y 6: 2011/2013) y parámetros de los modelos esféricos ajustados para el conjunto de flora arvense para los campos en que se ha realizado laboreo mínimo (LM). Ver esquema adyacente.

hubiera muestreado el banco de semillas o el número de individuos, que no son tan dependientes del ambiente, se podrían disminuir las diferencias entre años y facilitar la detección de estabilidad espacio-temporal. También el hecho de considerar todas las especies conjuntamente contribuye a incrementar la variabilidad entre años al poder haber requerimientos ambientales bastante dispares entre ellas.

La estabilidad espacio-temporal de determinadas especies arvenses en cereales ha sido constatada por diferentes autores (Colbach et al., 2000; Clay et al., 2006). Los resultados expuestos en esta comunicación se refieren al conjunto de la flora arvense y no a especies particulares. El futuro estudio de la distribución espacial y estabilidad de las principales especies presentes en estos campos (*Papaver rhoeas*, *Lolium rigidum* y *Bromus diandrus*) permitirá aportar datos más precisos de la distribución espacial y temporal de estas especies y mostrará la idoneidad o no de la elaboración de mapas para realizar un posterior desherbaje a nivel puntual y localizado posterior. Como alternativa a los mapas, se podría recurrir a la detección en el momento oportuno mediante sensores.

La flora arvense de los campos con siembra directa ha mostrado un mayor grado de agregación o dependencia espacial que la de los campos con laboreo mínimo, probablemente debido el menor grado de perturbación al que se somete el campo. En estas situaciones, los tratamientos localizados y, por tanto, conocer de forma previa la ubicación de los rodales, sería aún de mayor utilidad. Para conocer la estabilidad temporal de los rodales de cada especie será necesario realizar el análisis a nivel de especie e intentar utilizar una variable cuantitativa lo menos dependiente posible de los factores ambientales.

4. AGRADECIMIENTOS

Los resultados del presente trabajo forman parte de sendos proyectos de investigación financiados por el MICINN (AGL2010-22084-C02-01) y el DARP (2012AGEC00040). Los autores quieren agradecer a los agricultores la cesión de sus campos para la realización del muestreo y a Alice Minle y Rick Webster de la Rothamsted Research Station su ayuda en la realización de los análisis geoestadísticos.

5. REFERENCIAS

- Blanco-Moreno JM, Chamorro L, Masalles RM, Recasens J and Sans FX (2004). Spatial distribution of *Lolium rigidum* seedlings following seed dispersal by combine harvesters. *Weed Research*, 44, 375-387.
- Cambardella CA. & Karlen DL (1999). Spatial analysis of soil fertility parameters. *Precision Agriculture* 1 5-11.
- Clay SA, Kreutner B, Clay DE, Reese C, Kleinjan J and Forcella F (2006). Spatial distribution, temporal stability, and yield loss estimates for annual grasses and common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) in a corn/soybean production field over nine years. *Weed Science*, 54, 380-390.
- Colbach N, Forcella F and Johnson GA (2000). Spatial and temporal stability of weed populations over five years. *Weed Science*, 48, 366-377.
- Gerhards R & Christensen S (2003). Real-time weed detection, decision making and patch spraying in maize, sugarbeet, winter wheat and winter barley. *Weed Research*, 43, 385-392.
- Giselsson TM, Midtby HS and Jorgensen RN (2013). Seedling discrimination with shape figures derived from a distance transform. *Sensors*, 13, 5585-5602.
- López-Granados F, Torres-Sánchez J, Serrano-Pérez A, de Castro AI, Mesas-Carrascosa FJ and Pena JM (2016). Early season weed mapping in sunflower using UAV technology: variability of herbicide treatment maps against weed thresholds. *Precision Agriculture*, 17, 183-199.
- Marshall EJP & Brain P (1999). The horizontal movement of seeds in arable soil by different soil cultivation methods. *Journal of Applied Ecology*, 36, 443-454.
- Webster R & Oliver M (2000). *Geostatistics for environmental scientists*. Wiley, Chichester.

Space-time stability of cereal weeds

Summary: Spatial distribution of weeds was studied in no-till and minimum tillage fields. Total weed cover was estimated within 1 m² quadrats located in a 10x10 m grid during 3 years. Variogram analyses in two directions were used to analyze yearly distributions. Omnidirectional pseudo-variograms were done for spatio-temporal stability among years. Results showed that weeds in no-till fields have greater spatial dependence, particularly in the direction of the harvester, than weeds from minimum tillage, where tillage may contribute to disperse seeds throughout the field. In both systems, spatio-temporal stability was not consistent across years, suggesting that analyses by species should be tested to reduce variability.

Keywords: no-till, minimum tillage, pseudo-variogram, weed cover, spatial distribution.

La integración de métodos culturales y químicos en el manejo de *Bromus diandrus* en cereales en siembra directa

Aritz Royo-Esna1[✉], Jordi Recasens¹, Jesús Garrido², Joel Torra¹

¹Dpt d'Hortofruticultura, Botànica i Jardineria, ETSEA, Agrotecnio, Universitat de Lleida, Alcalde Rovira Roure 191, 25198, Lleida

²Bayer Cropscience SL, C/ Charles Robert Darwin, 13, 46980, Paterna (Valencia)

[✉] aritz@hbj.udl.cat

Resumen: En secanos cerealistas semiáridos el implemento de la siembra directa ha permitido, a largo plazo, un incremento del rendimiento, pero ha beneficiado la presencia de ciertas malas hierbas difíciles como *Bromus diandrus* Roth. En el presente trabajo se presentan los resultados de la combinación, en las campañas 2014-15 y 2016-17, de estrategias culturales (rotaciones de cultivo y retrasos de siembra) y químicas en un total de ocho manejos, para el control de esta especie. Los ocho manejos se distribuyeron en bloques al azar con tres repeticiones. Los manejos más efectivos fueron aquellos que incluyeron rotaciones de cultivos con dicotiledóneas, retrasos de fecha de siembra del cereal y aplicación de Atlantis WG/Monolith WG cuando se sembró trigo.

Palabras clave: camelina, colza, guisante, trigo, cebada, control integrado de malas hierbas.

1. INTRODUCCIÓN

La alternancia y diversidad de manejos son la primera premisa para poder llevar a cabo estrategias de control integrado de las malas hierbas tal como se contempla en la Directiva Europea 2009/128/CE. En este sentido, la rotación de cultivos aporta cambios importantes que permiten romper el ciclo de las malas hierbas gracias a variaciones en fechas de siembra, de cosecha, competencia realizada por el cultivo y, cómo no, en la alternancia de materias activas.

El implemento de la siembra directa en los cereales de invierno, ha permitido un incremento de rendimiento allá donde la precipitación es un factor limitante, pero también ha favorecido un cambio en la flora de malas hierbas permitiendo la entrada de especies propias de márgenes y linderos (Royo-Esna et al., 2011). Entre estas especies se encuentra el bromo (*Bromus diandrus* Roth.) (Arrúe et al., 2007; Riba and Recasens, 1997), que reduce el rendimiento de la cosecha en un 22% con infestaciones moderadas (12 pl/m²), que pueden llegar al 71% con infestaciones severas (500 pl/m²) (García et al., 2014).

Algunos herbicidas controlan de manera efectiva el bromo en cereal, aunque la mayoría solo son aplicables en trigo. Según ensayos realizados por el INTIA (2012), una combinación de Herold 0,6 l/ha en pre-emergencia + Atlantis 0,5 kg/ha en post-emergencia obtuvo una eficacia del 98,4%, superior a la aplicación de Atlantis solo (91,9%), Broadway a 0,275 kg/ha (87,5%) y Herbaflex 2,5 l/ha (5,2%). Sin embargo, las eficacias de estos herbicidas pueden verse sensiblemente modificadas según la densidad de la mala hierba al no llegar a mojar de forma eficaz todas las plantas. Precisamente, en este sentido, García et al. (2014) observaron que la eficacia herbicida podía verse reducida hasta en un 55% con altas densidades >1000 pl/m², en contraste con eficacias del 100% con densidades inferiores.

Por otro lado, la rotación de cultivos en programas de tres años, alternando trigo, cebada y guisante, han sido métodos muy eficaces para reducir las infestaciones de bromo (Montull et al., 2015).

En el presente trabajo se exponen los resultados de ocho programas de manejo distintos destinados al control de una densa población de *B. diandrus* en cereales en siembra directa, combinando distintos métodos culturales en especial rotaciones de cultivos que permitan la ruptura del ciclo de la mala hierba, y la integración de herbicidas con distintos modos de acción.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo a lo largo de tres campañas (2014/15 -2016/17) en un campo cerealista de Agramunt (Lleida) donde *B. diandrus* era la mala hierba más abundante. El diseño experimental fue de bloques al azar con tres repeticiones. Las parcelas elementales fueron de 90 m² (15 m x 6 m) para cada. Las densidades de *B. diandrus* se estimaron ubicando al azar diez cuadrados de 0.1 m² en cada parcela. Con el objeto de constatar la eficacia de cada manejo se realizaron censos de densidades antes de la siembra y de forma previa a la cosecha con el fin de estimar –cada campaña- el porcentaje de reducción de la infestación de *B. diandrus*. El rendimiento del cereal se estimó en kg/ha

Para cada estrategia de manejo se combinaron la rotación del cultivo, el retraso de fecha de siembra, la densidad de siembra, el patrón de siembra (en hileras u homogénea), el manejo del tamo después de la cosecha y la aplicación de diferentes herbicidas. Las diferentes estrategias vienen resumidas en la tabla 1. En todas las estrategias se realizó una aplicación previa de glifosato para eliminar las malas hierbas antes de proceder a la siembra. En algunas parcelas, la supresión del bromo llevó a la proliferación de la amapola (*Papaver rhoeas*), por lo que en estas parcelas se aplicó Buctril Universal. La tabla 2 resume los productos químicos aplicados, sus características y la dosis de aplicación.

Los resultados se analizaron mediante ANOVA, tomando como único el manejo, y posterior test de LSD (Least Significant Differences).

Tabla 1. Esquema de los programas con las siembras y manejos realizados en cada campaña. En columnas, para cada año, se presentan: Cult, cultivos sembrados (T, trigo; G, guisante; Co, colza; Ca, camelina; Ce, cebada); FS, fechas de siembra; H, herbicidas (Atl, Atlantis, Cnt, Centurión, H+S, Herold +Sencor, Mo, Monolith); MN, manejo cultural (RT, retirada de tamo; SO, siembra homogénea; AD, alta densidad -250kg/ha-.)

Prog. Int.	Campaña 2014-15				Campaña 2015-16				Campaña 2016-17			
	Cult	FS	H	MN	Cult	FS	H	MN	Cult	FS	H	MN
1	T	29/10	Atl		T	06/11	Atl		Ce	04/11	H+S	
2	T	23/01	Atl	RT	Ce	27/11	H+S	RT	T	02/12	Mo	RT
3	T	23/01	Atl	RT	Ce	27/11	H+S	AD	T	04/11	Mo	SO
4	T	23/01	Atl		Ce	27/11	H+S		Ce	02/12	H+S	SO
5	T	23/01	Atl	AD	T	27/11	Atl	AD	Ce	02/12	H+S	AD
6	G	23/01	Cnt		Ce	27/11	H+S		T	02/12	Mo	
7	Co	25/09	Cnt		T	27/11	Atl		Ce	02/12	H+S	
8	Ca	29/10	Cnt*		T	27/11	Atl		Ce	02/12	H+S	

*El año en que se sembró camelina no había ningún herbicida registrado en España para su cultivo. Se puso un herbicida autorizado para colza y con ingrediente activo similar al autorizado en EUA para camelina.

Tabla 2. Productos herbicidas aplicados durante las tres campañas. SL, concentración soluble; EC, concentrado emulsionable; WG, granulado dispersable en agua; SC, suspensión concentrada

Producto comercial	Ingrediente activo	Formulación	Dosis
Touchdown	Glifosato (36%)	SL	3 l/ha
Centurión Plus	Cletodim (12%)	EC	1,5 l/ha
Atlantis WG	Mesosulfuron metil (3%), iodosulfuron-metil sodio (0,6%) y mefenpyr-dietil (9%)	WG	0,5 kg/ha
Monolith WG	Mesosulfuron metil (4,5%), propoxycarbazona sodio (6,75%), mefenpyr-dietil (9%)	WG	0,33 kg/ha
Biopower	Aquileter sulfato sódico (27,65%)	SL	1 l/ha
Sencor	Metribuzina (60%)	SC	0,125 l/ha
Herold	Flufenacet (40%), diflufenican (20%)	SC	0,6 l/ha
Buctril Universal	Bromoxinil (23,8%), 2,4-D (23,8%)	EC	1 l/ha

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La primera campaña, las densidades iniciales de bromo fueron desiguales entre los bloques (Tablas 3-5) por lo que se presentan, para cada uno de ellos y por campaña, la densidad inicial y final así como el porcentaje medio de reducción (integrando todos los métodos culturales y químicos). En las tablas 4 y 5, se presentan, para cada bloque y campaña, estos valores porcentuales de reducción respecto a los valores iniciales de la campaña anterior.

Las estrategias de manejo, a pesar de tener una planificación a tres años vista, vinieron condicionadas por las características meteorológicas de cada campaña, que afectó principalmente al momento de emergencia del bromo. Así, en la primera de ellas el otoño fue muy lluvioso, provocando una gran cantidad de emergencia ya desde septiembre (proceso observado en otros ensayos por García et al., 2013). En esta primera campaña la colza se sembró el 25 de septiembre, y tras una primera aplicación de Centurión Plus en octubre, se tuvo que realizar una segunda aplicación a principios de diciembre para controlar las nuevas emergencias. Las siembras realizadas en enero eliminaron gran parte de la población de bromo emergida hasta entonces. A pesar de ello hubo muchas emergencias posteriores que enmascararon las eficacias de los manejos (Tabla 3). De entre todos ellos, y a pesar de la falta de diferencias significativas entre éstos, aquéllos en los que se realizó una rotación de cultivo fueron las que mejores resultados obtuvieron, y entre éstas, las parcelas sembradas de guisante y de camelina (99,2 y 99,9 respectivamente en los manejos 6 y 8).

En la campaña 2015-16 la reducción promedio de la densidad inicial con respecto a la densidad inicial de 2014-15 fue del 96,3% (Tabla 4). En esta segunda campaña una fuerte sequía en otoño retrasó las emergencias hasta el punto que no se aplicó glifosato hasta antes de la siembra del 6 de noviembre (manejo 1). Por ello, a pesar del buen control obtenido, todavía hubo emergencias tardías que enmascararon las eficacias generales. Una estimación visual permitió ver que más de un 20% del bromo presente en los manejos eran nuevas emergencias posteriores a las aplicaciones. Los resultados de eficacia entre los bloques fueron muy diferentes. En el Bloque 1, con una densidad inicial de 2,3 pl/m², se obtuvo un control del 100% con todos los manejos, y en el Bloque 2 con una densidad de 30,2 pl/m² el control fue del 100% en todas las parcelas de trigo y en una de cebada donde se sembró con retraso. Sin embargo, las diferencias entre manejos

Tabla 3. Densidades iniciales y finales (+ error estándar) de bromo (pl/m²) en la campaña 2014-15 en las parcelas de cada manejo. En la columna de control se presentan los datos medios de los tres bloques conjuntamente. En el manejo 7 (rotación con colza), se realizaron dos aplicaciones de Centurión Plus debido a las emergencias habidas después de la primera aplicación

	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Control (%)
Densidad inicial	62	814	2743	
Manejo 1 (trigo)	6 ± 0,2	5 ± 0,2	3 ± 0,3	92,1
Manejo 2 (trigo)	1 ± 0,1	79 ± 1,4	23 ± 0,5	82,4
Manejo 3 (trigo)	4 ± 0,2	26 ± 0,6	37 ± 0,4	83,9
Manejo 4 (trigo)	5 ± 0,2	22 ± 0,3	62 ± 0,7	83,1
Manejo 5 (trigo)	4 ± 0,2	4 ± 0,2	37 ± 0,7	83,8
Manejo 6 (guisante)	0 ± 0,0	3 ± 0,2	1 ± 0,1	99,2
Manejo 7 (colza)	6 ± 0,2	10 ± 0,4	5 ± 0,2	97,5
Manejo 8 (camelina)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	1 ± 0,1	99,9

Tabla 4. Densidades iniciales y finales (+ error estándar) de bromo (pl/m²) en la campaña 2015-16 en las parcelas de cada manejo. En la columna de control se presentan los datos medios de los tres bloques conjuntamente, así como la reducción de la densidad inicial con respecto a la densidad inicial de la campaña 2014-15

	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Control 2015-16	Control 2014-15
Densidad inicial	2,3	30,2	100,0		96,3
Manejo 1 (trigo)	0 ± 0,0	6 ± 0,2	14 ± 0,9	80,9	99,2
Manejo 2 (cebada)	0 ± 0,0	18 ± 0,7	4 ± 0,2	86,9	99,1
Manejo 3 (cebada)	0 ± 0,0	10 ± 0,3	8 ± 0,6	93,7	99,3
Manejo 4 (cebada)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	16 ± 0,7	95,5	99,3
Manejo 5 (trigo)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	2 ± 0,2	99,0	99,9
Manejo 6 (cebada)	0 ± 0,0	6 ± 0,4	14 ± 0,6	92,4	99,2
Manejo 7 (trigo)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0	100	100
Manejo 8 (trigo)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	6 ± 0,4	98,4	99,8

Tabla 5. Densidades iniciales y finales (+ error estándar) de bromo (pl/m²) en la campaña 2016-17 en las parcelas de cada manejo. En las columnas de control se indican también la reducción de la densidad inicial con respecto a la densidad inicial de las campañas 2015-16 y 2014-15

	Bloque 1	Bloque 2	Bloque 3	Control 2016-17	Control 2015-16	Control 2014-15
Densidad inicial	0,5	2,5	7,7		87,0	99,5
Manejo 1 (cebada)	0,2 ± 0,2	0,4 ± 0,3	0,4 ± 0,3	96,6	98,6	99,9
Manejo 2 (trigo)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0,2 ± 0,2	90,0	99,9	99,9
Manejo 3 (trigo)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0	100	100	100
Manejo 4 (cebada)	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,2	2 ± 1,0	90,7	98,1	99,9
Manejo 5 (cebada)	0,2 ± 0,2	0 ± 0,0	0 ± 0,0	95,0	99,7	99,9
Manejo 6 (trigo)	0 ± 0,0	0,2 ± 0,2	0,2 ± 0,2	96,0	99,8	99,9
Manejo 7 (cebada)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0 ± 0,0	100	100	100
Manejo 8 (cebada)	0 ± 0,0	0 ± 0,0	0,4 ± 0,2	97,1	99,7	99,9

no fueron estadísticamente significativas en ningún caso. Al final de la campaña, la eficacia de los manejos fue superior al 99% (Tabla 4) si se compara con la densidad inicial de la campaña anterior (2014-15).

En la tercera campaña (2016-17) el régimen de lluvias puede considerarse normal, por lo que las emergencias del bromo ni se adelantaron (2014-15) ni se retrasaron (2015-16). La densidad inicial de bromo en cada bloque, de 0,5, 2,5 y 7,7 pl/m², se redujo en un 87% con respecto a la campaña anterior (2015-16) y en un 99,5% con respecto a la 2014-15. Todos los manejos obtuvieron un excelente control (>90%, Tabla 5). En aquellos casos donde las eficacias fueron algo inferiores (90%) se debieron al bajo rango de densidades iniciales presentes (0,2 pl/m² o 2 pl m²) hecho que no debe considerarse en ningún caso negativo. Las diferencias entre los manejos no fueron significativas, sin embargo el manejo 7 (colza-trigo en retraso-cebada) y el 3 (trigo + retirada de tamo, cebada alta densidad, trigo en siembra homogénea), fueron las que obtuvieron mayores porcentajes de eficacia (100%), seguidas de los manejos 8 (97,1%, camelina-trigo en retraso-cebada en retraso), 1 (96,6, siembras de octubre-noviembre trigo-trigo-cebada) y 6 (96,0, guisante-cebada en retraso-trigo en retraso). En promedio, las eficacias acumuladas de los manejos a lo largo de las tres campañas fueron superiores a 99,9% (Tabla 5).

Los rendimientos de cosecha, por otro lado, vinieron condicionados por dos factores principales, la fecha de siembra y el año (Tabla 6). El primer año, con siembras retrasadas de cereal hasta enero, las cosechas de trigo resultaron entre los 853 y 1216 kg/ha, probablemente debido a la gran cantidad de paja que provocó que muchas semillas de cultivo quedaran poco enterradas y murieran con el frío del invierno. En los cultivos de rotación los rendimientos fueron sensiblemente mayores, entre 1124 y 1237 kg/ha, que añadiendo su mayor precio de venta, las hace alternativas viables en rotación, tal como aprecian Montull et al (2015) para el guisante. En 2015-16 la mayoría los rendimientos de los cultivos aumentaron, hasta 2933-3661 kg/ha en trigo y 4785 y 5467 kg/ha en cebada. En 2016-17 los rendimientos aumentaron sensiblemente respecto a 2015-16 en trigo, hasta 3878-4515 kg/ha, pero disminuyeron en cebada, entre 3341-4225 kg/ha.

Tabla 6. Rendimientos de cosecha (kg/ha) en cada manejo y campaña de crecimiento. Las diferencias estadísticas hacen relación solo al mismo tipo de cultivo

	Campaña 2014-15		Campaña 2015-16		Campaña 2016-17	
	Cultivo	Rendimiento	Cultivo	Rendimiento	Cultivo	Rendimiento
Manejo 1	Trigo	981 ± 0 a	Trigo	3211 ± 405 ab	Cebada	3341 ± 852 a
Manejo 2	Trigo	1216 ± 342 a	Cebada	5015 ± 512 ab	Trigo	4371 ± 818 a
Manejo 3	Trigo	853 ± 349 a	Cebada	5467 ± 125 a	Trigo	3878 ± 338 a
Manejo 4	Trigo	886 ± 254 a	Cebada	4852 ± 274 a	Trigo	4202 ± 438 a
Manejo 5	Trigo	982 ± 285 a	Trigo	3661 ± 287 a	Cebada	4225 ± 237 a
Manejo 6	Guisante	1237 ± 191	Cebada	4785 ± 59 a	Trigo	4515 ± 176 a
Manejo 7	Colza	1124 ± 229	Trigo	3239 ± 199 ab	Cebada	3921 ± 217 a
Manejo 8	Camelina	1220 ± 384	Trigo	2933 ± 165 b	Cebada	4639 ± 386 a

Los resultados obtenidos muestran que en función de la densidad inicial de bromo (60-800 pl/m²), dos años de manejo alternando rotaciones de cultivos (guisante, colza o camelina) y retrasos de trigo que permitan la aplicación de un herbicida que controle el bromo, pueden reducir las poblaciones muy eficazmente (99,9-100%). En el caso de infestaciones más fuertes (2700 pl/m²) resulta necesario un tercer año de manejo efectivo. Entre todos los manejos, las rotaciones de cultivo y los retrasos de siembra han sido los factores que han tenido un mayor efecto sobre la densidad de la mala hierba, por encima de otras estrategias como la densidad del cultivo, su patrón de siembra o la retirada del tamo después de la cosecha.

4. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto ha sido financiado por la empresa Bayer Cropscience SL. Queremos, así mismo, agradecer a toda la gente que nos ha ayudado en las tareas de campo, tanto en el manejo (Joan Ribes, Antoni Balagueró, Carlos Cortés), como en la toma de datos (María Casamitjana, Berta Singla, Eva Edo, Joaquín Ricomà).

5. REFERENCIAS

- Arrúe JL, Cantero-Martínez C and López MV. (2007). Conservation agriculture research in Spain. *KASSA project*, Mediterranean platform, deliverable 1.2, appendix A1. Montpellier, Francia.
- Directiva 2009/128/CE. Directive for sustainable use of pesticides. *Official Journal of European Union* 2009, L309, 71-86.
- García AD, Recasens J, Forcella F, Torra J and Royo-Esnal A. (2013). Hydrothermal emergence model for rigiput brome (*Bromus diandrus*). *Weed Science*, 61, 146-153.
- García AD, Royo-Esnal A, Torra J, Cantero-Martínez C and Recasens J. (2014). Integrated management of *Bromus diandrus* in dry-land cereal fields under no-till. *Weed Research*, 54, 408-417.
- INTIA (2012). Control de malas hierbas de invierno, resultados de experimentación INTIA 2012. <http://www.nolaboreo.es/fotosbd/herbis-web.pdf>.
- Montull JM, Llenes JM and Taberner A. (2015). Manejo integrado de *Bromus diandrus*. Resultados de tres años de ensayos. Actas XV Congreso SEMh. Sevilla. 19-22 de octubre de 2015. Vol I: 29-34.
- Riba F and Recasens J. (1997). *Bromus diandrus* Roth. en cereales de invierno. En: La biología de las malas hierbas de España. Editores: FX Sans y C Fernández-Quintanilla. Ed. Phytoma España-Sociedad Española de Malherbología, 25-35.
- Royo-Esnal A, Torra J, Conesa JA and Recasens J. (2011). The application of agri-environment schemes in semiarid landscapes in NE of Spain involves changes on weed flora? *Proceedings 4th Workshop on Weeds and Biodiversity*. Dijon, 28 Febrero-2 Marzo de 2011. Pág. 8.

Crop rotation and its integration with cultural and chemical methods for the management of *Bromus diandrus* in direct drilling

Summary: Direct drilling in semiarid winter cereals has permitted higher yields, but also the presence of difficult to control weeds, like *Bromus diandrus* Roth. In this work results from a combination of strategies –crop rotation, sowing dates and chemical control- are presented for eight programs on the control of this weed over three growing seasons, from 2014-15 to 2016-17. The eight programs were randomly distributed in three blocks. Initial densities were different for each block: 62, 814 y 2750 pl/m², which were reduced, respectively, to 0.5, 2.5 y 8 pl/m² at the beginning of the third season. The most effective managements for *B. diandrus* reduction were crop rotation with dicotyledonous crops, sowing delay and wheat sowing, with application of Atlantis WG/Monolith WG.

Keywords: camelina, canola, peas, integrated weed management.

Evaluación de métodos de control químicos, mecánicos y culturales para el control del bromo (*Bromus* spp.) y otras malas hierbas en cebada

Santiago Fuertes^{1✉}, Gabriel Pardo², Alicia Cirujeda², Ana Isabel Marí², Joaquín Aibar³

¹Centro de Sanidad y Certificación Vegetal. Gobierno de Aragón. Avda. Montañana 930, 50059-Zaragoza

²Unidad de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930; 50059-Zaragoza.

³Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza).

✉ sifuerte@aragon.es

Resumen: En este trabajo se presentan los resultados de la eficacia de diversos métodos de control químico, mecánico (grada de varillas flexibles) y cultural (retraso de siembra) para el control del bromo y otras malas hierbas en cebada. Se realizó un ensayo en la localidad de Ontinar durante la campaña 2015-2016 y dos en las localidades de Zuera y Sádaba en la campaña 2016-2017, todos en la provincia de Zaragoza. En cuanto a la eficacia en el control de bromo no se apreciaron diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos realizados, aunque sí se observó una menor eficacia en los dos tratamientos químicos de preemergencia. Se ha encontrado un patrón parecido en el control de malas hierbas en general, aunque en Ontinar los peores resultados se dieron con el control mecánico. La cobertura de cultivo solo se vio afectada por el retraso de la siembra en dos de los ensayos.

Palabras clave: control integrado, flora arvense, ricio de alfalfa.

1. INTRODUCCIÓN

El incremento de técnicas como la siembra directa, la excesiva práctica del monocultivo de cereales sin rotaciones y la ausencia de herbicidas que actúen de forma efectiva y selectiva en esos cultivos contra el bromo (*Bromus* spp.), entre otros factores, están originando la expansión de esta mala hierba en diversas zonas de España y en particular en el Valle del Ebro. El uso de herbicidas no se debe considerar como el único método de control, sino solo como una opción más, valorando además las posibilidades de un control mecánico o cultural, que nos ayude a mitigar la incidencia de las especies problema (Cirujeda et al., 2014). No obstante, es necesario comparar la eficacia de los herbicidas con otros métodos de control. Por ello, uno de los trabajos que está llevando a cabo el Centro de Sanidad y Certificación Vegetal, en colaboración con la Unidad de Sanidad Vegetal del CITA, es la evaluación de métodos de control químico, mecánico y cultural para el control del bromo en cebada. Valorar la eficacia de los mismos constituye el objetivo básico de este trabajo.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron tres ensayos de campo: uno en la localidad de Ontinar durante la campaña 2015-2016 (ensayo nº 1) y dos en las localidades de Zuera y Sádaba en la campaña 2016-2017 (ensayos nº 2 y nº 3, respectivamente), todos ellos en la provincia de Zaragoza. El diseño experimental fue en bloques al azar, con cuatro repeticiones y parcelas elementales, sembradas de cebada, de 10 m² en Ontinar y Sádaba y de 12 m² en Zuera.

Tabla 1. Características del ensayo nº 1 (Ontinar). Campaña 2015-2016

Nº	Tratamiento	Producto comercial	Momento realización	Dosis ¹
1	Diflufenican 20% + Flufenacet 40%	Herold	Cebada en 2 hojas (36 DDS ²)	500 ml/ha
2	Florasulam 2,28 % + Piroxsulam 6,83%	Broadway ³	Cebada en 5 hojas (112 DDS ²)	275 g/ha
3	Florasulam 5,4% + Tritosulfuron 71,4%	Biathlon	Cebada en 5 hojas (112 DDS ²)	70 g/ha
4	Grada varillas flexibles	-	48 DDS ²	-
5	Retraso de siembra ⁴	-	62 días de diferencia con el resto	-
6	Testigo	-	-	-

¹Volumen de caldo 300 l/ha. ²DDS: días después de siembra. ³No autorizado en cebada. ⁴Laboreo y posterior siembra

Tabla 2. Características de los ensayos nº 2 (Sádaba) y nº 3 (Zuera). Campaña 2016-2017

Nº	Tratamiento	Producto comercial	Momento realización	Dosis ¹
1	Diflufenican 20% + Flufenacet 40%	Herold ⁵	Preemergencia cebada (9 y 8 DDS ⁴)	500 ml/ha
2	[Diflufenican 20% + Flufenacet 40%] + Prosulcarb 80%	Herold + Mulan	Preemergencia cebada (9 y 8 DDS ⁴)	500 ² + 5000 ³ ml/ha
3	Diflufenican 20% + Flufenacet 40%	Herold	Cebada en 1-2 hojas (32 y 51 DDS ⁴)	500 ml/ha
4	Diflufenican 20% + Flufenacet 40%	Herold	Cebada en 2-3 hojas (45 y 59 DDS ⁴)	500 ml/ha
5	Clodinafop-propargil 20% + piroxsulam 7,5%	Serrate ⁶	Cebada en 2-3 hojas (45 y 59 DDS ⁴)	250 g/ha
6	Retraso de siembra	-	73 y 59 días de diferencia con el resto	-
7	Grada de varillas flexibles ⁷	-	95 y 62 DDS ⁴	-
8	Testigo	-	-	-

¹Volumen de caldo 300 l/ha; ²dosis de diflufenican + flufenacet; ³dosis de [diflufenican + flufenacet] + prosulcarb. ⁴DDS: días después de siembra en el ensayo nº 2 y nº 3, respectivamente. ⁵Producto comercial no autorizado en presiembra. ⁶No autorizado en cebada. ⁷Laboreo y posterior siembra

En todos ellos se ha practicado el retraso de la siembra y el pase de grada de varillas flexibles. Las materias activas probadas han sido diflufenican+flufenacet, florasulam+piroxsulam y florasulam+tritosulfuron en el caso de Ontinar y diflufenican+flufenacet (en preemergencia y en los estadíos de 1-2 y 2-3 hojas de la cebada), diflufenican+flufenacet+prosulcarb y clodinafop+piroxsulam en Sádaba y Zuera. Los formulados sólidos se aplicaron con los mojantes indicados por las correspondientes casas comerciales y a las dosis recomendadas.

Los herbicidas se aplicaron con un pulverizador de palanca (Matabi®) equipado con una barra de tratamiento de 2 m con boquillas Teejet® XR 11003 distanciadas 50 cm entre ellas. La grada de varillas flexibles para el control de malas hierbas utilizada en los ensayos fue un apero ligero Hatzenbichler® formado por 3 módulos de 1,5 metros de anchura y con 40-45 varillas cada uno, colocadas en 5-6 líneas. Las varillas miden 40 centímetros y terminan en un muelle, el cual permite una elevada vibración de las púas que realizan una labor de 0,5 y 4 centímetros de profundidad (Cirujeda et al., 2013). El pase se realizó con una agresividad media.

Se contabilizaron el número de individuos de bromo y de las principales especies de malas hierbas presentes (usando tres marcos de 0,27 m² por parcela elemental) y se determinó mediante estimación visual el porcentaje de cobertura del cultivo (cebada) a los 112 y 148 días después de siembra (DDS) en el tratamiento nº 1, a los 130 y 164 DDS en el tratamiento nº 2 y a los 100 y 128 DDS en el tratamiento nº 3.

Se calculó la eficacia de cada tratamiento en base a los datos del testigo. Los datos de cobertura de cultivo cumplieron con los criterios de homogeneidad de las varianzas y normalidad de los datos, pero no los de eficacia en los que se tuvo que usar la transformación $\arcsen\sqrt{x/100}$ para conseguirlo. Finalmente, se realizó el análisis de la varianza de acuerdo al diseño experimental y la separación de medias (test de Tukey cuando $p < 0,05$) con el programa de software libre R, Versión 2.14.2 (R Development Core Team, 2014).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Ensayo nº 1: Ontinar, campaña 2015-2016. El hecho de que en la campaña anterior la parcela estuviera cultivada de alfalfa, provocó una baja presencia de malas hierbas en general y de bromo en particular, aspecto que corrobora que la rotación de cultivos es una medida eficaz para el control de las mismas. Las principales especies encontradas fueron ricio de alfalfa (*Medicago sativa*), *Veronica officinalis*, *Papaver rhoeas*, *Rumex* spp. y *Capsella bursa-pastoris*. No se han visto diferencias significativas en cuanto a la eficacia en el control de malas hierbas, aunque como tendencia se aprecia un mejor control con cualquiera de los tres herbicidas y con el retraso de la siembra que con el pase de grada, ya que tanto el ricio de alfalfa como el *Rumex* spp. y buena parte de *Capsella bursa-pastoris* son difíciles de controlar con este apero. Las materias activas aplicadas, además de controlar bromo, eliminan otras especies de hoja ancha como las presentes en el ensayo (INTIA, 2015; Boletín Fitosanitario Gobierno de Aragón, 2016, 2017). La cobertura de cultivo fue buena y no hubo diferencias significativas entre los herbicidas utilizados y la grada, pero sí con el retraso de la siembra que ha inducido un menor porcentaje de cobertura de cebada, lo que hipotéticamente podría llevar a una menor cosecha (Fig. 1). Cabe señalar que a pesar de que florasulam+piroxsulam no mostró reducción de la cobertura de cultivo, si se observaron síntomas de fitotoxicidad durante buena parte del ciclo del cultivo. Hay que tener en cuenta que este producto no está autorizado para el cultivo de cebada.

3.2. Ensayo nº 2: Sádaba, campaña 2016-2017. En la comarca de las Cinco Villas es muy habitual la práctica de la siembra directa y el monocultivo de cebada. En este ensayo se observó la presencia de bromo como especie claramente dominante y de otras especies como *Galium aparine*, *Lolium* spp., *Papaver rhoeas* y *Avena* spp., en mucha menor medida. No hubo diferencias significativas entre ninguno de los tratamientos realizados, tanto en la eficacia en el

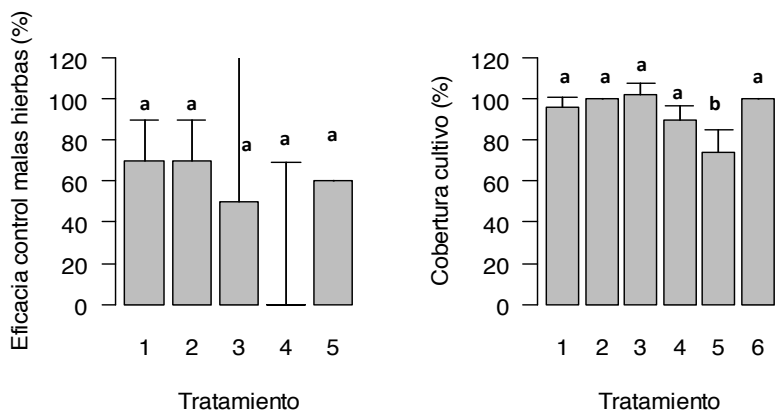


Figura 1. Eficacia en el control de malas hierbas (%) y cobertura del cultivo de cebada (%) en cada uno de los tratamientos del ensayo nº 1 en Ontinar (Huesca), durante la campaña 2015-2016: 1.diflufenican+flufenacet; 2.florasulam+piroxsulam; 3.florasulam+tritosulfuron; 4.grada flexible; 5.retraso de siembra; 6.testigo.

control de bromo como en el de malas hierbas en general. Si que se observó una menor eficacia en los dos tratamientos de preemergencia (diflufenican+flufenacet y diflufenican+flufenacet+pro sulfocarb). Las intensas lluvias, tras efectuar estos tratamientos, pudieron haber condicionado la eficacia de los mismos. Los mejores resultados se obtuvieron con diflufenican+flufenacet aplicado con la cebada entre 1-2 y 2-3 hojas y con el retraso de la siembra y pase de grada flexible (Fig. 2). En cuanto a la cobertura de cultivo no hay diferencias significativas entre los tratamientos realizados y el testigo, situándose en todos los casos en unos valores de 60-70%.

3.3. Ensayo nº 3: Zuera, campaña 2016-2017. Esta parcela fue cultivada de alfalfa hasta la campaña 2014-2015 y de cebada durante la pasada campaña 2015-2016. Se observó una nula presencia de bromo y una baja presencia de malas hierbas en general (*Lactuca serriola*, *Rumex* spp., *Convolvulus arvensis* y ricio de alfalfa). Se observaron diferencias significativas en cuanto a la eficiencia en el control de malas hierbas. Los mejores resultados se obtuvieron con diflufenican+flufenacet aplicado con el cultivo entre 2-3 hojas y los peores al aplicar clodinafop-propargil+piroxsulam y diflufenican+flufenacet en preemergencia (Fig. 3). Estos dos últimos tratamientos, a priori, no están indicados para controlar la flora arvense presente en este ensayo (INTIA, 2015; Boletín Fitosanitario Gobierno de Aragón, 2016, 2017). La cobertura de cultivo fue de un 100% en todos los casos, a excepción del retraso de siembra que difirió significativamente con un 75% de cobertura total.

Como conclusión de este trabajo decir que de los tres ensayos realizados solo en el ensayo nº 2 hubo presencia de bromo. En él, tanto el retraso de la siembra como el pase de grada de varillas flexibles resultaron eficaces, incluso más que los tratamientos herbicidas de preemergencia (tratamientos 1 y 2) y el herbicida no autorizado para el cultivo (tratamiento 5). Por otro lado, el pase de grada ha presentado una nula eficacia en el control de malas hierbas perennes presentes en el ensayo nº 1 (ricio de alfalfa y *Rumex* spp). Sin embargo, el retraso de la siembra, con su laboreo asociado, si ha resultado eficaz para controlar estas especies.

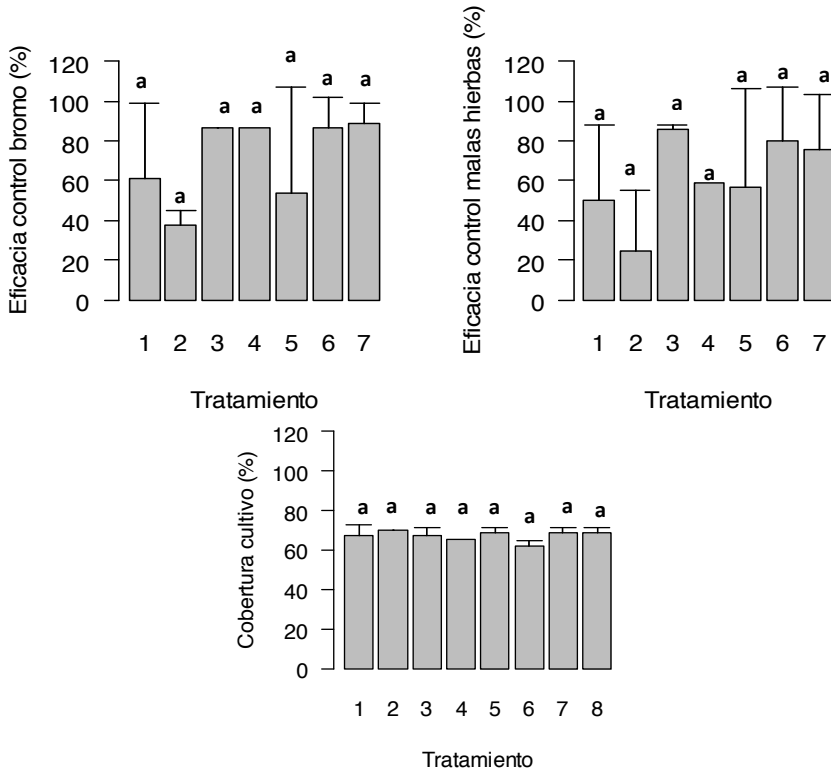


Figura 2. Eficacia en el control de bromo (%), en el control de malas hierbas (%) y cobertura del cultivo de cebada (%) en cada uno de los tratamientos del ensayo nº 2 en Sádaba (Zaragoza), durante la campaña 2016-2017: 1.diflufenican+flufenacet (preemergencia de la cebada); 2.diflufenican+flufenacet+prosulfocarb; 3.diflufenican+flufenacet (cebada con 1-2 hojas); 4.diflufenican+flufenacet (cebada con 2-3 hojas); 5.clodinafop-propargil+piroxsulam; 6.retraso de siembra; 7.grada flexible; 8.testigo.

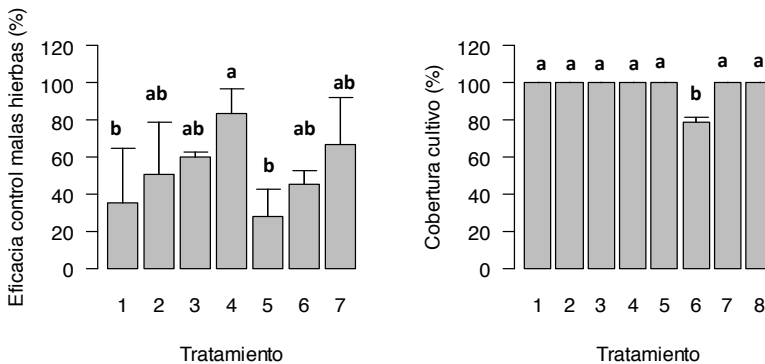


Figura 3. Eficacia en el control de malas hierbas (%) y cobertura del cultivo de cebada (%) en cada uno de los tratamientos del ensayo nº 3 en Zuera (Zaragoza), durante la campaña 2016-2017: 1.diflufenican+flufenacet (preemergencia de la cebada); 2.diflufenican+flufenacet+prosulfocarb; 3.diflufenican+flufenacet (cebada con 1-2 hojas); 4.diflufenican+flufenacet (cebada con 2-3 hojas); 5.clodinafop-propargil+piroxsulam; 6.retraso de siembra; 7.grada flexible; 8.testigo.

4. AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración de Fernando Arrieta, José García Vera y José Ángel Alins por los trabajos de campo; a Xavi Camats, Carlos Lapetra, Miguel Gutiérrez y Jesús Pérez por el apoyo técnico; y al agricultor Juan Ignacio Tambo por prestar para los ensayos una parcela de su propiedad en Sádaba. Este trabajo ha sido financiado, en parte, por las subvenciones en materia de cooperación para la creación de grupos y redes en el ámbito de la sanidad vegetal y el control integrado de plagas, en el marco del Programa de Desarrollo Rural para Aragón, 2014-2020.

5. REFERENCIAS

- Boletín Fitosanitario de Avisos e Informaciones. Centro de Sanidad y Certificación Vegetal. Gobierno de Aragón. Nº 13. Septiembre-Octubre 2016.
- Boletín Fitosanitario de Avisos e Informaciones. Centro de Sanidad y Certificación Vegetal. Gobierno de Aragón. Nº 1. Enero-Febrero 2017.
- Cirujeda, A., Fernández-Cavada, S. and Aibar, J. (2013). El uso de la grada de varillas flexibles para el control mecánico de las malas hierbas. Dirección General de Alimentación y Fomento Agroalimentario del Gobierno de Aragón. Centro de Sanidad y Certificación Vegetal. Enero 2013.
- Cirujeda, A., Marí, A., Pardo, G., Aibar, J., Taberner, A., Montull, J.M. and Llenés, J.M. (2014). Control de *Bromus*, *Lolium*, *Papaver* y *Avena* en cereal de invierno. *Agricultura: Revista agropecuaria*, 2014, n. 976, pp. 600-606.
- INTIA, Tecnologías e Infraestructuras Agroalimentarias. Tablas de herbicidas contra hoja estrecha y ancha en cereales de Navarra. 3 de noviembre de 2015.

Evaluation of chemical, mechanical and cultural control methods for the control of bromine (*Bromus* spp.) and other weeds in barley

Summary: This work describes the changes of the effectiveness of various methods of chemical, mechanical and cultural control for the control of bromine and other weeds in barley. Three trials were carried out in the towns of Ontinar during the 2015-2016 season and two in the localities of Zuera and Sádaba in the 2016-2017 season, all in the province of Zaragoza. Regarding the efficacy of bromine control, no significant difference was observed between any of the treatments performed, although it was observed a lower efficacy in the two preemergence chemical treatments. A similar pattern is observed in the control of weeds in general, although in Ontinar the worse results occurred with the flex-tine harrow. Cultivation coverage has been good in all cases.


Keywords: integrated control, weed flora, alfalfa ripe.

Influencia de los sistemas de producción de cereales sobre las poblaciones de *Lolium rigidum* y *Papaver rhoeas*

José Dorado¹, Judit Barroso², Carolina San Martín², Dionisio Andújar¹, José Manuel Martín¹, David Campos¹, César Fernández-Quintanilla¹

¹ Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), 28006 Madrid

² Columbia Basin Ag. Research Center - OSU, Adams, Oregon 97810

 jose.dorado@csic.es

Resumen: En el año 2015 se inició en Arganda del Rey (Madrid) un experimento de larga duración enfocado a evaluar de una forma integral los efectos de diversos sistemas de producción de cereales (S1-agricultura de conservación, S2-agricultura ecológica y S3-manejo integrado) sobre las poblaciones de *Lolium rigidum* y *Papaver rhoeas*. Los resultados observados en 2016 han puesto de manifiesto un incremento significativo en las poblaciones de ambas especies en los dos sistemas con cebada establecida por siembra directa (S1 y S3). Por el contrario, el laboreo utilizado en el sistema con agricultura ecológica facilitó el control de los niveles de infestación. En el año 2017, las mayores reducciones en las poblaciones de malas hierbas (especialmente de *L. rigidum*) se registraron en el sistema de manejo integrado debido al efecto conjunto del laboreo, la rotación de cultivos y la efectividad del herbicida.

Palabras clave: manejo de malas hierbas, sistemas de producción, agricultura de conservación, agricultura ecológica, manejo integrado, rotación de cultivos, sistemas de laboreo, herbicidas.

1. INTRODUCCIÓN

Las malas hierbas que aparecen cada año en nuestros cultivos son la consecuencia de un banco de semillas formado en años anteriores. Las especies arvenses que conforman este banco de semillas estarán relacionadas fundamentalmente con los métodos de control (rotación de cultivos, laboreo, herbicidas, etc.) utilizados según el sistema de producción implementado. Aparte de la agricultura convencional, existen varias alternativas en cuanto a sistemas de producción que el agricultor puede realizar en cultivos cerealistas; por ejemplo, la agricultura de conservación, la agricultura ecológica o el manejo integrado, entre otros.

Los sistemas de producción que incluyen laboreo de conservación, es decir, aquellos que mantienen al menos un 30% de la superficie del suelo cubierta con residuos después de la siembra (Shrestha et al., 2006), producen una inversión de flora que conlleva la disminución e incluso la desaparición de algunas especies arvenses, en tanto que otras malas hierbas anuales (e.g. *Lolium rigidum*) proliferan hasta convertirse en un problema (Dorado and López-Fando, 2006). Son varios los factores que provocan esta inversión de flora, pero fundamentalmente están relacionados con la eliminación de la labor de vertedera y la consecuente acumulación de semillas de malas hierbas en la capa superficial.

El manejo de malas hierbas en agricultura ecológica utiliza muchas de las técnicas empleadas en sistemas convencionales, pero ciñéndose exclusivamente a estrategias que no utilizan agroquímicos, es decir, estrategias culturales y mecánicas: prevención, rotación de cultivos, competencia con el cultivo, control mecánico (e.g. laboreo) y físico (e.g. térmico), etc. Sin embargo, a menos que su implementación esté guiada por un conocimiento de la biología de las malas hierbas y su manejo esté dirigido a reducir el banco de semillas, estas prácticas pueden tener un beneficio mínimo, o incluso aumentar sus poblaciones (Gallandt, 2014).

En los sistemas de manejo integrado, aunque el uso de herbicidas no está prohibido, se elimina cualquier tratamiento químico programado de antemano, minimizando su aplicación en pro de un uso racional de estas medidas químicas en combinación con otras estrategias preventivas, culturales y mecánicas (Pardo et al., 2008). Es decir, la vigilancia permanente se convierte en la herramienta esencial de este sistema de producción, en el que cualquier tratamiento químico se restringe al caso y a la zona en que sea necesario. Aunque los principios generales en los que se basa el manejo integrado de malas hierbas están bien establecidos, son escasas las referencias de sistemas probados y adaptados a las condiciones específicas de los cultivos principales de nuestro país (Montull et al., 2015).

El diseño de sistemas de producción y manejo de malas hierbas debe estar basado en el conocimiento de la agroecología de las especies más problemáticas y en la disponibilidad de estrategias de gestión, las cuales deben ser evaluadas de acuerdo a diversos criterios. En este sentido, en el año 2015 se inició un estudio cuyo objetivo fundamental fue evaluar de una forma integral, utilizando criterios agronómicos, económicos y medioambientales, los beneficios potenciales derivados del uso de distintos sistemas de producción (i.e. conservación, ecológico, integrado) en cereales. En este artículo se presentan únicamente los datos relativos a la evolución de dos especies problemáticas, *L. rigidum* y *Papaver rhoeas*, durante los dos primeros años del estudio, en función del sistema de producción practicado.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El diseño experimental utilizado en este estudio se basa en el enfoque propuesto por la *Network of European Cropping Systems Experiments* (Lechenet et al., 2017), en el que cada tratamiento viene definido por el objetivo que se persigue, no por las prácticas específicas a realizar (laboreo, herbicidas, rotación) dentro de cada sistema de producción. En función de dichos objetivos se definen las prácticas que los hacen posibles. Si a lo largo del tiempo se ve que alguna de esas prácticas no son adecuadas para alcanzar dichos objetivos (o aparecen nuevas prácticas), se modifica el paquete tecnológico asociado. El presente trabajo pretende aplicar este enfoque experimental a cultivos típicos de ámbitos mediterráneos. En concreto, se diseñó un experimento de larga duración en la finca «La Poveda» (Arganda del Rey, Madrid), evaluándose 3 sistemas de producción (Tabla 1): S1 *conservación* (siembra directa, con herbicidas); su objetivo es minimizar el empleo de labores con objeto de reducir costes económicos, energéticos y medioambientales (erosión, emisiones de CO₂). S2 *ecológico* (sin herbicidas, con laboreo preparatorio del terreno [vertedera y rotocultivador] y durante el ciclo del cultivo [grada de púas en cereal y cultivador entre líneas en guisante]); el objetivo es suprimir el uso de plaguicidas con objeto de minimizar los efectos medioambientales de estos productos. S3 *manejo integrado* (rotación con leguminosas, tratamientos localizados, siembra directa en cereal); su objetivo es mantener la rentabilidad económica optimizando la eficiencia en el uso de recursos mediante la integración de diversas técnicas y prácticas. Como se ha indicado anteriormente, estos sistemas de producción son flexibles, en el sentido de que las prácticas a utilizar en cada momento se tratan de ajustar a las condiciones específicas de cada situación. El diseño experimental fue de bloques al azar con 4 repeticiones y 6 tratamientos: por existir dos sistemas con alternativas de cultivo (leguminosa o barbecho) era necesario disponer de dos parcelas para tener el mismo cultivo todos los años (Tabla 1). El tamaño de cada parcela individual es de 50 m × 21 m para permitir el uso de maquinaria convencional.

Tabla 1. Descripción de las rotaciones de cultivos, laboreo y herbicidas utilizados en los diferentes sistemas de producción

Sistema de producción	Rotación 2015-2016	Laboreo	Herbicidas
Conservación	S1 Cebada-Cebada	Siembra directa	Glifosato (pre.) + Diclofop (post.)
Ecológico	S2a Barbecho-Guisante-	Vertedera+rotocultiv. (todos)	
	S2b Guisante-Cebada-	Cultiv. entre líneas (guis.)	–
	S2c Cebada-Barbecho-	Grada de púas (ceb.)	
Integrado	S3a Guisante-Cebada	Rotocultivador (guis.)	Diclofop+Bentazona (guis.)
	S3b Cebada-Guisante	Siembra directa (ceb.)	diclofop (ceb.)

Durante el año 2015 toda la parcela experimental estuvo sembrada con cebada manejada uniformemente, llevándose a cabo un muestreo de la flora arvense en la posición de las parcelas individuales de acuerdo al diseño que se implantaría en 2016. De este modo dispusimos de una información de partida (línea base) que nos permitió valorar la densidad de malas hierbas en cada parcela individual antes de implementar los diferentes sistemas de producción. La evaluación de las malas hierbas (densidad de *L. rigidum* y *P. rhoeas*) se llevó a cabo en marzo de 2015, febrero de 2016 y marzo de 2017, utilizando en cada parcela 15 marcos de 1/10 m² siguiendo una malla regular de 10 m × 5 m. El crecimiento anual de las poblaciones se calculó utilizando el parámetro λ (densidad poblacional año $n+1$ / densidad poblacional año n). Un valor de $\lambda > 1$ significaría una población en crecimiento mientras que $\lambda < 1$ significaría una población en declive.

En el momento de la cosecha (julio de 2016) se tomaron los datos de producción de cebada y guisante con una microcosechadora de parcelas (ancho de peine: 1,5 m) mediante un pase de 50 m coincidiendo con la mediatriz de cada parcela. El análisis de los datos (densidad de malas hierbas y producción del cultivo) se llevó a cabo con un Modelo Lineal General univariante, y el contraste de medias con el test de Bonferroni ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Influencia de los sistemas de producción sobre *Lolium rigidum*. Las parcelas sobre las que se estableció el experimento tenían una situación de partida relativamente homogénea en cuanto a densidad de *L. rigidum*, con la excepción de la zona coincidente con el sistema S2b que partía de una densidad inicial superior al resto de sistemas (Tabla 2).

Tras el primer año de establecimiento de los sistemas de producción (año 2016), los resultados observados en el cultivo de la cebada muestran un incremento significativo de la densidad de *L. rigidum* en todas las parcelas donde se realizó la siembra directa ($\lambda = 6,96$ y $8,51$ en los sistemas S3b y S1, respectivamente), mientras que en el sistema de producción ecológico (S2c), donde se utilizó laboreo de vertedera, esta variación en la densidad de plantas fue apenas de 1,78 veces respecto al año anterior. Estos resultados vienen a confirmar las referencias bibliográficas que apuntan a una proliferación de *L. rigidum* en siembra directa (Dorado & López-Fando, 2006). En efecto, en nuestro estudio el laboreo parece ser la causa que justifica el mayor control de *L. rigidum* durante este primer año, hecho que se confirma con los datos observados en el cultivo de guisante (sembrado en otoño, al mismo tiempo que la cebada), los cuales no presentan diferencias significativas entre los sistemas ecológico (S2b) e integrado (S3a) (Tabla 2).

Tabla 2. Densidad media (plantas m⁻²) de *Lolium rigidum* en función del sistema de producción (ver detalles de rotación, laboreo y herbicidas en tabla 1). Los datos de 2015 representan la situación inicial antes de comenzar el experimento. Los datos de 2016 y 2017 muestran el efecto de los sistemas de producción. Fechas de siembra: ¹ 17-nov-2015; ² 16-dic-2016; ³ 10-feb-2017

Sistema de producción		2015		2016		2017	
		Cultivo	Densidad	Cultivo	Densidad	Cultivo	Densidad
Conservación	S1	Cebada	7,5 b	Cebada ¹	63,8 a	Cebada ²	11,6 bc
Ecológico	S2a	Cebada	10,7 b	Barbecho	–	Guisante ³	24,8 b
	S2b	Cebada	18,5 a	Guisante ¹	16,4 b	Cebada ²	79,1 a
	S2c	Cebada	10,3 b	Cebada ¹	18,4 b	Barbecho	–
Integrado	S3a	Cebada	6,3 b	Guisante ¹	13,3 b	Cebada ²	12,9 bc
	S3b	Cebada	8,3 b	Cebada ¹	57,8 a	Guisante ³	1,7 c

En cada columna, las medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Debido al alto rendimiento obtenido en la cosecha de cebada en 2016 (Tabla 3), en la siguiente campaña la cantidad de paja presente en el rastrojo supuso un problema importante a la hora de realizar la siembra directa de cebada en el sistema de conservación (S1). Por dicho motivo este tratamiento tuvo que ser modificado, realizando una labor previa de rotocultivador para reducir la gran cantidad de residuos en superficie y así permitir la siembra del cultivo. Además, la ejecución de dicha operación se tuvo que retrasar debido a un periodo de intensas lluvias hasta el 16 de diciembre, fecha en la que la mayor parte de las plántulas de *L. rigidum* ya habían nacido. La consecuencia de estos factores, unidos (supuestamente) al efecto del diclofop en la campaña anterior, fue una reducción significativa de la densidad de *L. rigidum* en S1 ($\lambda = 0,18$). En el sistema integrado (S3a), el tratamiento con diclofop en el guisante durante la campaña previa más el retraso de siembra en esta campaña mantuvieron estables las poblaciones de esta especie, con una densidad similar a la observada en S1. En cambio, en el sistema ecológico (S2b) la densidad de *L. rigidum* aumentó 4,82 veces respecto al año anterior debido a su deficiente control conseguido en dicho año con la grada de púas (Tabla 2).

Tabla 3. Producción de grano (kg ha⁻¹ ± desviación estándar) en los cultivos de cebada y guisante en 2016, en parcelas con diferentes sistemas de producción (ver detalles de la rotación, laboreo y herbicidas en tabla 1)

Sistema de producción		Cebada (kg ha ⁻¹)	Guisante (kg ha ⁻¹)
Conservación	S1	5627±375 a	–
Ecológico	S2a	–	–
	S2b	–	2099±119 b
	S2c	5225±363 a	–
Integrado	S3a	–	3228±256 a
	S3b	5399±201 a	–

En cada columna, las medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

En las parcelas de guisante establecidas en 2017 se observó el efecto conjunto de la fecha de siembra (primavera) y de las operaciones realizadas en la campaña previa. En el sistema integrado (S3b) dicha conjunción supuso una drástica reducción ($\lambda = 0,03$) de la densidad de *L. rigidum*. Por el contrario, en el sistema ecológico (S2a) se observó un incremento sustancial en la densidad de *L. rigidum* respecto al año anterior de barbecho (Tabla 2) debido al deficiente control de esta especie con la labor de cultivador entre líneas y a su rápida recuperación en las condiciones de baja competencia del guisante.

3.2. Influencia de los sistemas de producción sobre *Papaver rhoeas*. La evaluación realizada en el año de establecimiento del ensayo puso de manifiesto diferencias en la situación de partida, con densidades de *P. rhoeas* más bajas en las zonas coincidentes con los sistemas S1, S2c y S3b respecto al resto de parcelas (Tabla 4).

Al igual que la especie anterior, en el año 2016 *P. rhoeas* incrementó su densidad en las parcelas de cebada con siembra directa ($\lambda = 3,39$ y $5,94$ en los sistemas S3b y S1, respectivamente). Resultados similares han sido publicados por Torra et al. (2015), quienes encontraron mayores densidades de esta especie en siembra directa respecto a otros sistemas de laboreo. Por el contrario, el empleo de laboreo de vertedera en el sistema de producción ecológico (S2c) disminuyó la densidad de plantas respecto al año anterior ($\lambda = 0,32$). En el caso del guisante, el laboreo previo a la siembra fue también un método de control eficiente al reducir de forma significativa la densidad de *P. rhoeas* respecto al año anterior ($\lambda = 0,74$ y $0,44$ en los sistemas de manejo integrado [S3a] y ecológico [S2b], respectivamente) (Tabla 4).

Tabla 4. Densidad media (plantas m⁻²) de *Papaver rhoeas* en función del sistema de producción (ver detalles de rotación, laboreo y herbicidas en tabla 1). Los datos de 2015 representan la situación inicial antes de comenzar el experimento. Los datos de 2016 y 2017 muestran el efecto de los sistemas de producción. Fechas de siembra: ¹ 17-nov-2015; ² 16-dic-2016; ³ 10-feb-2017

Sistema de producción	2015		2016		2017					
	Cultivo	Densidad	Cultivo	Densidad	Cultivo	Densidad				
Conservación	S1	Cebada	3,2	b	Cebada ¹	19,0	a	Cebada ²	19,1	b
Ecológico	S2a	Cebada	7,5	ab	Barbecho	–		Guisante ³	2,1	c
	S2b	Cebada	10,7	a	Guisante ¹	4,7	bc	Cebada ²	19,9	b
	S2c	Cebada	4,4	b	Cebada ¹	1,4	c	Barbecho	–	
Integrado	S3a	Cebada	12,9	a	Guisante ¹	9,5	abc	Cebada ²	43,3	a
	S3b	Cebada	4,1	b	Cebada ¹	13,9	ab	Guisante ³	4,0	c

En cada columna, las medias con la misma letra no son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

En la campaña de 2017, la labor tardía de rotocultivador en el sistema de monocultivo de cebada con laboreo de conservación (S1) frenó el crecimiento de las poblaciones de *P. rhoeas*, manteniéndose su densidad en valores similares al año anterior. En los dos sistemas en los que la cebada se cultivaba tras guisante, se observaron incrementos significativos de la densidad de *P. rhoeas* respecto al año anterior ($\lambda = 4,23$ y $4,56$ en los sistemas ecológico [S2b] y manejo integrado [S3a], respectivamente) (Tabla 4). En el sistema ecológico esta diferencia se justifica por el

deficiente control conseguido con la labor de cultivador entre líneas y a su rápida recuperación en las condiciones de baja competencia del guisante. En el sistema integrado este incremento pudo deberse a la baja efectividad de la bentazona sobre esta especie.

En las parcelas de guisante, el efecto conjunto del retraso de la fecha de siembra y el cultivo previo favoreció el control de *P. rhoeas* en el sistema integrado (S3b) ($\lambda = 0,29$). En cambio, en el sistema ecológico (S2a) se observó un ligero incremento en la densidad de *P. rhoeas* en relación al año anterior de barbecho (Tabla 4).

4. AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por el MINECO (proyecto AGL2014-52465-C4-1-R).

5. REFERENCIAS


- Dorado J & López-Fando C (2006). The effect of tillage system and use of a paraplow on weed flora in a semiarid soil from central Spain. *Weed Research*, 46, 424-431.
- Gallandt E (2014). Weed Management in Organic Farming. En: Recent Advances in Weed Management. (eds. BS Chauhan & G Mahajan), pp. 63-85. Springer New York, New York, NY.
- Lechenet M, et al. (2017). Diversity of methodologies to experiment Integrated Pest Management in arable cropping systems: Analysis and reflections based on a European network. *European Journal Agronomy*, 83, 86-89.
- Montull JM, Llenes JM and Taberner A (2015). Manejo integrado de *Bromus diandrus*. Resultados de tres años de ensayos. XV Congreso de la SEMh. Ed. by Alarcón R, Contreras JM, Dorado J, González P, López N, Osca JM, Pérez M & Urbano JM, pp. 29-34, Servicio de Publicaciones y Divulgación de La Junta de Andalucía, Sevilla.
- Pardo G, Riravololona MJ, Petit MS, Farcy P and Munier-Jolain N (2008). Consecuencias del manejo integrado de malas hierbas sobre la organización del trabajo y la rentabilidad económica de la explotación agrícola. *ITEA*, 104, 448-471.
- Shrestha A, Lanini T, Wright S, Vargas R, Mitchell J (2006). Conservation tillage and weed management. ANR publication 8200. <http://anrcatalog.ucanr.edu/pdf/8200.pdf>.
- Torra J, Royo Esnal A, Rey Caballero J, Recasens J. and Salas M (2015). Opciones de manejo de *Papaver rhoeas* con resistencia múltiple a herbicidas. En XV Congreso de la Sociedad SEMh: La Malherbología y la transferencia tecnológica, pp. 177-184, Sevilla.

Influence of cereal production systems on populations of *Lolium rigidum* and *Papaver rhoeas*

Summary: A long-term experiment was started in 2015 in Arganda del Rey (Madrid) to evaluate in an integral way the effects of various cereal production systems (S1-conservation agriculture, S2-organic farming and S3-integrated management) on the populations of *Lolium rigidum* and *Papaver rhoeas*. The results observed in 2016 have shown a significant increase in the populations of both species in the two systems with winter barley established by direct seeding (S1 and S3). On the contrary, the tillage used in the organic farming system seemed to be responsible for weed control. In 2017, the largest reductions in weed populations (especially *L. rigidum*) were recorded in the integrated management system due to the combined effect of tillage, crop rotation and herbicide effectiveness.

Keywords: weed management, production systems approach, conservation agriculture, organic farming, integrated management, crop rotation, tillage systems, herbicides.

Efecto de la Agricultura de Conservación y la fertilización nitrogenada en la población de plantas adventicias en una parcela de trigo en regadío

Nerea Arias¹, Juan Antonio Lezáun¹, Irache Garnica¹, Luis Orcaray¹, José Jesús Pérez de Ciriza¹, Javier Delgado¹

¹Instituto Navarro de tecnologías e Infraestructuras Agrarias (INTIA), 31610-Villava
 narias@intiasa.es

Resumen: El uso de técnicas como la Agricultura de Conservación o la reducción de nitrógeno aplicado en campo pueden causar cambios en la composición y abundancia de las especies de malas hierbas presentes en los sistemas de cultivo. En el monitoreo de la flora adventicia en un cultivo de trigo que siguió una rotación de maíz-sorgo-trigo se observó que especies como *Avena sterilis* o *Salsola kali* desaparecieron tras la rotación de dos cultivos de verano. La aplicación de una dosis de fertilización nitrogenada reducida no produjo diferencias significativas en el número de plantas presentes por metro cuadrado en las parcelas de estudio. Sin embargo, la aplicación del no laboreo (NL) generó un mayor desarrollo de la biomasa de las plantas adventicias lo que puede conducir a una mayor competencia con el cultivo, y por ello, una disminución del rendimiento.

Palabras clave: Agricultura de Conservación, fertilización nitrogenada, trigo, rotación cultivos.

1. INTRODUCCIÓN

La búsqueda de técnicas agrícolas sostenibles se ha incrementado durante los últimos años como respuesta a una mayor preocupación e interés por el mantenimiento de la naturaleza y la conservación de los recursos. La Agricultura de Conservación es una técnica asociada tanto a la reducción del laboreo evitando la inversión del suelo y manteniendo por lo menos un 30% de los residuos de la cosecha anterior, como al no laboreo. Su práctica aumenta la capacidad de retención de agua y disminuye la erosión y la pérdida de nutrientes (Hobbs et al., 2008). Por tanto, la combinación de esta técnica junto con el ajuste de la fertilización nitrogenada son estrategias que se pueden considerar como sostenibles.

Sin embargo, el cambio de las prácticas agrícolas también influye en la flora existente en los ecosistemas ya que cuando se realizan diferentes laboreos o rotaciones de cultivos se produce un cambio en la composición y abundancia de la comunidad de hierbas adventicias presentes (Hammond et al., 2006; Murphy and Lemerle, 2006). Además, la demanda de nutrientes no es igual para todas las especies agrícolas (Yin et al., 2006) lo que conlleva la posibilidad de que cambios en el tipo y dosis de fertilización aplicada produzcan cambios en la población de plantas adventicias presentes. Lo cual es de especial relevancia ya que la presencia de malas hierbas puede ocasionar la pérdida de producción o calidad debido a que compiten con los cultivos por los mismos recursos.

El avance en el conocimiento del comportamiento de las malas hierbas en función de las técnicas agrícolas utilizadas puede ayudar a mejorar la eficacia de los sistemas de control. Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue: identificar y cuantificar las plantas adventicias bajo los efectos de la Agricultura de Conservación y la disminución de la fertilización nitrogenada.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio. Este estudio se localizó en Olite, en el NE de España. En esta zona se ha practicado tradicionalmente el cultivo de cereales y viña en secano hasta su transformación a regadío en el año 2010. El clima es Mediterráneo templado (TE Me) según el sistema de clasificación de Papadakis (1975). La parcela experimental se situó en una de las terrazas del río Cidacos en un suelo pedregoso con una textura franco arcillo limosa, con una profundidad efectiva de 30-35 cm y sin problemas de salinización o encharcamiento.

2.2. Diseño experimental. El experimento comenzó en el año 2011 con el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) siguiendo una rotación de sorgo (*Sorghum vulgare* L.) y trigo (*Triticum aestivum* L.), este último en el año 2013. Un diseño en split-plot con tres replicados por cada tratamiento se ajustó a la distribución del riego por aspersión (15 x 18 m). Cada parcela elemental tenía una dimensión de 6 x 13 m. Dos factores se analizaron en este estudio: el principal fue el sistema de laboreo y el factor secundario la dosis de fertilización nitrogenada. En el caso del laboreo, dos sistemas fueron evaluados, el no laboreo (NL) y el laboreo convencional de la zona (LC). El no laboreo consistió en una siembra directa sobre los residuos dejados en superficie, mientras que el laboreo convencional consistió en varios pases de chisel a una profundidad de 15 cm que incorporaron los residuos en el suelo, seguidos de la preparación del lecho de siembra con un cultivador. Durante el año 2011 todas las parcelas fueron labradas con LC para evitar heterogeneidades debidas a manejos previos. Por otro lado, dos dosis de fertilización nitrogenada (urea 46%) fueron evaluadas: convencional (F1) y reducida (F2). Las parcelas bajo F1 recibieron 150 kg N/ha en trigo y 300 kg N/ha en maíz y sorgo. Las parcelas bajo F2 recibieron aproximadamente un 20% menos de esa dosis (120 kg N/ha en trigo y 250 kg N/ha en maíz y sorgo). El fósforo fue aplicado de manera similar a todas las parcelas y cultivos a la dosis de 70 kg P/ha previamente a la siembra.



Figura 1. 1a) Detalle del muestreo de flora adventicia; 1b) Detalle de la parcela de ensayo.

2.3. Métodos de campo y laboratorio. Los muestreos de la población de malas hierbas se llevaron a cabo en los estados de ahijamiento y espigado del cultivo de trigo. Seis muestras al azar fueron tomadas en zigzag sobre la diagonal principal de cada parcela. En la superficie de muestreo (30 x 30 cm) que se puede observar en la figura 1, se procedió al conteo e identificación de las especies presentes. Posteriormente se recogió la vegetación existente y se cuantificó el peso fresco. El peso seco se obtuvo tras mantener la vegetación muestreada 48 horas a 105°C.

Previamente, durante el año 2011, se realizó una identificación de las especies de malas hierbas existentes en la parcela de estudio que fue comparada con las especies presentes durante 2013 para ver la evolución de la población de malas hierbas.

Los datos se analizaron utilizando el programa estadístico SPSS 18.0. Las diferencias significativas se basaron en un nivel de probabilidad de $p < 0,05$.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Entre los años 2011 y 2013 se comprobó como la densidad de ciertas malas hierbas tales como *Polygonum convolvulus*, *Polygonum aviculare* y *Lolium rigidum* disminuyó conforme a los datos iniciales observados en 2011 (datos no mostrados). Fue especialmente destacable que especies como *Avena sterilis* o *Salsola kali* desaparecieron de la parcela tras las rotaciones de dos cultivos de verano. Este resultado indicó que la utilización conjunta de la rotación con los tratamientos fitosanitarios es una herramienta eficaz a la hora de controlar la flora arvense que presenta competencia con el cultivo.

No hubo efecto de interacción entre el laboreo y la dosis de fertilización nitrogenada así que se procedió a estudiar ambos efectos por separado. La menor dosis de fertilización nitrogenada no incidió de manera significativa en el número de plantas adventicias presentes en la parcela en comparación con la dosis convencional de la zona. Sin embargo, en función del laboreo practicado, se observaron diferentes comportamientos en las poblaciones de malas hierbas. Durante la etapa de ahijado del trigo se observó que *Polygonum convolvulus* fue la especie presente con mayor número de plantas por metro cuadrado, principalmente en las parcelas de laboreo convencional. Este resultado está en consonancia con lo reportado por Santín-Montanyá et al. (2013) que indicaron que el género *Polygonum* spp. predomina en los sistemas de laboreo convencional. *Veronica hederifolia* y *Lolium rigidum* fueron otras de las especies presentes de manera no tan abundante pero sí significativa. Ya en menor media se identificó *Conyza canadensis*, *Polygonum aviculare* y *Galium aparine* entre otras.

Tabla 1. Número de plantas por metro cuadrado y error estándar de las diferentes especies de hierbas adventicias encontradas en el cultivo de trigo durante la etapa de espigado en 1) No laboreo (NL); 2) Laboreo convencional (LC)

	Plantas / m ²	
	NL	LC
<i>Polygonum convolvulus</i>	33,33 ± 6,87 a	86,43 ± 10,67 b
<i>Polygonum aviculare</i>	2,22 ± 1,47 a	14,67 ± 5,33 b
<i>Galium aparine</i>	4,44 ± 2,42 a	11,33 ± 3,36 a
<i>Veronica hederifolia</i>	0,00 ± 0,00 a	4,67 ± 1,33 b
<i>Lolium rigidum</i>	32,22 ± 5,21 a	12,67 ± 3,84 b
<i>Chenopodium album</i>	1,11 ± 1,11 a	7,33 ± 2,06 b
<i>Matricaria spp</i>	3,33 ± 3,33 a	0,67 ± 0,67 a
<i>Conyza canadensis</i>	11,11 ± 8,07 a	0,00 ± 0,00 b
<i>Convolvulus arvensis</i>	6,67 ± 5,53 a	4,00 ± 2,89 a

Diferentes letras en diferentes columnas indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

Los datos de la siguiente identificación y cuantificación de la flora arvense durante el momento de espigado se muestran en la tabla 1. La densidad de *P. convolvulus* se incrementó, ya que es una especie que presenta una nascencia muy escalonada, siendo significativamente superior en las parcelas de LC. *P. aviculare*, *Chenopodium album* y *Veronica hederifolia* también presentaron una mayor densidad de plantas en las parcelas bajo este mismo sistema de laboreo. Las únicas especies que presentaron una mayor densidad de plantas en las parcelas de NL fueron *Lolium rigidum* y *Conyza canadensis*. En el caso de *L. rigidum* el resultado concuerda con lo expresado por Lezáun & Telletxea (2017), que es una especie cuya germinación y control se ve favorecida con los laboreos. De manera similar, *C. canadensis* es una especie frecuente en los sistemas bajo no laboreo (Buhker and Owen, 1997).

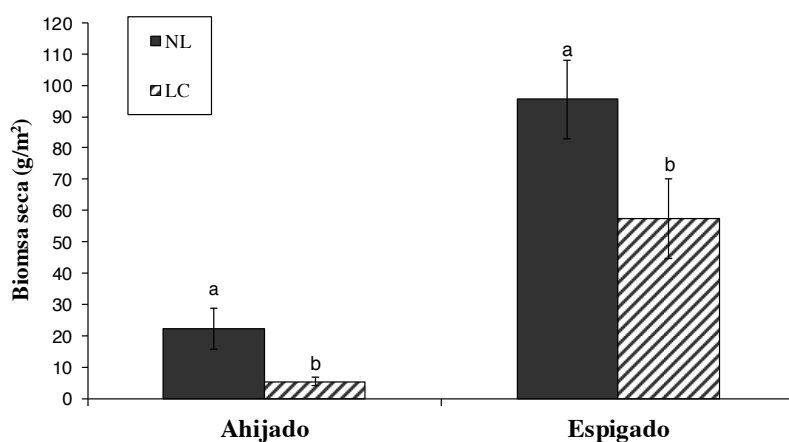


Figura 2. Biomasa seca de la flora adventicia de la parcela de trigo durante las etapas de ahijado y espigado. Diferentes letras indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En la figura 2 se muestra la biomasa seca (g/m^2) de la flora arvense presente en las diferentes etapas del trigo. Como se puede observar, durante el año 2013 la cantidad de biomasa presente en NL fue estadísticamente superior en comparación con el LC. Durante la identificación y cuantificación de la flora arvense en trigo durante el año 2013 se obtuvo un número superior de plantas por metro cuadrado para la mayoría de las especies en las parcelas de LC pero tras el análisis de la biomasa se comprobó que el desarrollo de éstas fue menor. Por tanto, la competencia de la flora adventicia con el cultivo en el sistema de NL fue mayor a pesar de existir un número menor de plantas. Tal y como explicaron Wozniak and Soroka (2014), los sistemas de labranza reducida tienden a incrementar la infestación de malas hierbas en los cultivos, tanto en número como en peso. Esta última premisa está en consonancia con los resultados del presente ensayo ya que, a pesar de haberse obtenido una menor densidad de ciertas especies, en general éstas se desarrollaron más y produjeron mayor cantidad de biomasa. Por otro lado, la diferente dosis de abonado nitrogenado no tuvo ningún efecto en la cantidad de biomasa producida en las malas hierbas presentes en las parcelas, al contrario que lo presentado en el estudio llevado a cabo por Jalali (2013) en donde la cantidad de biomasa de la flora adventicia se incrementaba con la cantidad de fertilización nitrogenada aplicada.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA) y los fondos europeos FEDER a través del proyecto RTA2010-00006-C03-03 y la beca predoctoral de N. Arias. Se agradece en especial el trabajo realizado por el equipo de INTIA de Tafalla, Francisco, Julio y Javier, así como la colaboración prestada por el agricultor de la parcela Fermín Ardanaz.

5. REFERENCIAS

- Buhler DD and Owen MDK (1997). Emergence and survival of Horseweed (*Conyza canadensis*). *Weed Science*, 45(1), 98-101.
- Hammond C, Luschei EC, Boerboom CM and Nowak PJ (2006). Adoption of integrated pest management tactics by Wisconsin farmers. *Weed Technology*, 20(3), 756-767.
- Hobbs PR, Sayre K and Gupta R (2008). The role of conservation agriculture on sustainable agriculture. *Philosophical Transactions of The Royal Society B*, 363, 543-555.
- Jalali AH (2013). Changes in weed seed Banks and the potato yield as affected by different amounts of nitrogen and crop residue. *International Journal of Plant production*, 7(1), 19-32.
- Lezáun JA & Telletxea N (2017). Vallico, lluejo o yerbín. *Navarra Agraria*, 222, 47-48.
- Murphy CE & Lamerle D (2006). Continuous cropping systems and weed selection. *Euphytica*, 148 (1), 61-73.
- Papadakis J (1975). *Climates of the world and their potentialities*. Ed. by Papadakis. Buenos Aires.
- Santín-Montanyá I, Zambrana-Quesada E, and Tenorio-Pasamón JL (2013). Weed Management in Cereals in Semi-Arid Environments: A Review. *Herbicides - Current Research and Case Studies in Use*. Ed by Andrew J and Kelton JA.
- Wozniak A & Soroka M (2014). Effects of a 3-year reduced tillage on the yield and quality of grain and weed infestation of spring triticale (Triticosecale Wittmack). *International Journal of Plant Production*, 8(2), 231 - 242.
- Yin LC, Cai ZC and Zhong WH (2006). Changes in weed community diversity of maize crops due to long-term fertilization. *Crop Protection*, 25(9), 910-914.

The effect of Agriculture Conservation and nitrogen fertilization on the weed population of an irrigated wheat field

Summary: The use of techniques such as Conservation Agriculture or the reduction of nitrogen fertilization applied to the field may change the composition and abundance of weed species present in cropping systems. After monitoring weeds in a wheat crop field that followed a corn-sorghum-wheat rotation, it was possible to see that species such as *Avena sterilis* or *Salsola kali* disappeared after the rotation of two summer crops. The application of a reduced nitrogen fertilization dose did not produce significant differences in the number of plants present per square meter in the studied field. However, the application of no-tillage (NT) generated a greater development of the weeds biomass, which could lead to a greater competition with the crop, and therefore, a yield decrease.

Keywords: Conservation Agriculture, nitrogen fertilization, wheat, crop rotation.

Adaptación de la flora arvense a diferentes sistemas de gestión del suelo en un viñedo de la Comunidad de Madrid

José Dorado¹✉, Félix Cabello², José Manuel Martín¹, David Campos¹, Carolina San Martín³, Dionisio Andújar¹, Roberto Saiz², María Remedios Alarcón², César Fernández-Quintanilla¹

¹Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), 28006 Madrid

²Instituto Madrileño de Inv. y Des. Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), 28014 Madrid

³Columbia Basin Ag. Research Center - OSU, Adams, Oregon 97810

✉ jose.dorado@csic.es

Resumen: Este trabajo recoge los resultados de un experimento iniciado en 2010 en un viñedo de la Comunidad Madrid en el que se utilizaban diferentes sistemas de gestión del suelo, tanto en las calles (cubierta vegetal, laboreo) como en las líneas de cultivo (laboreo, herbicida). Los resultados observados en 2015 y 2016 han puesto de manifiesto un efecto significativo del sistema de gestión del suelo sobre la flora arvense y la productividad de la viña. Los sistemas que incluían cubierta vegetal favorecieron la presencia de *Astragalus* sp., *Crepis vesicaria*, *Galium parisiense*, *Medicago* spp., *Taraxacum obovatum* y *Vulpia myuros*. En las parcelas labradas dominaron especies como *Lamium amplexicaule* y *Stellaria media*. Finalmente, en los tratamientos donde no se utilizaron herbicidas en la línea de cultivo, se observó mayor presencia de *Bromus* spp. y *Convolvulus arvensis*.

Palabras clave: malas hierbas, viña, cubierta vegetal, laboreo, herbicida.

1. INTRODUCCIÓN

La composición de la flora arvense en los viñedos está fuertemente condicionada por las prácticas agrícolas utilizadas (Baumgartner et al., 2008; Elmore et al., 1997; Gago et al., 2007). En la Comunidad de Madrid, los sistemas de gestión del suelo habituales en viñedos se basan en un laboreo intensivo del terreno, con cuatro o cinco pases de cultivador a lo largo del año. Sin embargo, desde hace algunos años se está cuestionando este sistema de gestión del suelo debido, entre otros, a los problemas ocasionados por el deterioro de la estructura y la erosión del suelo en terrenos en pendiente (Lieskovský and Kenderessy, 2014). Para paliar este tipo de problemas se han propuesto prácticas alternativas, fundamentalmente centradas en el uso de cubiertas vegetales (Tescic et al., 2007). La posibilidad de utilizar una cubierta vegetal está en estrecha relación con la disponibilidad y manejo del riego (Celette et al., 2008; Lopes et al., 2011; Junquera et al., 2012; Marques et al., 2015), lo cual puede suponer una limitación en las condiciones semiáridas típicas del centro peninsular. Por otro lado, dicha cubierta tendrá un efecto sobre diversos parámetros de productividad y calidad de la uva (Elmore et al., 1997; Celette et al., 2008), aspecto de una enorme importancia en un escenario de máxima competitividad como es el mercado del sector vitivinícola.

Cualquier cambio en el sistema de gestión del suelo plantea interrogantes al viticultor, como pueden ser los riesgos de infestación de malas hierbas, el efecto sobre la productividad del viñedo o la posibilidad de utilizar cubierta vegetal en una zona donde el clima, a priori, no es favorable. Con objeto de dar respuesta a estos interrogantes, se ha diseñado un experimento a largo plazo en la Finca Experimental «El Socorro», propiedad del Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), que planteaba evaluar la influencia del sistema de gestión del suelo sobre la flora arvense y la productividad del viñedo en la zona centro de España.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en Colmenar de Oreja (Madrid), en la finca del IMIDRA «El Socorro», sobre un viñedo establecido en 2010 de aproximadamente 1 hectárea de extensión. La variedad utilizada fue Tempranillo (clon 771/patrón 110R), cultivada en espaldera de formación en Cordón Royat, con un marco de plantación de 2 m (calle) × 1,1 m (entre pies) y riego por goteo en la línea de cultivo. El diseño experimental de bloques al azar con 4 repeticiones incluía 5 tratamientos (cada tratamiento ocupaba 4 calles de 50 m en cada bloque) con los siguientes sistemas de gestión del suelo: S1) laboreo (hasta tres pases de cultivador a lo largo del ciclo vegetativo del viñedo) en las calles y herbicida (glifosato) en las líneas; S2) laboreo (cultivador) en las calles y laboreo (intercepa) en las líneas; S3) calles alternas con laboreo (cultivador en la calle e intercepa en la línea) y cubierta vegetal (vegetación espontánea en la calle, manejada con dos o tres pases de segadora para mantener una cubierta con altura inferior a 2 cm durante el ciclo vegetativo del viñedo, y pase de desbrozadora de la marca Pellenc, modelo *tournesol* en la línea). Este tratamiento cambia cada 3 años, siendo labradas las calles con cubierta vegetal y manteniendo una cubierta vegetal en aquellas que anteriormente habían sido labradas; S4) cubierta vegetal (vegetación espontánea) en las calles y herbicida (glifosato) en las líneas; y S5) cubierta vegetal en las calles y pase de desbrozadora (*tournesol*) en las líneas. Consecuentemente, el diseño incluía un rango de coberturas vegetales (Fig. 1) que oscilaban entre el suelo prácticamente desnudo (S1) hasta el suelo íntegramente cubierto en calle y línea (S5).

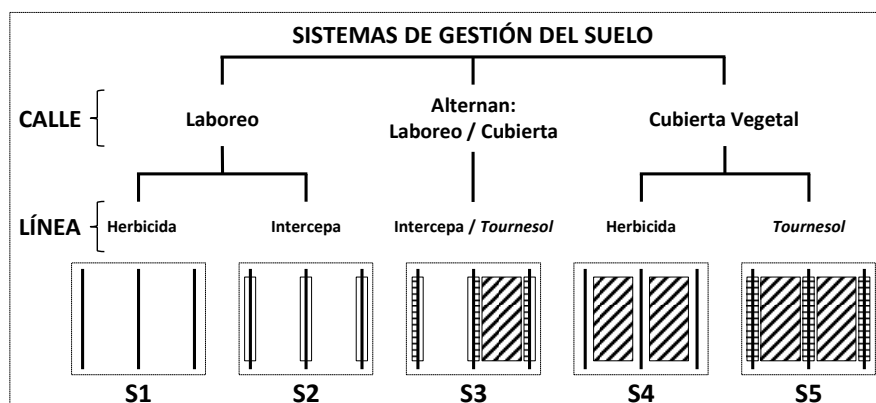


Figura 1. Esquema que ilustra el grado de cobertura vegetal en los diferentes tratamientos según el sistema de gestión del suelo (tanto en la línea de cultivo como en la calle).

El muestreo de la flora arvense se realizó en las dos calles centrales dentro de cada tratamiento y bloque. Los puntos de muestreo (marcos de 1/5 m²) se situaron tanto en la línea de cultivo como en las calles. Los puntos de muestreo en la línea se separaban 3 m, en tanto que los puntos situados en el centro de las calles estaban separados 6 m entre ellos; es decir, se tomaron un total de 20 muestras en cada tratamiento y bloque. En cada punto de muestreo se identificaron las especies arvenses y se estimó el porcentaje de cobertura dentro del marco para cada una de ellas así como el porcentaje de cobertura total correspondiente al conjunto de malas hierbas presente.

Los muestreos se realizaron en 2015 y 2016, durante la primera quincena de mayo, coincidiendo con el momento de mayor número de especies vegetales e inmediatamente antes de las labores de escarda (cultivador y segadora).

Por otro lado, se tomaron los datos de producción de uva y del peso de poda (10 cepas en cada tratamiento y bloque), con objeto de conocer el efecto del manejo del suelo sobre la productividad del viñedo. Finalmente, se determinó la resistencia del suelo a la penetración (índice de cono) en función de la profundidad (López-Fando et al., 2007). Los datos de cobertura vegetal y número de especies arvenses, así como de producción del viñedo, fueron analizados estadísticamente mediante el procedimiento Modelo Lineal General univariante y la prueba de comparación múltiple *post hoc* de Bonferroni.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Influencia del sistema de gestión del suelo en la flora arvense. El sistema de gestión del suelo afectó de forma significativa a la flora arvense del viñedo, tanto la cobertura vegetal como el número de especies (Tabla 1). Este resultado era de esperar, dado que el mantenimiento de una cubierta vegetal supone un incremento significativo del porcentaje de cobertura vegetal; este es precisamente el objetivo fundamental de los viticultores, quienes buscan en dicha cubierta la protección del suelo ante la erosión así como la mejor accesibilidad de la maquinaria agrícola en épocas desfavorables. En nuestro estudio, a pesar de no emplear riego en las calles entre líneas del viñedo, esta cobertura se mantuvo incluso durante los meses de verano. Por otro lado, las siegas periódicas realizadas sobre esta cubierta vegetal produjeron una adaptación de especies arvenses de bajo porte, las cuales formaban pequeñas rosetas capaces de proteger de forma efectiva el suelo. Los tratamientos con mayor cobertura vegetal (principalmente S5 y, en menor medida S4 y S3) resultaron en una comunidad vegetal formada fundamentalmente por dos hemicriptófitos, *Crepis vesicaria* L. y *Taraxacum obovatum* (Willd.) DC., y cuatro terófitos, tres de ellos de hoja ancha, *Astragalus* sp., *Galium parisiense* L., *Medicago* spp. (*M. minima* L., *M. polymorpha* L. y *M. orbicularis* (L.) Barta), y una especie de hoja estrecha, *Vulpia myuros* (L.) C.C. Gmelin.

La vegetación arvense cambió drásticamente en las parcelas con laboreo, donde encontramos un porcentaje de cobertura mucho menor en relación a los sistemas de manejo anteriores, con especies habituales en tierras de cultivo (Tabla 1). Por ejemplo, dominaban algunas especies anuales de hoja ancha como *Lamium amplexicaule* L. y *Stellaria media* (L.) Vill.

Además de estas diferencias, en los tratamientos donde no se utilizaron herbicidas en la línea de cultivo, observamos mayor presencia del género *Bromus* (mayoritariamente *B. madritensis* L., aunque también se encontraron individuos de *B. hordeaceus* L.) y del geófito *Convolvulus arvensis* L., una especie problemática debido a su comportamiento como mala hierba perenne.

Tabla 1. Número de especies y porcentaje de cobertura del total de especies y de las especies arvenses que han mostrado diferencias significativas en función del sistema de gestión del suelo durante los años 2015 y 2016. Datos medios del muestreo en calle y línea de cultivo

	Año	Sistema de gestión del suelo					Error estándar
		Calle					
		Línea de cultivo					
		S1	S2	S3	S4	S5	
	Laboreo	Laboreo	Labor./cubier.	Cubierta	Cubierta		
	Herbicida	Intercepa	Interc./tourne.	Herbicida	Tournesol		
Nº especies	2015	2,6 d	3,9 b	5,2 a	3,2 c	5,6 a	0,2
	2016	2,9 b	3,3 b	6,0 a	3,3 b	5,8 a	0,2
% cobertura							
Total	2015	15,9 d	30,5 c	52,5 b	48,3 b	87,4 a	2,2
	2016	17,2 d	13,2 e	39,7 c	46,6 b	87,7 a	1,1
<i>Astragalus</i> sp.	2015	1,5 ab	0,0 b	5,0 a	4,2 a	2,6 ab	1,1
	2016	0,0 b	0,0 b	0,5 b	0,7 b	1,7 a	0,2
<i>Bromus</i> spp.	2015	1,2 c	4,7 a	1,3 c	0,0 c	2,9 b	0,5
	2016	0,6 c	0,8 c	3,3 b	1,1 c	7,8 a	0,6
<i>Convolvulus arvensis</i>	2015	1,6 b	7,5 a	5,4 a	0,3 b	1,9 b	0,7
	2016	1,2 ab	1,2 ab	2,0 a	0,0 b	2,0 a	0,4
<i>Crepis versicaria</i>	2015	0,4 c	0,4 c	2,7 b	7,5 a	9,0 a	0,6
	2016	0,0 c	0,0 c	0,3 c	2,8 b	4,5 a	0,4
<i>Galium parisiense</i>	2015	0,3 c	0,3 c	2,0 c	4,4 b	7,5 a	0,7
	2016	0,5 c	0,2 c	7,2 b	6,8 b	12,7 a	0,7
<i>Lamium amplexicaule</i>	2015	2,6 c	9,6 a	4,1 b	0,0 d	0,0 d	0,5
	2016	4,2 a	2,4 b	0,7 c	0,0 c	0,0 c	0,3
<i>Medicago</i> spp.	2015	4,7 d	3,4 d	22,6 c	35,4 b	54,7 a	2,2
	2016	1,5 d	1,0 d	5,6 c	24,6 b	42,3 a	1,2
<i>Stellaria media</i>	2015	1,3 ab	0,8 ab	1,8 a	0,1 b	0,1 b	0,4
	2016	3,1 a	1,8 ab	1,3 bc	0,1 c	0,1 c	0,4
<i>Taraxacum obovatum</i>	2015	0,4 c	0,1 c	2,2 b	3,0 ab	4,1 a	0,5
	2016	0,3 c	0,1 c	2,2 b	2,9 b	5,2 a	0,5
<i>Vulpia myuros</i>	2015	0,3 c	0,4 c	2,0 b	1,5 bc	6,8 a	0,4
	2016	0,1 c	0,0 c	1,4 b	1,7 b	3,3 a	0,3

En cada fila (i.e., especie y año), las medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

3.2. Influencia del sistema de gestión del suelo en la productividad del viñedo. Los resultados sobre la productividad del viñedo han puesto de manifiesto diferencias significativas producidas por el sistema de gestión del suelo, con el laboreo como principal factor causante de incremento en las producciones. De este modo, las parcelas más productivas fueron las que se gestionaban con laboreo y las menos productivas utilizaban cubierta vegetal, encontrándose valores intermedios en el tratamiento con calles alternas (Fig. 2).

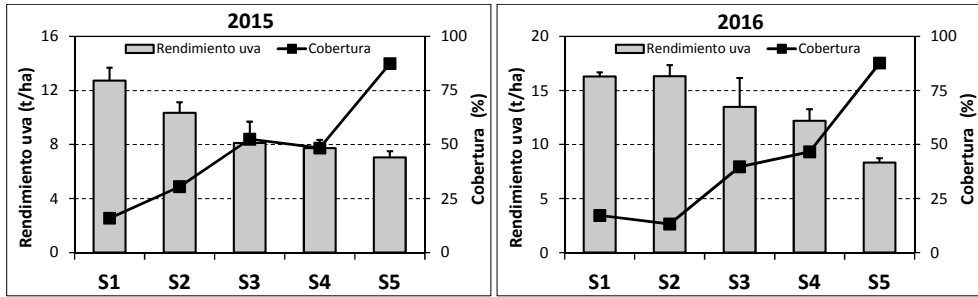


Figura 2. Datos de cobertura vegetal (línea) junto a los datos de rendimiento de uva en 2015 (izquierda) y 2016 (derecha). La referencia de los sistemas de gestión del suelo está detallada en la figura 1.

Atendiendo únicamente a estos datos, podríamos asociar el descenso de productividad en el viñedo a una mayor competencia con la cubierta vegetal. Sin embargo, en nuestra opinión, la causa principal de esta disminución se encontraba en la compactación del suelo observada en las parcelas con cubierta, la cual era evidente a simple vista por la marcada huella que deja el paso de la maquinaria (en particular, la vendimiadora mecánica). Esta apreciación visual se ha confirmado con los datos de resistencia a la penetración (Fig. 3), los cuales reflejaban una mayor compactación del suelo bajo cubierta vegetal en relación al sistema de gestión que utilizaba laboreo. Dicha compactación era particularmente evidente en profundidades comprendidas entre 40 y 55 cm, coincidiendo con la zona donde se desarrolla la mayoría del sistema radicular de la viña (Baeza et al., 2008). Puede intuirse por tanto una consecuencia negativa debida a la compactación del suelo sobre la productividad de las plantas, al limitar su desarrollo radicular debido a la reducción del contenido en aire y agua útil del suelo. Una propuesta para disminuir los efectos adversos sobre la estructura del suelo, cuando se mantiene una cubierta vegetal en ambientes semiáridos podría ser la utilización de laboreo en calles alternas. En este estudio hemos podido comprobar cómo su empleo puede minimizar el impacto sobre la vegetación arvense y sobre la productividad del viñedo.

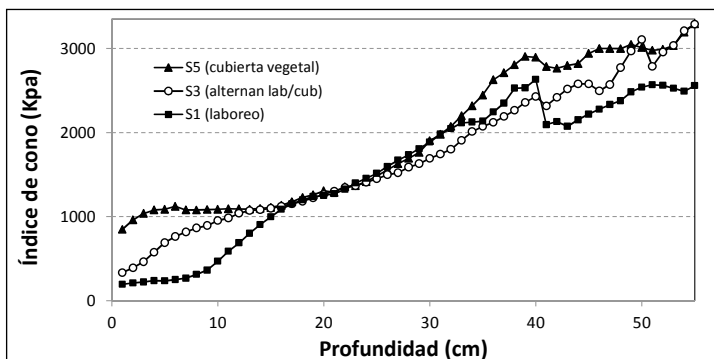


Figura 3. Índice de cono en función de la profundidad medido en 2016. Para facilitar la claridad de la gráfica, se representan solo tres tratamientos, que incluyen todos los posibles sistemas de gestión del suelo en las calles del viñedo: laboreo (S1), cubierta (S5) y calles alternas con laboreo y cubierta (S3).

4. AGRADECIMIENTOS

Trabajo financiado por el MINECO (proyecto AGL2014-52465-C4-1-R).

5. REFERENCIAS

- Baeza P, Lissarrague JR, Ruiz C, Sánchez P and Sotés V (2008). Morfología de la vid (*Vitis vinifera* L.) <http://ocw.upm.es/produccion-vegetal/viticultura/contenidos/tema1 morfologia.pdf>.
- Baumgartner K, Steenwerth KL and Veilleux L (2008). Cover-crop systems affect weed communities in a California vineyard. *Weed Science*, 56, 596-605.
- Celette F, Gaudin R and Gary C (2008). Spatial and temporal changes to the water regime of a Mediterranean vineyard due to the adoption of cover cropping. *European Journal of Agronomy*, 29, 153-162.
- Elmore CL, Roncoroni JA, Wade L and Verdegaal PS (1997). Four weed management systems compared: Mulch plus herbicides effectively control vineyard weeds. *California Agriculture*, 51, 14-18.
- Gago P, Cabaleiro C and García-Berrios J (2007). Preliminary study of the effect of soil management systems on the adventitious flora of a vineyard in northwestern Spain. *Crop Protection*, 26, 584-591.
- Junquera P, Lissarrague JR, Jiménez L, Linares R and Baeza P (2012). Long-term effects of different irrigation strategies on yield components, vine vigour, and grape composition in cv. Cabernet-Sauvignon (*Vitis vinifera* L.). *Irrigation Science*, 30, 351-361.
- Lieskovský J & Kenderessy P (2014). Modelling the effect of vegetation cover and different tillage practices on soil erosion in vineyards: a case study in Vráble (Slovakia) using WATEM/SEDEM. *Land Degradation & Development*, 25, 288-296.
- Lopes CM, Santos TP, Monteiro A, Rodrigues ML, Costa JM and Chaves MM (2011). Combining cover cropping with deficit irrigation in a Mediterranean low vigor vineyard. *Scientia Horticulturae*, 129, 603-612.
- López-Fando C, Dorado J and Pardo MT (2007). Effects of zone-tillage in rotation with no-tillage on soil properties and crop yields in a semi-arid soil from central Spain. *Soil & Tillage Research*, 95, 266-276.
- Marques MJ, Bienes R, Cuadrado J, Ruiz-Colmenero M, Barbero-Sierra C and Velasco A (2015). Analysing perceptions attitudes and responses of winegrowers about sustainable land management in central Spain. *Land Degradation & Development*, 26, 458-467.
- Tesic D, Keller M and Hutton RJ (2007). Influence of vineyard floor management practices on grapevine vegetative growth, yield, and fruit composition. *American Journal of Enology and Viticulture*, 58, 1-11.

Adaptation of weed flora to different soil management systems in a vineyard of the Community of Madrid

Summary: This work presents the results of an experiment started in 2010 in a vineyard of the Community of Madrid in which different soil management systems were used, both in the space between the rows (cover cropping, tillage) and within the rows (tillage, herbicide). The results observed in 2015 and 2016 have revealed a significant effect of the soil management system on weed flora and vineyard yield. The systems that included cover cropping favored species as *Astragalus* sp., *Crepis vesicaria*, *Galium parisiense*, *Medicago* spp., *Taraxacum obovatum* and *Vulpia myuros*. In plots with tillage, species such as *Lamium amplexicaule* and *Stellaria media* were prevalent. Finally, in the treatments without herbicide use within the rows higher percentages of *Bromus* spp. and *Convolvulus arvensis* were observed.

Keywords: weeds, vineyard, cover cropping, tillage, herbicides.

Evaluación del efecto de la fertilización sobre la presencia de malas hierbas en una parcela de viña en Navarra

Juan Antonio Lezáun^{1✉}, Ana Sagües-Sarasa², Félix Cibriain-Sabalza²

¹Instituto Navarro de Tecnologías e Infraestructuras Agroalimentarias (INTIA), Avda Serapio Huici 22, 31.610-Villava (Navarra)

²Sección de Viticultura y Enología de Gobierno de Navarra, Valle de Orba, 34, 31390-Olite (Navarra)

✉ jezaun@intiasa.es

Resumen: En 1998 comenzó un ensayo de larga duración en una viña DOC Rioja en Bargota (Navarra) con tres compuestos fertilizantes orgánicos (compost a partir de residuos orgánicos, compost a partir de R.S.U y estiércol de ovino), un fertilizante mineral y un tratamiento sin fertilizar. A la salida del invierno de 2015 y de 2016 se realizaron controles de presencia de malas hierbas en la línea de cultivo, identificando las especies y su cobertura. Se encontraron un total de 26 especies con una cobertura de superficie ocupada del 18,4% y 46,3% en cada año. Las parcelas con fertilización orgánica tuvieron una ocupación media en las dos campañas de 21 a 70% de superficie cubierta, superior a los testigos de referencia (9-25%). Las especies más abundantes fueron: *Stellaria media*, *Diplotaxis erucoides*, *Hordeum murinum*, *Sonchus sp.*, *Sinapis arvensis* y *Senecio vulgaris*.

Palabras clave: R.S.U., estiércol, cobertura malas hierbas.

1. INTRODUCCIÓN

En 1998 comenzó un ensayo de campo de larga duración en una viña DOC Rioja en Bargota (Navarra) en el que se usan tres compuestos fertilizantes o enmiendas (compost orgánico comercial, un compost a base de Residuos Sólidos Urbanos y un compost orgánico hecho a base de estiércol ovino), un abonado mineral aplicado cada dos campañas y un tratamiento control que permanece sin fertilizar. El fertilizante mineral (NPK) se determinó en base a la oferta comercial anual para viña. El ensayo tiene un diseño experimental en bloques al azar con tres repeticiones. Se trata seguramente del único ensayo de larga duración de sus características en condiciones mediterráneas. Periódicamente se realizan controles de parámetros de planta y suelo.

El manejo de la flora arvense habitual en la zona consiste en una labor a la calle al inicio de la primavera y la aplicación de herbicidas en la línea de cultivo.

En el ensayo, planteado originalmente para ver la influencia de los fertilizantes sobre los parámetros productivos y cualitativos, se ha valorado la presencia y abundancia de malas hierbas (valorada en porcentaje de superficie de suelo cubierta) y su relación con la fertilización aplicada.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se encuentra en una parcela en el término municipal de Bargota (Navarra) dentro del ámbito de producción de la D.O.C. Rioja. El clima es Mediterráneo, con veranos secos y precipitaciones anuales de entre 450 y 490 mm. Se trata de una viña sobre un suelo franco arcillo limoso, plantada en 1997 con la variedad Tempranillo sobre portainjerto R-110 a un marco de 3 x 1,15 metros, con conducción en espaldera y formación en cordón doble Royat.

El diseño es de bloques al azar con tres repeticiones. La parcela elemental tiene 108 m² y consta de 2 calles de 18 m de largo con 15 cepas en cada fila. Se ensayan 5 tratamientos: un tratamiento sin fertilización, un tratamiento de fertilización inorgánica aplicado cada dos cam-

pañás coincidiendo con el año impar (14 UFN/ha, 10 UFP/ha, 40 UFK/ha, 2,5 UFCa/ha, 1,5 UFMg/ha), 3 abonados anuales orgánicos: Abonlir (Producido por Slir en Carcastillo-Navarra), Compost de R.S.U. de la planta de Cárcar (Navarra) y estiércol de ovino, a una dosis variable de 3 – 4 toneladas/ha según campañas.

El manejo habitual de la flora es mediante laboreo de la calle y aplicación de herbicida en la línea de cultivo en primavera. A la salida del invierno de 2015 y de 2016 se realizaron controles de presencia de malas hierbas, identificando las especies y evaluando su cobertura, en porcentaje, en la línea de cultivo.



Figura 1. Vista de la parcela en el momento de realizar las valoraciones.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizaron dos muestreos de la flora presente a la salida de invierno, antes de la aplicación de los herbicidas, uno el 4 de marzo de 2015 y otro el 16 de febrero de 2016, identificándose la especie cuando era posible y cuantificándose la superficie que ocupaba bajo el cordón de la plantación.

3.1 Abundancia de las especies, calculada como el porcentaje de superficie de suelo cubierto en el momento del control. En 2015 se identificaron 26 especies (por orden de abundancia): *Stellaria media*, *Diploaxis eruroides*, *Hordeum murinum*, *Sinapis arvensis*, *Senecio vulgaris*, *Sonchus* sp., *Chenopodium album*, *Silybum marianum*, *Aster* sp., *Lactuca* sp., *Fumaria officinalis*, *Malva* sp., *Erodium cicutarium*, *Erucastrum nasturtiifolium*, *Galium aparine*, *Medicago* sp., *Galium parisiense*, *Lolium rigidum*, *Polygonum* sp., *Cirsium* sp., *Anacyclus clavatus*, *ErUCA vesicaria*, *Convolvulus arvensis*, *Conyza canadensis*, *Lamium amplexicaule* y *Papaver rhoeas*.

En 2016 se identificaron 27 especies (orden de abundancia): *Stellaria media*, *Diploaxis eruroides*, *Hordeum murinum*, *Sonchus* sp., *Senecio vulgaris*, *Fumaria officinalis*, *Cirsium* sp., *Sinapis arvensis*, *Silybum marianum*, *Malva* sp., *Chenopodium album*, *Erucastrum nasturtiifolium*, *Atri-*

plex sp., *Galium aparine*, *Avena sterilis*, *Erodium cicutarium*, *Lactuca* sp., *Bromus* sp., *Torilis* sp., *Bidens* sp., *Galium parisiense*, *Anacyclus clavatus*, *Centaurea* sp., *Lamium amplexicaule*, *Lolium rigidum*, *Picris echioides* y *Polygonum aviculare*.

En la tabla 1 pueden verse los datos referidos a las especies más abundantes.

Tabla 1. Promedio de las especies más abundantes (más de 1% de cobertura)

Especie	Superficie cubierta (%)		
	2015	2016	Promedio
<i>Stellaria media</i>	5,23	26,83	16,03
<i>Diplotaxis erucooides</i>	1,90	8,07	4,98
<i>Hordeum murinum</i>	2,45	2,43	2,44
<i>Sonchus</i> sp.	1,05	1,27	1,16
<i>Sinapis arvensis</i>	1,42	0,84	1,13
<i>Senecio vulgaris</i>	1,10	1,07	1,08
Total	13,38	46,27	32,32

Probablemente *Diplotaxis erucooides* sea la especie más conocida entre los viticultores, porque su floración es muy visible desde el final del otoño hasta la primavera, aunque en este ensayo, *Stellaria media* es la especie que ocupa una mayor cobertura del suelo, con mucha diferencia respecto al resto de las especies presentes. Esta especie está muy bien representada en el cultivo de viña por toda la zona media de Navarra.

3.2. Frecuencia de las especies, calculada como la relación entre el número de parcelas en las que estaba presente cada especie respecto al total de parcelas muestreadas. Ninguna especie se repitió en todas las parcelas los dos años. Las más frecuentes fueron las compuestas *Senecio vulgaris* y *Sonchus* sp, la cariofilácea *Stellaria media* y las crucíferas *Sinapis arvensis* y *Diplotaxis erucooides*. Las gramíneas, que no son demasiado frecuentes, estaban representadas por *Hordeum murinum*. En la tabla 2 pueden verse los datos de las especies con mayor frecuencia de aparición en los muestreos.

Según Lete (1997), las especies con mayor frecuencia relativa en su caracterización de la flora en los viñedos de la D.O. Campo de Borja son *Diplotaxis erucooides*, *Sonchus oleraceus*, *Lolium rigidum* y *Senecio vulgaris* entre las especies de nascencia otoñal - invernal. En nuestro caso, a pesar de la abundancia de *L. rigidum* en los campos de cereal próximos, su frecuencia es baja en el ensayo, probablemente bien gestionada por el manejo de los herbicidas. Por el contrario son mucho más frecuentes *S. media* y *S. arvensis*, que en la D.O Campo de Borja, quizá por ser especies que requieran mayor pluviometría.

Tabla 2. Relación de especies ordenadas por su frecuencia en el ensayo. Solamente se indican las que están presentes en más del 10% de las parcelas en la media de los dos años

Especie	Frecuencia (% de parcelas)		
	2015	2016	Promedio
<i>Senecio vulgaris</i>	86,67	100,00	93,3
<i>Stellaria media</i>	86,67	93,33	90,0
<i>Sonchus</i> sp.	80,00	100,00	90,0
<i>Sinapis arvensis</i>	100,00	40,00	70,0
<i>Diploaxis erucoides</i>	73,33	66,67	70,0
<i>Hordeum murinum</i>	86,67	40,00	63,3
<i>Fumaria officinalis</i>	46,67	66,67	56,7
<i>Lactuca</i> sp.	66,67	46,67	56,7
<i>Chenopodium album</i>	26,67	53,33	40,0
<i>Malva</i> sp.	40,00	33,33	36,7
<i>Silybum marianum</i>	26,67	20,00	23,3
<i>Erucastrum nasturtiifolium</i>	26,67	13,33	20,0
<i>Erodium cicutarium</i>	13,33	20,00	16,7
<i>Cirsium</i> sp.	13,33	13,33	13,3
<i>Galium aparine</i>	13,33	13,33	13,3
<i>Torilis</i> sp.	0,00	26,67	13,3
<i>Anacyclus clavatus</i>	20,00	0,00	10,0

3.3. Relación de las malas hierbas con la fertilización de las parcelas. Se ha calculado la superficie cubierta por las malas hierbas de acuerdo al fertilizante aplicado en cada parcela. Los resultados se encuentran en la tabla 3.

Tabla 3. Relación entre la cobertura del suelo (en porcentaje) con la fertilización aplicada

Tratamiento	Año 2015		Año 2016		Promedio
Abonlir	22,1	b	70,9	a	46,5 a
R.S.U.	21,2	b	60,0	a b	40,6 a
Estiércol ovino	31,0	a	55,6	a b	43,3 a
Testigo sin fertilizar	9,0	c	25,0	b	17,0 b
Abono inorgánico	8,8	c	19,9	b	14,3 b
Promedio	18,4		46,3		32,3
C.V.	24%		48%		52%

Se han encontrado diferencias significativas de la cobertura del suelo por arvenses entre los tratamientos testigo y abonado inorgánico con la aplicación de fertilizantes orgánicos, sin encontrarse diferencias entre ellos.

No podemos asegurar que los fertilizantes orgánicos aplicados estuvieran libres de semillas de malas hierbas. No es descartable la existencia de semillas en el estiércol de ovino recogido en un corral para el proyecto pero es más improbable en los otros dos compost por lo que entendemos que esta no debe ser la explicación de tal diferencia. Probablemente sea debido a que estimulan la germinación de las semillas presentes en el suelo, que favorezcan la viabilidad de las plántulas producidas o que las plantas de estas parcelas produzcan más semillas por una mejor alimentación en elementos minerales.

Lacasta (2007), refiriéndose a cultivos de cereales, encontró también menor cobertura de malas hierbas en las parcelas con abonado mineral que en las parcelas con abonado orgánico, aunque en su caso, la parcela sin fertilizar fue la que alcanzó mayor cobertura.

En un ensayo realizado por INTIA en la campaña 2001/02 (no publicado), analizada la densidad de amapola (*Papaver rhoeas*) en cultivo de veza forrajera, según la fertilización que se había aplicado al cultivo precedente, en la fertilización orgánica (1,34 pl/m² a) fue superior a la fertilización inorgánica (0,89 pl/m² ab) y al testigo (0,72 pl/m² b), en una línea muy similar a la comentada en este ensayo.

Hernández (1995), analizando la cobertura arvense en ensayo sobre reforestación con encinas también encontró una mayor cobertura del suelo en el año de la aplicación en las parcelas fertilizadas con compost R.S.U. respecto al testigo sin fertilizar que además, aumentaba al incrementar la dosis aplicada.

Se ha estudiado la influencia del tipo de abonado para cada una de las seis especies más abundantes y los resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Relación entre los fertilizantes y la cobertura del suelo de las especies más abundantes promedio de las dos campañas estudiadas

Tratamiento	<i>Senecio vulgaris</i>	<i>Stellaria media</i>	<i>Hordeum murinum</i>	<i>Diploaxis erucoides</i>	<i>Sinapis arvensis</i>	<i>Sonchus</i> sp.
Abonlir	0,5 a	26,3 a	7,5 a	4,1 a	2,0 a	1,8 a
R.S.U.	1,7 b	22,6 a b	1,1 a	6,4 a	1,3 a b	1,4 a b
Estiércol ovino	1,2 a b	22,5 a b	1,6 a	4,0 a	1,3 a b	1,2 b
Testigo sin fertilizar	1,1 a b	6,8 b c	0,7 a	3,3 a	0,6 b	1,1 a b
Abono inorgánico	0,9 b	2,1 c	0,5 a	7,2 a	0,5 b	1,0 a b
Promedio	1,1	16,0	2,2	5,0	1,1	1,3

Analizada la relación entre los fertilizantes aplicados y la abundancia de las especies más representadas, no se han encontrado diferencias significativas entre los tratamientos.

Todas ellas son propias de suelos ricos en nutrientes, no obstante se aprecia como especies que prefieren suelos ricos en humus como *Stellaria media* o *Sinapis arvensis* o incluso *Hordeum*

murinum, ocupan mayor superficie en las parcelas fertilizadas con abonos orgánicos que en las parcelas testigo. Por el contrario, *Senecio vulgaris*, *Diploaxis eruroides* o *Sonchus* sp., parecen menos dependientes del tipo de fertilización.

Rios (2009), aunque referido a una rotación de cultivos anuales, también encontró una densidad de población de *Stellaria media* mayor en la parcela sin fertilizar (23 pl/m²) que en la que agregó fertilizantes (9 pl/m²), como en nuestro caso.

4. REFERENCIAS

- Hernández A J, Pastor J, Prieto E, Estalrich E and Rey Benayas J M (1995). La vegetación arvense en un agrosistema sometido a tratamientos de reforestación y abonado con compost de residuos sólidos urbanos. *V Congreso SEMb*. Huesca.
- Lacasta C, Estalrich E, Meco R and Benítez M (2007). Interacción de diferentes escardas y fertilizaciones sobre el control de la flora arvense y el rendimiento del cereal. *XI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología*. Albacete.
- Lete M J, Aibar J and Zaragoza C (1997). Caracterización de la flora infestante de los viñedos de la denominación de origen «Campo de Borja» (Aragón). *VI Congreso de la Sociedad Española de Malherbología*. Valencia.
- Rios A (2009). Factores determinantes de la evolución florística en sistemas de rotación. *XII Congreso de la Sociedad Española de Malherbología*. Lisboa.

Evaluation of the effect of fertilization on weed coverage in a vineyard plot in Navarre

Summary: In 1998 long-term field trial started in a DOC Rioja vineyard in Bargota (Navarra). Five different treatments were studied: three organic fertilizer compounds of different origin (compost from organic waste, compost from MSW and sheep manure), a mineral fertilizer and a control treatment without fertilizer. At the end of the winter of 2015 and 2016, weed controls were carried out in the crop line, counting the number of species and their coverage. 26 species have been identified, which covered 18,4% of the area in 2015 and 46,3% in 2016. Organic-fertilized plots had an average of 21-70 % of the area covered in two seasons. The most abundant species were: *Stellaria media*, *Diploaxis eruroides*, *Hordeum murinum*, *Sonchus* sp., *Sinapis arvensis* and *Senecio vulgaris*.

Keywords: organic waste, MSW, weeds coverage.

Ensayo con productos orgánicos para el control de especies arvenses en agricultura ecológica

Ana Leyva-Bollero¹, Juan Carlos Hidalgo¹, Javier Hidalgo¹, Victorino Vega¹, Daniel Pérez-Mohedano¹, Milagros Saavedra¹✉

¹Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera-IFAPA, CAPD. Apdo 3092, 14080-Córdoba
✉ mariam.saavedra@juntadeandalucia.es

Resumen: Ante la falta de herbicidas autorizados en agricultura ecológica se han ensayado algunos productos que permitan controlar las malas hierbas y sean susceptibles de ser autorizados. Se han incluido dos productos derivados de la actividad oleícola, aceite lampante y alpechín, a pH normal y con pH reducido, a diferentes dosis y momentos de aplicación, junto a otro de origen vegetal, Herbaplus, y al herbicida sintético Finale (glufosinato amónico). Se utilizaron plántulas de 4 especies representativas de las familias botánicas más importantes: *Helianthus annuus*, *Sinapis alba*, *Triticum durum* y *Vicia sativa*. Finale fue el más eficaz, seguido a gran distancia por aceite lampante+alpechín a pH=3 (1960+40 L/ha) y Herbaplus (32 L/ha). *Sinapis alba* fue la especie más susceptible y *Vicia sativa* la más tolerante. En condiciones de campo será necesario ajustar las dosis y los momentos de aplicación para las diferentes especies, y ensayar otras combinaciones para conseguir eficacias más elevadas.

Palabras clave: olivo, ecológico, herbicida, malas hierbas, alpechín, Herbaplus, Finale, glufosinato amónico, girasol, jaramago, trigo, veza.

1. INTRODUCCIÓN

La agricultura ecológica busca un equilibrio del agroecosistema en el que todos sus elementos coexistan, incluidas las especies arvenses. Una buena gestión de las mismas puede contribuir a la recuperación de suelos degradados y servir de refugio a la fauna auxiliar. Sin embargo, las malas hierbas, en determinados periodos, compiten con el cultivo por agua y nutrientes, ocasionando una reducción considerable del rendimiento. En estos casos se hace necesaria una intervención para su control que limite su crecimiento y desarrollo.

En agricultura ecológica no están autorizados los productos herbicidas de síntesis, por lo que el control de las malas hierbas solamente puede realizarse mecánicamente o con productos orgánicos autorizados en el Reglamento (CE) 889/2008. Además, en la actualidad tampoco está permitido el uso de ningún producto como herbicida en agricultura ecológica. Sin embargo los agricultores manifiestan la necesidad de contar con algún producto ecológico para sustituir a las labores, las siegas o los desbrozados, ya que en muchas ocasiones no son suficientes y con elevadas pendientes no es posible hacer intervenciones mecánicas, incluso puede resultar peligroso.

Entre los cultivos que presentan mayores dificultades para el control ecológico de las malas hierbas está el olivar. España dedica aproximadamente 2,5 millones de hectáreas al cultivo del olivo, de las cuales 197.135 ha son ecológicas, lo que supone el 7,8% del total nacional (MAPAMA, 2015). Andalucía es la región oleícola más importante, aporta en 25 % de la producción mundial de aceite y cuenta con 1.567.375 ha (MAPAMA, 2015), de las cuales 75.285 ha pertenecen a olivar ecológico certificado, destacando Córdoba con el 40% de dicha superficie, seguida de Sevilla (22%) y Jaén (12%). Más del 50% de este cultivo en Andalucía se encuentra en zonas con una pendiente media igual o superior al 15%, pendiente considerablemente acusada para llevar a cabo ciertas operaciones de manejo del cultivo con maquinaria (CAP, 2003); gran parte del olivar

ecológico se encuentra en esas zonas de fuertes pendientes y con riesgos graves de erosión, donde el control de las malas hierbas por medios mecánicos se hace muy difícil o imposible. Además, el pastoreo no es una solución viable de forma generalizada, pues el ganado no puede controlar la hierba de superficies tan extensas en un periodo de tiempo reducido, ni la estructura de las explotaciones, excesivamente pequeñas, lo facilita, pues no resulta rentable.

Por otro lado, ante la amenaza de *Xylella fastidiosa* y la probable necesidad de controlar los insectos vectores que se refugian y alimentan de las hierbas, se hace necesario contar con productos orgánicos capaces de eliminar la hierba en agricultura ecológica en aquellas situaciones donde los medios mecánicos no son eficientes o no es posible emplearlos, como son las fuertes pendientes. Esta enfermedad representa un grave peligro para el olivar y otros cultivos tan importantes en la cuenca mediterránea como el almendro y muchas otras especies espontáneas y ornamentales, tanto herbáceas como leñosas.

La información sobre productos orgánicos con efecto herbicida es muy escasa. En el mercado existen algunos productos, considerados como fertilizantes, que a altas dosis pueden causar algún daño a las especies arvenses y podrían ayudar a resolver el problema, pero no está comprobada su eficacia. Algunos autores han mostrado la eficacia de ciertos aceites esenciales, por ejemplo de la esencia de tomillo con carvacrol como principio activo sobre *Conyza bonariensis* y *Cucumis melo* (Estévez, 2015). En un ensayo previo realizado en IFAPA sobre *Medicago polymorpha* y *Malva parviflora* (datos no mostrados) se puso de manifiesto que tanto el aceite lampante como el alpechín (subproducto de la industria oleícola) tenían efecto herbicida. Esto nos hizo pensar la posibilidad de ensayarlos en diferentes momentos y frente a otras especies.

El objetivo principal de este trabajo ha sido encontrar alternativas a las medidas mecánicas para controlar las malas hierbas en aquellos casos en los que no sea posible el uso de labores, siegas o desbrozados, o bien sean insuficientes para realizar un control eficaz. Para ello se ha planteado un ensayo, con varios productos de naturaleza orgánica, permitidos (o no prohibidos) en el Anexo I-RCE 889/2008, susceptibles de ser autorizados como herbicida en agricultura ecológica, frente a herbicidas de síntesis con acción por contacto como es glufosinato amónico.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se eligieron cuatro especies representativas de las cuatro familias botánicas más importantes de malas hierbas en el olivar: girasol (*Helianthus annuus*) como compuesta, trigo (*Triticum durum*) como gramínea, veza (*Vicia sativa*) como leguminosa y jaramago (*Sinapis alba*) como crucífera. La siembra se realizó el 30 de marzo de 2015, para cada especie por separado, en macetas con suelo compuesto por turba-arena-limo a partes iguales en volumen. En cada maceta se sembraron cinco semillas, y se seleccionaron al nacer solo tres plantas. Las macetas situadas al aire libre se regaron dos veces al día con microaspersores aéreos durante diez minutos, para lo que se utilizó un programador de riego automático. Durante el periodo de lluvias no se regó.

Sobre las plántulas se aplicaron diferentes tratamientos. Los productos utilizados fueron: alpechín, aceite lampante, una combinación de ambos, un producto elaborado a base de esencia de pino (Herbaplus) certificado para la producción ecológica, y el herbicida de síntesis glufosinato amónico (Finale). Además, los tres primeros (alpechín, aceite lampante y la mezcla de ambos) se ensayaron añadiendo un reductor de pH (ácido fosfórico pH=1,5) hasta conseguir en los tres casos un pH=3. Las características de los productos, mezclas y dosis aplicadas se detallan en la tabla 1, y el calendario operaciones en la tabla 2.

Tabla 1. Características y dosis de los productos utilizados en el ensayo

Producto	Tratamiento	Dosis de producto (L/ha) 7/4/15	Dosis de producto (L/ha) 14/4/15	Volumen de caldo (L/ha)	Tratamiento	Dosis de producto (L/ha) 14/4/15	Volumen de caldo (L/ha)
Testigo	T1	-	-	-			-
Alpechín	T2	1000	1000	1000	T11	2000	2000
Alpechín a pH=3*	T3	1000	1000	1000	T12	2000	2000
Aceite	T4	20	20	1000	T13	40	2000
Aceite a pH=3*	T5	20	20	1000	T14	40	2000
Alpechín+Aceite	T6	980 + 20	980 + 20	1000	T15	1960 + 40	2000
Alpechín+Aceite a pH=3*	T7	980 + 20	980 + 20	1000	T16	1960 + 40	2000
Herbaplust**	T8	8	8	500	T17	16**	1000
Herbaplust	T9	16	16	500	T18	32	1000
Finale	T10	3	-	500			

(*) Reductor de pH ácido fosfórico.

(**) Dosis recomendada por el fabricante.

Alpechín: 9212±14 mg/L de ácido cafeico. Aceite=Aceite lampante. Herbaplust=Producto a base de esencia de pino, con certificado ecológico. Finale=Glufosinato amónico 15% m.a.

Tabla 2. Calendario de siembra, aplicaciones de los productos y evaluaciones visuales

	30/03/15	07/04/15	10/04/15	13/04/15	14/04/15	17/04/15	24/04/15
Siembra	X						
1ª Aplicación T2 a T10		X					
2ª Aplicación T2 a T9 y aplicación única T11 a T18					X		
Evaluación de T2 a T10			3 DDA 1ª aplic.	6 DDA 1ª aplic.		10 DDA 1ª aplic. y 3 DDA 2ª aplic.	17 DDA 1ª aplic. y 10 DDA 2ª aplic.
Evaluación de T11 a T18						3 DDA	10 DDA

DDA=Días después de la aplicación.

Los tratamientos T2 a T9 se aplicaron en dos fechas: la primera (7 de abril) cuando las plantas tenían una hoja, y la segunda (14 de abril) con 2-3 hojas. El tratamiento T10 consistió en una sola aplicación (7 de abril). Los tratamientos T11 a T18 consistieron en una única aplicación (14 de abril), con los mismos productos de los tratamientos T2 a T9 pero a una dosis equivalente a la suma de sus dos aplicaciones. El diseño fue factorial con tres repeticiones.

La eficacia se ha determinado siguiendo una escala de 0 a 100 (Tabla 3).

Tabla 3. Escala de eficacia utilizada

Escala de eficacia	0%	> 0- 25%	> 25- 50%	> 50-75%	> 75<100%	100%
Nivel de daño en las plantas	Sin daño	Bajo	Medio	Alto	Muy alto	Muerte total

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestra el grado de eficacia de los tratamientos que causaron algún daño significativo sobre las distintas especies. No se representan los tratamientos que causaron un daño insignificante o nulo.

El herbicida de síntesis Finale (T10) resultó ser el más eficaz y causó la muerte completa de todas las plantas de girasol y jaramago; sobre trigo ocasionó daños graves pero no controló el 100% de las plantas; y sobre veza estos daños fueron más leves y las plantas no llegaron a morir. Posiblemente, el hecho de haberlo aplicado en estados excesivamente precoces ha podido influir en el comportamiento de las distintas especies.

Ningún producto orgánico consiguió controlar por completo las cuatro especies. En ningún caso se superó el 75% de daño, ya que las plantas continuaron desarrollándose. Los tratamientos T16 (alpechín+aceite a pH=3) y T18 (Herbaplus), que se aplicaron sobre plántulas de 2-3 hojas, más desarrolladas que en el T10, fueron los más eficaces, aunque no lo suficiente, coincidiendo este hecho en todas las especies. Respecto a estos dos tratamientos, el jaramago fue la especie más susceptible, seguido del girasol y el trigo, y la veza fue la más tolerante, sin apenas daño. Posiblemente las dosis fueron insuficientes y es necesario incrementarlas para obtener mejores resultados.

Los síntomas y daños producidos por T16 y T18 fueron fundamentalmente necrosis producida por contacto con los productos:

- El jaramago fue la especie más susceptible. Se alcanzaron daños elevados, sobre todo en los cotiledones, que son de consistencia foliácea, por lo que resultaron muy sensibles a los tratamientos. Se consiguió una reducción del crecimiento considerable con un nivel de daño «alto», aunque no se eliminaron las plantas al 100%.
- En girasol se produjeron daños importantes en los cotiledones tras las aplicaciones, aunque menores que en jaramago ya que en este caso son carnosos y de mayor tamaño. Pese a ello, se produjo una ralentización del crecimiento inicial de las plantas con un daño global «medio».
- En trigo los tratamientos causaron daño de daño medio, pero las plántulas se recuperaron al ir apareciendo las nuevas hojas, lo que se puede explicar por la dificultad de mojar las yemas que están bien protegidas por el resto de hojas.
- En veza los tratamientos no causaron apenas daño, y resultó la más tolerante de las cuatro ensayadas. Posiblemente la pilosidad de sus hojas pudo dificultar el mojado.

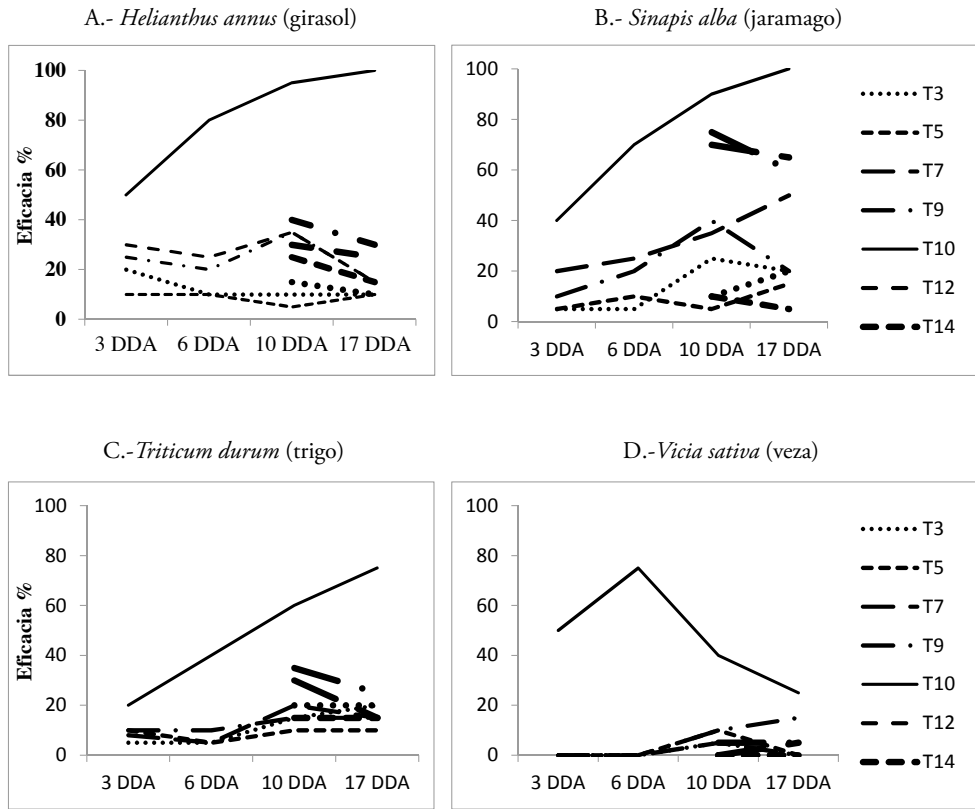


Figura 1. Eficacia de los tratamientos sobre cada especie. Los tratamientos con eficacias nulas o insignificantes no han sido representados.

- T3: Alpechín + reductor de pH* a 1000 L/ha
- T5: Aceite lampante + reductor de pH* a 20 L/ha
- T7: Alpechín + Aceite lampante + reductor de pH* a 980+20 L/ha
- T9: Herbaplus a 16 L/ha
- T10: Finale (herbicida no ecológico) a 3 L/ha
- T12: Alpechín + reductor de pH* a 2000 L/ha
- T14: Aceite lampante + reductor de pH* a 40 L/ha
- T16: Alpechín + Aceite lampante + reductor de pH* a 1960+40 L/ha
- T18: Herbaplus a 32 L/ha

Cabe señalar que las 4 especies elegidas son vigorosas, y proceden de semillas de tamaño grande en relación a las semillas de la mayoría de las malas hierbas. Por ello, es posible que en condiciones de campo se pudieran conseguir mayores eficacias, aunque este aspecto está por comprobar.

Ante la falta de productos efectivos, que en su día pudieran ser autorizados por el Reglamento Europeo para controlar especies arvenses en agricultura ecológica, estos resultados nos indican que se puede obtener un cierto grado de control para reducir la competitividad de estas especies pero que la susceptibilidad varía con la especie. Estos tratamientos pueden ser en parte una alternativa a las labores en terrenos con pendientes elevadas o largas que favorecen la erosión

ocasionando daños al ecosistema. En estas condiciones pueden resultar útiles para aplicaciones localizadas, allí donde el uso de desbrozadoras puede ser peligroso o resultar imposible, pero es probable que sea necesario aumentar las dosis, pues las ensayadas han sido en su conjunto insuficientes, o bien añadir algún coadyuvante para mejorar la eficacia.

A la vista de los resultados obtenidos, se debería seguir investigando y experimentando la posibilidad de controlar malas hierbas usando productos naturales para olivar ecológico y, a ser posible, utilizar subproductos procedentes del olivar. Ante la posibilidad de que determinadas hierbas se muestren propicias a albergar vectores que transmiten peligrosas enfermedades, como es el caso del insecto *Philaenus spumarius* en relación a la bacteria *Xylella fastidiosa*, será necesario realizar trabajos de este tipo en olivar ecológico.

4. AGRADECIMIENTOS

Al Proyecto Transferencia de Tecnología y Cooperación en Olivar y Aceite de Oliva TRA. TRA201600.2, cofinanciado al 80% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional, dentro del Programa Operativo FEDER de Andalucía 2014-2020. A la beca y contrato de Ana Leyva, con cargo al FSE. A Juana Mesa, Andrés Gutiérrez, Trinidad Gutiérrez, M^a Ángeles Gutiérrez, Marcos Hidalgo y Antonio Prieto por su asistencia en campo y laboratorio.

5. REFERENCIAS

- CAP-Equipo de trabajo de la Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía (2003). El Olivar Andaluz. Ed. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.
- Estevez, P. (2015). ¿Un herbicida ecológico como alternativa al glifosato?. El blog de J.M. Mulet (jmmulet.naukas.com).
- MAPAMA-Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (2015). Reglamentos y datos estadísticos, ESYRCE (www.mapama.gov.es).

Testing with organic products for control of weeds in organic farming

Summary: In the absence of authorized herbicides in organic farming, some products have been tested to control weeds and are susceptible to be authorized. Two products derived from olive oil, lampante oil and alpechín, at normal pH and reduced pH, have been included at different doses and times of application, together with another of vegetal origin, Herbaplus, and the synthetic herbicide Finale (glufosinate ammonium). Seedlings of 4 species representative of the most important botanical families were used: *Helianthus annuus*, *Sinapis alba*, *Triticum durum* and *Vicia sativa*. Finale was the most effective, followed at great distance by lampante oil + alpechín at pH = 3 (1960 + 40 L / ha) and Herbaplus (32 L / ha). *Sinapis alba* was the most susceptible species and *Vicia sativa* the most tolerant. In field conditions it will be necessary to adjust the doses and the times of application for the different species, and try other combinations to achieve higher efficiencies.

Keywords: olive groves, ecological, alpechín, Herbaplus, Finale, glufosinate-ammonium, *Helianthus annuus*, *Sinapis alba*, *Triticum durum*, *Vicia sativa*.

Control de malas hierbas en maíz. Opciones de manejo con herbicidas convencionales y glifosato

Iñigo Loureiro¹, María Concepcion Escorial¹, María Inés Santín-Montanyá¹,
Esteban García-Ruiz¹, Ismael Sánchez-Ramos¹, Susana Pascual¹, Guillermo Cobos¹,
Manuel González-Núñez¹, María Cristina Chueca^{1✉}

¹Dpto. Protección Vegetal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA)
Carretera de La Coruña km 7,5 28040-Madrid
✉ chueca@inia.es

Resumen: En un escenario de control integrado de malas hierbas en maíz convencional y maíz GM tolerante a herbicidas se evalúan diversos manejos en condiciones de campo en 2013 y 2014: 1) un manejo convencional utilizado como control que incluye un tratamiento herbicida en pre-emergencia y otro en post-emergencia y cuatro posibles manejos alternativos: 2) uno en el que se realiza una única aplicación en post-emergencia con los herbicidas utilizados en el tratamiento convencional a menor dosis, y 3-5) tres manejos que incluyen aplicaciones con el herbicida glifosato en post-emergencia. Se ha detectado mayor abundancia de especies monocotiledóneas que de dicotiledóneas, que fueron mejor controladas con manejos que incluyen un tratamiento en pre-emergencia. Se discute el efecto que estos manejos pueden tener sobre el desarrollo de resistencia y sobre el agro-ecosistema

Palabras clave: cultivos tolerantes a herbicidas, control integrado, monocotiledóneas, dicotiledóneas.

1. INTRODUCCIÓN

Las malas hierbas son uno de los principales enemigos de los cultivos y su control uno de los principales problemas para el agricultor. Durante muchos años los herbicidas se han considerado como la mejor solución para el control de las malas hierbas. Por ello el uso extensivo de los herbicidas se ha convertido, además de en un problema agrícola con la aparición creciente de malas hierbas resistentes, en un problema medioambiental con el incremento de la contaminación de aguas (Haarstad and Luvigsen, 2007) y en un problema social (Gianessi, 2013). La aplicación de las técnicas de control integrado que marca la legislación vigente en el Real Decreto 1311/2012 establece que el marco de actuación para conseguir un uso sostenible de los productos fitosanitarios, es un instrumento adecuado para la reducción del uso de productos fitosanitarios, entre ellos los herbicidas. No obstante, en cultivos extensivos como maíz y en zonas de monocultivo es a veces difícil prescindir de esta herramienta. Por otro lado, las malas hierbas desempeñan un papel importante en los agroecosistemas y son el principal soporte de la diversidad biológica en los campos de cultivo, donde proporcionan valiosos servicios ecológicos para otros taxones (Albrecht, 2003; Petit et al., 2011). Por tanto, es necesario implementar manejos que reduzcan la cantidad de herbicidas utilizados, eviten el desarrollo de resistencias y sean respetuosos con la flora, la fauna y por tanto la biodiversidad.

En este escenario, el objetivo de este trabajo es evaluar diversos manejos de herbicida para control de malas hierbas en maíz. Estos manejos incluyen una reducción del número de tratamientos y de la cantidad de herbicida aplicado, así como la posible utilización de maíz *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) resistente a taladro y/o tolerante a glifosato, lo que permitiría incluir el glifosato entre las opciones herbicidas a tener en cuenta al implementar la gestión del control de las malas hierbas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El material vegetal utilizado han sido las variedades de maíz DKC6451YG (*Bt*) y DKC6450 (convencional, no-GM), con el mismo fondo genético que la variedad *Bt*. El ensayo de control de malas hierbas con diferentes tratamientos herbicidas se realizó durante dos años en la vega del Jarama (40°05' N, 3°40' W). En el año 2013 el maíz se sembró el día 9 de mayo, mientras que en 2014 la siembra fue el 19 de mayo. El diseño del ensayo fue de bloques al azar en parcelas de 20 x 30 metros con 5 repeticiones por tratamiento. Las parcelas se regaron a pie cada 8 a 10 días a partir de 17-20 junio en cada año. El manejo del campo fue el habitual en la zona similar para los dos años.

Los tratamientos realizados fueron:

1. Convencional (C): un tratamiento en pre-emergencia (Pr) con S-metolalcloro 31,25% + terbutilazina 18,75%, a 4 L ha⁻¹ seguido de un tratamiento en post-emergencia (Ps) con nicosulfuron 6% a 0,65 L ha⁻¹ y mesotriona 10% a 1 L ha⁻¹.
2. Herbicida reducido (HR): un único tratamiento en post-emergencia con S-metolalcloro 31,25% + terbutilazina 18,75% a 3 L ha⁻¹, nicosulfuron 6% a 0,75 L ha⁻¹ y mesotriona 10% a 0,5 L ha⁻¹.
3. Glifosato (2G): dos tratamientos con glifosato 36% a 3 L ha⁻¹ (en todos los casos el tratamiento con glifosato se ha realizado de forma manual aplicado entre líneas con campana protectora).
4. Convencional de pre-emergencia y glifosato en post-emergencia (Pr+G).
5. Herbicida reducido y glifosato ambos en post-emergencia (HR+G).

Los tratamientos C; HR y Pr+G se aplicaron a los dos tipos de semilla mientras que los tratamientos 2G y HR+G se aplicaron únicamente a la variedad *Bt*. Se realizaron cinco muestreos a lo largo del desarrollo del cultivo, desde la siembra hasta la madurez fisiológica, para determinar la abundancia y diversidad de malas hierbas. El muestreo de malas hierbas se realizó en 12 puntos fijos de 0,25 m² distribuidos en cada parcela con un total de 3 m² muestreados por parcela (Loureiro et al., 2015). En cada una de las parcelas se estimó la producción de forma indirecta mediante el peso de 10 mazorcas tomadas al azar en la zona central de cada parcela y el número de plantas por parcela.

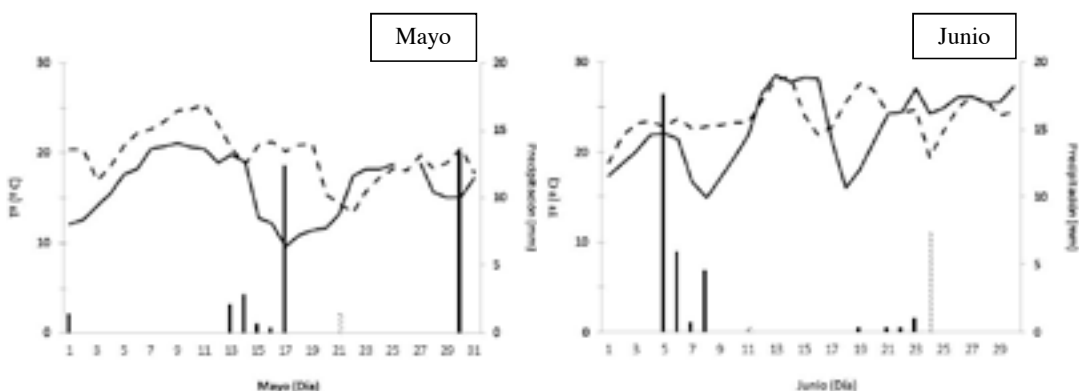


Figura 1. Datos climatológicos de temperatura media (líneas) y precipitación (barras) registrados para los meses de mayo y junio durante los años 2013 (líneas continuas) y 2014 (líneas discontinuas).

Los datos de abundancia de malas hierbas totales (plantas m^{-2}) se transformaron mediante $(\log x + 1)$ previamente a la realización de un análisis de varianza de medidas repetidas para los factores año y tratamiento, siendo el muestreo la medida repetida. Los datos de producción estimada para cada tratamiento se analizaron mediante ANOVA unifactorial. Para el análisis de los resultados se utilizó el paquete estadístico SPSS13.0.

Los datos climatológicos para los años 2013 y 2014 se han obtenido de la estación meteorológica de Toledo perteneciente a la Junta de Castilla-La Mancha (Fig. 1).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza de los resultados de aquellos tratamientos en los que se empleó tanto semilla convencional como *Bt* (C, HR y Pr+G) muestra que no hay diferencias significativas debidas al factor «variedad», por lo que únicamente se muestran los resultados de los 5 tratamientos empleados en las parcelas con semilla *Bt*, relacionados con la potencial introducción de cultivos GM tolerantes a herbicidas en el manejo de malas hierbas.

La figura 2 muestra la abundancia media de malas hierbas (plantas m^{-2}) en cada uno de los dos ensayos, en 2013 y en 2014, ya que el factor año mostró diferencias significativas en la abundancia de malas hierbas ($P < 0,05$). El año 2013 el maíz se sembró el 9 de mayo y en las dos semanas siguientes a la siembra las temperaturas cayeron bruscamente, llegando a una temperatura media de $9^{\circ}C$ el día 17 de mayo. Este día se registraron precipitaciones (Fig. 1), lo que hizo que la temperatura del suelo descendiera y la emergencia de malas hierbas fuera escasa. La humedad relativa media para el mes de mayo de 2013 fue de $54 \pm 11\%$. En mayo de 2014, a pesar de las escasas precipitaciones la tierra tenía tempero y las temperaturas fueron más elevadas después de la siembra, lo que favoreció la germinación de las malas hierbas, que fue mayor que en 2013, como se puede apreciar para el muestreo 1 anterior a la aplicación de los herbicidas de post-emergencia en los tratamientos HR, HR+G y 2G que no habían recibido herbicidas en pre-emergencia (líneas discontinuas, Fig. 2).

El mes de junio, en el que se realizaron la mayor parte de los tratamientos de post-emergencia, fue similar para ambos años en cuanto a condiciones de temperatura ($23 \pm 4^{\circ}C$ en 2013 y $23 \pm 2^{\circ}C$ en 2014), y si bien en 2013 hubo más precipitaciones (31 mm *vs* 7 mm en 2014, Fig. 1),

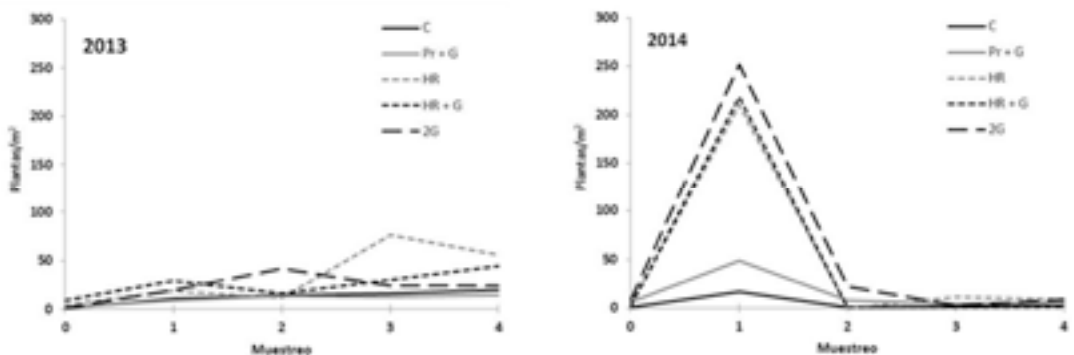


Figura 2. Abundancia media de malas hierbas totales (plantas m^{-2}) en los 5 programas de manejo y en cada uno de los cinco muestreos (0-4) realizados durante los años 2013 (izquierda) y 2014 (derecha).

el hecho de que las parcelas se regaran hizo que los tratamientos fueran eficaces en ambos años. Mientras que en los tratamientos que incluían un herbicida de pre-emergencia la abundancia de malas hierbas era menor, en los manejos con herbicidas de post-emergencia la abundancia de malas hierbas disminuyó en ambos años tras la aplicación herbicida, en especial en 2014 donde se redujeron de más de 200 plantas m⁻² a menos de 25 plantas m⁻² (Fig. 2).

Las malas hierbas más abundantes en todos los tratamientos fueron especies monocotiledóneas (Fig. 3). De entre las especies de monocotiledóneas las principales malas hierbas por orden de importancia fueron: *Echinochloa crus-galli*, *Sorghum halepense*, varias especies del género *Setaria* (*S. verticillata*, *S. adhaerens* y *S. viridis*) y *Digitaria sanguinalis*. Entre las malas hierbas dicotiledóneas, mucho menos abundantes, se encontraron *Abutilon theophrasti*, *Solanum nigrum*, *Portulaca oleracea*, *Chenopodium album* y especies del género *Datura* (*D. stramonium* y *D. ferox*), *Xanthium* (*X. echinatum* y *X. spinosum*) y *Amaranthus* (*A. retroflexus* y *A. blitoides*).

El ANOVA de medidas repetidas realizado, detectó diferencias significativas en la abundancia de malas hierbas para los diferentes manejos. El manejo convencional C, con una aplicación en pre- y otra en post-emergencia fue el manejo que menor abundancia de malas hierbas presentó, sin diferencias significativas con el manejo Pr + G, que incluía un herbicida en pre-emergencia y glifosato. Los manejos HR+G y 2G, dieron lugar a una abundancia significativamente mayor al

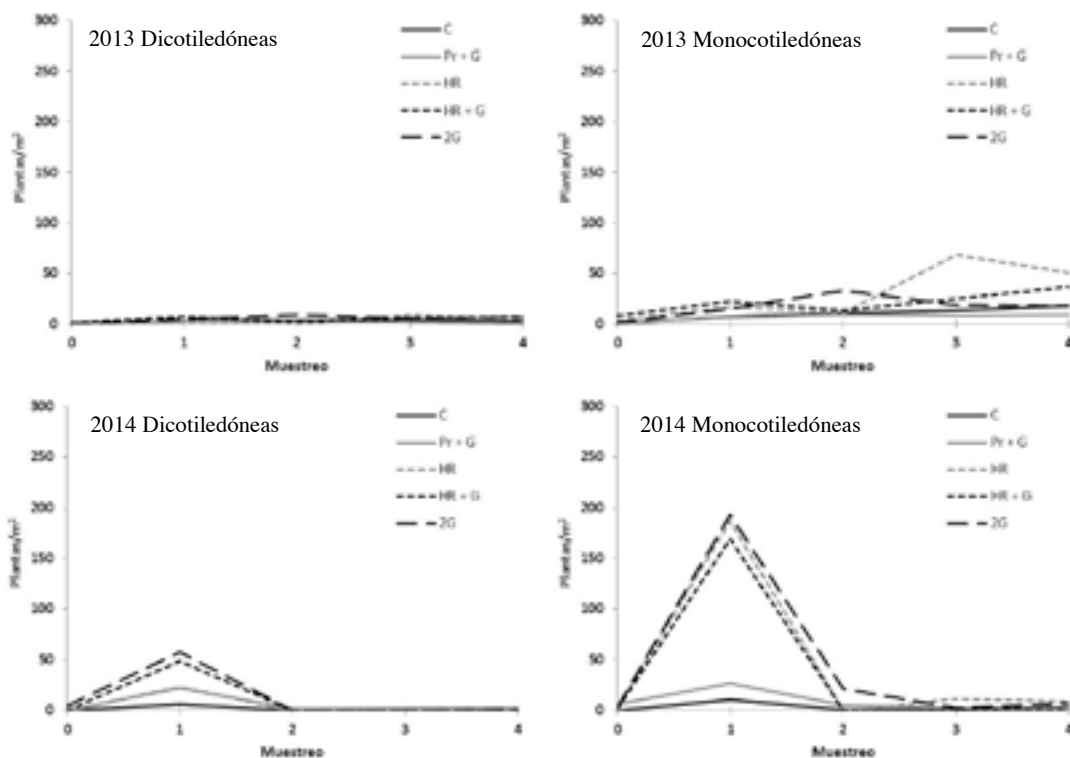


Figura 3. Abundancia media de malas hierbas monocotiledóneas y dicotiledóneas (plantas m⁻²) en cada tratamiento herbicida y en cada uno de los cinco muestreos (0-4) realizados durante los años 2013 y 2014.

convencional C, pero no difirieron del Pr +G. El manejo con mayor abundancia de malas hierbas fue el HR, sin diferencias significativas con HR+G y 2G pero si con el resto. Puesto que no se detectaron diferencias significativas en la producción estimada entre manejos, aquellos manejos en los que se realice un adecuado control con menor coste de inputs, y mejor comportamiento medioambiental podrían ser los más beneficiosos, teniendo en cuenta que, antes de implementar un determinado manejo es necesario considerar que cada opción puede tener un riesgo.

La reducción de dosis de herbicidas (HR) así como el uso continuado de un solo herbicida no selectivo asociado a cultivos GM tolerantes a herbicidas, pueden modificar la composición y abundancia de las malas hierbas (Heard et al., 2003; Waltz, 2010). Si estas modificaciones conducen a la prevalencia de una o de pocas especies debido a la resistencia a herbicidas y/o cambios en la flora, pueden afectar adversamente el agro-ecosistema.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado gracias al proyecto AMIGA (Assessing and Monitoring the Impacts of Genetically Modified Plants on Agro-ecosystems) 289706 SP1 cooperation.

5. REFERENCIAS

- Albrecht H (2003). Suitability of arable weeds as indicator organisms to evaluate species conservation effects of management in agricultural ecosystems. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 98, 201-211.
- Gianessi LP (2013). The increasing importance of herbicides in worldwide crop production. *Pesticide Management Science*, 69, 1099-1105.
- Haarstad K and Luvigsen GH (2007). Ten years of pesticide monitoring in Norwegian ground water. *Ground Water Monitoring and Remediation*, 27, 75-89.
- Heard MS, Hawes C., Champion GT, Clark SJ, Firbank LG, Haughton AJ, Parish AM, Perry JN, Rothery P, Scott RJ, Skellern MP, Squire GR and Hill MO (2003). Weeds in fields with contrasting conventional and genetically modified herbicide-tolerant crops. 1. Effects on abundance and diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 358, 1819-1832.
- Loureiro I, Escorial MC, Santin-Montanyá MI, Garcia-Ruiz E, Sánchez-Ramos I, Pascual S, Cobos G, González-Núñez M and Chueca MC (2015). Opciones de control de malas hierbas en maíz convencional y GM. Efecto sobre malas hierbas, artrópodos y cadena trófica. *Actas XV Congreso Malherbología*. Sevilla 2015. 375-381.
- Petit S, Boursault A, Le Guilloux M, Munier-Jolain N and Reboud X (2011). Weeds in agricultural landscapes: a review. *Agronomy for Sustainable Development*, 31, 309-317.
- Waltz E (2010). Glyphosate resistance threatens Roundup hegemony. *Nature Biotechnology*, 28, 537-538.

Weed control in maize. Management options with conventional herbicides and glyphosate

Summary: In a scenario of integrated weed control in conventional maize and herbicide-tolerant GM maize, different management practices are evaluated under field conditions in a trial conducted in 2013 and 2014: 1) a management used as a control that includes a pre-emergence and a post-emergence herbicide treatment, and four possible alternative managements, 2) one in which the number of applications is reduced to a single post-emergence application with the herbicides used in the conventional treatment at lower doses, 3-5) and three managements that include glyphosate applications in post-emergence. In the field trials monocotyledonous species were much more abundant than dicotyledonous species and, those managements including a pre-emergence treatment were more effective in weed control, the effects that these managements could have on weed resistance development and on the agro-ecosystem are discussed.

Keywords: herbicide-tolerant crops, integrated control, monocotyledonous, dicotyledonous.

Evaluación del efecto de un incendio sobre la emergencia de malas hierbas en una parcela de cereal de invierno en Navarra

Juan Antonio Lezáun¹✉, Noelia Telletxea-Senosian¹, Irache Garnica²

¹Instituto Navarro de Tecnologías e Infraestructuras Agroalimentarias (INTIA), Avda Serapio Huici 22, 31.610-Villava (Navarra)

²Instituto Navarro de Tecnologías e Infraestructuras Agroalimentarias (INTIA), C/ Aranz y Vides, 11 - 31500 Tudela (Navarra).

✉ jlezaun@intiasa.es

Resumen: La quema de rastrojeras se utilizó para la eliminación de los restos de cosechas de cereal con el objetivo de facilitar las labores de preparación del terreno para el cultivo siguiente y reducir reservorios de plagas, enfermedades y malas hierbas de las parcelas. En 2003 esta práctica quedó prohibida, excepto por razones fitosanitarias, para mantener la materia orgánica en el suelo. En el verano de 2016, después de un incendio en Noain (Navarra), se presentó la posibilidad de evaluar el efecto de la quema sobre la nascencia de malas hierbas en el cultivo siguiente. Se ha comprobado que la quema del rastrojo ha reducido un 45% la densidad de malas hierbas emergidas. Refiriéndose en concreto a las especies de nascencia principalmente otoñal, se ha reducido la densidad de malas hierbas como ballueca *Avena sterilis* subesp. *ludoviciana*, vallico *Lolium rigidum*, verónica *Veronica* sp., ciapie *Sinapis arvensis* y cebada de ricio del cultivo anterior. Por el contrario amapola *Papaver rhoeas* aumentó la densidad en las parcelas con rastrojo quemado.

Palabras clave: quema de rastrojo, nascencia de malas hierbas, cebada, trigo, infestación, *Avena sterilis*, *Lolium rigidum*, *Papaver rhoeas*, *Sinapis arvensis*.

1. INTRODUCCIÓN

La quema de rastrojeras de cereal ha sido una técnica cultural habitual en los últimos años que además de facilitar el laboreo del suelo para la campaña siguiente tenía una influencia nada despreciable sobre algunas plagas, enfermedades y malas hierbas que afectan al cereal. Con la aplicación de la PAC y las medidas de condicionalidad para el mantenimiento de la materia orgánica del suelo, esta práctica quedó prohibida excepto por razones fitosanitarias.

Durante el verano de 2016 ocurrieron varios incendios que afectaron a rastrojeras por lo que se presentó la oportunidad de evaluar su posible influencia sobre las malas hierbas en parcelas de cereal, comparando la zona de la parcela que se había quemado frente al resto de la parcela sin quemar.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El día 9 de agosto de 2016 se produjo un incendio en Noain (Navarra) que afectó a rastrojeras de cereal (Fig. 1a) y se eligió una parcela (Noain, polígono 1, parcela 201) quemada parcialmente para la realización de la experiencia puesto que se conocía la abundancia de ballueca (*Avena sterilis* subesp. *ludoviciana*) figura 1b.

Se realizaron diversos conteos de plantas nacidas en cada microparcela en varias fechas: El 24/10/16 se realizó el primer conteo, previo a la siembra, en 20 microparcels de 0,10 m² de superficie, la mitad en el lado quemado y otras tantas en el lado sin quemar. Las microparcels estaban agrupadas por parejas, a modo de repeticiones, de manera que estuvieran muy próximas, repartidas a lo largo de línea donde se apagó el fuego y alineadas con la dirección de las labores

en la parcela. En ese momento la parcela estaba labrada con un pase de chisel y no se habían realizado más labores, como se ve en la figura 1c.



Figura 1. 1a) Foto del incendio del 9 de agosto publicada en *Diario de Noticias*; 1b) Elección de la parcela, previo a la realización de ninguna labor; 1c) Parcela labrada con chisel, previo al primer control.

El agricultor realizó todas las labores culturales de acuerdo a la práctica habitual de la zona: preparación del terreno, siembra, fertilización y aplicación de herbicidas.

El 26 de octubre se gradeó y se sembró con trigo variedad ‘Camargo’. En ese momento se distribuyeron a lo largo de la «línea de fuego» seis parejas de microparcels con los mismos criterios antes señalados, identificadas por un círculo de plástico de 32 cm de diámetro introducido en el suelo. En las figuras 2a y 2b se observan dos microparcels, una quemada y otra sin quemar correspondientes a una misma pareja. Se realizaron conteos de plantas en cinco fechas a lo largo del invierno: el 1/12/16, cuando el cultivo estaba en el estado de una hoja/hoja y media (BBCH-11), el 28/12/16 en estado 2-4 hojas (BBCH-13), el 23/1/17 en estado de mitad de ahijamiento (BBCH-23) y el 17/3/17 en estado de encañado (BBCH-31). Cada vez que se realizaba un conteo se arrancaban todas las plantas emergidas excepto las de trigo.

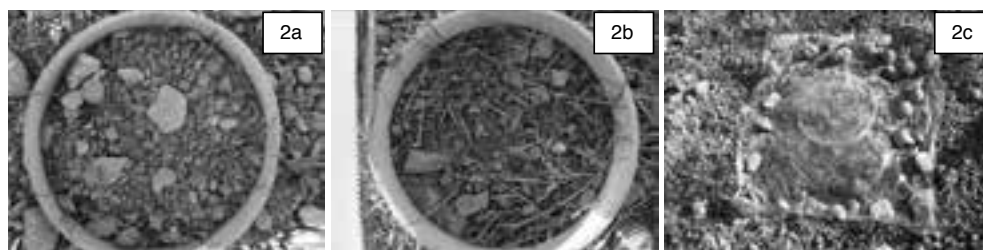


Figura 2. 2a) Microparcels quemada. El círculo corresponde a un tubo de PVC de 32 cm diámetro; 2b) Microparcels sin quemar con el rastrojo visible en superficie; 2c) Microparcels cubierta con plástico, previo a la aplicación de herbicida.

El 31 de enero, previo a la aplicación de los herbicidas en la parcela, se cubrieron todas las microparcels con un plástico, tal como se ve en la figura 2c, que se retiró al día siguiente para evitar que afectara a la nascencia de malas hierbas.

El 23 de marzo se dio por finalizado el experimento, se cortaron todas las plantas de trigo por la zona del cuello, se llevaron a una estufa y se pesaron después de secos para calcular la biomasa de cada microparcels.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los conteos previos a la siembra (24/10/16) se encontraron únicamente tres especies, cebada de ricio, puesto que había sido el cultivo anterior, ballueca (*Avena sterilis* subesp. *ludoviciana*) y vulpia (*Vulpia unilateralis*).

Tabla 1. Densidad (pl/m²) del conteo del 24 de septiembre

Tratamiento	Ballueca	Cebada	Vulpia	Promedio
Rastrojo quemado	201	43	10	85
Testigo sin quemar	7	91	1	33
Promedio	104	67	5,5	59

La cebada cultivada no suele tener latencia por lo que el mismo verano suele iniciar la nascencia cuando encuentra condiciones de humedad suficiente. El hecho de que la población sea menor en la parcela quemada puede deberse a que la temperatura alcanzada durante el incendio afectó a la viabilidad de las semillas de cebada que se encontraban en la superficie del suelo y no fueron capaces de germinar cuando se dieron buenas condiciones para hacerlo.

Vulpia presenta una dormancia escasa y generalmente suele iniciar la germinación en Navarra en el mes de octubre. En el caso de la ballueca, su dormancia es mayor y generalmente no inicia la germinación en condiciones naturales hasta entrado el mes de noviembre. Los datos obtenidos dan a entender que las temperaturas alcanzadas durante el incendio no han sido lo suficientemente elevadas para destruir las semillas, pero han provocado la rotura de su latencia y las semillas han iniciado su germinación cuando han encontrado condiciones de humedad suficientes, con uno o dos meses de adelanto respecto a las condiciones naturales. En trabajos australianos se cita este mismo comportamiento (Murrumbidgee CMA, 2008).

En el caso de ballueca y vulpia, el hecho de adelantar su nascencia a la fecha de siembra en las parcelas quemadas permitirá su destrucción por medios mecánicos antes de la siembra con las labores preparatorias

En los conteos realizados después de la siembra se localizaron más especies: trigo (cultivo), cebada, ballueca (*Avena sterilis*), amapola (*Papaver rhoeas*), *Veronica hederifolia*, *Veronica persica*, Ciape (*Sinapis arvensis*), *Torilis arvensis*, vallico (*Lolium rigidum*), lapa (*Galium aparine*), *Galium parisiense*, *Fumaria officinalis*, *Nigella gallica*, cola de zorra (*Alopecurus myosuroides*), *Aphanes arvensis*, cardo (*Cirsium arvense*), *Euphorbia* sp, corregüela (*Convolvulus arvensis*), *Polygonum aviculare*, *Polygonum convolvulus*, cenizo (*Chenopodium album*) y *Mercurialis annua*. Para este trabajo nos centraremos en las especies más abundantes.

Tabla 2. Densidad de malas hierbas nacidas (pl/m²) después de la siembra en el conjunto de la parcela de ensayo experiencia. Datos acumulados de cinco fechas de conteo

Control	Quemado	Rastrojo
Densidad de malas hierbas (pl/m ²)	809	1457
Porcentaje (%)	55,5 %	100 %

El porcentaje de densidad de malas hierbas que se ha reducido en la zona quemada representa en conjunto un 44,5%.

Para estimar la nascencia del cultivo se realizó un conteo el 1 de diciembre sin arrancar las plantas, volviéndose a contar el 22 de marzo, al final del invierno.

Tabla 3. Cambios en la densidad de trigo (pl/m²) en función o no de la quema del rastrojo

Control	Quemado	Rastrojo
Nº plantas nacidas el 1/12/16 (pl/m ²)	317 a	207 a
Nº plantas de trigo presentes el 22/3/17 (pl/m ²)	297 a	167 a
Plantas de trigo perdidas a lo largo del invierno (%)	6,3%	19,1%

La nascencia del trigo en la parcela con el rastrojo quemado ha sido superior a la de la parcela con el rastrojo sin quemar. Por un lado, la no presencia de paja en superficie permite un laboreo más fino del suelo, un mejor enterrado de la semilla del trigo y un mejor contacto de esta con el suelo por lo que se obtuvo una mejor nascencia.

Puede observarse como el número de plantas de trigo a lo largo del invierno ha descendido en los dos tratamientos a causa de plagas, enfermedades o incluso inclemencias climáticas. Entre las posibles causas de este descenso destaca la afección de zebro (*Zabrus tenebrioides*) que aunque no se cuantificó, era más abundante en la zona sin quemar. Entre las medidas preventivas para el control de zebro se cita la eliminación de ricios del cultivo anterior (Tiebas and Esparza, 1998) y en este caso, el fuego tiene una acción indirecta sobre la plaga al reducir la presencia de cebada en la parcela en el periodo previo a la siembra. No se debe descartar el efecto directo del fuego sobre las puestas de huevos más superficiales e incluso sobre los adultos.

Tabla 4. Emergencia de las principales malas hierbas de otoño (pl/m²) después de la siembra de trigo. Datos acumulados de cinco fechas de conteo. Valores entre tratamientos para una misma especie, con la misma letra indica que no hay diferencias significativas

Control	Quemado	Rastrojo	Quemado/Rastrojo (%)
Nº plantas <i>Avena sterilis</i> (pl/m ²)	365 a	632 a	57,7
Nº plantas Cebada (pl/m ²)	0 a	144 b	0,0
Nº plantas <i>Lolium rigidum</i> (pl/m ²)	21 a	137 b	15,3
Nº plantas <i>Veronica</i> sp. (pl/m ²)	53 a	95 a	56,1
Nº plantas <i>Papaver rhoeas</i> (pl/m ²)	116 a	12 a	-900,0
Nº plantas <i>Sinapis arvensis</i> (pl/m ²)	30 a	77 a	39,4

La presencia de malas hierbas ha sido inferior en la parcela quemada en el caso de ballueca, cebada, vallico, verónica y ciape. Solo en el caso de amapola la densidad en la parcela quemada ha sido superior.

La variabilidad de la distribución de las plantas a lo largo de la parcela es muy grande, por lo que no ha sido posible encontrar diferencias significativas del efecto del fuego sobre la emergencia de malas hierbas, quizá sea interesante aumentar el número de puntos de muestreo en futuras experiencias. Únicamente en el caso de vallico y cebada se han encontrado diferencias significativas.

En ambos casos se interpreta que el efecto del fuego provoca que las semillas de estas especies que están en el suelo, alcancen una temperatura suficientemente elevada para destruir su capacidad germinativa, aunque no se ha alcanzado la temperatura suficiente o esta no ha durado un periodo suficientemente largo para destruir todas las semillas (Walsh, 2007). Se estima que un 50% de los agricultores de Australia del oeste utilizan la quema del rastrojo para reducir las poblaciones de vallico ante los graves problemas de resistencia a los herbicidas que les afectan (Peltzer, 2011).

Las semillas de amapola son muy longevas en el suelo y solamente una pequeña proporción germina cada año. A la vista de estos resultados, se interpreta que el fuego ha producido un efecto estimulante sobre la germinación, rompiendo la latencia y permitiendo su germinación en el otoño. No se han encontrado referencias en la literatura sobre el efecto que puede producir el fuego sobre la emergencia de amapola pero de alguna manera, se parece a lo comentado en el caso de ballueca y Vulpia, aunque con un retraso de varias semanas.

Antes de dar finalizado el experimento, el 22 de marzo, se realizó un control de biomasa del cultivo cuyo resultado puede verse en la tabla 5. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos, a pesar del mayor número de plantas y de biomasa total en la parcela quemada que en la parcela sin quemar. Probablemente los daños de zebro, repartidos irregularmente por la parcela, han provocado una variabilidad de los resultados.

Tabla 5. Peso seco del trigo en estado de desarrollo 2-3 nudos (BBCH 32-33)

Tratamiento-1	Biomasa seca	
	(gr/m ²)	(%)
Quemado	374	a 268
Rastrojo	140	a 100
Promedio	257	

4. REFERENCIAS

Murrumbidgee CMA (2008). The impact of stubble burning on weed populations in the following crop.

National Action Plan for Salinity and Water Quality.

Peltzer S (2011). E-weed newsletter. Vol 12 n° 7 pp 1-2.

Tiebas MA and Esparza M (1998). El zebro: pla de los cereales en Navarra. *Navarra Agraria n° 110.*

Walsh M and Newman P (2007). Burning narrow windrows for weed seed destruction. *Field Crops Research*, 104, 24-30.

Evaluation of the effect of a fire on weed emergence in a plot of winter cereal in Navarre

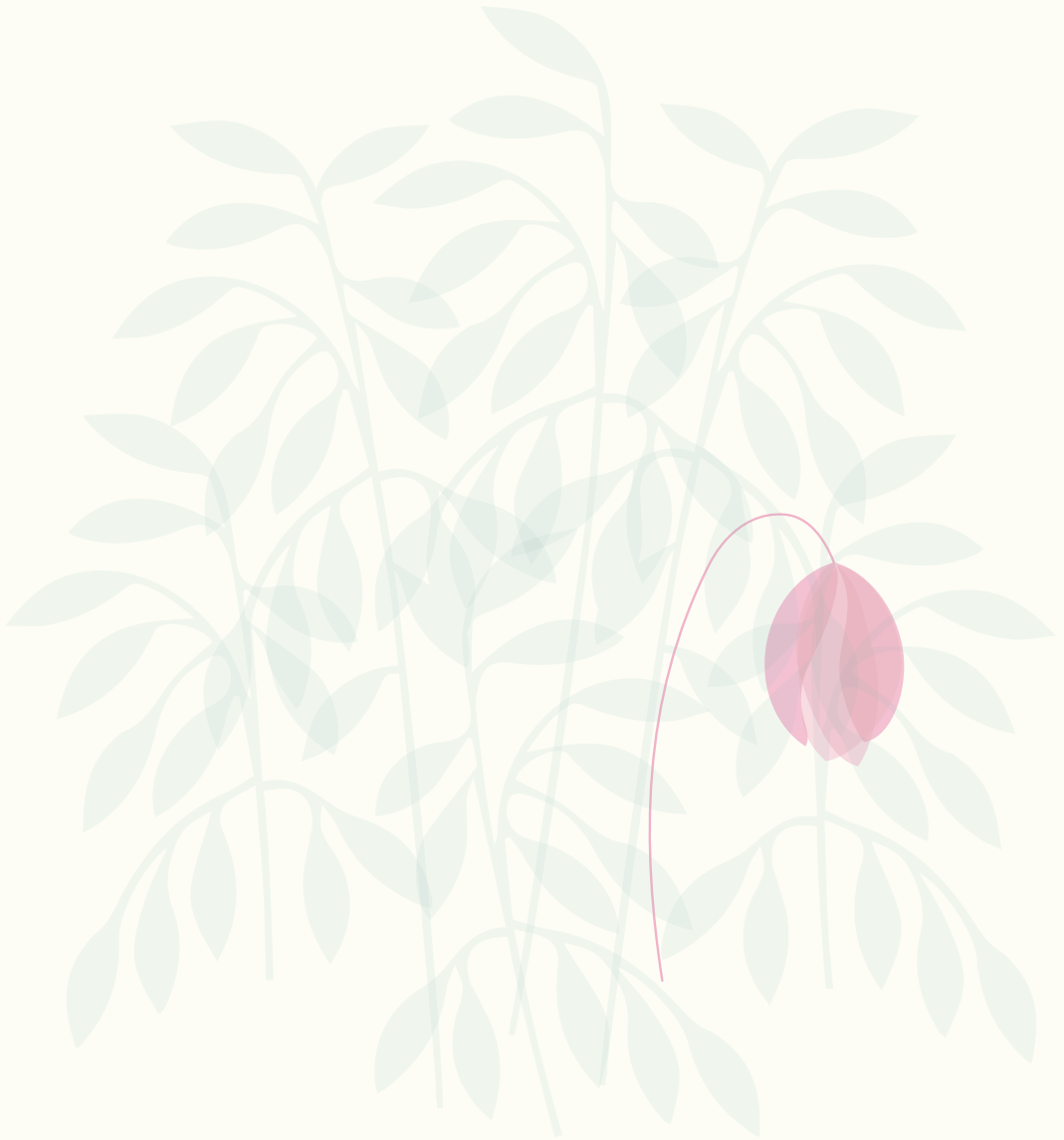
Summary: The stubble burning was used for the elimination of cereal crop residues in order to facilitate soil preparation for the next crop and to reduce reservoirs of pests, diseases and weeds in plots. In 2003 this practice was prohibited, except for phytosanitary reasons, to keep organic matter in the soil. In the summer of 2016, after a fire in Noain (Navarre), there was an opportunity of evaluating the effect of burning on weed emergence in the next crop. It has been confirmed that stubble burning has reduced weed emergence by 45%. Only considering mainly autumn germinating weed species, it has been reduced the density of Wild oat (*Avena sterilis* ludoviciana), Rye-grass (*Lolium rigidum*), Speedwell (*Veronica* sp), Charlock (*Sinapis arvensis*) and volunteer Barley of the previous crop. In contrast, Common Poppy (*Papaver rhoeas*) increased its density in the plots with burnt stubble.

Keywords: burning stubble, weeds emergence, winter cereal, fire, wheat, barley, *Avena sterilis*, *Lolium rigidum*, *Papaver rhoeas*, *Sinapis arvensis*.

Sesión 3

CONTROL QUÍMICO Y RESISTENCIAS A HERBICIDAS

03.1. Evaluación del comportamiento de 20 materias activas herbicidas sobre la cespitosa <i>Cynodon dactylon</i> en diferentes épocas climáticas del año	245	P3.1. ¿Dosis o eficacia?	281
03.2. Control de <i>Ailanthus altissima</i> en un ecosistema natural	251	P3.2. Evaluación de distintos herbicidas en el control de teosinte en cultivos diferentes al maíz	287
03.3. Arylex™ active, un nuevo herbicida de hoja ancha para cereales, cultivos perennes y colza: el primer miembro de una nueva familia química, los arilpicolinatos	257	P3.3. Respuesta a glifosato de seis especies de malas hierbas dicotiledóneas de maíz en Castilla y León	293
03.4. ¿Cómo integrar el manejo de biotipos resistentes en los DSS? El caso de la versión española del CPOWeeds	263	P3.4. Comportamiento químico del herbicida profoxidim y su formulado AURA. Efecto en <i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) Beauv.	299
03.5. Distribución de poblaciones resistentes de <i>Echinochloa</i> spp. a herbicidas inhibidores de la ALS y ACCasa en Extremadura	269	P3.5. Evaluación de la posible fitotoxicidad de una aplicación de glifosato en los días previos y posteriores a la siembra de la cespitosa <i>Lolium perenne</i>	305
03.6. Efecto del glifosato en la expresión génica de la ruta del siquimato en <i>Amaranthus palmeri</i>	275	P3.6. Evaluación de la eficacia y fitotoxicidad de herbicidas de post-emergencia en habas	309
		P3.7. Prueba de tolerancia de quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>) a varios herbicidas	315
		P3.8. Selectividad herbicida para un nuevo cultivo: el tritordeum	319
		P3.9. La sobreexpresión del gen <i>ALDH7B4</i> alivia los efectos provocados por herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos	325
		P3.10. Efecto del glifosato y de diferentes intermediarios metabólicos en la regulación de la ruta del siquimato	331
		P3.11. Uso de marcadores moleculares para la caracterización de malas hierbas del cultivo del arroz en Extremadura: <i>Echinochloa</i> spp. y <i>Leptochloa</i> spp.	337
		P3.12. Prospección de especies de malas hierbas del género <i>Conyza</i> , respuesta a glifosato y caracterización molecular en zonas de Extremadura	343
		P3.13. Primera dicotiledónea caracterizada en España con resistencia metabólica y de sitio de acción a inhibidores de la ALS: <i>Papaver rhoeas</i>	349
		P3.14. Metabolismo mediado por citocromo P450 en biotipos de <i>Papaver rhoeas</i> resistentes a auxinas sintéticas	355
		P3.15. Caracterización de la resistencia al herbicida nicosulfuron en una población de <i>Setaria adhaerens</i> en el cultivo de maíz	361



Evaluación del comportamiento de 20 materias activas herbicidas sobre la cespitosa *Cynodon dactylon* en diferentes épocas climáticas del año

Diego Gómez de Barreda^{1✉}, Daniel Izquierdo¹, Verónica De Luca¹

¹Departamento de Producción Vegetal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 46022-Valencia
✉ diegode@btc.upv.es

Resumen: La cespitosa *Cynodon dactylon* presenta el problema de entrar en latencia cuando la temperatura baja de 10°C, perdiendo el color verde. Este inconveniente puede ser una ventaja si el periodo de latencia es aprovechado para controlar las malas hierbas de invierno de forma química no selectiva pues los herbicidas presentan menor fitotoxicidad frente al césped al no presentar ésta actividad fisiológica. Este trabajo evalúa el comportamiento de 20 materias activas herbicidas sobre un césped de *C. dactylon* en 3 épocas climáticas distintas en las que la cespitosa presenta diferente actividad fisiológica. Hubo 9 herbicidas que no manifestaron fitotoxicidad en cualquier época climática, otros 7 que solo mostraban signos de fitotoxicidad en crecimiento activo del césped y los 4 restantes (diquat, norflurazona, oxifluorfen y penoxulam) mostraron fitotoxicidad incluso en periodos de poca actividad fisiológica.

Palabras clave: bermuda, dormancia invernal, fitotoxicidad, grama.

1. INTRODUCCIÓN

Cuando se habla del cultivo del césped hay que ser conscientes de que se engloban unas 20 especies vegetales distintas, algunas con un manejo y unos requerimientos climáticos muy diferentes con respecto a otras. Una de las especies cespitosas más importantes es la grama fina, también llamada hierba bermuda (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.), que presenta grandes ventajas pues es muy resistente al calor y la sequía, tolera la salinidad del suelo y el pisoteo pero tiene un gran inconveniente: su poca tolerancia al frío. La grama, cuando las temperaturas bajan de 13°C, deja de crecer y cuando llegan a 10°C entra en latencia perdiendo su color verde y volviéndose marrón (McCarty and Miller, 2002). En España, dependiendo del lugar, un césped conformado por *C. dactylon*, puede permanecer en latencia y sin color verde más o menos tiempo, pero como media podría decirse que lo hace durante 3 meses en los que el césped que forma no cumple con unos mínimos de calidad estética. Sin embargo, esta desventaja, puede convertirse en ventaja si en ese momento de latencia se aprovecha para controlar de forma química las malas hierbas del césped pues su actividad fisiológica se reduce a mínimos vitales y hace que herbicidas que en otro momento pudieran resultar fitotóxicos para la grama, en épocas frías sean seguros. Sería interesante conocer qué herbicidas aplicados sobre la grama en pleno invierno, pudiesen controlar a la peor mala hierba de los céspedes, *Poa annua* e incluso a otras dicotiledóneas de invierno, sin resultar fitotóxicos. En España hay pocas materias activas herbicidas autorizadas para su uso en céspedes, ninguna para eliminar de forma selectiva a *Poa annua* (en 2017 hay una autorización especial para el uso de pendimetalina en céspedes) aunque sí que están autorizados diquat y glifosato que aunque no son selectivos pueden serlo si se aplican en total dormancia de césped (invierno). El objetivo de este

experimento es comprobar la posible fitotoxicidad que diferentes materias activas herbicidas pudieran producir sobre un césped de *C. dactylon* en diferentes estados de latencia del césped producidos por diferente climatología.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado 3 aplicaciones idénticas de 20 materias activas herbicidas (Tabla 1) sobre un césped de *C. dactylon* variedad comercial Princess 77, en 3 épocas diferentes, en el término municipal de Valencia. El tratamiento A se aplicó a finales de verano (2 de septiembre), con el césped en óptimo crecimiento, el tratamiento B se aplicó en otoño (18 de noviembre) con el césped comenzando la latencia y el tratamiento C en pleno invierno (15 de enero). Las aplicaciones se hicieron pulverizando la solución herbicida sobre una superficie circular de 0,02 m² replicada 4 veces siendo el diseño experimental de bloques completamente aleatorizados. La solución herbicida fue impulsada por CO₂ a 303,9 kPa de presión y pulverizada con una lanza provista de una boquilla de abanico Teejet 9504 EVS dando un volumen de caldo de 400 l/ha. Un día antes del tratamiento, el césped fue segado a 2 cm de altura e inmediatamente regado. Se realizaron las siguientes evaluaciones a partir del tratamiento del césped: i) Aspecto general del césped a los 0, 7, 14 y 28 días después del tratamiento (DDT) con una escala visual subjetiva con valores en el rango del 1 al 9, donde un 9 significa un césped en estado óptimo (buen aspecto, denso, uniforme, color verde oscuro, hoja fina, y con ausencia de daños causados por enfermedades o fitotoxicidad por herbicidas), un 6 representa un césped aceptable y un 1 un césped o bien muerto o bien en completa latencia invernal (Morris, 2017) y ii) Peso seco de los recortes de siega de cada una de las superficies tratadas con los herbicidas a los 28 DDT. Los recortes de siega se secaron en un horno a 65° C hasta peso constante y se pesaron con una balanza de 0,001 g de precisión. Se realizaron los correspondientes ANOVA para comparar medias tanto del aspecto general como del peso obtenido en cada fecha evaluada usando el programa informático Statgraphics Centurión XVI.

Tabla 1. Listado de materias activas herbicidas utilizadas y dosis empleadas

Materia activa y riqueza	Dosis (l/ha)	Materia activa y riqueza	Dosis (l/ha)	Materia activa y riqueza	Dosis (l/ha)
aclonifen 60%	2,5	fenoxaprop 1,87%	1,2	oxifluorfen 24%	1,5
bispiribac-Na 40,8%	0,075	glifosato 36%	4	pendimetalina 33%	6
cihalofop-butilo 20%	1,5	halosulfuron 75%	0,05 kg/ha	penoxulam 2,04%	2
cletodim 12%	1,6	metazacloro 50%	2,5	propanil 48%	6
diflufenican 50%	0,75	metribuzina 70%	0,75	propizamida 40%	2,5
diquat 20%	2	norflurazona 80%	8 kg/ha	simazina 50%	3
etofumesato 50%	3	oxadiazon 25%	3		

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se pretendió realizar los 3 tratamientos en épocas climatológicamente muy distintas (Fig. 1) para que *C. dactylon* estuviese en estados fisiológicos distintos, más o menos activos. En primer lugar en una época en la cual el césped estuviese siempre en crecimiento activo (Tratamiento A)

y como puede verse en la figura 1, las temperaturas del aire nunca estuvieron por debajo de 13°C que es el 0 de crecimiento de esta especie (McCarty and Miller, 2002). Se pretendió también realizar el tratamiento en una época que podría denominarse de transición, en la cual el césped aun no hubiese entrado en latencia pero ya tuviese su crecimiento algo ralentizado al haber ya temperaturas por debajo de 13°C (Tratamiento B en la Fig. 1) y por último se esperaba poder aplicar el tratamiento C en plena dormancia del césped pero el invierno de 2015-2016 fue muy suave y no hubo dormancia completa (Tratamiento C de la Fig. 1).

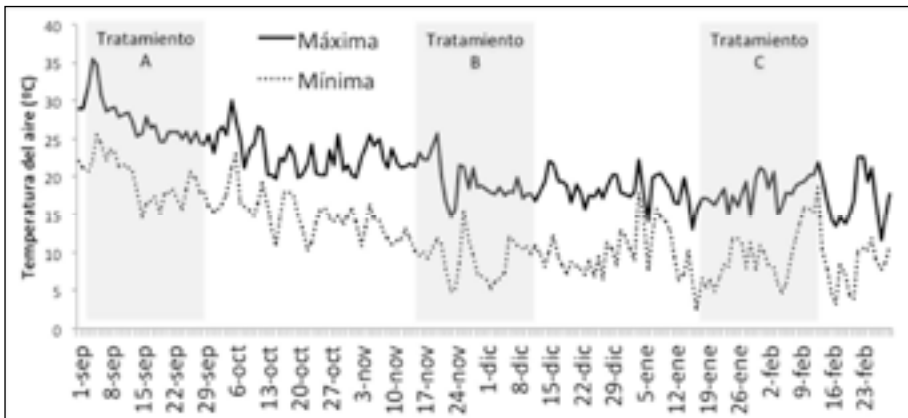


Figura 1. Temperatura máxima y mínima absoluta del aire durante los 3 periodos de aplicación de los herbicidas. La zona sombreada abarca desde el tratamiento hasta el final del periodo de evaluación.

En la tabla 2 se puede ver la evolución del aspecto general del césped durante las 4 semanas posteriores al tratamiento, dependiendo de la materia activa recibida y la época del año estudiada. En primer lugar puede observarse como el aspecto general del césped el día de los tratamientos es diferente, así el 2 de septiembre tenía un valor de 8, mientras que en los otros 2 tratamientos (15 de noviembre y 15 de enero) el valor de partida fue de 6,5, valor considerado como aceptable aunque se esperaba poder haber tratado el césped el 15 de enero con un valor más bajo de aspecto general. Durante el mes que siguió al primer tratamiento, el césped se encontraba en crecimiento activo y hubo 4 materias activas (halosulfuron, metribuzin, propizamida y simazina) que no mostraron ningún síntoma de fitotoxicidad. De hecho, halosulfuron en USA, está autorizado en cualquier cespitosa para el control, sobre todo, de ciperáceas mientras que en España lo está en arroz y maíz y las otras 3 materias activas, están en USA autorizadas para céspedes de *C. dactylon* para el importante control de malas hierbas como *Poa annua* y *Eleusine indica*, no estando registrada ya en España simazina. La materia activa metribuzin, puede causar una leve decoloración del césped (McCullough, 2011), cosa que solo ocurrió en el segundo tratamiento cuando de un valor de 6,5 paso a 6,3. Existen otras 10 materias activas que aunque muestran algún síntoma de fitotoxicidad, el valor de aspecto general alcanzado a las 4 semanas de la aplicación es muy similar al control, de hecho en términos de significancia estadística se pueden considerar iguales. El número de materias activas que presentan un comportamiento igual al césped control aumenta al ir aumentando el grado de letargo del césped, pues pasa de 14 durante el primer tratamiento en crecimiento activo, a 16 en el segundo periodo y 17 en el tercero. Por otro lado, hay 6 materias activas que son fitotóxicas

tras el tratamiento A, aunque no llegan a matar el césped, siendo el valor mínimo obtenido de 3,3 en el caso de norflurazona o de 4,3 en el del glifosato. En el Tratamiento B, estas 2 últimas materias activas vuelven a ser fitotóxicas, junto con diquat que inexplicablemente no mostraba fitotoxicidad durante el primer tratamiento y oxifluorfen (ambos herbicidas de contacto).

Tabla 2. Aspecto general del césped con escala visual subjetiva del 1 al 9. Diferencias entre valores de aspecto general en cada fecha mayores al valor LSD indican diferencias estadísticamente significativas a un nivel de probabilidad del 5%. NS: No significativo. DDT: Días después del tratamiento

	Tratamiento A (DDT)				Tratamiento B (DDT)				Tratamiento C (DDT)			
	0	7	14	28	0	7	14	28	0	7	14	28
norflurazona	8,0	4,4	3,4	3,3	6,5	6,4	5,6	5,0	6,5	6,5	6,5	6,5
glifosato	8,0	6,9	5,3	4,3	6,5	6,3	6,1	5,6	6,5	6,5	6,5	6,0
cihalofop-butilo	8,0	5,1	4,9	5,0	6,5	6,5	6,5	6,3	6,5	6,4	6,4	6,1
aclonifen	8,0	5,1	4,3	5,3	6,5	6,4	6,4	6,3	6,5	6,5	6,5	6,5
etofumesato	8,0	7,3	6,5	6,4	6,5	6,5	6,5	6,1	6,5	6,5	6,5	6,5
fenoxaprop	8,0	7,0	6,5	6,5	6,5	6,5	6,4	6,5	6,5	6,4	6,4	6,4
diquat	8,0	7,0	6,9	7,1	6,5	5,8	5,4	5,1	6,5	5,6	3,6	3,4
oxadiazon	8,0	7,0	7,0	7,4	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
metazacloro	8,0	7,9	7,9	7,6	6,5	6,4	6,4	6,3	6,5	6,5	6,5	6,5
propanil	8,0	7,8	7,8	7,6	6,5	6,5	6,5	6,4	6,5	6,5	6,0	6,0
oxifluorfen	8,0	7,8	7,8	7,8	6,5	6,3	5,3	4,3	6,5	6,4	4,3	3,5
penoxulam	8,0	7,9	7,8	7,8	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,4	6,4	5,4
bispiribac-Na	8,0	7,9	7,8	7,8	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
pendimetalina	8,0	8,0	8,0	7,9	6,5	6,5	6,5	6,4	6,5	6,5	6,5	6,3
diflufenican	8,0	7,9	7,9	7,9	6,5	6,3	6,3	6,3	6,5	6,5	6,5	6,3
cletodim	8,0	7,9	7,9	7,9	6,5	6,5	6,5	6,4	6,5	6,5	6,5	6,5
propizamida	8,0	8,0	8,0	8,0	6,5	6,5	6,5	6,4	6,5	6,3	6,3	6,3
simazina	8,0	8,0	8,0	8,0	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5	6,5
halosulfuron	8,0	8,0	8,0	8,0	6,5	6,5	6,5	6,4	6,5	6,4	6,1	5,9
metribuzin	8,0	8,0	8,0	8,0	6,5	6,5	6,5	6,3	6,5	6,5	6,5	6,5
Control	8,0	8,0	8,0	8,0	6,5	6,5	6,5	6,0	6,5	6,5	6,5	6,5
Valor LSD	NS	0,72	1,03	1,19	NS	0,34	0,49	0,65	NS	0,27	0,73	0,80

En el tercer periodo evaluado, diquat y oxifluorfen repiten causando una fitotoxicidad severa y penoxulam leve, mientras que glifosato y norflurazona no muestran diferencias con respecto al césped sin tratar. Hay que destacar también que la fitotoxicidad observada en algunos casos fue rápida, pues a los 7 DDT norflurazona, cihalofop-butilo y aclonifen ya mostraron síntomas graves cuando el tratamiento se hizo en época de crecimiento activo y solo diquat mostró este tipo de síntomas rápidos en épocas de crecimiento ralentizado (segundo y tercer tratamiento).

Analizando ahora el peso seco obtenido tras segar el césped a los 28 DDT (Fig. 2), se observa como en el periodo de crecimiento activo (tratamiento A) el rango de peso de recortes de siega

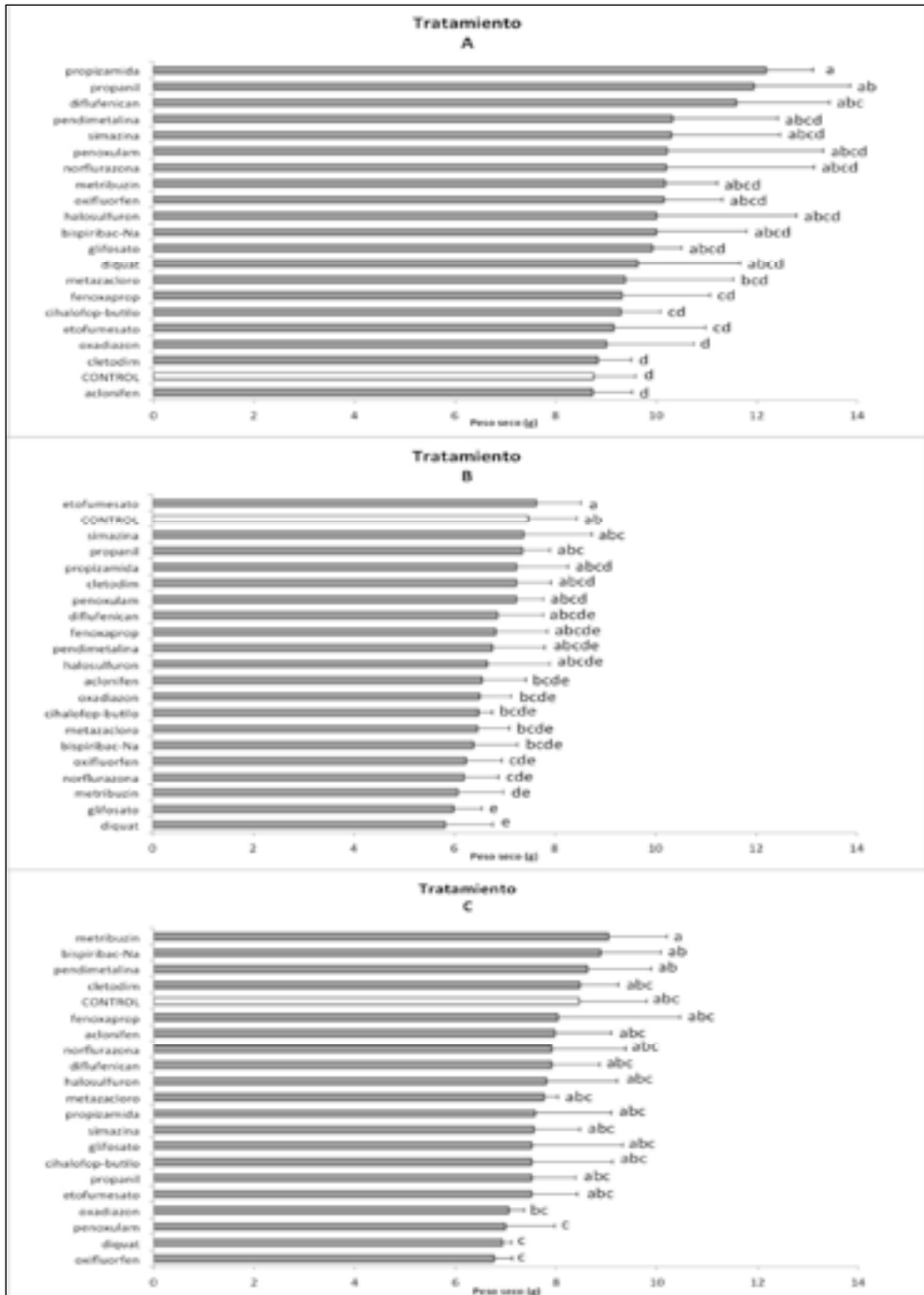


Figura 2. Peso seco de los recortes de siega a los 28 DDT. En cada gráfica, letras distintas tras las columnas indican diferencias estadísticamente significativas al 5% de probabilidad.

se encuentra entre 9-12 mg, mientras que en los tratamientos B y C se encuentra entre 6-7 y 6-8 mg respectivamente, lo que indica que la planta con temperaturas bajas no crecía lo mismo. Tras el primer tratamiento, no se observó reducción de recortes de siega al aplicar cualquier herbicida con respecto al control, sin embargo sí que se observó un ligero incremento del peso de los recortes de siega cuando se aplicaron 3 materias activas (propizamida, propanil y diflufenican) una de estas, propizamida ya destacó en cuanto a su aspecto general como una de las 4 que no mostraban ningún síntoma de fitotoxicidad, ni siquiera leves, mientras que propanil y diflufenican sí que los mostraban aunque no significativos con respecto al control.

En conclusión, existen muchas materias activas herbicidas que pueden usarse de manera segura en un césped a base de *C. dactylon* y ser algunas de ellas activas frente a importantes malas hierbas de los céspedes como las *Digitaria sanguinalis*, *Eleusine indica*, *Cyperus rotundus* o *Poa annua*. Sobre todo son interesantes los herbicidas halosulfuron y propizamida. Además, aunque no se alcanzó un estado real de letargo del césped, sí que se intuye que con la bajada de la actividad fisiológica del césped, los herbicidas se muestran, en general, más seguros.

4. REFERENCIAS

- McCarty LB & Miller G (2002). Managing bermudagrass turf. E. Ann Arbor Press. Chelsea.
- McCullough PE (2011). Turfgrass weed control for professional managers. Turfgrass Pest Control. Ed. by The University of Georgia. Pp. 54-85. Urban AG Council. Commerce, GA (USA).
- Morris KN (2017). A Guide to NTEP turfgrass ratings. <http://www.ntep.org/reports/ratings.htm#quality> (Acceso 20 abril 2017).

Evaluation of 20 herbicides on bermudagrass turfgrass during different climatic seasons of the year

Summary: Bermudagrass has a problem when air temperature drops to 10°C as it enters into dormancy losing its green colour. This problem can be an advantage if winter weeds are controlled on the turfgrass with non selective herbicides due to the lack of physiological activity of bermudagrass. This study evaluates the behavior of 20 herbicides applied on a bermudagrass stand during 3 different climatic seasons of the year. There were 9 herbicides not showing any type of phytotoxicity whatever it was the climatic season, another 7 herbicides just showing phytotoxicity during the turfgrass active growing period and the 4 remaining (diquat, norflurazone, oxyfluorfen and penoxulam) showing phytotoxicity even in turfgrass dormancy periods.

Keywords: bermudagrass, winter dormancy, phytotoxicity.

Control de *Ailanthus altissima* en un ecosistema natural

Jordi Soler^{1✉}, Jordi Izquierdo¹, Joan Vilamú²

¹Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, UPC. Campus Baix Llobregat. Ed. D4. 08860 Castelldefels

²Servei de Medi Natural. Parc Natural de la Serra de Collserola. Ctra. de l'Església, 92, 08017 Barcelona

✉ soleraaa@hotmail.com

Resumen: El ailanto (*Ailanthus altissima*) es una especie considerada invasora en ecosistemas naturales. Se han realizado ensayos para su control, inyectando herbicida al tronco, con cuatro dosis de glifosato (36 %) mezclado con 2,4-D (29,6 %) + dicamba (10 %) + MCPA (26,5 %) en árboles de diámetros menores a 3,5 cm, y dos dosis de triclopir (48 %) diluido en agua y gasoil por separado, en diámetros menores de 3,5 cm y diámetros entre 10-14 cm. Se observó la muerte de todos los individuos tratados. Las semillas de árboles tratados más pronto con la mezcla anteriormente descrita, mostraron una menor viabilidad respecto a las de los árboles con tratamientos más tardíos. Los árboles pueden brotar de fragmentos de rizoma de 4 cm de longitud y 3-4 mm de diámetro.

Palabras clave: *Ailanthus*, inyección al tronco, glifosato, triclopir, semilla, rizoma.

1. INTRODUCCIÓN

El ailanto (*Ailanthus altissima*) es una especie vegetal declarada invasora en el Estado Español (España RD 630/2013). Debido a que aparece en ecosistemas no cultivados es necesario desarrollar técnicas de manejo que provoquen un mínimo impacto sobre el ecosistema. Actualmente, la técnica más utilizada por su eficacia y mínimo impacto ambiental es la inyección de herbicida directamente en el tronco. El Parque Natural de la sierra de Collserola en Barcelona tiene una superficie de 8.300 ha y se calcula que el ailanto está presente en 40 de ellas. Los técnicos del Parque llevan años combatiéndolo. Actualmente inyectan al tronco la combinación de glifosato (36 %) más 2,4-D (29,6 %) + dicamba (10 %) + MCPA (26,5 %), pero a causa de la prohibición de materias activas a nivel local, y a la necesidad de reducir el impacto ambiental en el Parque, se considera necesario evaluar la eficacia con dosis menores a la usada actualmente y probar materias activas diferentes para disponer de alternativas, incluso en combinaciones con métodos no químicos. Para el correcto control y manejo del ailanto, se debe tener en cuenta su elevada capacidad reproductiva, ya sea por semilla o por rizoma. Los ejemplares adultos pueden producir una gran cantidad de semillas (Evans et al., 2006) y fragmentos de rizoma de 1 cm de longitud son capaces de generar brotes (Inverso and Bellani, 1991). Es interesante confirmar estos hechos en la Sierra de Collserola para poder efectuar un buen manejo. Los objetivos de este trabajo fueron 1) determinar la dosis mínima efectiva de la mezcla glifosato (36 %) más 2,4-D (29,6 %) + dicamba (10 %) + MCPA (26,5 %) en árboles de diámetro inferior a 3,5 cm; 2) determinar la eficacia de triclopir (48 %) en árboles de diámetro < 3,5 cm y diámetros entre 10-14 cm; 3) evaluar la capacidad germinativa de las semillas de árboles tratados y 4) evaluar la capacidad de rebrote de fragmentos de rizoma.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Ensayos con herbicida. Se hicieron tres ensayos usando la técnica de inyección de herbicida al tronco. Para todos los ensayos (Tabla 1), se realizaron agujeros con un taladro cada 5 cm a lo largo del perímetro del tronco, inyectando por cada agujero realizado 5 ml de solución

de herbicida si se usaba una broca de 10 mm, o 2,5 ml al usar una broca de 8 mm. Cada ensayo se realizó en un mismo día y se hizo una evaluación visual a las 2, 4, 8 y 16 semanas posteriores al tratamiento. El control eran árboles sin tratar cercanos a los ensayos y de semejante diámetro. Un año después de los ensayos se hizo una visita para confirmar la muerte de los árboles. La mortalidad se evaluaba de forma visual, según el estado de la parte aérea.

Ensayo AH1: se estableció como base la dosis actual que utilizan en el Parque formada por 25 % de glifosato (36 %) más 25 % de 2,4-D (29,6 %) + dicamba (10 %) + MCPA (26,5 %) diluido en agua, y se probaron 3 dosis inferiores. En total había 12 parcelas y cada parcela constaba de 20 a 30 árboles de diámetro inferior a 3,5 cm.

Ensayo AH2: se inyectó triclopir (48 %) diluido al 50 % y 80 %, en agua y gasoil por separado. En total había 12 parcelas y cada parcela constaba de 20 a 30 árboles de diámetro inferior a 3,5 cm.

Ensayo AH3: se inyectó triclopir (48 %) diluido al 50 % y 80 %, en agua y gasoil por separado, en árboles de diámetro entre 10 a 14 cm. Cada árbol representaba una parcela. En total había 4 repeticiones por tratamiento.

Tabla 1. Ensayos realizados (AH), con las fechas del tratamiento y las dosis de producto. Herbolex -Aragonesas: glifosato (36 %); Banvel Triple-Syngenta: 2,4-D (29,6 %) + dicamba (10 %) + MCPA (26,5 %); Garlon 4- Dow AgroScience: triclopir (48 %). El diámetro del Control era el mismo que el de los árboles de cada tratamiento

Ensayo	Repetición	Producto (%)			Broca inyección (mm)	Diámetro árboles (cm)
		<i>Herbolex</i>	<i>Banvel Triple</i>	<i>Agua</i>		
AH1 07/04/16	T1	6	6	88	8	1,5-3,5
	T2	12	12	76		
	T3	18	18	64		
	T4	25	25	50		
	Control	0	0	0		
		<i>Garlon 4</i>	<i>Gasoil</i>	<i>Agua</i>		
AH2 5/05/16	T5	50	50	-	8	1,5-3,5
	T6	50	-	50		
	T7	80	20	-		
	T8	80	-	20		
	Control	0	0	0		
AH3 12/05/16	TB1	80	-	20	10	14
	TB2	80	20	-		8
	TB3	50	-	50		12
	TB4	50	50	-		10
	Control	0	0	0		*

2.2. Ensayos de germinación. Se realizaron tres ensayos de germinación en diferentes condiciones ambientales. Cada ensayo constaba de 5 repeticiones con 100 semillas que provenían de un único árbol respectivamente. Los árboles fueron tratados en diferentes fechas con 25 % de glifosato (36 %) (Herbolex, Aragonesas) más 25 % de 2,4-D (29,6 %) + dicamba (10 %) + MCPA (26,5 %) (Banvel Triple, Syngenta) (Tabla 2) y se recolectaron sus semillas el 15 de diciembre del mismo año. El objetivo del ensayo era observar si existía una relación entre la fecha de tratamiento de los árboles y la viabilidad de las semillas. Una vez recolectadas, las semillas fueron desinfectadas con cloruro de sodio al 2 % durante 10 minutos. Las semillas se consideraban emergidas cuando la radícula superaba los 2 mm. Semanalmente se hacía un control visual y si se requería se humedecían con agua destilada. Al terminar el ensayo AG3 se hizo un test de viabilidad de las semillas no germinadas con tetrazolio (2,3,5-trifeniltetrazolio) al 1 % durante 24 h en oscuridad.

Tabla 2. Condiciones ambientales de cada ensayo de germinación y fecha del tratamiento con herbicida de cada árbol de donde se obtuvieron las semillas.*Para AG2 y AG3 se tuvieron que modificar las condiciones de la cámara debido a la disponibilidad de ésta

Ensayo	Temperatura cámara (°C)		Luz/oscuridad (h)		Vernalización (°C / Semanas)			
AG1	25		16/8		-			
AG2	15 y 28		16/8 y 24 luz*		5/1			
AG3	28 y 22		24 luz y 16/8 *		5/7,5			
Muestra y fecha de tratamiento de los árboles								
Quadra	8/09/2015	Abat	22/09/2015	Pantà	26/10/2015	Antoni	10/11/2015	Control -

2.3. Ensayos con rizomas. Se realizaron dos ensayos con un total de 7 tamaños diferentes de rizoma en macetas con tierra de la misma zona de donde se cogió la muestra (Tabla 3). El primer ensayo (AR1) constaba de tres tamaños de rizoma; para cada tamaño había 3 repeticiones y se regaron una vez al mes con agua de red de abastecimiento público; las muestras se plantaron en macetas de 554 cm³. En el segundo ensayo (AR2) había 4 tamaños, con 8 repeticiones cada uno, se regaron 3 veces por semana y se plantaron en macetas de 790 cm³. En los dos ensayos se hizo un seguimiento visual semanal.

Tabla 3. Tamaño de los rizomas y características de los dos ensayos con rizomas

Ensayo	Longitud (mm)	Diámetro (mm)	Repeticiones	Volumen maceta (cm ³)
AR1	240	2	3	554
	80	20		
	60	5		
AR2	10, 20, 40, 80	3-4	8	790

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Ensayos con herbicida. En todos los tratamientos del ensayo AH1 se obtuvo la mortalidad de todos los árboles tratados (Tabla 4). Con el tratamiento T1 (Herbolex 6 % + Banvel triple 6 %) se observó la mortalidad más lenta, seguramente debido a la baja concentración de herbicida. Para todos los tratamientos de AH1, se observaron árboles contiguos no tratados afectados, debido muy probablemente a que estaban conectados por rizoma a las parcelas tratadas. Otros autores inyectando glifosato consiguieron mortalidades del 100 % (Venegas and Pérez, 2009), o superiores al 90 % (DiTomaso and Kyser, 2007). De la bibliografía consultada no se ha encontrado ningún estudio con concentraciones tan bajas como las nuestras, así que no se pueden comparar los resultados. A la vista de los resultados de este primer ensayo, se puede afirmar que se puede reducir la dosis de herbicida que actualmente usa el Parque.

En el ensayo AH2, todos los árboles tratados murieron de manera rápida y homogénea, y se observaron árboles no tratados afectados hasta 7 metros para T8 (triclopir 80 % en agua). Para T5 (triclopir 50 % en gasoil) y T6 (triclopir 50 % en agua) no se observaron afectaciones más distantes a 1 m de la zona tratada. Hay autores que no observaron afectaciones a árboles cercanos usando triclopir (Eck and McGill, 2007) mientras que otros, usando triclopir puro, indican que no obtuvieron control (Venegas and Pérez, 2009). Quizás al estar el herbicida diluido en nuestro ensayo, se favoreció la translocación y consecuentemente hubo una mayor afectación.

También en el ensayo AH3 todos los árboles murieron. En el tratamiento TB2 (triclopir 80 % en gasoil), la afectación llegó hasta 10 m de la zona tratada.

Tabla 4. Mortalidad observada en los ensayos con inyección al tronco del herbicida. AH1: glifosato + (2,4-D, + MCPA + dicamba). AH2: triclopir en árboles pequeños ($\Theta < 3,5$ mm). AH3: triclopir en árboles grandes (Θ : 10-14 mm)

Ensayo	Tratamiento	Mortalidad parte aérea según semana post tratamiento (%)				
		2	4	8	16	52
AH1	T1	38	76,1	100	100	100
	T2	60	100	100	100	100
	T3	72,6	100	100	100	100
	T4	67,6	100	100	100	100
	Control	0	0	0	0	0
AH2	T5	92	100	100	100	100
	T6	86,7	100	100	100	100
	T7	96	100	100	100	100
	T8	100	100	100	100	100
	Control	0	0	0	0	0
AH3	TB1	65	75	100	100	100
	TB2	100	100	100	100	100
	TB3	97,5	97,5	98,7	100	100
	TB4	97,5	100	100	100	100
	Control	0	0	0	0	0

3.2. Ensayos de germinación. Se observó una menor germinación estadísticamente significativa en las semillas de los árboles que fueron tratados en septiembre en relación con los árboles tratados más tarde pero solo en el segundo ensayo (AG2). En los otros ensayos no se observaron diferencias relevantes en la germinación de las muestras, probablemente al no haber sabido romper la latencia o no haber puesto las condiciones óptimas en la cámara para la germinación. En el tercer ensayo (AG3), el test del tetrazolio indicó que la mayoría de semillas no germinadas eran viables, por lo que quizás no germinaron por los motivos comentados (Tabla 5).

Tabla 5. Resultados de los tres ensayos de germinación. La fecha que acompaña la muestra indica la fecha de tratamiento del árbol de donde se obtuvieron las semillas. Control: semillas de árboles no tratados. Test ANOVA y diferencia de medianas mediante test de Tukey con el programa R-comander con $\alpha = 0,05$

Muestra	Germinación por ensayo (%)			Test tetrazolio AG3 (%)		
	AG1	AG2	AG3	Viables	No viables	Podridas
Quadra 08/09/15	0 a [*]	16 b	8 b	52	32	8
Abat 22/09/15	7 a	37 ab	41 a	21	36	2
Pantà 26/10/15	6 a	44 ab	20 ab	28	50	2
Antoni 10/11/15	6 a	36 ab	10 b	54	33	3
Control	0 a	73 a	4 b	89	4	3

3.3. Ensayos con rizomas. En el ensayo AR1, todas las muestras de 80 mm de longitud mostraron yemas hinchadas 11 semanas post-plantación (spp) y una presentó hojas y raíces a las 26 spp. Para las muestras de 60 mm de longitud, solo una de las tres repeticiones se consideró viable al haber generado hojas y raíces de 56 mm. Las 3 repeticiones de 240 mm se pudrieron sin generar nuevo material vegetal. Para el ensayo AR2 solo una muestra de 40 mm longitud y otra de 80 mm generaron un brote y hojas viables, las dos casi por igual a las 11 semanas. El resto de repeticiones del segundo ensayo se pudrieron por lo que no se muestran en la tabla (Tabla 6).

Tabla 6. Resultados de los ensayos con rizoma

Ensayo	Muestra inicial (mm)		Resultados después brotación (mm)		
	Longitud	Díámetro	Raíz	Brote	Hoja
AR1	240	2	-	-	-
	240	2	-	-	-
	240	2	-	-	-
	60 y ramificaciones de 150	5	-	-	-
	60 y ramificaciones de 150	5	56	30	16
	60 y ramificaciones de 150	5	25	-	-
	80	20	-	-	-
	80	20	130	48	47
AR2	80	20	15	10	-
	40	3-4	-*	30	10
	80	3-4	-	30	10

* Las raíces no se midieron para evitar romper el brote.

4. AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer este trabajo a Jordi Izquierdo por su función de tutor, soporte y orientación a lo largo de todo el trabajo. También agradecer a Joan Vilamú, técnico del Parque, por su colaboración y consecuente posibilidad de efectuar los ensayos de este trabajo. Por último, agradecer a Jordi Pons por todos los conocimientos sobre el ailanto que me ha enseñado.

5. REFERENCIAS

- DiTomaso J & Kyser G (2007). Control of *Ailanthus altissima* using stem herbicide application techniques. *Arboriculture & Urban Forestry*, 33(1), 55-63.
- Eck W.E & McGill D.W (2007). Testing the efficacy of the triclopyr and imazapyr using two application methods for controlling tree-of-heaven along a west Virginia highway. *15th Central Hardwood Forest Conference*. Ed. by Buckley S.D & Clatterbuck K.W, 163-168, U.S. Department of Agriculture Forest Service Southern Research Station Asheville, NC.
- España, Real Decreto 630/2013 de 2 de agosto (2013). Por el que se regula el Catálogo Español de especies exóticas invasoras. *Boletín Oficial del Estado*, 185, de 3 de agosto de 2013, 56764-56786.
- Evans CW, Moorhead DJ, Bargeron CT and Douce GK (2006). Invasive plant responses to silvicultural practices in the south. The University of Georgia Bugwood Network, Tifton GA, BW-2006-03. 14-15.
- Inverso A & Bellani L (1991). Origin and development of *Ailanthus glandulosa* desf. root suckers. *Giornale Botanico Italiano*. 125, 39-45.
- Venegas J.T & Pérez P.C (2009). Análisis y optimización de técnicas de eliminación de especies vegetales invasoras en medios forestales de Andalucía. *5º Congreso Forestal Español*. Ed. by S.E.C.F.-Junta de Castilla y León. Avila.

Control of *Ailanthus altissima* in a natural environment

Summary: Tree of heaven (*Ailanthus altissima*) is considered a non-native invasive species of natural environments. Efficacy of some herbicides has been done for its control, using the technique of stem Injection. Four doses of glyphosate (36 %) plus 2,4-D (29.6 %) + dicamba (10 %) + MCPA (26.5 %) in trees with diameters smaller than 3.5 cm and two doses of triclopyr (48 %) diluted in water and gasoil separately in diameters smaller than 3.5 cm and diameters between 10-14 cm killed all trees. Collected seeds from early treated trees with the above mentioned herbicide combination showed less viability than seeds from trees with later treatments. Furthermore, rhizome fragments not treated of 4 cm length and 3-4 mm diameter were able to sprout, showing the high reproductive potential of this species.

Keywords: *Ailanthus*, stem injection, glyphosate, triclopyr, seed, rhizome.

Arylex™ active, un nuevo herbicida de hoja ancha para cereales, cultivos perennes y colza: el primer miembro de una nueva familia química, los arilpicolinatos

Borja Clemente¹✉, Rocío Pericas¹, Francisco Javier García Domínguez¹, Ignacio González¹✉, Dominique Larelle²

¹Dow AgroSciences Iberica S.A. Ribera del Loira 4-6, 28042 Madrid

²Dow AgroSciences SAS (France), 6 rue Jean-Pierre Timbaud, Montigny le Bretonneux, 78067 Saint-Quentin en Yvelines

✉ bclemente@dow.com / ilgonzalez@dow.com

Resumen: Arylex™ active (halauxifen-metil) es una nueva sustancia activa, descubierta por Dow AgroSciences, que pertenece a una nueva familia química, los arilpicolinatos, dentro de las auxinas sintéticas (grupo O, HRAC). Los arilpicolinatos interrumpen la regulación del crecimiento de las plantas, adhiriéndose a receptores auxínicos específicos, en este caso a AFB5, diferenciándose del resto de auxinas sintéticas. Arylex está formulado en mezcla con florasulam, fluroxipir o aminopirralida mostrando todas ellas excelente selectividad y eficacia dependiendo del cultivo. Arylex aplicado en post-emergencia controla *Galium aparine*, *Fumaria officinalis* y *Papaver rhoeas* en cereal, entre otras malas hierbas.

Palabras clave: arylex, halauxifen-metil, cereales, perennes, colza, herbicida hoja ancha, arilpicolinatos, Dow AgroSciences.

1. INTRODUCCIÓN

La revolución industrial fue el primer periodo histórico durante el que hubo simultáneamente un incremento de la población y un incremento de la renta per cápita (Hudson and Pat, 1992). En Europa, la población pasó de 100 millones en 1700 hasta alcanzar 400 millones en 1900 (Slater, 1998). Este hecho llevaba asociado una mejora en la producción agrícola para poder abastecer a dicha creciente población. Uno de las mejoras introducidas fue el uso de fitosanitarios para el control de plagas, enfermedades y malas hierbas.

El uso generalizado de productos fitosanitarios desde 1950 ha contribuido a un manejo más eficiente, cómodo y rápido de los organismos que afectan a los cultivos. A su vez, ha generado la aparición de resistencia a los mismos. Este fenómeno es más notable en el uso de herbicidas donde se contabilizan a día de hoy 1014 casos en todo el mundo (Heap, 2017).

En Europa se han detectado 333 de estos, dentro de los cuales 122 son casos de resistencia a herbicidas pertenecientes al grupo C1 (clasificación HRAC), 104 a herbicidas del grupo B, 40 a herbicidas del grupo A y solo 7 a herbicidas del grupo O (Heap, 2017).

A pesar de los casos de resistencia detectados, los herbicidas continúan siendo un factor fundamental dentro de los programas tanto de manejo de malas hierbas como de manejo de resistencias a herbicidas. La base de cualquier programa de manejo debe ser el uso de un sistema sostenible que integre métodos de control físicos, biológicos y químicos (varios autores, FAO 2012).

El número de materias activas aprobadas se ha reducido drásticamente desde el año 1991 (950 sustancias registradas) hasta la actualidad (unas 300, de las cuales 120 son candidatas a la sustitución) debido al impacto de la regulación europea sobre materias activas disponibles (Reglamento 3600/92; Reglamento 451/2000; Reglamento 1112/2002; Decisión 2003/565/CE; Reglamento 33/2008).

A pesar de las complejidades e incertidumbres para la aprobación de nuevas sustancias activas, Dow AgroSciences continua creando soluciones para un mundo creciente, invirtiendo en activos con bajo riesgo de desarrollo de resistencias, como lo son todos aquellos pertenecientes a los grupos de herbicidas, según HRAC, O, C3, G y H (Beckie H.J., 2007).

Fruto de su reciente investigación, nace Arylex™ un nuevo activo para el control en post-emergencia de malas hierbas de hoja ancha. Este activo se caracteriza por adoptar bajas dosis de uso, ser muy selectivo para los cultivos, mostrar una eficacia elevada independientemente de las condiciones climáticas y mostrar unos perfiles eco y toxicológicos muy favorables.

Arylex™ (halauxifen-metil) fue aprobado en mayo de 2015 bajo el Reglamento (EC) N° 1107/2009 relativo al uso y comercialización de productos fitosanitarios, después de su revisión por Reino Unido, como Estado Miembro Ponente y por EFSA (European Food Safety Authority). De acuerdo a la actualización del Reglamento de la Comisión (EU) N° 2015/1165, Arylex™ está autorizado en Europa desde el 5 de Agosto de 2015. Se espera el primer registro en España durante 2017.

Esta sustancia activa se ha formulado en mezcla con otros activos incluyendo florasulam, aminopyralid, fluroxypyr y picloram para su comercialización en diferentes cultivos como cereales, olivos, cítricos y colza.

1.1. Descripción química de Arylex™

Nombre común: (ISO halauxifen-methyl
aprobación provisional):

Nombre químico (IUPAC): methyl 4-amino-3-chloro-6-(4-chloro-2-fluoro-3-methoxyphenyl)
pyridine-2-carboxylate

N° registro CAS: 943831-98-9

Familia química: arilpicolinato

Formula empírica: C₁₄H₁₃Cl₂FN₂O₃

Masa molecular: 347.17 g/mol

Densidad relativa: 1.5057 g cm⁻³ at 20°C

Punto de fusión: 145.5°C

Presión de vapor: 5.9 x 10⁻⁹ Pa at 20°C

1.2. Modo de acción. Arylex™ es miembro de una nueva familia, los arilpicolinatos, dentro del grupo O (auxinas sintéticas), según HRAC, y difiere de otros miembros de la familia de los piridin-carboxílicos (por ej. aminopiraldida, clopiraldida...) porque presenta una sustitución 6-phenil en el anillo piridinico. El lugar de anclaje de los arilpicolinatos también difiere de los oxi-acetatos (ej. 2,4-D fluroxipir...).

Se mueve sistémicamente dentro de la mala hierba anclándose en los lugares comunes de recepción de las plantas. A diferencia de otras auxinas sintéticas como 2,4-D y MCPA, que tienen mayor afinidad con el receptor TIR1, los arilpicolinatos ensamblan principalmente con el receptor AFB5. Esto causa una disrupción del crecimiento de la planta y su ruta metabólica, lo que causa una división celular y crecimiento desigual, matando definitivamente la planta. Cuando se aplica en post-emergencia, Arylex™ es eficaz a baja dosis para el control de varias malas hierbas incluidas aquellas resistentes a los inhibidores de la enzima acetolactato sintetasa (ALS) como *Stellaria* spp. y *Papaver rhoeas*.

1.3. Modo de penetración. Arylex™ es absorbido principalmente por las hojas y ligeramente por las raíces. La forma activa es el halauxifen ácido obtenido por desesterificación dentro de las malas hierbas traslocándose a través del floema y xilema hasta los puntos de crecimiento de estas.

1.4. Características de los arilpicolinatos. Los arilpicolinatos presentan varios puntos de similitud con el resto de auxinas sintéticas. Pero también varias características diferenciadoras (Tabla 1).

Tabla 1. Puntos de similitud y diferenciación entre las auxinas sintéticas y los arilpicolinatos

Similitud	Diferenciación
Mismo modo y lugar de acción	Punto de anclaje único
Misma vía de absorción y translocación	Alta afinidad de anclaje en el receptor AFB5
	Baja afinidad de anclaje en el receptor TIR1
Progresión sintomatológica	Bajas dosis de uso
Versatilidad en sistemas de cultivo	Rendimiento consistente independientemente de las condiciones climáticas
Control efectivo en dicotiledóneas clave	Rápida degradación y baja volatilidad
Control completo de hierbas difíciles en semanas	Compatibilidad con otras moléculas

El objetivo de este trabajo es mostrar la eficacia de las formulaciones de Arylex™ en el Sur de Europa sobre poblaciones de malas hierbas susceptibles y resistentes en cereal.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se han realizado más de 300 ensayos en toda Europa con formulaciones a base de Arylex™ en diferentes cultivos desde 2011 hasta 2016, principalmente en cereales. En el presente documento se resumen los datos de eficacia obtenidos en 37 de ellos.

2.1. Formulaciones testadas. Varias formulaciones han sido desarrolladas y posteriormente testadas sobre poblaciones de malas hierbas, algunas resistentes a herbicidas, principalmente a herbicidas del grupo B. Estas formulaciones están básicamente compuestas por activos del grupo O (HRAC).

Tabla 2. Formulaciones testadas en España sobre poblaciones de malas hierbas resistentes

Nº formulación	Composición (gae/L)	Modo de acción	Grupo HRAC
GF-2644	Arylex + florasulam	Auxina sintética + inhibidor ALS	O + B
GF-2818	Arylex + aminopiraldida	Auxina sintéticas	O + O

2.2. Malas hierbas evaluadas. Se realizaron 37 ensayos de eficacia en cereal con las formulaciones GF-2818 y GF-2644 sobre *Fumaria officinalis* (FUMOF), *Galium aparine* (GALAP) y *Papaver rhoeas* (PAPRH) en la zona mediterránea europea. De los 37 ensayos 14 se realizaron en España (5 en FUMOF, 1 en GALAP, 1 en PAPRH y 7 en PAPRH resistente), 14 en Italia (4 en FUMOF, 3 en GALAP, 6 PAPRH y 1 en PAPRH resistente), 6 en Francia (3 en PAPRH y 3 en PAPRH resistente), 1 en Grecia (FUMOF) y 2 en Bulgaria (PAPRH).

2.3. Diseño experimental. Todos los ensayos de eficacia en cereal fueron realizados en campo y diseñados como bloques al azar con 4 repeticiones y un tamaño mínimo de parcela experimental de 14 m² en cereal. Los testigos fueron semipareados, pudiendo comparar siempre una parcela tratada con una sin tratar. Además, se llevaron a cabo siguiendo los estándares de Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y las guías EPPO (European Plant Protection Organization) correspondientes (PP1_135, PP1_152, PP1_181, PP1_213, PP1_214 y las específicas PP1_049, PP1_090 y PP1_093). El tamaño de las malas hierbas en el momento de aplicación y las fechas de aplicación están recogidos en la tabla 3.

Tabla 3. Detalles de los ensayos

Cultivo	Hierba estudiada	Fecha aplicación	Evaluación (días tras aplicación)	Tamaño de la mala hierba
Cereal	FUMOF	De 31 de enero a 7 de mayo	56-57	BBCH 12-60
	GALAP		57-91	BBCH 15-37
	PAPRH susceptible		56-83	BBCH 13-39
	PAPRH resistente a ALS		51-91	BBCH 13-39

Todas las aplicaciones se hicieron en post-emergencia del cereal con un volumen de caldo entre 170 y 300 L/ha.

Se evaluaron los síntomas visuales de daño en el cultivo. Los parámetros de valoración fueron clorosis visual (%), inhibición del crecimiento (%) y reducción del vigor (%). Las valoraciones se hicieron a los 7, 13, 28 y 56 días después de la aplicación. Del mismo modo, se evaluó la eficacia herbicida de los diferentes formulados en % de control visual relativo a las parcelas testigo. El control se evaluó en una escala lineal donde 0% representa sin control y 100% representa muerte de la planta.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los 37 ensayos realizados en cereal de invierno, tanto GF-2644 como GF-2818 mostraron muy buena eficacia sobre FUMOF, GALAP y PAPRH (Tabla 4).

El rendimiento de GF-2818 en poblaciones de PAPRH resistente a sulfonilureas y a ácidos fenoxi-carboxílicos fue muy elevado con un 96.02% de eficacia.

En estas misma poblaciones resistentes, un herbicida ALS obtuvo 12,1% de control mientras que la combinación de una auxina sintética + nitrilo solo alcanzaron un 53.4% de control.

Tabla 4. Eficacia (en %) de GF-2818 y GF-2644 sobre malas hierbas de cereal

Hierba estudiada	Densidad (pl/m ²)	Nº de ensayos	GF-2818	GF-2644	Producto ALS	Auxina sintética + nitrilo
FUMOF	30.7 (8-138)	7	99.19%	98.2%	35.01%	82,90%
GALAP	32.5 (8-78)	4	99.50%	99.1%	98.20%	84.10%
PAPRH susceptible	91.4 (8-344)	16	98.68%	97.4%	93.28%	84.09% (8)
PAPRH resistente a ALS + auxinas sintéticas	313,7 (38-1320)	10	96.02%	87.5%	12.1%	53.40%

Así pues GF-2818 se posiciona como una nueva herramienta necesaria para el manejo integrado de poblaciones de *Papaver rhoeas* resistentes a sulfonilureas y a ácidos fenoxi-carboxílicos.

GF-2818 mostró una gran robustez cuando se analizaron las eficacias sobre FUMOF y PAPRH en función de la época de aplicación (Fig. 1). El valor medio de eficacia observado siempre fue superior a 97% (Fig. 1).

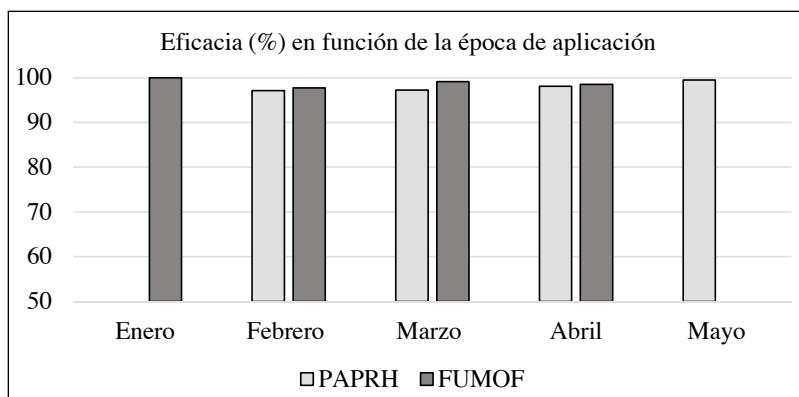


Figura 1. Eficacia (%) de GF-2818 sobre PAPRH (todos los biotipos) y FUMOF en función de la época de aplicación.

No se observó ningún daño en los cereales estudiados, solamente una ligera y transitoria clorosis a los 7-14 días después de la aplicación. Con lo que los productos a base de Arylex™ han sido muy selectivos en cereal.

Se podrían profundizar más en los resultados: por ejemplo, por qué bajan ligeramente las eficacias en las poblaciones resistentes de amapola? Destaca el GF-2644.

Los resultados de eficacia observados sobre las diferentes malas hierbas más comunes en cereal muestran una elevada eficacia de los compuestos formulados con Arylex™, incluso en poblaciones de hierbas que han mostrado una clara resistencia a sulfonilureas. Por lo tanto, Arylex™ se posiciona como una nueva herramienta clave para el manejo integrado de poblaciones de malas hierbas.

4. AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer la inestimable ayuda que todos los técnicos de las ADV's y de la red de distribución de fitosanitarios nos brindan. Y, por supuesto, a los agricultores por su generosidad y paciencia.

5. REFERENCIAS

- Beckie, H.J. (2007). Beneficial management practices to combat herbicide-resistant grass weeds in the northern great plains. *Weed Technology*, 21(2), 290-299. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/4495852>.
- European Commission (1992). Commission Regulation (EEC) No 3600/92 of 11 December 1992 laying down the detailed rules for the implementation of the first stage of the programme of work referred to in Article 8 (2) of Council Directive 91/414/EEC concerning the placing of plant protection products on the market. *European Commission, Official Journal L* 366, 15/12/1992 P. 0010 - 0016.
- European Commission (2002). Commission Regulation (EC) No 451/2000 of 28 February 2000 laying down the detailed rules for the implementation of the second and third stages of the work programme referred to in Article 8(2) of Council Directive 91/414/EEC. *Commission Regulation (EC) N° 1490/2002 of 14 August 2002. Official Journal n° L224*, page 23.
- European Commission (2002). Commission Regulation (EC) No 1112/2002 of 20 June 2002 laying down the detailed rules for the implementation of the fourth stage of the programme of work referred to in Article 8(2) of Council Directive 91/414/EEC. *Commission Regulation, Official Journal L* 168, 27/06/2002 P. 0014 – 0030.
- European Commission (2003). Décision de la Commission du 25 juillet 2003 prolongeant la période visée à l'article 8, paragraphe 2, de la directive 91/414/CEE du Conseil. *Commission Regulation, Official Journal L* 194, 31/07/2003 P. 0040 – 0043.
- European Commission (2008). Commission Regulation (EC) No 33/2008 of 17 January 2008 laying down detailed rules for the application of Council Directive 91/414/EEC as regards a regular and an accelerated procedure for the assessment of active substances which were part of the programme of work referred to in Article 8(2) of that Directive but have not been included into its Annex I (Text with EEA relevance). *Commission Regulation, Official Journal L* 15, 18/01/2008 P. 005 – 0012.
- FAO, several authors (2012). Guidelines on Prevention and Management of Pesticide Resistance. E-ISBN 978-92-5-107348-3.
- Heap, I (2017). The International survey of herbicide resistant weeds. Online. Internet. Tuesday, May 2.
- Hudson, Pat (1992). *The Industrial Revolution*. New York: Routledge, Chapman and Hall, Inc. p. 3.
- Slater S. (1998). *Encyclopædia Britannica*.
- Stephenson, G.A. & Solomon, K.R. (1993). *Pesticides and the Environment*. Department of Environmental Biology, University of Guelph, Guelph, Ontario, Canada.

Arylex™ active (halauxifen-methyl) is a new active ingredient™, discovered by Dow AgroSciences, that belongs™ to a new chemical family, the Arylpicolinates, from the synthetic auxins (group O, HRAC)

Abstract: Arylpicolinates interrupt plant growth regulation by binding with the specific auxin receptors that regulate plant growth, AFB5 in this case, in contrast with other synthetic auxins. Arylex is formulated in premix with florasulam, fluroxypyr or aminopyralid, all of which show high selectivity and efficacy, depending on the crop. With post-emergence applications, Arylex provides control of *Galium aparine*, *Fumaria officinalis* and *Papaver rhoeas* in cereals.

Keywords: arylex, halauxifen-methyl, cereals, perennials, rapeseed, broad leaf herbicide, arilpocolinatos, Dow AgroSciences.

¿Cómo integrar el manejo de biotipos resistentes en los DSS? El caso de la versión española del CPOWeeds

José María Montull¹✉, Per Rydahl³, Ole M. Boejer³, Andreu Taberner^{1,2}

¹Grupo de Investigación en Malherbología y Ecología Vegetal. UdL.Agrotecnio Av. Rovira Roure 191

²Servicio de Sanidad Vegetal. Generalitat de Catalunya. Av. Rovira Roure 191. 25198 Lleida. Spain

³IPMConsult. Denmark

✉ josemontull@hbj.udl.cat

Resumen: El CPOWeeds danés es un DSS diseñado para optimizar el uso de herbicidas utilizado desde 1991. En 2009 se empezó a diseñar una versión adaptada a la agricultura española pensando en que podría ser una buena herramienta para la prevención y el manejo de biotipos resistentes. El primer objetivo fue el definir unos niveles de eficacia requerida adecuados. El segundo objetivo fue el cómo se integraban los biotipos resistentes. Para esto, se decidió definir los biotipos resistentes como especies diferentes. Así, el DSS tiene en cuenta qué herbicidas se ven afectados por cada mecanismo de resistencia y hace la recomendación en consecuencia. Por último, al DSS se le puede indicar que no recomiende la mezcla de herbicidas concretos. Con todo esto, lo que se pretende es facilitar el trabajo a los asesores y agricultores.

Palabras clave: DSS, manejo, resistencia.

1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas de ayuda a la decisión (Decision Support Systems, DSS) juegan un rol muy importante en la adecuada selección de productos fitosanitarios y dosis. Estos sistemas pueden especificar tanto herbicidas concretos como las dosis a aplicar para una infestación de malas hierbas en concreto y así conseguir la eficacia deseada (Rydahl et al., 2008).

El CPOWeeds danés es un DSS diseñado para optimizar el uso de herbicidas utilizado desde 1991. En 2009 se empezó a diseñar una versión adaptada a la agricultura española pensando en que podría ser una buena herramienta para la prevención y el manejo de biotipos resistentes. Por esto, se plantearon varios aspectos que se consideraban importantes de cara a conseguir este objetivo.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Aspectos importantes para la puesta a punto del DSS. El primero fue el definir unos niveles de eficacia requerida adecuados, teniendo en cuenta que un 100% de control no es realístico porque siempre sobreviven algunas plantas, incluso a la dosis máxima autorizada. Además, no hay que olvidar el efecto de la competencia del cultivo aunque las plantas no estén completamente muertas (Boutin et al., 2000; Terra et al., 2007). Así se pretende evitar el desarrollo de resistencias NTSR por la utilización de dosis excesivamente bajas (Busi et al., 2012; Renton et al., 2014), así como evitar una sobredosificación de herbicidas en especies que se consideran de poco riesgo o son poco competitivas. En esta misma línea, si se realizan tratamientos tardíos, en los cuales un solo herbicida puede ser insuficiente, el programa recomienda la mezcla de otro para conseguir la eficacia objetivo.

La eficacia requerida se ha definido en base a conocimiento experto y a datos de competencia obtenidos en bibliografía. En especies para las que no se tienen datos, se han considerado niveles de eficacia requerida iguales a los de especies que pueden considerarse similares.

Tabla 1. Eficacia requerida (%) para cada densidad de infestación de malas hierbas (Plantas/m²). Se distingue entre biotipos sensibles y resistentes para algunas especies

Especie	Eficacia requerida (%) para cada densidad (plantas/m ²)					
	½-1	2-10	11-40	41-150	150-300	300-600
<i>Alopecurus myosuroides</i>	0	85	90	93	94	96
<i>Anthemis arvensis</i>	0	70	83	89	92	94
<i>Avena sterilis</i>	0	85	90	93	94	96
<i>Bromus spp.</i>	0	85	90	93	94	96
<i>Galium aparine</i>	85	89	91	93	94	96
<i>Lactuca serriola</i>	70	79	84	89	92	95
<i>Lolium rigidum</i>	0	85	90	93	94	96
<i>Lolium rigidum</i> Met-resistant	85	89	91	93	94	96
<i>Papaver rhoeas</i>	0	85	90	93	94	96
<i>Sinapis arvensis</i>	65	75	82	88	91	94
<i>Veronica hederifolia</i>	0	0	0	86	90	94
<i>Viola arvensis</i>	0	0	0	86	90	94

Para especies muy competitivas y con una gran riesgo de desarrollo de resistencias como *Lolium rigidum* se requieren eficacias muy altas, sobre todo, en infestaciones medias o altas. Especies secundarias o sin riesgo de desarrollo de resistencias requieren menos eficacias, sobre todo, a densidades bajas. Hay que tener en cuenta que la asíntota superior de la curva dosis-respuesta implica que incrementos pequeños de eficacia a partir de ciertos niveles implican un aumento de dosis considerable (Seefeldt et al., 1995).

Además, se tiene en cuenta que existen en nuestras condiciones biotipos de *L. rigidum* resistente a herbicidas por CYP450 (Yu and Powles 2014). En ese caso, la eficacia requerida incluso a infestaciones bajas es mayor que la correspondiente a biotipos sensibles. Así, se pretende que estos biotipos puedan ser tratados a dosis subletales, incluso a densidades bajas.

2.2. Definición de biotipos resistentes. El segundo aspecto fue el cómo se integraban los biotipos resistentes de las diferentes especies. Para esto, se decidió definir los biotipos resistentes como especies diferentes, por ejemplo: *Lolium rigidum* A-r, que indica que se trata de un biotipo de *Lolium* resistente a herbicidas del grupo A (HRAC, 2017).

Así, el DSS tiene en cuenta que herbicidas se ven afectados por cada mecanismo de resistencia, hace la recomendación en consecuencia y se simplifica la base estadística del cálculo de eficacias herbicidas.

Por último, al DSS se le puede indicar que no recomiende la mezcla de herbicidas concretos. Con esto, se pretende que no recomiende herbicidas antagonicos o con el mismo mecanismo de degradación.

Tabla 2. Casos de resistencia incluidos por especie y herbicidas a los que se considera que afectan

Especie	Mecanismo de resistencia	Se considera completamente resistente a:
<i>Avena sterilis</i>		
<i>Avena sterilis</i> A-r	Target Site	Fop's, Dim's y Pinoxaden
<i>Lolium rigidum</i>		
<i>Lolium rigidum</i> A-r	Target Site	Fop's, Dim's y Pinoxaden
<i>Lolium rigidum</i> B-r	Target Site	Sulfonilureas, triazolopirimidinase imidazolinonas
<i>Lolium rigidum</i> Metabolic-r	NTSR	Clortoluron. Se considera que disminuye la eficacia de los herbicidas de los grupos A y B
<i>Papaver rhoeas</i>		
<i>Papaver rhoeas</i> B-r	TSR	Sulfonilureas, triazolopirimidinase imidazolinonas
<i>Papaver rhoeas</i> O-r	NTSR	Herbicidas hormonales
<i>Papaverrhoeas</i> O+B-r	TSR y NTSR	Sulfonilureas, triazolopirimidinas, imidazolinonas y herbicidas hormonales

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Importancia de tener eficacias adecuadas. La base teórica no tiene sentido si las eficacias obtenidas en campo no son acordes con las predicciones de eficacia dadas por el programa. Es básico el tener la mínima diferencia posible entre valores observados y predichos, pero siempre desde el lado de la robustez. Así, se evita tanto subdosificar como sobre dosificar herbicidas.

Durante cuatro años (Campañas agrícolas desde 2010 a 2013) se comprobaron en campo las eficacias obtenidas con el DSS tanto en trigo como en cebada. Tal y como puede verse en la figura 1, el 84,2% las eficacias fueron iguales o superiores a las previstas, con una diferencia promedio de un 2,35% (Montull et al., 2014).

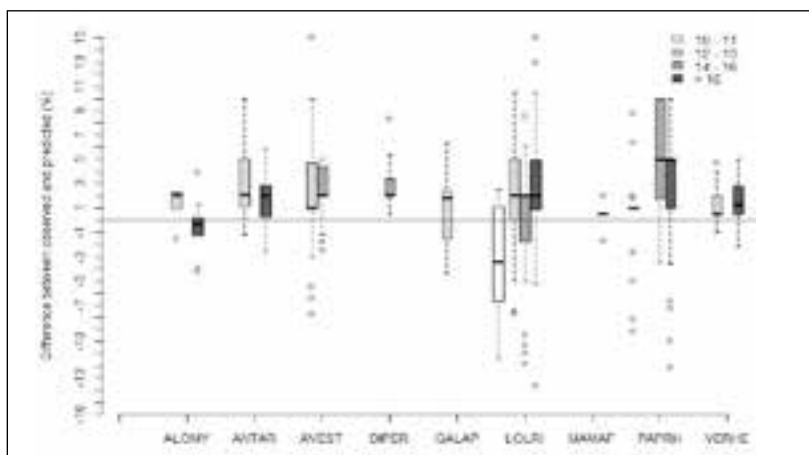


Figura 1. Diferencias entre valores observados y predichos por el DSS en ensayos en campo.

Los resultados obtenidos son muy ajustados, sobre todo, en aplicaciones entre 12 y 16 BBCH de las malas hierbas cuando ya se ha podido evaluar la infestación presente.

3.2. Interface del DSS-IWM. En la última versión desarrollada dentro del proyecto DSS-IWMse ha planteado que sea más intuitiva y ligera de forma que funcione adecuadamente tanto con ordenadores como con smartphones y tablets.

Así, el agricultor o el técnico pueden consultar el programa directamente desde la parcela. Tal y como puede verse en la figura 2, se selecciona la especie y se indica si el biotipo presenta algún mecanismo de resistencia. Además, si se selecciona la opción *Show options for prevention of resistance*, el DSS permite eliminar las recomendaciones con herbicidas de los modos de acción deseados.



Figura 2. Interface del DSS-IWM en el que se muestra la selección de *Lolium rigidum* resistente a herbicidas del grupo A y de *Papaver rhoeas* resistente a herbicidas del grupo O.

3.3. Ejemplo de sugerencias. En la figura 3 se muestra la salida del programa en base a la infestación presente en la figura 2 para el cultivo de trigo de invierno. Se observa como no hay ninguna sugerencia de tratamiento con herbicidas pertenecientes a alguno de los dos grupos.

Además, se muestra el modo de acción (MOA) de los herbicidas recomendados de manera que, el agricultor o el técnico puedan plantear una rotación entre MOA's durante los diferentes años. De lo que se trata es de tener un buen abanico de elección para así poder prevenir de forma adecuada el desarrollo de biotipos resistentes.

3.4. Ejemplo de dosis requeridas para cada especie e infestación. En la figura 4 se muestran las eficacias predichas para diferentes dosis del herbicida Axial Pro, que contiene un 10% de pinoxaden. Se observa que, en caso de biotipos resistentes a herbicidas del grupo A, la eficacia predicha es cercana al 0% a la dosis máxima autorizada. Por esto, la dosis del herbicida requerida para tener un control aceptable sería altísima y aparece destacada en rojo para indicar que no está autorizada.

Consultas

2017 - Pw (Consultas)

Ubicación: Mendoza (Mendoza)
 Fecha de consulta: 2017
 Tipo de consulta: 3-4 Hojas de prolije
 Estado climático: Templado
 Temperatura: 8 °C - 14 °C
 Humedad: Cálido (Pw)
 Fecha de inicio: 24/05/2017 - 25/05/2017
 Fecha de fin: 24/05/2017 - 25/05/2017

Sugerencias	Peso (g/l)	MSA
1) Axial Pro (100 g) - Metolax 325 (12.4 ml) - Bopower (0.1)	85.1	87.3
2) Axial Pro (100.7 g) - Genclor 50 (3.7 g) - Sulfolax 60 (0.1)	113.8	87.3
3) Axial Pro (100.7 g) - Raxpy (2.8 g) - Bopower (0.1)	114.8	87.3
4) Alabio (215.2 g) - Metolax 325 (25 ml) - Bopower (0.1)	233.1	87.3
5) Alabio (215.2 g) - Genclor 50 (3.8 g) - Sulfolax 60 (0.1)	181.1	87.3
6) Alabio (215.2 g) - Raxpy (2.8 g) - Bopower (0.1)	182.2	87.3
7) Axial Pro (106.1 g) - Raxpy 7 (1.4 g) - Bopower (0.1)	103.5	87.3
8) Axial Pro (106.7 g) - Regra (0.1 ml) - Bopower (0.1)	40.5	87.3
9) Alabio (215.2 g) - Raxpy 7 (0.2 g) - Bopower (0.1)	41.2	87.3
10) Alabio (215.7 g) - Regra (0.1 ml) - Bopower (0.1)	42.8	87.3
11) Etoxa (1.0 g) - Metolax 325 (20 ml)	61.4	13.1

Figura 3. Sugerencias de herbicidas dadas por el DSS-IWM para la infestación de malas hierbas mostradas en el gráfico 2.

País

2017 - Pw (Consultas)

Ubicación: Mendoza (Mendoza)
 Fecha de consulta: 2017
 Tipo de consulta: 3-4 Hojas de prolije
 Estado climático: Templado
 Temperatura: 8 °C - 14 °C

Especie	Eficacia para las 5 dosis					Dosis necesaria para cada densidad (pl/m ²)					
	18	14	12	11	10	< 1	< 10	< 50	< 100	< 200	< 500
<i>Argemone mexicana</i>	22	71	85	90	95	0	0.761	0.914	0.991	0.994	0.997
<i>Ambrosia artemisiifolia</i> L.	0	0	0	0	1	0	23.249	39.025	47.589	59.22	69.262
<i>Avena alba</i>	95	91	91	97	99	0	0.291	0.282	0.476	0.529	0.672
<i>Avena alba</i> , A-1	0	0	1	9	20	0.742	11.939	13.098	15.911	17.494	22.363
<i>Stomoxys calcitrans</i>	0	0	0	0	1	0	38.739	50.059	63.269	69.362	89.911
<i>Gallium aparine</i> L.	0	0	0	0	1	0	38.739	47.319	54.983	63.269	69.962
<i>Lolium rigidum</i>	42	79	88	90	99	0	0.405	0.532	0.686	0.732	0.805
<i>Lolium rigidum</i> , A-1	0	0	1	9	26	0.742	11.939	13.098	15.911	17.494	22.363
<i>Lolium rigidum</i> , B-1	38	87	87	91	99	0.641	0.547	0.416	0.721	0.793	1.313
<i>Lolium rigidum</i> , B-2	0	0	1	9	26	0.742	11.939	13.098	15.911	17.494	22.363
<i>Phragmites australis</i> L.	0	0	0	0	1	0	38.739	50.059	63.269	69.362	89.911
<i>Pharus brachystachys</i>	18	67	87	85	99	0	0.441	0.576	0.721	0.763	1.013
<i>Pharus minor</i>	18	61	83	87	99	0	0.263	0.352	0.476	0.526	0.672

Figura 4. Eficacia para 5 dosis de Axial pro (Pinoxaden 10%) y dosis requeridas para 6 densidades diferentes de malas hierbas.

Con todo esto, lo que se pretende, es facilitar el trabajo a los asesores y agricultores, mejorando su capacidad de toma de decisiones y de manejo de biotipos resistentes a herbicidas. También se pretende que éstas sean más sostenibles desde el punto de vista tanto de la sostenibilidad económica, ambiental y de prevención del desarrollo de resistencias.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha desarrollado dentro de un proyecto ERA-NET. También se agradece la colaboración de FMC España en el desarrollo en campo del DSS.

5. REFERENCIAS

- Boutin C, Lee H, Peart T, Batchelor S. and Maguire J. (2000). Effects of the sulfonylurea herbicide metsulfuron-methyl on growth and reproduction of five wetland and terrestrial plant species. *Environmental Toxicology Chemistry* (19), 2532-2541.
- Busi R, Gaines TA, Walsh MJ and Powles SB (2012). Understanding the potential for resistance evolution to the new herbicide pyroxasulfone: field selection at high doses versus recurrent selection at low doses. *Weed Research*, 52, 489-499.
- HRAC (2017). Global classification lookup. Retrieved from <http://hracglobal.com/tools/classification-lookup>.
- Montull JM, Soenderskov M, Rydahl P, Boejer OM and Taberner A (2014). Four years validation of decision support optimising herbicide dose in cereals under Spanish conditions. *Crop Protection*, 64, 110-114.
- Renton M, Busi R, Neve P, Thornby D and Vila-Aiub M (2014). Herbicide resistance modelling: past, present and future. *Pest Management Science*, 70(9), 1394-404.
- Rydahl P, Berti A and Munier-Jolain N (2008). Decision support systems (DSS) for weed control in Europe – state-of-the-art and identification of «best parts» for unification on a European level. In *Endure International Conference* (pp. 12-15).
- Seefeldt SS, Jensen JE and Fuerst P (1995). Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technology*, 9(2), 218-227.
- Terra B, Martin A and Lingsuist J (2007). Corn-velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) interference is affected by sublethal doses of postemergence herbicides. *Weed Science* (55), 491-496.
- Yu Q and Powles S (2014). Metabolism-based herbicide resistance and cross-resistance in crop weeds: a threat to herbicide sustainability and global crop production. *Plant Physiology*, 166(3), 1106-18.

How to integrate the management of resistant weed biotypes in a DSS. The case of the Spanish version of CPOWeeds

Summary: CPOWeeds is a Danish Decision Support System (DSS) designed to optimize herbicide use since 1991. A version adapted to Spanish conditions was initiated in 2009 in order to have a good tool for management of herbicide resistance. The first objective was to define a proper required efficacy levels. The second one was how to integrate resistant weed biotypes. To achieve this goal, resistant weed biotypes were considered as different species. Thus, the DSS knows which herbicides are affected by each mechanism of resistance. Finally, the DSS can avoid recommend mixes between concrete herbicides. It is intended to have easy to understand recommendations for farmers and advisors.

Keywords: DSS, management, resistance.

Distribución de poblaciones resistentes de *Echinochloa* spp. a herbicidas inhibidores de la ALS y ACCasa en Extremadura

Yolanda Romano¹, Fátima Mendoza¹, José Antonio Palmerín², José María Quiles³,
Ignacio Amaro¹, María Dolores Osuna¹✉

¹Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), Guadajira (Badajoz)

²Servicio de Sanidad Vegetal (Junta de Extremadura), Don Benito (Badajoz)

³Servicio de Producción Agraria (Junta de Extremadura), Don Benito (Badajoz)

✉ mariadolores.osuna@juntaex.es

Resumen: Existen bastantes casos de resistencia en *Echinochloa* spp. descritos a nivel mundial en arroz. En los últimos 2 años se han realizado muestreos periódicos en campos de arroz en Extremadura, en lugares donde se sospecha resistencia. Con estas semillas se han realizado tanto ensayos en invernadero para confirmación de las resistencias, como estudios de mecanismos de resistencia a nivel de sitio de acción (secuenciación de genes ALS y ACCasa). Hasta ahora, de las muestras analizadas, se han encontrado 37 poblaciones con resistencia confirmada (con mutaciones en el sitio de acción) a nivel de ALS y 2 con resistencia a nivel de ACCasa. También se han encontrado poblaciones donde ambas mutaciones (gen ALS y ACCasa) están presentes. Estas poblaciones están distribuidas en distintas zonas arroceras de la región extremeña. El estudio del mecanismo responsable de la resistencia es básico para el diseño de un programa de control integrado.

Palabras clave: *Echinochloa*, arroz, resistencia, mutación, gen ALS, gen ACCasa, sitio de acción.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Echinochloa* incluye las especies más problemáticas de arroz a nivel mundial (Holm et al., 1977). En la actualidad no existe un acuerdo completo sobre las especies que constituyen este género. Puede incluir entre veinte y cincuenta especies que están ampliamente distribuidas en las regiones tropicales y templadas del mundo. Se ha observado que entre las distintas especies del género *Echinochloa* existe un alto grado de autogamia, pero el grado de cruzamiento es suficiente para que exista intercambio de genes entre poblaciones (Maun and Barrett, 1986). En la actualidad, la mayoría de los herbicidas autorizados en arroz pertenecen a dos grupos de herbicidas: inhibidores de la acetil-CoA carboxilasa (ACCasa) e inhibidores de la acetolactato sintasa (ALS). El uso repetido y continuado de herbicidas con el mismo modo de acción, conlleva la aparición de resistencias. Hoy en día, en el cultivo del arroz han sido descritas a nivel mundial cincuenta especies de malas hierbas resistentes, siendo el tercer cultivo (después del trigo y el maíz) con más casos de resistencia descritos. Dentro de estas resistencias, la mayoría de casos descritos (56) pertenecen al género *Echinochloa* (Heap, 2017). En la mayoría de los casos, cuando está descrito, el mecanismo/s responsable de esta resistencia es una mutación en el sitio de acción del herbicida (gen ALS y/o ACCasa).

El objetivo de este trabajo fue la identificación de resistencias a herbicidas inhibidores de la ALS y/o ACCasa, debido a mutaciones en el sitio de acción en poblaciones de *Echinochloa* spp. recogidas en campos de arroz de Extremadura, donde se ha sospechado falta de eficacia por dichos herbicidas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Germinación de las semillas. Para poder extraer el ADN las semillas de *Echinochloa* spp recolectadas en los campos de arroz de Extremadura, se hicieron germinar en placas de Petri con papel de filtro humedecido con agua destilada (8-10 ml) y selladas con parafilm. Se colocaron en una cámara de germinación con una temperatura día-noche de 25°C y un fotoperiodo de 16 horas (350 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y un 80% de humedad relativa. Una vez germinadas, se procedía a la extracción del ADN. En ocasiones, la semilla no germinó con lo que la extracción se hizo de la propia semilla hidratada.

2.2. Extracción del ADN y amplificación por PCR de dominios de genes ALS y ACCasa. Para la extracción del ADN se utilizó el kit de extracción de ADN para plantas de BIOTOOLS siguiendo el protocolo del fabricante. Una vez extraído, se cuantificó utilizando el NANODROP 1000 (Thermo Scientific) para asegurarnos que estaba en las condiciones adecuadas de concentración y pureza. A continuación, se hicieron diluciones a 10 $\text{ng}/\mu\text{l}$, que es la concentración utilizada en las posteriores PCR.

Los cebadores utilizados para amplificar ambos genes están en Osuna et al. (comunicación personal). Para el estudio molecular de la ACCasa se utilizaron dos parejas de cebadores: la CRUSS-F/CRUSS-R que amplifica la región que contiene el sitio Ile1781 dando un fragmento de 474bp; la segunda pareja se denominó AC6F/AC6R que amplifica el resto de las regiones donde se han descrito mutaciones que dan lugar a resistencias (trp1999, trp2027, Ile2041, asp2078, lys2080, ser2088 y gly2096) dando un fragmento de 496bp. Para el estudio de la ALS también se utilizaron dos parejas de cebadores: una de ellas fue la BE1/BE2, que amplifica la región conteniendo los dominios BE (trp574 y ser653) de la ALS, dando un tamaño de banda de 594bp; la segunda pareja que amplifica la región conteniendo los dominios CAD (ala122, pro197 y ala205) de la ALS fue UP02/DOWN02 dando un fragmento de 634bp. La mezcla de los reactivos utilizada para llevar a cabo la reacción de PCR fue: 10pmol/ μl de cada primer, 2.5mM de la mezcla de dNTP, Buffer 10X, de Taq polimerasa (5U/ μl) y se completó con agua de PCR hasta un volumen final de 20 μl . El ciclo de PCR llevado a cabo para las dos parejas de cebadores CRUSS-F/ CRUSS-R y AC-6F/AC-6R fue el mismo: 95°C 5min (x1); 95°C 30seg, 57°C 30seg, 72°C 1min (x35) y 72°C 5min (x1), manteniéndose a 4°C al final del ciclo. Para la pareja de cebadores BE1/BE2 fue: 95°C 5min (x1); 95°C 30seg, 61°C 30seg, 72°C 1min (x35) y 72°C 5min (x1), manteniéndose a 4°C al final del ciclo. Y para la pareja de cebadores UP02/DOWN02 fue: 95°C 5min (x1); 95°C 45 seg, 60°C 45seg, 72°C 1min (x35) y 72°C 5min (x1), manteniéndose a 4°C al final del ciclo.

Los productos de ADN amplificados mediante la técnica de PCR explicada en el apartado anterior, fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.3% y visualizados mediante el transiluminador Alpha Innotech. El gel de agarosa fue teñido con Gel Red 10000X (Biotium). Las bandas esperadas se cortaron y purificaron utilizando para esto último el Kit de Purificación de ADN de BIOTOOLS.

2.3. Secuenciación de fragmentos. Una vez amplificadas y purificadas las muestras, tal y como se ha descrito en el apartado anterior, fueron secuenciadas mediante el STAB (Servicio de Técnicas Aplicadas a la Biociencia) de la Universidad de Extremadura. Los resultados de las secuenciaciones fueron visualizados utilizando el programa CHROMAS. Posteriormente, dichas

secuencias eran alineadas utilizando para ello el programa CLUSTAL OMEGA. Asimismo, se estudió con sumo cuidado los cromatogramas de las secuencias obtenidas debido a que, en ocasiones, se apreció la existencia de un solapamiento de los picos de las bases en los tripletes de interés, lo cual dotaría de cierto grado de resistencia a la planta.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la actualidad se han tomado un total de 287 poblaciones de *Echinochloa* spp. en campos de Extremadura donde se nos había comunicado, por parte de agricultores, técnicos de ATRIAS o personal de Sanidad Vegetal de la Junta de Extremadura, que había una falta de control con herbicidas. Todas las muestras fueron referenciadas y se conocía el historial de la parcela en los años previos. Todas las muestras fueron sometidas a un screening en invernadero (utilizando la dosis recomendada de campo), un ensayo de dosis-respuesta y un ensayo a nivel molecular para determinar la especie a la que pertenecía (datos no mostrados). En este trabajo se ha estudiado el mecanismo responsable de la resistencia (a nivel de secuencia de ADN) de 87 de estas poblaciones. En la tabla 1 se resumen las mutaciones encontradas tanto a nivel de ALS como de ACCasa que se han encontrado: 37 en el gen de la ALS y 2 en el gen ACCasa. Estas últimas 2 poblaciones poseen mutaciones tanto a nivel de ALS como de ACCasa (en la misma planta).

En la figura 1 se muestra la distribución de dichas muestras en los campos de arroz de Extremadura, mostrando esta distribución que están repartidas por varias zonas arroceras dentro de la región. A través de la georreferenciación de las muestras (datos no mostrados) se ha comprobado que existen casos donde poblaciones con la misma mutación se han encontrado en campos vecinos, con lo cual se sospecha que la semilla de la malas hierba resistente pasó de un campo a otro.



Figura 1. Distribución de muestras de *Echinochloa* confirmadas resistentes en los campos de arroz de Extremadura.

Tabla 1. Mutaciones encontradas en poblaciones de *Echinochloa* spp. encontradas en Extremadura. Se especifica aquellas donde hay solapamiento de picos en los cromatogramas y aquellos casos en los que el cambio nucleótido es del 100% (en cursiva)

	ALS		ACCasa	
	Dominio BE	Dominio CAD	1781	1999-2027-2041-2078-2088-2096
ech20-09	no mutación	pro/ser197 (CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech26-09	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech30-09	no mutación	pro/ser197(CCT/T--)(1/3)	no mutación	no mutación
ech34-09	no mutación	pro/ser197(CCT/T--)(1/3)	no mutación	no mutación
ech35-09	no mutación	pro/ser197 (CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech36-09	no mutación	pro/ser197 (CCT/T-) (1/2)	no mutación	no mutación
ech15-10	no mutación	pro/ser197(CCT/T--)(1/3)	no mutación	no mutación
ech31-10	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(2/3)	no mutación	no mutación
ech70-10	no mutación	pro/ser197(CCT/T--)(1/3)	no mutación	no mutación
ech71-10	no mutación	pro/ser197(CCT/T--)(1/3)	no mutación	no mutación
ech107-10	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(2/3)	no mutación	no mutación
ech112-10	no mutación	pro/ser197(CCT/T--)(1/3)	no mutación	no mutación
ech113-10	no mutación	pro/ser197(CCT/T--)(1/3)	no mutación	no mutación
ech114-10	no mutación	pro/ser 197(CCT/T-)(1/3)	<i>ile/leu1781 (100%)</i>	no mutación
ech115-10	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech116-10	no mutación	pro/ser197 (CCT/T-)(1/3)	<i>ile/leu1781 (100%)</i>	no mutación
ech130-10	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech1-11	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech2-11	no mutación	pro/ser197(CCT/T--)(1/3)	no mutación	no mutación
ech3-11	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech7-11	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech8-11	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech9-11	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech11-11	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(1/3)	no mutación	no mutación
ech7-12	no mutación	pro/thr197(CCC/TCC)(1/3)	no mutación	no mutación
ech10-13	no mutación	<i>pro/ser 197 (CCT/T-)(100%)</i>	no mutación	no mutación
ech2-14	no mutación	pro/ser197(CCT/T-)(3/4)	no mutación	no mutación
ech3-14	no mutación	<i>pro/ser 197 (CCT/T-)(100%)</i>	no mutación	no mutación
ech4-14	no mutación	pro/thr197(CCC/TCC)(1/2)	no mutación	no mutación
ech5-14	no mutación	<i>pro/ser 197 (CCT/T-)(100%)</i>	no mutación	no mutación
ech6-14	no mutación	<i>pro/ser 197 (CCT/T-)(100%)</i>	no mutación	no mutación
ech7-14	no mutación	<i>pro/ser 197 (CCT/T-)(100%)</i>	no mutación	no mutación
ech1-15	no mutación	<i>pro/ser 197 (CCT/T-)(100%)</i>	no mutación	no mutación
ech2-15	no mutación	pro/ser197 (CCT/T-)(2/3)	no mutación	no mutación
ech3-15	no mutación	pro/ser197 (CCT/T-)(2/3)	no mutación	no mutación
ech4-15	no mutación	<i>pro/ser 197 (CCT/T-)(100%)</i>	no mutación	no mutación
ech1-16	no mutación	<i>pro/ser 197 (CCT/T-)(100%)</i>	no mutación	no mutación

Es de destacar que, como podemos observar en la tabla 1, en la mayoría de los casos se ha detectado un solapamiento en los picos; estas muestras se están siguiendo en las siguientes generaciones para detectar la evolución de la mutación presente, así como su respuesta a herbicidas.

El arroz es uno de los cultivos con mayor escasez de materias activas disponibles y, además, la gran mayoría pertenecen a dos grupos según su modo de acción. Esto conlleva un alto riesgo de resistencia, como ya ha sido confirmado en diferentes zonas arroceras a nivel mundial, entre ellas Extremadura. Un control integrado de *Echinochloa* spp. es necesario para evitar la aparición de resistencias. Para ello es necesario un uso adecuado de los herbicidas disponibles, favoreciendo la alternancia entre los diferentes modos de acción e intentar apoyarse, cuando sea posible, en las medidas culturales aplicables en cada región, como podría ser la rotación con otros cultivos en ciertas zonas de Extremadura. Además, con los resultados mostrados en este trabajo, evitar la propagación de semillas entre parcelas (con limpieza de maquinaria) es clave para evitar propagación de resistencias, como se sospecha que ha podido ocurrir en campos de la región de Extremadura.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo está financiado por el proyecto INIA RTA-2014-00033-C03-01, por la ayuda a Grupos de Investigación de la Junta de Extremadura GR15112 y por el proyecto AGROS (CCESAGROS), fondos FEDER.

5. REFERENCIAS

- Heap, I (2017). The international survey of herbicide resistant weeds. Online. Internet. Available www.weedscience.com.
- Holm LG, Pancho JV, Herberger JP, Plucknett DL (1977). The world's worst weeds. Honolulu, HI: University press of Hawaii, p. 1129.
- Maun MA, Barrett SCH (1986). The biology of Canadian weeds. 77. *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *Can. J. Plant Sci*, 66: 739-759.

Distribution of resistant populations of *Echinochloa* spp. to ALS and ACCase inhibitors herbicides in Extremadura

Summary: The genus *Echinochloa* spp. includes the most problematic species in rice worldwide, and in particular in rice fields in Extremadura. The herbicides authorized in Spain at present to control this weed in rice belong mainly to 2 modes of action: ALS inhibitors and ACCase inhibitors. Repeated and continuous use of herbicides with the same mode of action may lead to the appearance of resistance. In the last 2 years, periodic sampling has been carried out in rice fields in Extremadura, in places where resistance is suspected. We have a set of internal assays for confirmation of resistance, such as studies of mechanisms of resistance to a target site-level (ALS and ACCase gene sequencing). So far, 37 populations were resistant (with mutations at the site of action) to ALS inhibitors and 2 to ACCase inhibitors. These populations are distributed in different areas of the Extremadura region. The study of the mechanism responsible for the resistance is basic for the design of an integrated control program.

Keywords: *Echinochloa*, rice, resistance, mutation, ALS gene, ACCase gene, target site.

Efecto del glifosato en la expresión génica de la ruta del siquimato en *Amaranthus palmeri*

Manuel Fernández-Escalada¹✉, Ainhoa Zulet-González¹, Miriam Gil-Monreal¹, Ana Zabalza¹, Mercedes Royuela¹

¹Universidad Pública de Navarra, 31006-Pamplona/Iruña
✉ manuel.fernandez@unavarra.es

Resumen: Este estudio ha abordado el efecto del herbicida glifosato en la regulación de la ruta del siquimato en la especie *Amaranthus palmeri*, comparando una población sensible a glifosato con una población resistente. Se han determinado, mediante PCR cuantitativa (qPCR), el efecto de dos dosis de glifosato sobre la expresión génica de los enzimas de la ruta del siquimato. También se ha determinado la actividad enzimática de los enzimas post-corismato antranilato sintasa (AS) y corismato mutasa (CM). Se ha podido observar que el gran aumento en el número de copias génicas del enzima EPSPS en la población resistente no tiene un efecto pleiotrópico basal en la expresión de los demás genes de esta ruta de síntesis de los aminoácidos aromáticos. Tras el tratamiento con glifosato, se observó, en ambas poblaciones, una inducción general de la expresión de los genes de la ruta del siquimato, dependiente de la dosis de glifosato. Es destacable que la aplicación del glifosato provoca el aumento de la expresión y actividad AS, y la tendencia opuesta en expresión CM, lo que conlleva un flujo preferente hacia la formación de triptófano en lugar de tirosina y fenilalanina.

Palabras clave: glifosato, ruta del siquimato, *Amaranthus palmeri*, expresión relativa del mRNA, corismato mutasa, antranilato sintasa.

1. INTRODUCCIÓN

La ruta del siquimato se alimenta de los esqueletos carbonados procedentes de la glicólisis (fosfoenolpiruvato) y de la ruta de las pentosas fosfato (eritrosa 4-fosfato). Consta de una sucesión de 6 actividades enzimáticas consecutivas (Fig. 1): deoxi-D-arabino-heptulose-7-fosfato sintasa (DAHPS), 3-dehidroquinato sintasa (DHQS), siquimato quinasa (SK), 5-enolpiruvilsiquimato 3-fosfato sintasa (EPSPS) y corismato sintasa (CS) hasta la formación de corismato. Usando como sustrato el corismato, la ruta se divide en dos ramales diferenciados para la biosíntesis de aminoácidos aromáticos (AAA), por un lado el enzima corismato mutasa (CM), que lleva a la síntesis de tirosina y fenilalanina y por otro el enzima antranilato sintasa (AS), que lleva a la síntesis de triptófano (Tzin et al., 2012).

El glifosato es un herbicida que inhibe la biosíntesis de los tres aminoácidos aromáticos. El sitio primario de acción del glifosato es la inhibición específica de un enzima clave en la ruta del siquimato: el enzima cloroplástica EPSPS (Gaines et al., 2010; Powles and Yu, 2010), que convierte el siquimato-3-fosfato y el fosfoenolpiruvato en 5-enolpiruvilsiquimato-3-fosfato. A pesar de que se conoce el mecanismo de acción del glifosato (bloqueo del enzima EPSPS) (Steinrücken and Amrhein, 1980) no se conoce completamente el modo de acción del mismo (Gomes et al., 2014) (conjunto de procesos que llevan a la muerte de la planta tras este bloqueo), información que puede ser clave para desarrollar nuevos herbicidas. El uso intensivo del glifosato ha provocado el desarrollo de resistencias en muchas especies de malas hierbas, como en *Amaranthus palmeri*, documentada por primera vez en 2006 (Culpepper et al., 2006), y cuyo mecanismo de resistencia al glifosato, la amplificación génica del enzima EPSPS, fue descrito por primera vez en 2010 (Gaines et al., 2010).

El objetivo general de este estudio es profundizar en el conocimiento de la regulación de la vía de biosíntesis de los AAA. Para ello se ha trabajado con dos poblaciones de *Amaranthus*

palmeri de diferente sensibilidad al glifosato una sensible (NC-S) y otra resistente al mismo (NC-R), con una amplificación génica de 47,5 veces más copias de EPSPS que la población sensible (Fernández-Escalada et al., 2016). Los objetivos de este trabajo son:

- 1) Valorar la implicación que tiene en la vía la sobreexpresión del enzima EPSPS.
- 2) Estudiar los efectos fisiológicos que provoca el glifosato en la regulación de la ruta de biosíntesis de AAA (donde se localiza su diana).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Muestreo y extracción de cDNA. Las semillas de los biotipos NC-R y NC-S fueron proporcionadas por el Dr. Gaines (Colorado State University, Fort Collins, CO, USA) y fueron originalmente recolectadas en North Caroline (USA). Se esterilizó la superficie de las semillas y fueron crecidas en cultivo hidróponico durante 3 semanas en condiciones controladas de luz y humedad, momento en el que fueron sometidas a los distintos tratamientos: spray glifosato a la dosis recomendada en campo (0.84 kg/ha) y a una dosis tres veces la recomendada en campo (2.52 kg/ha). Las hojas de las plantas fueron cosechadas 3 días después de la aplicación para que sea un tiempo suficientemente largo para poder ver los efectos del tratamiento sobre los parámetros fisiológicos sin que las plantas lleguen a la letalidad o se recuperen y después fueron congeladas a -80°C. El RNA se extrajo de los tejidos de las hojas siguiendo el protocolo de Machery-Nagel NucleoSpin[®] RNA Plant. Por último, para la extracción de cDNA se utilizó el kit de extracción iScript[™]cDNA Synthesis Kit de BIORAD.

2.2. qPCR. Se realizaron 5 réplicas biológicas por cada tratamiento, tanto para la población sensible como para la resistente. Se empleó la técnica de PCR cuantitativa en tiempo real (qPCR) para medir la expresión del mRNA relativa al control de cada muestra y normalizada con betatubulina (usada como house keeping), en plantas de las poblaciones NC-S y NC-R en las enzimas de la ruta de biosíntesis de los AAA D-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase (DAHPS), dehydroquininate synthase (DHQS), 3-dehydroquininate dehydratase/ shikimate dehydrogenase (DQSD), shikimate kinase (SK), The 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase (EPSPS) and chorismate synthase (CS) anthranilate synthase (AS) chorismate mutase (CM). Las qPCR cuantitativas fueron realizadas en la CSU en colaboración con el Laboratorio del Dr. Gaines (Colorado State University, Fort Collins, CO, USA) según Gaines et al. (2010), utilizando para ello un Thermocycler BIORAD CFX Connect TM Real-Time System. El kit utilizado para la preparación del cDNA para la qPCR cuantitativa fue el Quanta Biosciences[™]. incPerfecta[®] SYBR[®] Green SuperMix.

2.3. Actividad enzimática CM y AS. Se han realizado 4 réplicas biológicas por cada tratamiento tanto para la población sensible como para la resistente. La extracción de las muestras (0.1g/1mL) se realizó según Singh y Widholm (1974) con ligeras variaciones, al añadirse PMSF 1mM (Goers and Jensen, 1984). Las muestras se desalaron en columnas PD-10 (Ishimoto et al., 2010) y se midió la cantidad de proteína en el extracto desalado mediante el método de Bradford (1976). La actividad enzimática CM se cuantificó según Goers y Jensen (1984) con ligeras variaciones: el blanco de cada muestra era extracto enzimático previamente inactivado con 1N HCl, se incubaron 20 µl de la muestra desalada, 80 µl de buffer de reacción (fosfato potásico 100mM), y 100 µl de corismato 2.7 mM, y se determinó la absorbancia a 320 nm. La actividad enzimática AS se cuantificó según Ishimoto et al. (2010) con ligeras variaciones. El blanco de cada muestra

era extracto enzimático hervido, Se incubaron 100 μl de extracto desalado y 100 μl de corismato 2.7 mM durante 30 minutos tras lo que se determinó la fluorescencia con filtros excitación/emisión 340/400 nm (Matsukawa et al., 2002).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estudió la expresión génica de los enzimas de la ruta del siquimato cuando las plantas son tratadas con diferentes dosis de glifosato, y con los resultados obtenidos, se decidió estudiar también la actividad enzimática de los enzimas con variaciones más relevantes en la expresión: corismato mutasa (CM) y antranilato sintasa (AS).

3.1. Expresión génica de los enzimas de la ruta del siquimato. Si se compara la expresión génica de cada enzima según la población, no hay grandes diferencias entre ambas, salvo en el caso ya sabido del enzima EPSPS, enzima diana del herbicida glifosato, para el que ha desarrollado resistencia *Amaranthus palmeri* mediante amplificación génica (Gaines et al., 2010). Este enzima muestra una expresión más de 50 veces superior en la población resistente que en la sensible (en condiciones control, sin tratamiento con herbicida), y unas 25 veces mayor si se comparan tratamientos (Fig. 1, EPSPS). Se observó que la tendencia general tras la aplicación del tratamiento de glifosato, tanto en la población sensible como en la resistente, es un aumento significativo de la expresión génica de los enzimas pre-corismato, dependiente de la dosis. El análisis de la vía post-corismato muestra que el glifosato no tiene gran efecto en la expresión del enzima CM (sin cambios significativos en la población sensible, y un descenso en la población resistente), pero sí provoca un incremento de la expresión del enzima AS, en ambas poblaciones, que fue muy superior al que se dio en el resto de enzimas de la ruta.

3.2. Actividad de los enzimas CM y AS. Se complementó este estudio comprobando la actividad de los enzimas que modificaban su expresión de una manera más relevante, y fueron el enzima CM y el enzima AS (Fig. 2). En cuanto a la enzima CM se observó que no hay diferencias significativas en su actividad ni en la población sensible ni en la resistente con un aumento de la dosis de glifosato. El enzima AS mostró un comportamiento notablemente diferente, ya que se observaron aumentos significativos respecto al control en la actividad tanto en la población sensible (aunque solo a la menor dosis) como en la resistente, donde se vio un aumento progresivo que depende de la dosis. Así, se puede decir que conforme se aumenta la dosis de glifosato, no hay cambios en la actividad CM y, sin embargo, la actividad AS aumenta, siendo este comportamiento similar en ambas poblaciones, y similar al mostrado en la expresión.

3.3. Discusión. Comparando los datos de expresión génica obtenidos en las plantas sin tratar con glifosato de las poblaciones sensible y resistente de *Amaranthus palmeri*, se puede inferir que el gran aumento en el número de copias génicas del enzima EPSPS en la población resistente al glifosato no tiene un efecto pleiotrópico importante en la expresión basal de los genes de la ruta de síntesis de los aminoácidos aromáticos. En ambas poblaciones se detectó una inducción general de la expresión de los enzimas de la ruta tras el tratamiento con glifosato dependiente de la dosis (Fig.1), lo que sugiere una respuesta transcripcional generalizada de la ruta a dicho tratamiento. Este efecto generalizado no había sido detectado anteriormente en otras especies, como *Kochia scoparia* (Wiersma et al., 2014) que también presentaban amplificación génica como mecanismo de resistencia al glifosato.

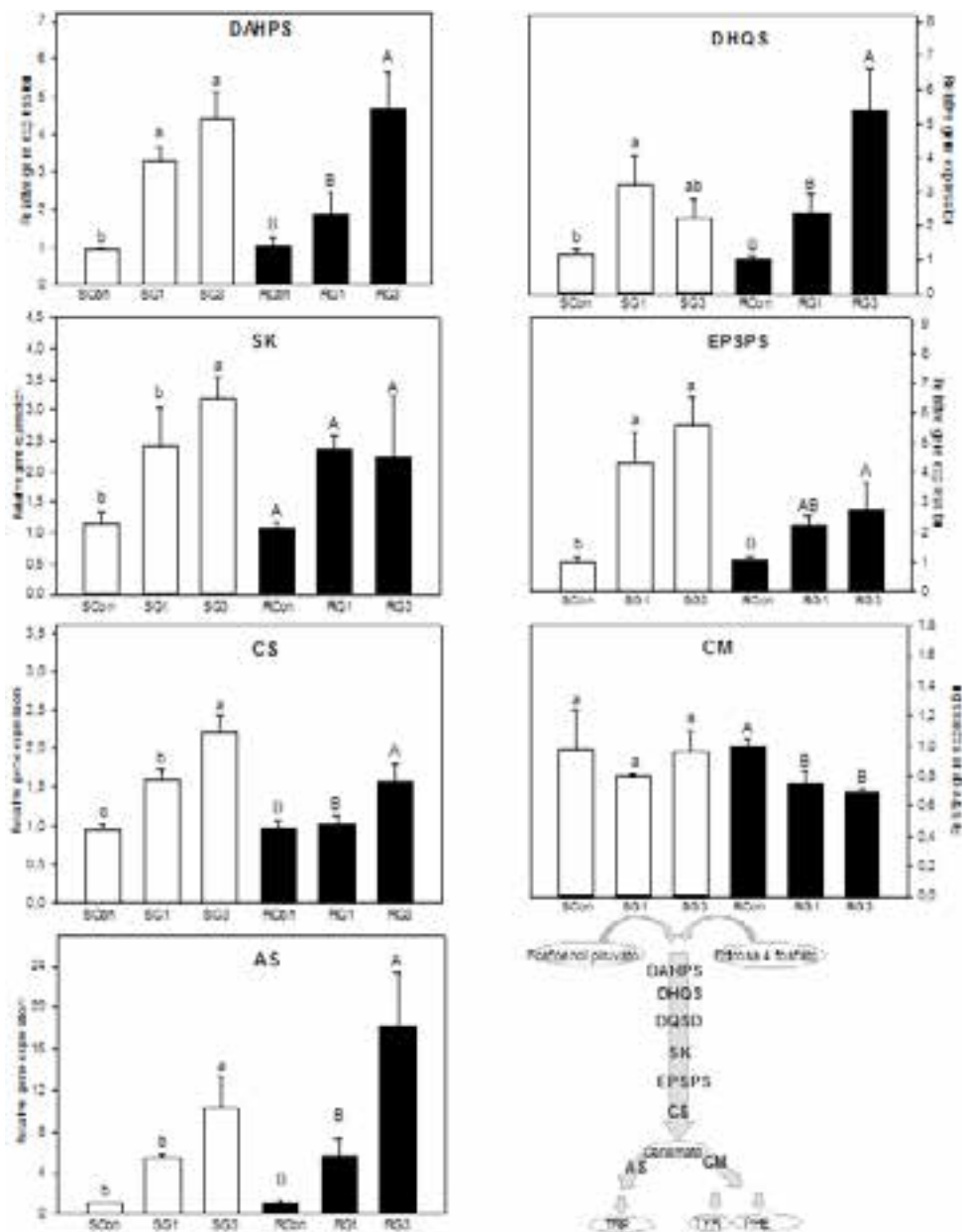


Figura 1. Expresión relativa al control de cada muestra, utilizando betatubulina para la normalización de los valores (fórmula pfaffi) del mRNA de los enzimas de la ruta de biosíntesis de aminoácidos aromáticos (AAA): deoxi-D-arabino-heptuloso-7-fosfato sintasa (DAHPS), 3-dehidroquinato sintasa (DHQS), siquimato quinasa (SK), 5-enolpiruvilsiquimato 3-fosfato sintasa (EPSPS), corimato sintasa (CS), y de la corimato mutasa (CM) y antranilato sintasa (AS). En blanco, la población sensible, y en negro, la resistente, para ambas poblaciones tratamiento con (control), G1 (dosis de glifosato recomendada en campo) y G3 (tres veces la dosis de glifosato recomendada en campo). Diferentes letras minúsculas en la población sensible y diferentes letras mayúsculas en la población resistente indican diferencias significativas entre tratamientos dentro de cada población ($p \leq 0.05$). Se incluye un cuadro resumen de los enzimas implicados en la ruta de biosíntesis de AAA (triptófano, tirosina y fenilalanina).

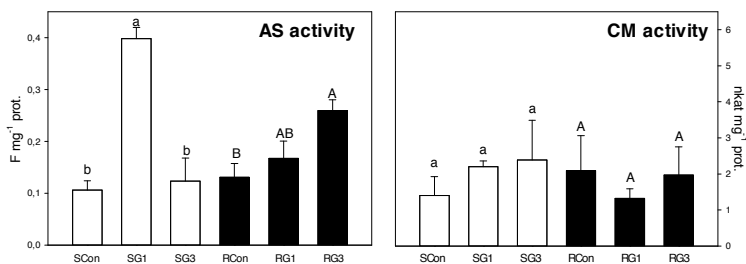


Figura 2. Actividad de los enzimas corismato mutasa (CM) (izquierda) y antranilato sintasa (AS) (derecha). En blanco, la población sensible, y en negro, la resistente, siendo para ambas poblaciones los tratamientos control, G1 (dosis de glifosato recomendada en campo) y G3 (tres veces dosis de glifosato recomendada en campo). Diferentes letras minúsculas en la población sensible y diferentes letras mayúsculas en la población resistente indican diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$).

Además, se observó un aumento tanto en la expresión génica como la actividad enzimática AS con la dosis de glifosato, siendo este comportamiento similar en ambas poblaciones. Por el contrario, la expresión génica del enzima CM se mantiene sin diferencias significativas en la población sensible y desciende en la resistente, no habiendo diferencias significativas en su actividad enzimática ni según la dosis de glifosato ni entre poblaciones. La bifurcación de la ruta tras la formación de corismato ha sido sugerida como punto de regulación *feedback* por Schmid y Amrhein (1995), lo que le confiere una importancia destacada. Nuestros resultados sugieren una desviación preferente del flujo de carbono hacia la síntesis de triptófano, en detrimento de la formación de tirosina y fenilalanina, lo que podría estar relacionado con una regulación de la ruta del siquimato que pudiera tener como señal el triptófano, como ha sido sugerido por Galili et al. (2016) para la especie *Arabidopsis thaliana*. Estos nuevos aspectos sobre la regulación de la ruta del siquimato pueden complementar el conocimiento sobre la respuesta al tratamiento con glifosato que hasta ahora se tenía de la sobreexpresión génica del enzima EPSPS (Gaines et al., 2010), proporcionando una visión global de su funcionamiento, que nos acerca a poder explicar el modo de acción del glifosato.

4. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto ha sido financiado por el Ministerio Español de Economía y Competitividad (AGL-2013-40567R). M. F-E, A. Z-G y M. G-M han sido becarios predoctorales de la Universidad Pública de Navarra. Agradecemos a Gustavo Garijo su asistencia técnica y al Dr. Todd A. Gaines (Colorado State University, Fort Collins, CO, USA) todas las facilidades para este estudio.

5. REFERENCIAS

- Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Culpepper AS, Grey T and Vencill W (2006). Glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) confirmed in Georgia. *Weed Science*, 54, 620-626.

- Fernández-Escalada M, Gil-Monreal M, Zabalza A and Royuela M (2016). Characterization of the *Amaranthus palmeri* physiological response to glyphosate in susceptible and resistant populations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 95-106.
- Gaines TA, Zhang W, Wang D, Bukun B, Chisholm ST, Shaner DL, Nissen SJ, Patzoldt WL, Tranel PJ, Culpepper AS, Grey TL, Webster TM, Vencill WK, Sammons RD, Jiang J, Preston C, Leach JE and Westra P (2010). Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *PNAS of the United States of America*, 107, 1029-1034.
- Galili G, Amir R and Fernie AR (2016). The regulation of essential amino acid synthesis and accumulation in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 67, 153-78.
- Goers SK & Jensen RA (1984). Separation and characterization of two chorismate-mutase isoenzymes from *Nicotiana silvestris*. *Planta*, 162, 109-116.
- Gomes M P, Smedbol E, Chalifour A, Henault-Ethier L, Labrecque M, Lepage L, Lucotte M and Juneau P (2014). Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: An overview. *J. Exp. Bot.* 65, 4691-4703.
- Ishimoto M, Rahman SM, Hanafy MS, Khalafalla MM, El-Shemy HA, Nakamoto Y, Kita Y, Takanashi K, Matsuda, F, Murano Y, Funubashi T, Miyagawa H and Wakasa K (2010). Evaluation of amino acid content and nutritional quality of transgenic soybean seeds with high-level tryptophan accumulation. *Molecular Breeding*, 25, 313-326.
- Matsukawa T, Ishihara A and Iwamura H (2002). Induction of anthranilate synthase activity by elicitors in oats. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung*, 57c, 121-128.
- Powles S B & Yu Q. (2010). Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. *Annual Review of Plant Biology* -042809-112119.
- Schmid J & Amrhein N (1995). The Shikimate Pathway. *Plant Amino Acids: Biochemistry and biotechnology*. Ed.by Shing BK, pp.147-169. Marcel Dekker, Inc. New York City, New York, United States of America.
- Singh M & Widholm JM (1974). Measurement of the five enzymes which convert chorismate to tryptophan in wheat plants. *Physiologia Plantarum*, 32, 240-246.
- Steinrücken H C & Amrhein N. (1980). The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 94, 1207-1212.
- Tzin V, Rogachev I, Meir S, Moyal Ben Zvi M, Masci T, Vainstein A, Aharoni A and Galili G (2012). Tomato fruits expressing a bacterial feedback-insensitive 3-deoxy-d-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase of the shikimate pathway possess enhanced levels of multiple specialized metabolites and upgraded aroma. *Journal of Experimental Botany*, 64, 4441-52.
- Wiersma AT, Gaines TA, Preston C, Hamilton, JP, Giacomini D, Buell CR, Leach JE and Westra P (2014). Gene amplification of 5-enol-pyruvylshikimate-3-phosphate synthase in glyphosate-resistant *Kochia scoparia*. *Planta*, 241, 463-474.

Glyphosate effect in gene expression of the shikimate pathway in *Amaranthus palmeri*

Summary: This study has addressed the effect of glyphosate herbicide on the regulation of shikimate pathway in *Amaranthus palmeri*, comparing one resistant and one sensitive population. By using qPCR, the effect of two doses of glyphosate on gene expression of shikimate pathway enzymes has been determined. Postchorismate enzymatic activities from anthranilate synthase (AS) and chorismate mutase (CM) have also been determined. It has been observed that the large increase in the number of EPSPS gene copies in the resistant population does not have a basal pleiotropic effect on the expression of the other genes of this biosynthetic pathway. After glyphosate treatment, it was observed a general dose-dependent induction of the expression in both populations. It is noteworthy that the application of glyphosate causes increased AS expression and activity and the opposite trend in CM expression, which implicates a preferential flux toward the formation of tryptophan instead of tyrosine and phenylalanine.

Keywords: glyphosate, shikimate pathway, *Amaranthus palmeri*, mRNA relative expression, chorismate mutase, anthranilate synthase.

¿Dosis o eficacia?

José María Montull^{1,2}, Andreu Taberner^{1,2}

¹Grupo de Investigación en Malherbología y Ecología Vegetal. UdL. Agrotecnio. Av. Rovira Roure 191

²Servicio de Sanidad Vegetal. Generalitat de Catalunya. Av. Rovira Roure 191. 25198 Lleida. Spain

✉ josemontull@hbj.udl.cat

Resumen: La información que deben emplear los agricultores y técnicos para la aplicación de herbicidas procede de la etiqueta del envase. En ella se indica, entre otras, la dosis máxima autorizada y una aproximación al espectro de control de malas hierbas. La dosis mínima efectiva es un concepto complejo dado que depende de varios factores. En realidad, debería aportarse una información más completa de manera que se procurase recoger todas las variantes posibles. El incluir esta información permitiría aplicar la dosis justa para tener un nivel de control adecuado, lo que redundaría en un uso más sostenible de los herbicidas. A fin de ilustrar este planteamiento, en este trabajo se muestra información comercial de varios herbicidas con el objetivo de mostrar la información que creemos sería adecuado incluir.

Palabras clave: etiqueta, normativa, dosis mínima efectiva.

1. INTRODUCCIÓN

La información relativa al uso de productos fitosanitarios que se pone a disposición de los agricultores es la que se muestra en la etiqueta del envase. Esta información no se deja al libre albedrío del fabricante del producto sino que está regulada a nivel Europeo mediante el Reglamento UE nº547/2011. Este reglamento hace referencia expresa a los requisitos del etiquetado de los productos fitosanitarios. En su anejo 1 se indican, y son (European Commission, 2011):

- a) El nombre o designación comercial del producto fitosanitario.
- b) El nombre y la dirección del titular de la autorización y el número de autorización del producto fitosanitario.
- c) La denominación de cada sustancia activa.
- d) La concentración de cada sustancia activa.
- e) La cantidad neta del producto fitosanitario.
- f) El número de lote del preparado y la fecha de producción.
- g) Información sobre primeros auxilios.
- h) La naturaleza de todo riesgo especial para la salud humana o animal o el medio ambiente, mediante frases normalizadas.
- i) Las precauciones de seguridad para la protección de la salud humana o animal o el medio ambiente, mediante frases normalizadas seleccionadas.
- j) El tipo de acción del producto fitosanitario (por ejemplo, insecticida, regulador del crecimiento, herbicida, fungicida, etc.) y el modo de acción.
- k) El tipo de preparado (por ejemplo, polvo mojable, concentrado emulsionable, etc.).
- l) Los usos para los que se ha autorizado el producto fitosanitario y las condiciones agrícolas, fitosanitarias y medioambientales específicas en las que el producto puede o no puede ser utilizado.
- m) Las instrucciones y condiciones de uso y la dosificación, con inclusión, cuando proceda, de la dosis máxima por hectárea y por aplicación y del número máximo de aplicaciones anuales; la dosificación, expresada en unidades métricas, para cada uso contemplado en la condiciones de autorización.

- n) Cuando proceda, el intervalo de seguridad para cada uso entre la última aplicación y:
 - i) la siembra o la plantación del cultivo que se desee proteger,
 - ii) la siembra o la plantación de cultivos sucesivos,
 - iii) el acceso por parte de las personas o los animales,
 - iv) la cosecha,
 - v) el uso o el consumo;
- o) Indicaciones sobre la posible fitotoxicidad, la sensibilidad varietal y cualquier otro efecto secundario desfavorable.
- p) La frase «Léanse las instrucciones adjuntas antes de utilizar el producto», en caso de que se añada un prospecto, tal como se establece en el punto 2.
- q) Instrucciones para el almacenamiento en condiciones adecuadas y la eliminación segura del producto fitosanitario y del envase.
- r) Cuando sea necesario, la fecha de caducidad en condiciones de almacenamiento normales.
- s) La prohibición de reutilización del envase, salvo por el titular de la autorización y a condición de que dicho envase se haya diseñado específicamente para poder ser reutilizado por el titular de la autorización.
- t) Toda información exigida para la obtención de la autorización.
- u) Las categorías de usuarios que pueden utilizar el producto fitosanitario, cuando su uso esté limitado a determinadas categorías.

En el artículo 2 se indica que la información pedida en el anejo 1, letras m), n), o), q), r) y t), podrá indicarse en un prospecto aparte que acompañe al envase si en este no hay espacio suficiente. Dicho prospecto se considerará parte de la etiqueta.

Así, desde el punto de vista del manejo de resistencias, esta normativa podría mejorarse si se incluyeran los modos de acción de cada una de las materias activas o incluso, indicar expresamente que materias activas comparten mecanismos de resistencia.

En el punto *m)* es en el que nos vamos a centrar en este trabajo dado que, en nuestras condiciones, se tiende a indicar exclusivamente la dosis máxima autorizada, sin tener en cuenta los factores que pueden afectar a la eficacia de los herbicidas y que permitirían ampliar el rango de dosis a utilizar.

Con esto, el objetivo del presente trabajo es mostrar etiquetas de productos herbicidas que consideramos se deberían tomar como ejemplo siempre desde el punto de vista de optimizar las dosis a aplicar.

2. FACTORES QUE AFECTAN A LA EFICACIA DE LOS HERBICIDAS

Sin entrar en factores relativos a la técnica de aplicación como el volumen de aplicación o el tipo de boquilla a utilizar, que se merecen un trabajo aparte; hay diferentes factores que afectan a la eficacia de los herbicidas en campo. Por tanto, conocer cómo afecta cada uno de los factores es el prerequisite para optimizar la dosis de herbicidas a aplicar (Kudsk, 2008a).

En la figura 1 se muestran varios de los factores que afectan a la eficacia de los herbicidas en campo y el porcentaje relativo de modificación de dosis.

El principal factor del que depende la eficacia observada en campo es la especie de mala hierba a controlar. Del resto, el más importante es el estado fenológico de cada especie en cuestión (Kudsk, 1989, 2008a). Los factores que dependen de condiciones agroclimáticas (Kudsk and

RATES OF USE, WEED SUSCEPTIBILITY AND MAXIMUM SIZE CONTROLLED

Apply + an authorised adjuvant at 0.5% v/v in a recommended programme as follows:

Weed species	Rate g/ha*	Optimum timing	Susceptibility
Blackgrass	265	Apply to actively growing plants up to 4 tillers	S
Wild oats	265	Apply to actively growing plants up to second node detectable	S
Sterile brome	265	Apply to actively growing plants up to 4 tillers	S
Ryegrass (from seed)	265	Apply to actively growing plants up to end of tillering	S
Common field speedwell	210	Apply to actively growing plants up to 6 true leaves	S
Cleavers	210	Apply to actively growing plants up to 150 mm	S
Ivy-leaved speedwell	210	Apply to actively growing plants up to 6 true leaves	S
Poppy	210	Apply to actively growing plants up to 6 true leaves	S
Charlock	170	Apply to actively growing plants up to 6 true leaves	S
Common chickweed	170	Apply to actively growing plants up to 100mm	S
Field Pansy	170	Apply to actively growing plants up to 4 true leaves	S
Geranium spp	170	Apply to actively growing plants up to 8 true leaves	S
Mayweed spp	170	Apply to actively growing plants up to 8 true leaves	S
Volunteer oilseed rape	170	Apply to actively growing plants up to 6 true leaves	S

*Where grass weeds are present, rates of not be used.

lower than 265 g/ha should

Figura 2. Herbicida 1, de aplicación en post-emergencia.

Por último, en la figura 4 se muestra la etiqueta de otro herbicida de post-emergencia, en ella se muestra la dosis a aplicar para cada especie y en cada estado fenológico concreto.

En este caso, se observa claramente como se incrementa la dosis de herbicida a aplicar según las malas hierbas están más desarrolladas. Incluso se indica que para especies en concreto y estados fenológicos avanzados, a la dosis máxima no se alcanzaría una eficacia superior a lo que se entiende como MS.

Además, para este herbicida se indica que no controla biotipos de especies concretas que hayan desarrollado resistencias a su grupo químico, lo que facilita la gestión de resistencias.

Se trata solo de una pequeña muestra de lo que, a nuestro entender, facilitaría el manejo adecuado de herbicidas, ajustando la dosis aplicada exactamente a la mínima indispensable para tener una buena eficacia. Si además, se hiciera referencia no solo al modo de acción del herbicida sino a las posibles resistencias cruzadas entre materias activas pertenecientes a diferentes modos de acción, también se facilitaría en gran medida la prevención y el manejo de biotipos resistentes a herbicidas.

2. Weed Control

2.1 Susceptibility of weeds to single applications of

For post-emergence applications best results will be achieved by application to small actively growing weeds:

Product Rate (g/ha)	3	2	3
Application timing	Pre-em	Post-em	
Annual Meadow-grass	S	S up to 2 lvs	S up to 2 lvs
Rough Meadow-grass	M5	M5 up to 2 lvs	M5 up to 2 lvs
Loose silky bent	S	MR up to 1 leaf	S up to 1 leaf
Charlock	M5	S up to 6 lvs	S up to 6 lvs
Claviers	M5	M5 up to 1 whorl	S up to 3 whorls
Common Chickweed	S	S up to 6 lvs	S up to 6 lvs
Common Field Speedwell	S	S up to 6 lvs	S up to 6 lvs
Common Fumitory	S	S up to 3 lvs	S up to 3 lvs
Common Grache	M5	-	-
Common Poppy	M5	S up to 6 lvs	S up to 6 lvs
Corn Marigold	S	-	-
Fat hen	M5	S up to 2 lvs	S up to 2 lvs
Field Forget-me-not	M5	S up to 1 whorl	S up to 2 lvs
Field Penny	M5	S up to 4 lvs	S up to 4 lvs
Hemp-nettle (Daisy Nettle)	S	-	-
Herbit Dead-nettle	S	-	S up to 6 lvs
Ivy-leaved speedwell	S	S up to 6 lvs	S up to 6 lvs
Knitgrass	M5	-	-
Pansley Plant	S	-	S up to 2 lvs
Red Dead-nettle	S	S up to 6 lvs	S up to 6 lvs
Scarlet Pimpernel	S	-	-
Shepherd's Purse	S	S up to 6 lvs	S up to 6 lvs
Smooth Sow-thistle	M5	-	-
Volunteer Oilseed Rape (1)	S	M5 up to 2 lvs	M5 up to 2 lvs

S = Susceptible

MR = Moderately resistant

M5 = Moderately susceptible

(1) = deep germinating volunteer Oilseed Rape may not be controlled.

Figura 3. Herbicida 2, de aplicación en pre y post-emergencia precoz.

Weeds controlled

Weed/Stage of Growth	300 g/ha	200 g/ha	150 g/ha	100 g/ha	100 g/ha
Black-bitterweed	6 leaves	6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves
Charlock	Flower bud	4 leaves	4 leaves	4 leaves	4 leaves
Chickweed, Common	Flower Bud	8 leaves	8 leaves	8 leaves	6 leaves
Claviers	Flower Bud	15 cm	15 cm	15 cm	10 cm
Common poppy	M5 6 leaves	6 leaves	6 leaves	4 leaves	2 leaves
Common field-speedwell	M5 6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves	2 leaves
Creeping Thistle from seed	6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves	2 leaves
Cut-leaved Crane's-bill	6 leaves	6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves
Fat hen	6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves	4 leaves
Field forget-me-not	6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves	2 leaves
Field penny	4 leaves	4 leaves	2 leaves	2 leaves	2 leaves
Field pansy	Flower Bud	6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves
Fumitory	6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves	2 leaves
Groundsel	6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves	2 leaves
Hemp-nettle	Flower Bud	Flower Bud	20 cm	15 cm	15 cm
Ivy-leaved speedwell	4 leaves	4 leaves	2 leaves	2 leaves	2 leaves
Knitgrass	M5 4 leaves	4 leaves	4 leaves	2 leaves	2 leaves
Red dead-nettle	6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves	2 leaves
Redtop	Flower Bud	6 leaves	6 leaves	4 leaves	4 leaves
Rush	Flower Bud	Flower Bud	20 cm	15 cm	15 cm
Scarlet Mayweed	Flower Bud	8 leaves	8 leaves	8 leaves	6 leaves
Stinking Mayweed	Flower Bud	8 leaves	8 leaves	8 leaves	6 leaves
Shepherd's purse	Flower Bud	6 leaves	6 leaves	6 leaves	4 leaves
Volunteer Beans	Flower Bud	Flower Bud	10 cm	10 cm	10 cm
Volunteer Oilseed Rape	6 leaves	4 leaves	4 leaves	4 leaves	4 leaves

Figura 4. Herbicida 3, de aplicación en post-emergencia.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo está financiado por el proyecto ERA-NET C-IPM: Design and customization of an innovative Decision Support System (DSS) for Integrated Weed Management (IWM)

5. REFERENCIAS

- European Commission (2011). REGLAMENTO (UE) N° 547 / 2011 DE LA COMISIÓN de 8 de junio de 2011 por el que se aplica el Reglamento (CE) N°1107 / 2009 del Parlamento Europeo y del Consejo en lo que se refiere a los requisitos de etiquetado de productos fitosanitarios, pp.176-205.
- Kudsk, P. (2008a). Chapter 16: Optimising herbicide performance. In *Weed Management Handbook*. Scotland: John Wiley & Sons, pp. 323-344. Available at: <https://books.google.com/books?id=jXbGt8ttluIC&pgis=1> [Accessed January 8, 2015].
- Kudsk, P. (1989). Experiences with reduced herbicide doses in Denmark and the development of the concept of factor-adjusted doses. In *Brighton Crop Protection Conference-Weeds*. Brighton, pp. 545-554.
- Kudsk, P. (2008b). Optimising herbicide dose: A straightforward approach to reduce the risk of side effects of herbicides. *Environmentalist*, 28(1), pp.49-55. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10669-007-9041-8> [Accessed July 16, 2014].
- Kudsk, P. & Kristensen, J. (1992). Effect of environmental factors on herbicide performance. In *Proceedings of the first international Weed Control Congress*, pp. 173-186.
- Rydahl, P., Munier-jolain, N., Masin, R., Boejer, O. M., and Orum, J. (2014). Can we have user friendly DSS, especially for weed control?. *ENDURE working papers*.

Doses or efficacies?

Summary: The information to be used by farmers and advisors for the use of herbicides comes from the packaging label. It indicates, among others, the maximum authorized dose and an approximation to the spectrum of weed control. The effective dose is a complex concept since it depends on several factors. In fact, more complete information is recommended to collect all possible variants. Including this information would allow the application of the right dose to have an adequate level of control, which results in a more sustainable use of herbicides. In order to illustrate this approach, this paper shows commercial information on several herbicides with the objective of showing information that we believe may be included.

Keywords: label, normative, minimum effective dose.

Evaluación de distintos herbicidas en el control de teosinte en cultivos diferentes al maíz

Gabriel Pardo¹, Santiago Fuertes², Ana Isabel Marí¹, Joaquín Aibar³, Alicia Cirujeda¹

¹Unidad de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930; 50059 Zaragoza

²Centro de Sanidad y Certificación Vegetal Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza

³Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Ctra. Cuarte s/n 22071 Huesca

✉ gpardos@aragon.es

Resumen: Se evaluó la eficacia de 6 herbicidas autorizados en cultivos estivales que pueden rotar con maíz, frente a teosinte (*Zea mays* spp. *mexicana* ad. int.): girasol, leguminosas o barbechos. Estos fueron: cicloxidim, cletodim, fluzifop, glifosato, imazamox y quizalofop. Para ello se realizaron 3 ensayos, uno en 2015 y dos en 2016, en un campo sin ningún cultivo comercial, infestado de teosinte en Torralba de Aragón (Huesca). Cicloxidim, cletodim, fluzifop y quizalofop controlaron perfectamente el teosinte. El glifosato mostró una eficacia baja en 2015 y muy alta en 2016, seguramente por la mayor dosis aplicada ese año. Imazamox mostró baja eficacia, posiblemente debido a que es una materia activa que funciona mejor con temperaturas más bajas que las registradas en el ensayo realizado a partir de julio.

Palabras clave: control químico, antigramíneas, materia activa, planta invasora.

1. INTRODUCCIÓN

El teosinte (*Zea mays* spp. *mexicana* ad. int.) apareció como mala hierba en maizales del valle del Ebro en 2014. Desde entonces están o han estado afectadas unas 800 ha en Aragón (Fuertes, com. personal, 2017). Como actualmente no hay ningún herbicida autorizado en maíz que sea selectivo y controle teosinte (MAPAMA, 2107), es muy conveniente realizar rotaciones con otros cultivos estivales, como pueden ser algunas leguminosas (alfalfa, soja, judía etc.) o el girasol. Incluso, en el caso de no haber un cultivo alternativo y rentable se debe practicar el barbecho para reducir o eliminar el banco de semillas y contribuir a su erradicación (Pardo et al., 2016).

En este sentido, la Dirección General de Alimentación y Fomento Agroalimentario del Gobierno de Aragón estableció una serie de medidas fitosanitarias cautelares, siendo de obligado cumplimiento por parte de los agricultores afectados. Una de ellas fue la de prohibir la siembra de maíz en parcelas clasificadas con grado de infestación elevada de teosinte. En esas parcelas, los agricultores deben controlar obligatoriamente el teosinte en los cultivos o barbechos que implanten. En estas situaciones los herbicidas sí pueden jugar un papel relevante en el control de teosinte.

Por todo ello, el objetivo del trabajo ha sido evaluar la eficacia de distintas materias activas autorizadas, en cultivos distintos al maíz y barbechos, sobre el control de teosinte.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron un total de tres ensayos, uno en 2015 y otros dos en 2016, en la localidad de Torralba de Aragón (Huesca) en una parcela con historial de infestaciones severas de teosinte. A principios de julio de 2015 se realizó un laboreo para refinar el suelo y estimular la nascencia de

teosinte. Tras este laboreo se estaquilló el ensayo y los herbicidas se aplicaron cuando las primeras plantas del teosinte tuvieron entre 4-6 hojas aproximadamente. En mayo de 2016, se procedió de la misma manera y una vez tomados todos los datos se volvió a labrar la parcela y a principios de julio se implantó el segundo ensayo. En todos los casos el diseño fue totalmente aleatorizado con cuatro repeticiones en 2015 y tres en 2016. La parcela elemental fue en todos los casos de 10 m² (2m x 5m). Las características de los tratamientos aplicados, en cada ensayo se describen en la tabla 1.

Tabla 1. Características de los tratamientos herbicidas ensayados

Tratamiento	2015	2016		Dosis (Lha ⁻¹)	Dosis (gi.a.ha ⁻¹)	Producto comercial	Algunos cultivos cuyo uso está autorizado
		1	2				
Testigo	x	x	x	-	-	-	-
Cletodim	x	x	x	0,8 ¹	96	Centurion Plus	Girasol
Fluazifop-p-butil	x	x	x	1,5 ¹	187,5	Fusilade Max	Leguminosas grano
Glifosato	x	x	x	2 ^{2*}	720*	Roundup	Sin cultivo
Quizalofop-p-etil	x	x	x	1,0 ¹	100	Nervure	Alfalfa
Imazamox	x			1,25 ¹	500	Pulsar 40	Alfalfa, girasol (Clearfield)
Cicloxidim		x	x	2,5 ¹	250	Focus	Leguminosas grano

¹Volumen de caldo 300Lha⁻¹ ²Volumen de caldo 200Lha⁻¹ * En 2016, 3 Lha⁻¹ (1080 gi.a.ha⁻¹)

Los herbicidas se aplicaron con un pulverizador de palanca (Matabi®) equipado de una barra de tratamiento de 2 m con boquillas Teejet® XR 110 distanciadas 50 cm entre ellas.

Se tomaron datos de densidad de teosinte (usando tres marcos de 0,27 m² por parcela elemental) y de cobertura (mediante estimación visual) a los 14 y 28 días después del tratamiento (DDT) y se calculó la eficacia para ambos parámetros en base a los datos del testigo. En los ensayos de 2016 los datos obtenidos cumplieron con los criterios de homogeneidad de las varianzas y normalidad de los datos, pero en el de 2015 hubo que usar la transformación $\arcsen\sqrt{x}/100$ para conseguirlo. Finalmente, se realizó el análisis de la varianza de acuerdo al diseño experimental y la separación de medias (test de Tukey cuando $p < 0,05$) con el programa de software libre R, Versión 2.14.2 (R Development Core Team, 2014).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del ensayo de 2015 se muestran en la figura 1 y los de 2016 en la figura 2. En los ensayos de 2016 no se probó imazamox debido a la baja eficacia obtenida en 2015. Además, en este último ensayo se incluyó en su lugar cicloxidim y se decidió aumentar la dosis de glifosato de 2 a 3 Lha⁻¹.

Como era de esperar, cletodim, fluazifop, quizalofop y cicloxidim controlaron perfectamente el teosinte emergido en el momento de la aplicación. Aunque estas materias activas no están registrados específicamente para esta planta, sí que lo están para el conjunto de especies gramíneas.

Hay que decir además, que la eficacia real fue mayor que la que reflejan las gráficas. Ésta se ve enmascarada por las nuevas emergencias de teosinte, las cuales se produjeron en todos los ensayos, sobre todo en aquellas con baja cubierta vegetal y que corresponden a las tratadas eficazmente con los herbicidas. Estas emergencias ocurren en los meses de mayo y junio principalmente, siendo mucho más escasas después. Por eso en el segundo ensayo de 2016 las eficacias que muestra la gráfica (Fig. 2) fueron prácticamente del 100, ya que tras julio se produjeron muy pocas nuevas germinaciones de teosinte.

Este hecho también explica por qué la eficacia basada en densidad fue menor que la basada en cobertura, ya que las nuevas emergencias implican un número más o menos grande, pero no implican apenas cobertura.

No se sabe la razón por la cual se obtuvo tan baja eficacia empleando imazamox. Quizás las elevadas temperaturas del verano no son adecuadas para su funcionamiento. O simplemente esta especie, aun siendo gramínea, resulta más tolerante a este producto que a los otros antigramíneas ensayados. También el glifosato aplicado a 2 Lha⁻¹ en 2015, mostró dificultad para controlar el teosinte. No obstante al año siguiente a 3 Lha⁻¹ lo controló perfectamente.

En definitiva, cletodim, fluazifop, quizalofop y cicloxidim a las dosis recomendadas por el fabricante y glifosato a 1080 g i.a.ha⁻¹ (en zonas sin cultivo está autorizado hasta 3 veces más) controlan perfectamente teosinte. Sin embargo imazamox, en las condiciones del ensayo y a las dosis recomendadas tuvo un control deficiente de teosinte.

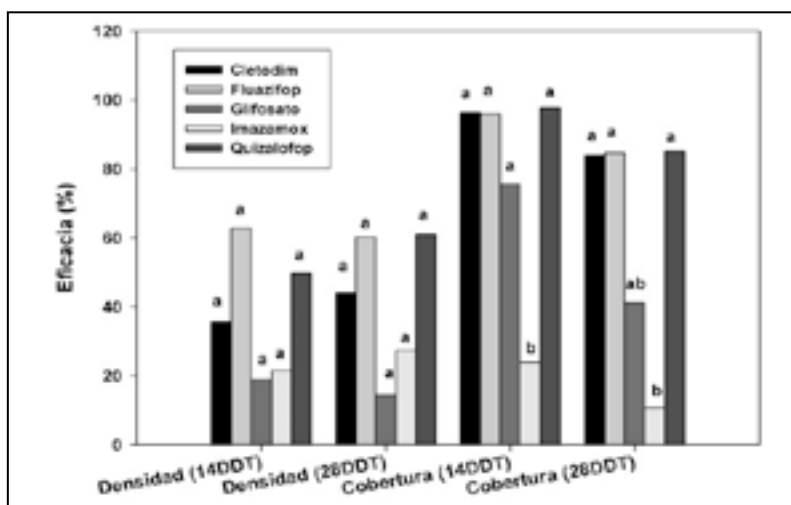


Figura 1. Ensayo de 2015: eficacia en el control de teosinte según materia activa y parámetro analizado. DDT: días después del tratamiento. Datos retransformados de $\arcsen \sqrt{x/100}$. Dentro de cada parámetro, columnas con letras distintas difieren significativamente en el test de Tukey ($p < 0,05$).

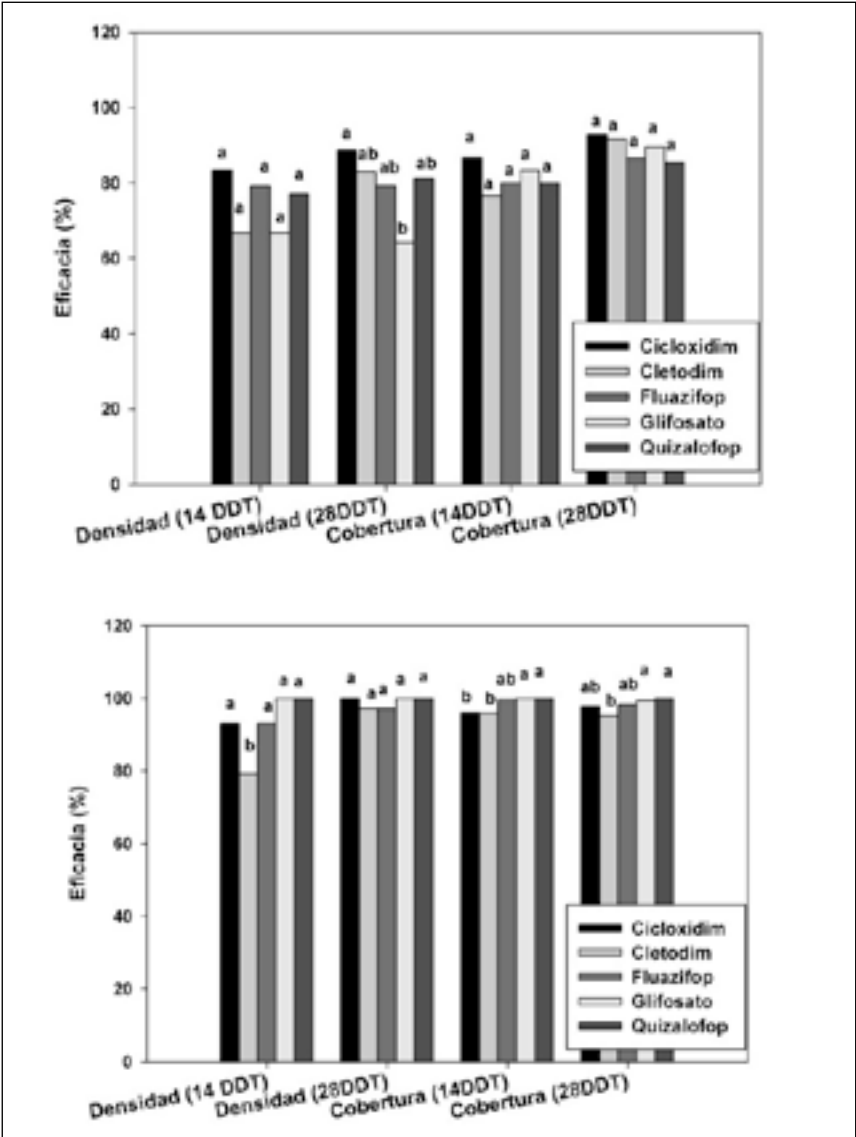


Figura 2. Ensayos de 2016: 1 (arriba) y 2 (abajo). Eficacia en el control de teosinte según materia activa y parámetro analizado. DDT: días después del tratamiento. Dentro de cada parámetro, columnas con letras distintas difieren significativamente en el test de Tukey ($p < 0,05$).

4. AGRADECIMIENTOS

A Fernando Arrieta y José Ángel Alins por efectuar los tratamientos en campo y al agricultor José Luis Torrecilla. El trabajo se financió con el proyecto INIA E-RTA2014-00011-C02.

5. REFERENCIAS

- MAPAMA (2017). Registro de productos fitosanitarios. Disponible en: <http://www.mapama.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/registro/menu.asp>. Página visitada el 5 de abril de 2017.
- Pardo G, Cirujeda A, Marí AI, Aibar J, Fuertes S, and Taberner A (2016). El teosinte: descripción, situación actual en el valle del Ebro y resultados de los primeros ensayos. *Vida Rural* 408, 42-48
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible: <http://www.R-project.org/>. Visitada el 20 agosto de 2014.

Evaluation of diverse herbicides for teosinte control in crops different to maize

Summary: The efficacy of 6 authorized herbicides was evaluated in summer crops that can be rotated with maize: sunflower, legumes or fallow on teosinte (*Zea mays* spp. *mexicana ad. int*) control. The evaluated herbicides were: cycloxydim, clethodim, fluazifop, glyphosate, imazamox, and quizalofop. Three trials were carried out in a field without any commercial crop infested with teosinte at Torralba de Aragón (Huesca), one in 2015 and two in 2016. Cycloxydim, clethodim, fluazifop and quizalofop controlled teosinte perfectly. Glyphosate showed low efficacy in 2015 and very high control in 2016, probably due to the higher dose applied that year. Imazamox showed low efficacy, possibly because it is an active ingredient that works best at temperatures lower than those given in the test conducted in July.

Keywords: chemical control, herbicides for grasses control, ingredient active, invasive plant.

Respuesta a glifosato de seis especies de malas hierbas dicotiledóneas de maíz en Castilla y León

María Concepción Escorial¹✉, Andrés Pérez-Fernández¹, Iñigo Loureiro¹,
María Cristina Chueca¹

¹Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Dpto. Protección Vegetal,
Ctra. La Coruña Km 7,5, 28040-Madrid
✉ escorial@inia.es

Resumen: El objetivo de este estudio es monitorizar, antes de que se utilice extensivamente el herbicida glifosato, la variación natural en la respuesta de diversas poblaciones de especies de malas hierbas de maíz no expuestas previamente a este herbicida. Este estudio permitirá conocer la respuesta de esas especies a glifosato y predecir futuros cambios ante su aplicación mediante métodos e instrumentos adecuados como establece la normativa vigente. Para el establecimiento de las líneas base se ha recogido semilla de poblaciones alejadas entre sí y procedentes de las provincias con mayores superficies cultivadas de maíz de Castilla y León. Se han realizado estudios de dosis-respuesta al herbicida glifosato y se han calculado los valores de ED₅₀ para establecer el rango de sensibilidad de cada especie. Estos datos servirán de base de comparación para detectar posibles variaciones en respuesta a glifosato.

Palabras clave: *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Solanum nigrum*, *Xanthium spinosum*, *Xanthium strumarium*.

1. INTRODUCCIÓN

Una nueva estrategia para el uso sostenible de plaguicidas publicada en el Real Decreto 1311/2012 modifica profundamente el manejo de estos productos racionalizando su uso para reducir los riesgos. Por otra parte, la liberación intencional y comercialización de Organismos Modificados Genéticamente (OMG), regulada bajo la Directiva 2001/18/CE, requiere de una evaluación y seguimiento del riesgo agrícola y medioambiental cuyo objetivo es identificar y evaluar efectos adversos potenciales de los OMG.

Desde que comenzó la comercialización de cultivos transgénicos en 1996, el carácter introducido dominante ha sido la tolerancia a herbicidas (HT). En 2016, este tipo de evento, solo o en unión de resistencia a insectos (IR), ocupó más del 80% de la superficie mundial de cultivos genéticamente modificados (GM), que fue de 186 millones de hectáreas (James, 2017).

El posible impacto que se pueda producir por el empleo de cultivos tolerantes a herbicidas dependerá de diversos factores como el cultivo introducido, el método de gestión y uso del mismo y la naturaleza del medio receptor. Además los efectos pueden ser directos, dependientes del cultivo, o indirectos derivados de interacciones con otros organismos o cambios en el uso o la gestión. Entre los efectos indirectos se encuentran las prácticas agrarias en especial el uso de productos fitosanitarios, las rotaciones y la interacción entre el cultivo GM y los organismos, como son las malas hierbas, presentes en la zona.

Un impacto de gran importancia y consecuencia de un inadecuado tipo de régimen fitosanitario es la aparición de fenómenos de resistencia en las especies diana y la subsecuente aplicación de cantidades cada vez mayores de plaguicidas que afectarán directamente a la contaminación química del medio natural. Es este un fenómeno natural que puede verse agravado por los culti-

vos GM tolerantes a glifosato. Por ello, los cultivos GM tolerantes a herbicidas pueden contribuir a incrementar la resistencia en las malas hierbas (Johnson et al., 2009),

A pesar de que actualmente no está autorizado ningún cultivo GM tolerante a herbicidas en Europa, hasta hace relativamente poco tiempo sí se han presentado solicitudes para la comercialización de un evento de maíz tolerante a glifosato. A pesar de sus ventajas que hacen a estos cultivos atractivos para el agricultor, el uso inadecuado de herbicidas de amplio espectro puede afectar a la composición y la abundancia de las especies de malas hierbas. La aparición de poblaciones resistentes, sobre todo en monocultivos, sistemas con rotación limitada o mínimo laboreo, podría amenazar la utilidad tanto de herbicidas como de cultivos GM (Johnson et al., 2009), además de producir modificaciones en la flora y por tanto en la diversidad biológica.

El maíz es uno de los cuatro principales cultivos transgénicos cultivados. De las más de 180 millones de hectáreas (Mha) de maíz que se cultivan el mundo (FAO, 2013), 55 millones de hectáreas (30%) fueron variedades transgénicas en 2014 y dentro de éstas, 47,4 millones de hectáreas (86%) eran variedades que portaban el carácter de resistencia a herbicidas (7,5 Mha HT más 39,9 Mha HT+IR) (James, 2015). El único evento autorizado y cultivado en la Unión Europea (UE) es el maíz transgénico tolerante a taladro (*Bt*). En España la superficie estimada de cultivo de maíz GM fue de 107.749 hectáreas en el año 2015 (MAGRAMA, 2015), En Castilla y León de las 117.529 hectáreas de maíz cultivadas se registraron 63 hectáreas de maíz GM.

El objetivo de este estudio es monitorizar en la actualidad, antes de que se utilice de forma extensiva el herbicida glifosato en el cultivo del maíz o en otros cultivos sembrados en la misma zona, cuál es la variación natural en la respuesta a este herbicida de poblaciones de diferentes especies de malas hierbas dicotiledóneas del maíz que no han sido previamente expuestas a glifosato. Para ello, se va a determinar la susceptibilidad a glifosato de diferentes poblaciones de seis especies de dicotiledóneas recogidas en campos de maíz en Castilla y León.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal. En la realización de los ensayos de respuesta a glifosato se ha utilizado semilla de diferentes poblaciones de seis especies de malas hierbas dicotiledóneas presentes en las principales áreas maiceras de Castilla y León. Las especies estudiadas fueron: *Abutilon theophrasti* Medik. (5 poblaciones); *Amaranthus retroflexus* L. (10 poblaciones); *Chenopodium album* L. (10 poblaciones); *Solanum nigrum* L. (5 poblaciones); *Xanthium spinosum* L. (5 poblaciones), *Xanthium strumarium* L. (8 poblaciones). La semilla de estas poblaciones se ha recogido al azar en campos de maíz a madurez del cultivo.

2.2. Tratamientos con glifosato. La semilla de cada población se pre-germinó y las plántulas se trasplantaron a vasos de plástico de 200 ml rellenos con una mezcla al 75% de tierra:mantillo:arena (1:1:1) y 25% vermiculita, con 3 plántulas por vaso. En el caso de las especies de *Xanthium* spp. no se pre-germinaron y se empleó una planta por vaso. Cuando las plantas se encontraban en estado de 2 hojas se aplicó el herbicida Roundup® (glifosato 36% p/v), con 7 tratamientos a dosis 0; 16,8; 33,8; 67,5; 135; 270 y 1.080 g m.a. ha⁻¹ (1x). Para cada población y dosis se realizaron 3 repeticiones, con 5 vasos por repetición. Estos ensayos se repitieron 2 veces en el tiempo.

Los tratamientos se realizaron con un pulverizador automático (Devries Manufacturing, Hollandale, EEUU) equipado con una boquilla plana Teejet 8002-E calibrado para pulverizar 175 L.ha.⁻¹ a 130 kPa.

Una vez tratadas las plantas se mantuvieron en una cámara de condiciones controladas con un fotoperiodo de 16 h luz (250-300 $\mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ PAR) y 8 h de oscuridad y una temperatura de 30°C/16°C (día/noche). Transcurridas 2 semanas del tratamiento, 3 en el caso de las especies de *Xanthium*, se pesó la parte aérea de las plantas para obtener el parámetro de peso fresco y se desecaron en estufa a 80° C durante 48 h para obtener el peso seco.

Se aplicó la transformación \sqrt{x} a los valores de peso seco obtenidos (en porcentaje de testigo) previa realización el análisis de varianza para determinar diferencias entre poblaciones, tratamientos y su interacción.

La dosis de herbicida que causa el 50% de inhibición del crecimiento medido mediante el parámetro peso seco, respecto al testigo (ED_{50}), se calculó para cada población mediante el ajuste de los datos de peso seco a un modelo de regresión no lineal de tipo log-logístico (Seefeldt et al., 1995).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra las curvas de dosis respuesta ajustadas para el parámetro reducción del peso seco (en % de testigo) para la respuesta a glifosato de las muestras de poblaciones de las diferentes especies de malas hierbas. Todas las poblaciones de cada una de las especies estudiadas fueron susceptibles al herbicida.

En el caso de *A. theophrasti*, *S. nigrum* y las dos especies de *Xanthium* el análisis de varianza no mostró diferencias significativas en la respuesta a glifosato de las poblaciones estudiadas ($P>0,05$). Sí existen diferencias en la respuesta de las poblaciones estudiadas de *A. retroflexus* y *C. album*, sin embargo la relación entre los ED_{50} de las poblaciones más y menos susceptibles fue de 1,6 para *A. retroflexus* y de 2,1 para *C. album*.

En relación con la variabilidad interespecifica en la respuesta a glifosato de especies dicotiledóneas de maíz, el análisis de varianza mostró diferencias significativas entre especies ($P<0,05$) siendo las especies más susceptibles *S. nigrum* y *A. retroflexus* y las más tolerantes *A. theophrasti* y *X. spinosum*.

La tabla 1 muestra la media \pm desviación estándar del parámetro ED_{50} obtenido para las poblaciones ensayadas de cada especie. El rango de los valores de ED_{50} para las especies estudiadas varía entre 16,04 \pm 3,78 g m.a. ha⁻¹ para *A. retroflexus* y 51,30 \pm 9,71 g m.a. ha⁻¹ para *A. theophrasti*. Estas diferencias son probablemente debidas a diferencias entre las especies en la sensibilidad al herbicida ya que todas las poblaciones de todas las especies estudiadas se pueden considerar en este momento susceptibles al herbicida.

Tabla 1. Dosis de glifosato que causa el 50% de inhibición del crecimiento respecto al testigo (ED_{50}), calculada mediante un modelo de regresión no lineal de tipo log-logístico de Seefeldt et al. (1995) para cada una de las 6 especies estudiadas

Especie	Nombre común	N.º de poblaciones	$\text{ED}_{50} \pm \text{DE}$ (g m.a. ha ⁻¹)
<i>Abutilon theophrasti</i>	Abutilo	5	51,30 \pm 9,71
<i>Xanthium spinosum</i>	Abrojo	5	41,13 \pm 5,42
<i>Chenopodium album</i>	Cenizo	10	37,60 \pm 5,39
<i>Xanthium strumarium</i>	Abrojo	8	24,41 \pm 4,15
<i>Solanum nigrum</i>	Tomatito	5	22,17 \pm 6,52
<i>Amaranthus retroflexus</i>	Bledo	10	16,04 \pm 3,78

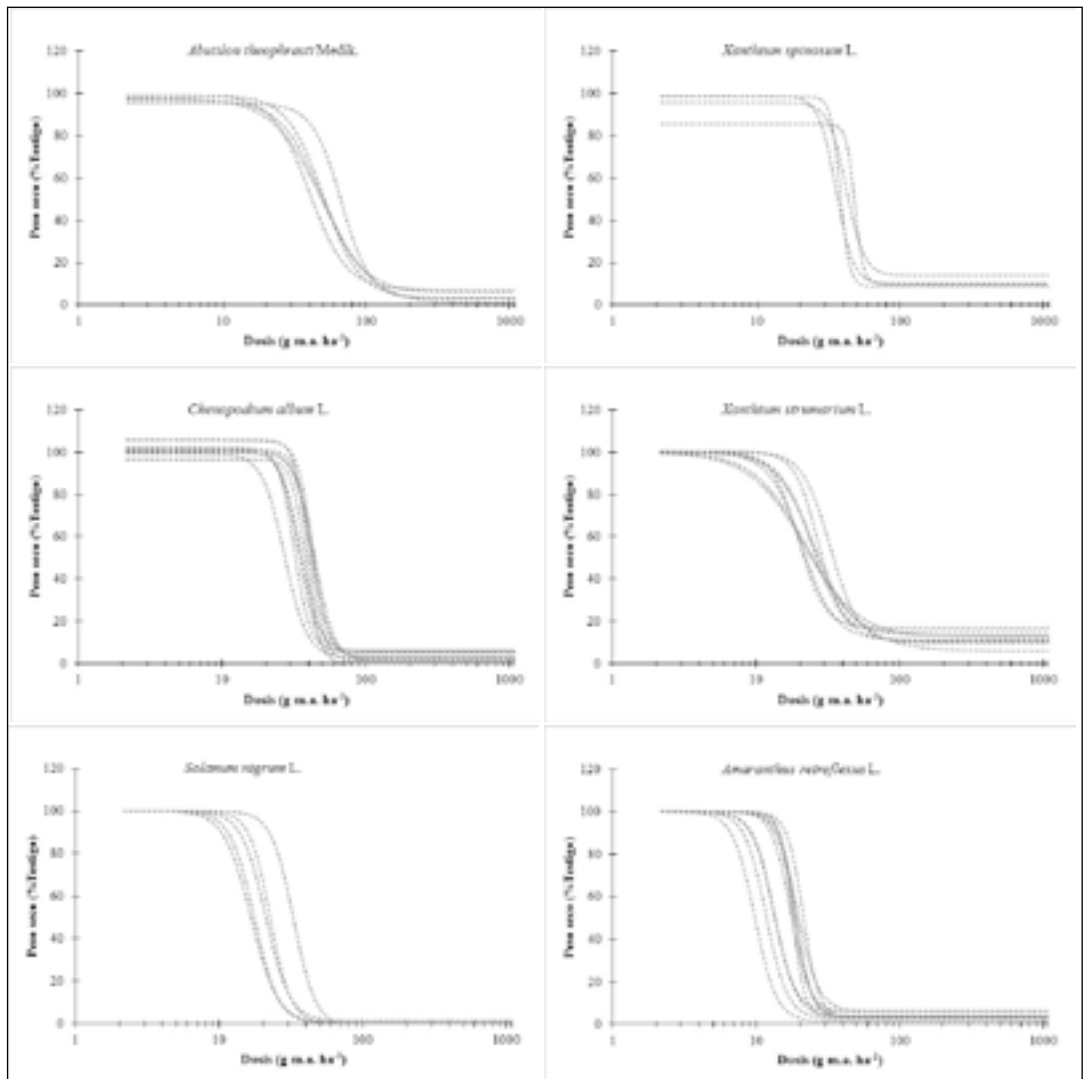


Figura 1. Curvas de dosis-respuesta para el parámetro peso seco (% testigo) de las diferentes especies de malas hierbas estudiadas.

Existen referencias en la literatura sobre evoluciones en la flora debido al uso continuado de glifosato (Cerdeira and Duke, 2006) y se han publicado diferentes encuestas realizadas entre científicos y agricultores de los Estados Unidos, que muestran que el 80% de los encuestados perciben que los cambios de flora ocurren asociados al uso continuado de glifosato en cultivos tolerantes (Culpepper, 2006; Gibson et al., 2006; Johnson and Gibson, 2006). En la actualidad, están citados biotipos resistentes a glifosato en 37 especies de malas hierbas de 28 géneros diferentes (Heap, 2017), siendo *Amaranthus* el único de los géneros estudiados que si presenta especies resistentes a glifosato

Este estudio permite conocer el comportamiento actual de estas especies dicotiledóneas a la aplicación del herbicida glifosato y su variación natural, antes de que se haya podido utilizar de forma extensiva para el control de malas hierbas en los cultivos. Esto permitirá hacer un seguimiento en el tiempo de la respuesta de estas especies y poder así detectar a tiempo el inicio de una resistencia (que puede que se haya ya iniciado o no para *C. album* y/o *A. retroflexus*). Estos ensayos realizados en cámara de condiciones controladas podrán ser reproducidos en un futuro con el fin de evaluar variaciones en el parámetro ED₅₀ obtenido, que sea indicio de un inicio de descenso en el control de esta especie con este herbicida, y servir de aviso teórico de la posibilidad de aparición de problemas de resistencia.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado gracias a la EG13-075 del MAGRAMA al INIA.

5. REFERENCIAS

- Cerdeira A & Duke SO (2006). The current status and environmental impacts of glyphosate-resistant crops: A Review. *Journal Environmental Quality*, 35, 1633-1658.
- Culpepper AS (2006). Glyphosate-induced weed shifts. *Weed Technology* 20, 277-281.
- FAOSTAT. (2013). Acc. 16 May 2016. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#anchor>.
- Gibson KD, Johnson WG and Hillger DE (2006). Farmer perceptions of weed problems in corn and soybean rotation systems. *Weed Technology*, 20, 751-755.
- Heap I (2017). International survey of herbicide resistant weeds. www.weedscience.org. Accessed 8 May 2017.
- James C (2015). Global status of commercialized biotech/GM crops: 2014, ISAAA Brief No 49. ISAAA, New York.
- Johnson WG & Gibson KD (2006). Glyphosate-resistant weeds and resistance management: an Indiana grower perspective. *Weed Technology*, 20, 768-772.
- Johnson WG, Davis VM, Kruger GR and Weller SC (2009). Influence of glyphosate-resistant cropping systems on weed species shifts and glyphosate-resistant weed populations. *European Journal of Agronomy*, 31, 162-172.
- MAGRAMA(2015). <http://www.magrama.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/biotecnologia/organismos-modificados-geneticamente-omg/-consejo-interministerial-de-ogms/superficie.aspx>. Accessed 16 May 2016.
- Seefeldt S, Jensen J and Fuerst, P (1995). Log-Logistic analysis of herbicide dose- response relationships. *Weed Technology*, 9, 218-227.

Response to glyphosate of six species of dicotyledonous weeds of maize in Castilla y León

Summary: The objective of this study is to monitor the natural variation in the response to glyphosate of various populations of weeds in maize not previously exposed to this herbicide, prior to the extensive use of the herbicide. This study will make possible to know the response of these species to glyphosate and to predict future changes in their application through appropriate methods and instruments as established by current regulations. For the establishment of the baseline, seeds from distant populations of weeds have been collected from the provinces with greater cultivated areas of maize from Castilla y León. Dose-response studies have been carried out and ED₅₀ values have been calculated to establish the range of sensitivity of each species. These data will serve as a basis for comparison to detect possible variations in response to glyphosate.

Keywords: *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus*, *Chenopodium album*, *Solanum nigrum*, *Xanthium spinosum*, *Xanthium strumarium*.

Comportamiento químico del herbicida profoxidim y su formulado AURA. Efecto en *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.

Pilar Sandín-España¹, Mercedes Villarroya-Ferruz¹, Carmen López-Goti¹,
María José Patiño-Ropero¹, José Luis Alonso-Prados¹, María Inés Santín-Montanyá^{2,✉}

¹DTEVPF-Unidad de Productos Fitosanitarios
²Dpto. de Protección Vegetal, Instituto Nacional de Investigación Agraria y Alimentaria (INIA), Ctra. de la Coruña, Km 7.5, Madrid 28040
✉ isantin@inia.es

Resumen: En este trabajo se ha estudiado el comportamiento químico del herbicida profoxidim y de su formulado Aura. Los resultados muestran que en ambas sustancias la degradación del herbicida es muy rápida con tiempos de vida media inferiores a un día, por lo que será poco probable encontrar este herbicida en el medio ambiente. El estudio de sus productos de degradación nos permitió identificar productos resultantes de su isomerización y su oxidación. También, se ha observado que el perfil y evolución de estos compuestos va a depender en gran medida de la formulación y las condiciones ambientales. Además, se realizaron bioensayos de germinación de semillas para determinar el efecto del profoxidim en el crecimiento de raíz y coleoptilo de la especie *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. Se obtuvieron las curvas dosis-respuesta de este herbicida y se calcularon los valores de EC₅₀.

Palabras clave: profoxidim, formulado, degradación, productos de degradación, bioensayo.

1. INTRODUCCIÓN

El herbicida profoxidim pertenece a la familia de las ciclohexanodionas (herbicidas inhibidores de la ACCasa) para el control de malas hierbas en el cultivo del arroz. Su producto formulado y comercializado por la empresa BASF es Aura, y contiene 200 g L⁻¹ de sustancia activa.

Esta familia de herbicidas se caracteriza por una rápida degradación en el medio con el fin de disminuir sus residuos en suelo y agua (Sevilla-Morán et al., 2014, Bridges et al., 1991). Estudios previos de herbicidas de esta familia demuestran que su principal ruta de degradación en agua es la fotolítica, presentando vidas medias de fotodegradación de horas o minutos (Sandín-España et al., 2013; Sevilla-Morán et al., 2014).

Una vez aplicado en el cultivo de arroz, el profoxidim puede degradarse en el agua por factores abióticos, principalmente la luz y la temperatura, dando lugar a la formación de productos de transformación. En general, los productos de degradación son difíciles de detectar, ya que no se dispone de patrones analíticos de todos ellos para identificarlos y se encuentran en dosis bajas. Además, en muchos casos, su naturaleza dificulta su análisis (Sandín-España et al., 2015a).

Por otra parte, en muchas ocasiones, los estudios de laboratorio se llevan a cabo con la sustancia activa, por lo que se dispone de poca información sobre el comportamiento del compuesto formulado que es el que se aplica en el cultivo. Sin embargo, las sustancias co-formulantes podrían afectar al comportamiento de la sustancia activa y a los productos de degradación que se forman (Sevilla-Morán et al., 2017), por lo que es de gran interés la realización de estudios de comportamiento con el formulado.

En este contexto, uno de los objetivos del presente trabajo fue comparar el comportamiento químico del herbicida profoxidim y su formulado Aura en cámara de crecimiento en condiciones reproducibles con parámetros controlados, simulando condiciones ambientales de campo. Por

otra parte, se ha realizado un estudio comparativo de la evolución de los productos de degradación formados que se han detectado con ambas sustancias. Otro objetivo de este estudio fue determinar la curva dosis-respuesta del profoxidim en la especie de mala hierba *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., de gran importancia en el cultivo del arroz.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Comportamiento químico del profoxidim y su formulado Aura. Para estudiar el comportamiento químico de las sustancias profoxidim y Aura se pusieron disoluciones acuosas de ambas sustancias en placas Petri con una concentración de 17 mg L^{-1} , que corresponde a la dosis de campo (1 L Ha^{-1}), y se colocaron en cámara de crecimiento con unas condiciones óptimas para el crecimiento de la mala hierba *Echinochloa* spp. Dichas condiciones consisten en un fotoperiodo y termoperiodo de 16 horas de luz (Luminosidad: $210\text{-}230 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$) a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ y 8 horas de oscuridad a $20 \pm 1^\circ\text{C}$, y una humedad relativa de 70-80%. A diferentes días, se tomaron alícuotas de $100 \mu\text{L}$ de las placas Petri y se analizaron mediante cromatografía líquida con detector de diodo-array (Agilent Technologies, series 1200) para determinar la concentración existente en cada momento del herbicida así como los productos de degradación que se van formando a medida que desaparece la sustancia activa. Se tomaron muestras durante siete días. Para realizar estos estudios nuestro grupo de investigación desarrolló dos métodos analíticos. El primer método, empleado únicamente para el estudio cinético de degradación del profoxidim, fue un método isocrático empleando acetónitrilo/agua 90/10 (0,1% ácido fórmico). El segundo método cromatográfico, desarrollado para la detección de los productos que se forman, fue un método en gradiente desde el 23% al 90% de acetónitrilo y una duración de 35 minutos.

En ambos métodos la columna empleada para la separación de los compuestos fue una columna en fase reversa C18 Water Atlantis T3 de $4,6 \times 150 \text{ mm}$, y el volumen de inyección de $50 \mu\text{L}$. La longitud de onda óptima para el profoxidim fue de 254 nm .

2.2. Curva dosis-respuesta con profoxidim en *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. Además, se estudió la respuesta de la especie de mala hierba *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. a diferentes concentraciones de la sustancia activa profoxidim, mediante un bioensayo de germinación en placa Petri, en cámara de crecimiento. El bioensayo se llevó a cabo con una solución madre de 5 mg L^{-1} de profoxidim a partir de la cual se elaboraron las siguientes diluciones: 0 - 0,005 - 0,01 - 0,02 - 0,05 - 0,1 - 0,5 - 1 mg L^{-1} de la sustancia activa, basadas en un «screening» preliminar en laboratorio para mostrar el parámetro biológico más sensible a la acción del herbicida. En cada placa se colocaron 50 semillas de una población de *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. sobre dos discos de papel de filtro. Las placas con las semillas se mantuvieron cerradas durante 3 días, transcurridos los cuales se abrieron y se pasaron a una bandeja con papel de filtro humedecido que se cubrió con plástico transparente para mantener la humedad y para que el coleoptilo tuviera espacio para su crecimiento, y se cuantificaron los efectos en el crecimiento de la radícula y el coleoptilo de las plantas a los 8 días. El bioensayo se llevó a cabo en cámara de crecimiento bajo las mismas condiciones de iluminación, temperatura y humedad relativa descritas anteriormente.

Los datos de crecimiento de raíz y longitud de coleoptilo de la especie de mala hierba objeto del estudio se ajustaron a un modelo log-logístico (Seefeldt et al., 1995). Se obtuvo la ecuación

de Seefeldt, comúnmente utilizada en los bioensayos para describir las relaciones dosis-respuesta entre planta y herbicida. La expresión matemática utilizada que relaciona la respuesta Y con la dosis de herbicida X es:

$$\text{LOG-LOGISTIC: } Y=C+ ((D-C)/ (1+\exp (b * \text{LOG} (X)-\text{LOG} (EC_{50}+1))))$$

Donde C es la asíntota menor, D la asíntota mayor, b la pendiente de la curva alrededor de la EC_{50} , y EC_{50} es la dosis a la que obtenemos un 50% de la respuesta.

Todos los análisis fueron realizados utilizando Statgraphics Plus v.5.0 software (Copyright © 1994-2000 Statistical Graphics Corp. STATPOINT Technologies, Inc. USA).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Comportamiento químico del profoxidim y su formulado Aura. La figura 1 muestra la cinética de degradación de la sustancia activa profoxidim y su formulado Aura durante 7 días. En ambos casos, las cinéticas se ajustan muy bien a una cinética de primer orden ($r^2 \geq 0,99$). En primer lugar, se puede observar que la degradación del herbicida en ambos casos es relativamente rápida. La vida media para la sustancia activa pura fue de 0,90 días. Sin embargo, la vida media de la sustancia activa en el formulado es inferior, 0,23 días, acelerándose su disipación. Este efecto podría atribuirse a la presencia de adyuvantes con grupos aromáticos que podrían actuar como fotosensibilizadores (Sevilla-Morán et al., 2017). En paralelo, se realizó un estudio en oscuridad, mostrando una mínima disipación del herbicida por lo que la ruta principal de degradación es la fotolítica. Esta ruta de degradación también se ha observado que es la principal para otros herbicidas de la familia de las ciclohexanodionas (Sandín-España et al., 2015a; Sevilla-Morán et al., 2014).

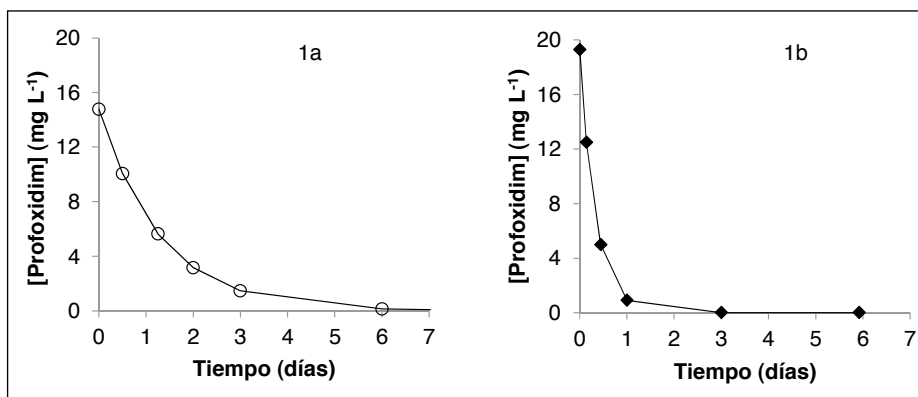


Figura 1. Degradación del profoxidim (1a) y su formulado Aura (1b) en cámara de crecimiento.

Con respecto a los productos de degradación formados, en estudios previos en laboratorio en aguas naturales (datos no publicados) se identificaron hasta 7 metabolitos mediante HPLC-Qtof-MS. Los compuestos detectados en el presente estudio se compararon con los compuestos identificados anteriormente. En las condiciones de degradación en cámara solamente se han

detectado 3 productos a concentraciones significativas de los identificados previamente, siendo los 4 restantes encontrados a niveles traza tanto en la sustancia pura como en el formulado. Estos 3 compuestos son el resultado de reacciones de isomerización de la forma *E* al isómero *Z* (P3), y la oxidación del átomo de azufre tanto en el isómero *E* como en el *Z*, formándose los correspondientes sulfóxidos (P1 y P2). En la figura 2a se muestra el cromatograma de la degradación de profoxidim a las 48 horas en cámara y en la figura 2b la estructura química de las moléculas detectadas. Todos estos compuestos son más polares que el profoxidim, aumentando su solubilidad en agua. La proporción en la que se encuentran estos compuestos en las muestras analizadas de profoxidim puro y formulado son diferentes disminuyendo la proporción de sulfóxidos en el formulado. Esto puede ser debido a que los compuestos presentes en el formulado influyen en la degradación de los metabolitos y/o en los mecanismos de reacción.

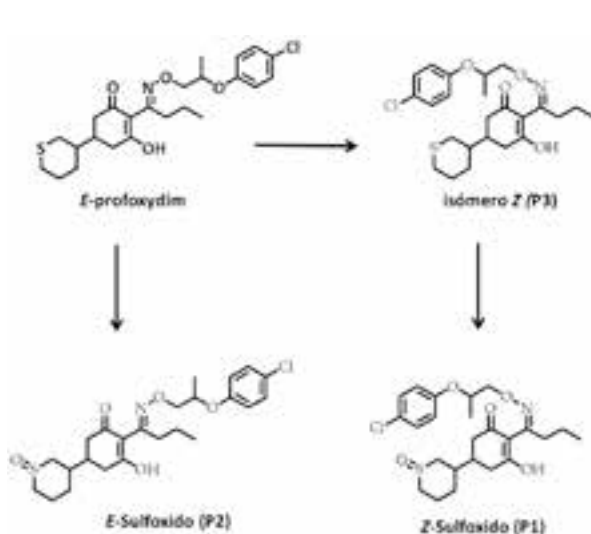
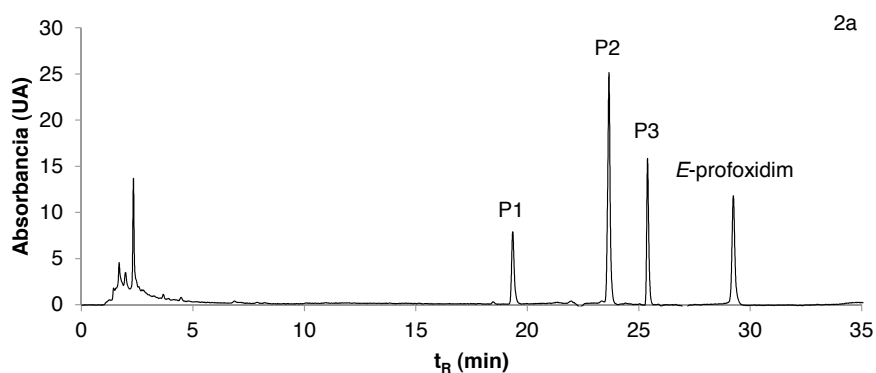


Figura 2. 2a) Cromatograma HPLC-DAD ($\lambda=254$ nm) de la muestra degradada de profoxidim a las 48 horas; 2b) Estructura química de los productos de degradación detectados en la degradación de profoxidim puro y profoxidim formulado.

3.2. Curva dosis-respuesta con profoxidim en *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. Respecto a los bioensayos de germinación, podemos observar como hubo efecto fitotóxico significativo por la aplicación de distintas concentraciones de profoxidim, tanto en los parámetros de la raíz como en el coleoptilo de la especie ensayada, siendo dicho efecto mayor en la raíz que en el coleoptilo (Fig. 3). El efecto fue significativamente mayor a partir de 0,01 mg L⁻¹ de profoxidim en la elongación de la raíz (la EC₅₀ obtenida fue de 0,017 y 0,019 mg L⁻¹ en cada bioensayo). En el crecimiento del coleoptilo, dicho efecto se estimó a partir de 0,3 mg L⁻¹ del compuesto herbicida (con un valor de EC₅₀ de 0,32 y 0,42 mg L⁻¹).

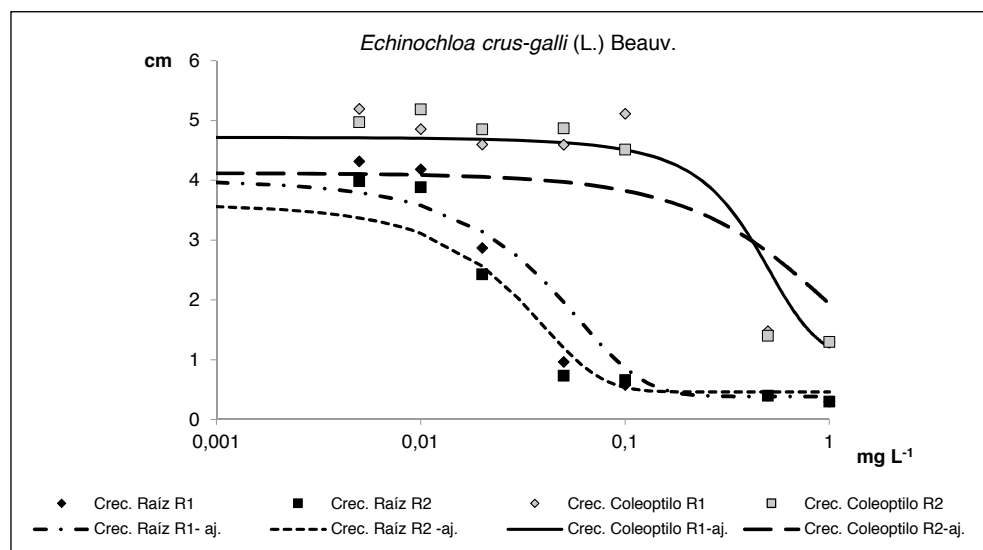


Figura 3. Curvas dosis-respuesta al profoxidim del crecimiento de raíz y coleoptilo de *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. obtenidas en los bioensayos de germinación.

A la luz de lo expuesto, es necesario hacer estudios y desarrollar metodologías sencillas que permitan la evaluación del impacto medioambiental de estos productos basándose en datos científicamente contrastados. En este sentido, los ensayos biológicos ofrecen una información práctica, al basarse en la observación de la respuesta de la planta al herbicida y ampliar nuestro conocimiento sobre la presencia y el destino de los herbicidas en las plantas (Sandín-España et al., 2015b; Reineke et al., 2002).

Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de la presencia de los co-formulantes en el destino de una sustancia activa una vez aplicada en el campo. Además, se ha observado que las concentraciones a las que se encuentran los productos de degradación varían cuando la sustancia se encuentra pura o en el formulado así como cuando se realizan los experimentos en diferentes condiciones ambientales. Por otra parte, debido a la rápida degradación de este herbicida, sería poco probable encontrar residuos de profoxidim en las diferentes matrices medioambientales. Por último, la curva dosis-respuesta en *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. muestra que el parámetro biológico más sensible a la acción del herbicida es el crecimiento de raíz.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto RTA2014-00044-00-00.

5. REFERENCIAS

- Bridges DC, Smith AE and Falb LN (1991). Effect of adjuvant on foliar absorption and activity of clethodim and polar degradation products of clethodim. *Weed Science*, 39, 543-547.
- Reineke N, Bester K, Huhnerfuss H, Jastorff B and Weigel S (2002). Bioassay-directed chemical analysis of river Elbe surface water including large volume extractions and high performance fractionation. *Chemosphere*, 47, 717-723.
- Sandín-España P, Sevilla-Morán B, Calvo L, Mateo-Miranda M and Alonso-Prados JL (2013). Photochemical behavior of alloxydim herbicide in environmental waters. Structural elucidation and toxicity of degradation products. *Microchemical Journal*, 106, 212-219.
- Sandín-España P, Sevilla-Morán B, López-Goti C, Mateo-Miranda MM and Alonso-Prados JL (2015a). Identification of sethoxydim degradation products in natural waters under different light sources by HPLC-QTOF-MS. *Microchemical Journal*, 119, 6-10.
- Sandín-España P, Sevilla-Morán B, Villaroya-Ferruz M, Alonso-Prados JL and Santín-Montanyá MI (2015b). Comparative phytotoxicity assays of the herbicide alloxydim and its main identified photo-product in cereal and broadleaves crops. *Weed Science*, 63, 377-387.
- Seefeldt SS, Jensen JE, Patrick Fuerst E (1995). Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technology*, 9, 218-225.
- Sevilla-Morán B, Calvo L, López-Goti C, Alonso-Prados JL and Sandín-España P (2017). Photodegradation behaviour of sethoxydim and its commercial formulation Poast® under environmentally-relevant conditions in aqueous media. Study of photoproducts and their toxicity. *Chemosphere*, 168, 501-507.
- Sevilla-Morán B, López-Goti C, Alonso-Prados JL and Sandín-España P (2014). Aqueous photodegradation of sethoxydim herbicide: Qtof elucidation of its by-products, mechanism and degradation pathway. *Science of the Total Environment*, 472, 842-850.

Chemical behaviour of the herbicide profoxydim and its formulated Aura. Effect on *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.

Summary: In this work, we have studied the chemical behavior of the herbicide profoxydim and its formulated Aura. The results showed that in both samples the degradation of the herbicide is quick with half-lives less than one day, so it will be difficult to find this compound in the environment. Regarding degradation products, we could identify three major compounds that are the result of reactions of isomerization and oxidation of the sulfur atom. Besides, the concentration and evolution of degradation products depends to a great extent on the formulation and the environmental conditions. In addition, seed germination bioassays were conducted to determine the effect of profoxydim on root and coleoptile elongation of the species *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. We obtained the doses-response curves of this herbicide and calculated the EC₅₀ values.

Keywords: profoxydim, formulated, degradation, degradation products, bioassay.

Evaluación de la posible fitotoxicidad de una aplicación de glifosato en los días previos y posteriores a la siembra de la cespitosa *Lolium perenne*

Diego Gómez de Barreda¹✉, María Alcántara, Verónica De Luca¹

¹Departamento de Producción Vegetal. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n, 46022-Valencia
✉ diegode@btc.upv.es

Resumen: El objetivo de este trabajo es determinar el tiempo de seguridad que ha de transcurrir desde una aplicación al suelo de glifosato y una emergencia segura del césped. Para ello se trató con glifosato un suelo arenoso contenido en bandejas de alveolos y se sembró diariamente *Lolium perenne* desde 6 días antes del tratamiento hasta 6 días después del mismo, evaluándose el peso seco del césped/alveolo. El herbicida glifosato no afecta a la viabilidad de *L. perenne* si se aplica antes de sembrar e incluso si se aplica el mismo día o hasta dos días después de la siembra. En cambio, se desaconseja aplicarlo tres días después de la siembra aunque el césped no haya emergido, pues la semilla ya ha germinado exponiendo el coleoptilo al herbicida dentro del suelo.

Palabras clave: adsorción, césped, ray-grass inglés, textura arenosa.

1. INTRODUCCIÓN

A la hora de implantar un césped, es fundamental hacerlo con el terreno libre de malas hierbas pues la competencia por los recursos entre éstas y las semillas de las especies cespitosas en germinación puede ser muy elevada. El problema se agrava si las malas hierbas presentes son aquellas adaptadas al manejo del césped (siegas periódicas, riego frecuente y pisoteo continuo) como *Cyperus rotundus*, *Digitaria sanguinalis*, *Eleusine indica* o *Poa annua*. Por ello, es habitual realizar previo a la siembra, además del desmenuzamiento del suelo mediante labor de fresadora, una aplicación de herbicida total, sobre todo, si tras la mencionada labor de fresadora, se tarda unos días en sembrar pues pueden emerger de nuevo las malas hierbas. En estos casos se aplica, en postemergencia temprana de las malas hierbas, glifosato o diquat, ambos autorizados para su uso en céspedes, siendo más habitual el glifosato por su capacidad de translocación, baja toxicidad y bajo coste. Queda muchas veces la duda de cuándo sembrar tras el tratamiento herbicida con glifosato, pues el herbicida aplicado a las malas hierbas alcanza también el suelo y podría quedar en parte disuelto en la solución del mismo y afectar a las semillas del césped en germinación, aun teniendo esta materia activa una elevada rapidez en quedarse adsorbida al suelo (Strange-Hansen et al., 2004). De hecho, Salazar y Appleby (1982) observaron que aplicaciones de glifosato al suelo redujeron el crecimiento de la cespitosa *Agrostis tenuis* que se sembró a los 5 días de haber tratado ese suelo con glifosato. Sin embargo Hurto y Turgeon (1978) indicaron que no habían efectos adversos de un tratamiento de glifosato sobre el *thacht* (capa de materia orgánica, restos de siega, estolones, rizomas, etc., que algunas cespitosas forman entre el suelo y la parte aérea del césped), de una cespitosa cuando se pretendía sembrar sobre ella el ray-grass inglés (*Lolium perenne*). Es pues, el objetivo de este trabajo, determinar el tiempo de seguridad que ha de transcurrir desde una aplicación al suelo de glifosato y una emergencia segura del césped.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en bandejas de alveolos de poliestireno compuestas por 13x8 alveolos de 60 ml de capacidad. Los alveolos se rellenaron de una mezcla de arena de sílice/turba rubia a razón 90/10, siendo la arena de sílice de 0,6 mm de diámetro de partícula. Las bandejas se situaron en un invernadero en el que la temperatura oscilaba entre 16 y 24°C y recibían el riego mediante un sistema de microaspersión con gota fina, suspendido de la cubierta del invernadero. Se realizaron siembras de 10 semillas de *L. perenne* var Grand Slam 2 por alveolo, sembrándose 4 alveolos cada día durante 13 días consecutivos. El día 7 tras la primera siembra se realizó, además, el tratamiento herbicida con LOGRADO (glifosato, sal potásica, 36% p/v). La solución herbicida fue pulverizada sobre el suelo en las bandejas de alveolos haciéndola pasar por una boquilla de abanico Teejet 9504 EVS e impulsada por CO₂ a una presión de 304 kpa. Se aplicaron 2 dosis distintas de glifosato (1,2 y 3,6 kg ea/ha correspondientes a 3 y 10 l/ha de producto) además de un control sin tratar siendo la dosis de caldo herbicida aplicada de 300 l/ha. A los 23 días de cada una de las siembras se segó la parte aérea de las plántulas de *L. perenne* emergidas en cada alveolo y se secaron en estufa a 65°C hasta peso constante, obteniéndose el peso seco mediante pesada con una balanza de 0,001 g de precisión. El diseño del experimento fue de bloques completamente aleatorizados con 4 repeticiones. Se realizó entre noviembre y diciembre de 2015 y fue repetido al cabo de 3 meses, entre febrero y marzo de 2016. Para cada día de siembra se compararon las medias del peso obtenido según la dosis aplicada (0, 3 y 10 l/ha) y se realizaron los correspondientes ANOVA usando el programa informático Statgraphics Centurión XVI.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Como puede observarse en la figura 1 (primer experimento), tanto la siembra realizada el mismo día del tratamiento (siembra 7) como las que se hacen en los siguientes días (solo mostradas las siembras 8 y 9 pues de la 10 a la 13 son repetitivas), presentan el mismo peso seco de parte aérea del césped, independientemente del tratamiento herbicida recibido. Esto indica que en un suelo arenoso, en el que el glifosato tendrá menos posibilidades de ser adsorbido por las partículas del suelo que en uno arcilloso, el herbicida no afecta al desarrollo inicial de las plántulas de *L. perenne*, no mostrando además signos de fitotoxicidad. En cambio, las siembras realizadas entre 1 a 4 días antes de la aplicación herbicida si que muestran diferencias.

Son obvias las diferencias que hay en las siembras 1, 2 y 3, pues el coleóptilo ya ha emergido del suelo y el herbicida lo moja. En cambio, es interesante comprobar como la siembra 4 cuyas plántulas no habían emergido del suelo es asimismo afectada, pues el herbicida en proceso de adsorción al suelo, mojará al coleóptilo y/o la coleuriza incipientes. En cambio las siembras realizadas 1 y 2 días antes del tratamiento (siembras 6 y 5 respectivamente) no muestran diferencias estadísticas entre tratamientos pues el proceso germinativo de las semillas aun es reciente y no han debido emitir ni coleóptilo ni coleuriza.

En la misma figura 1 se puede ver también la gráfica correspondiente al segundo experimento realizado 3 meses tras finalizar el primero, llamando la atención que en general, el peso seco obtenido fue el doble del que se observa en el primer experimento, fruto sin duda del mayor número de horas de luz que hubieron en este segundo periodo (febrero a marzo frente a noviembre a diciembre) pues la temperatura fue la misma al estar regulada en el rango anteriormente descrito. En este segundo experimento, vuelven a no haber diferencias estadísticamente significativas entre

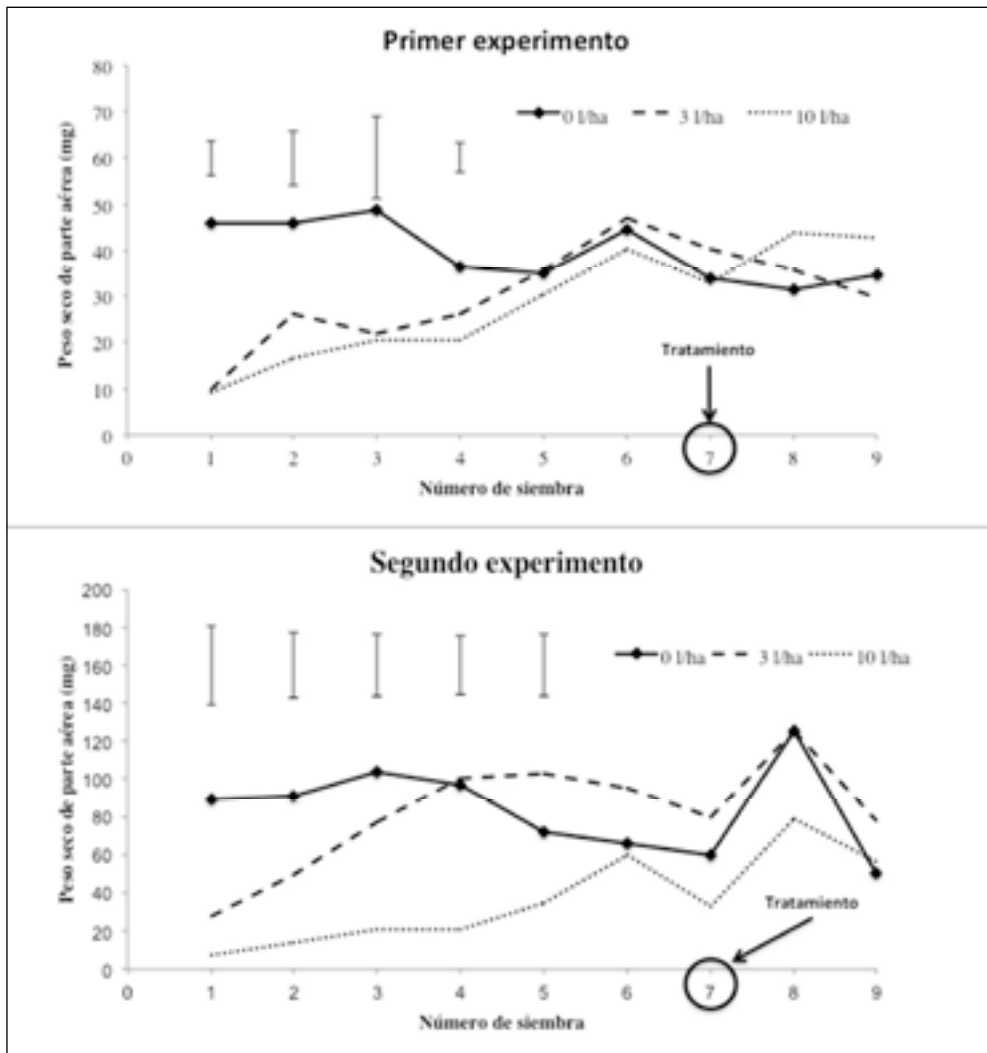


Figura 1. Comparación del peso seco de la parte aérea de las plántulas emergidas de *Lolium perenne* por alveolo según la dosis del herbicida glifosato aplicada al suelo. Las barras verticales son intervalos LSD que indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos en cada siembra a un nivel de probabilidad del 5%.

tratamientos cuando la siembra se realiza el día del tratamiento o fechas posteriores. Igualmente a lo que ocurría en el primer experimento, el herbicida afecta, obviamente, a las primeras siembras (1, 2 y 3) pues ya mostraban el coleoptilo emergido en el momento del tratamiento. La diferencia sustancial entre el primer y segundo experimento es que en el segundo, la siembra 4 realizada 3 días antes del tratamiento solo muestra pesos diferentes entre los tratamientos control y 3 l/ha frente al de 10 l/ha hecho que vuelve a ocurrir en la siembra siguiente (nº5) pero entre las dosis 3 y 10 l/ha. Este hecho solo puede explicarse por una posible dosificación o tratamiento errático

con la dosis de 3 l/ha, que solo afectase a las plántulas emergidas en la siembra 1 pero que no fuese suficiente para afectar a las plántulas emergidas en las siembras 2 y 3 como en el primer experimento.

Estos resultados son acordes a lo que publicaron Sprankle et al. (1975) indicando que aplicaciones de glifosato entre 0,46 y 4,48 kg ea/ha sobre un suelo arenoso en los que se sembraba maíz, soja y trigo, no afectaban a la germinación de estos cultivos. Sin embargo, a medida que se iba incrementando la dosis de glifosato, el peso seco de la parte aérea de las plantas disminuía; en el presente caso las dosis aplicadas fueron de 1,2 y 3,6 kg ea/ha. En otro trabajo, Segura et al. (1978) indicaron que se necesita al menos 3-4 kg ea/ha de glifosato sobre la semilla de ray-grass italiano (*Lolium multiflorum*) para reducir su tasa de germinación, e incluso una dosis mayor, más de 4 kg ea/ha cuando la semilla estaba cubierta por el suelo como es en el presente estudio.

En conclusión, se demuestra que una aplicación de glifosato para el control de malas hierbas en postemergencia temprana, realizada un día después de la siembra de *L. perenne*, o el mismo día de la siembra o unos días antes de la siembra, es segura para la germinación y emergencia de las plántulas de la cespitosa, al menos en un suelo arenoso y con las dosis utilizadas. En cambio, hay que evitar realizar el tratamiento 2 a 3 días después de la siembra pues, aunque la plántula aun no ha emergido, sí que ha germinado y el herbicida la puede mojar dentro del suelo y afectar su crecimiento.

4. REFERENCIAS

- Hurto KA & Turgeon AJ (1978). Effect of thatch on residual activity of nonselective herbicides used in turfgrass renovation. *Agronomy Journal*, 71, 66-71.
- Salazar LC & Appleby AP (1982). Herbicidal activity of glyphosate in soil. *Weed Science*, 30, 463-466.
- Segura J, Bingham SW and Foy CL (1978). Phytotoxicity of glyphosate to italian ryegrass (*Lolium multiflorum*) and red clover (*Trifolium pratense*). *Weed Science*, 26, 32-36.
- Sprankle P, Meggit WF and Penner D (1975). Rapid inactivation of Glyphosate in the soil. *Weed Science*, 23, 224-228.
- Strange-Hansen R, Holm PE, Jacobsen, OS and Jacobsen CS (2004). Sorption, mineralization and mobility of N-(phosphonomethyl) glycine (glyphosate) in five different types of gravel. *Pest Management Science*, 60, 570-578.

Lolium perenne seeding intervals around a glyphosate application

Summary: The objective of the present experiment was to determine the safety period between a glyphosate soil application and a perennial ryegrass (*Lolium perenne*) turfgrass sowing. Glyphosate was sprayed on a sandy soil contained in polystyrene trays in which *L. perenne* seeds were sown daily from 6 days before treatment to 6 days after treatment. Dry weight of *L. perenne* seedlings was determined in each socket of the trays. Glyphosate did not affect turfgrass growth when applied before turfgrass sowing or even if it was applied on the sowing day or until 2 days after sowing was performed. However, it is not recommended to apply glyphosate 3 days after sowing as seeds have already germinated exposing the coleoptile and coleorhiza to the herbicide.

Keywords: sorption, turfgrass, perennial rye-grass, sandy soil.

Evaluación de la eficacia y fitotoxicidad de herbicidas de post-emergencia en habas

Cristina Alcántara¹✉, Verónica Pedraza¹, Milagros Saavedra¹,
Alejandro Castilla², Francisco Perea³

¹Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Junta de Andalucía. Alameda del Obispo Apdo 3092, 14080 Córdoba, España.

²Rancho de la Merced, Jerez de la Frontera (Cádiz)

³Las Torres Tomejil (Sevilla).

✉ mariac.alcantara@juntadeandalucia.es

Resumen: La escasez de materias activas herbicidas de post-emergencia autorizadas en habas y la dificultad en el control de malas hierbas en este cultivo nos ha llevado a la evaluación de la eficacia en el control y fitotoxicidad sobre el cultivo de 7 herbicidas de post-emergencia a las dosis máximas autorizadas en el cultivo o país empleados. Ninguno de los productos resultó totalmente eficaz y selectivo para el cultivo de las habas. Algunos resultaron más eficaces que el único herbicida de post-emergencia autorizado (bentazona al 48%), este es el caso de la bentazona 87%, el cual presentó ligera fitotoxicidad en Tomejil. Entre los herbicidas ensayados la metribuzina 70% presentó en general el control más eficaz, pero mostró una alta fitotoxicidad. Buena eficacia también se observó con imazamox 4% y 2,4-DB 40%, aunque en ambos aparecieron síntomas de fitotoxicidad pero más leves que los anteriores. Para conseguir un control eficaz y selectivo que reduzca la fitotoxicidad en el cultivo, será necesario ajustar dosis y establecer estrategias de control mediante el uso combinado de herbicidas de pre y post-emergencia.

Palabras clave: *Vicia faba* L., leguminosas grano, control de malas hierbas, fitotoxicidad.

1. INTRODUCCIÓN

Desde la entrada del nuevo marco normativo de la PAC 2014-2020, ha habido un interés creciente por retomar el cultivo de las leguminosas-grano (habas, guisantes y garbanzos) en las rotaciones de cultivos herbáceos extensivos en Andalucía. Esto se debe fundamentalmente a su capacidad de fijar el N atmosférico que les permite cumplir con los requerimientos del pago verde o «greening» definidos en dicha normativa.

Estos cultivos que han sido tradicionalmente empleados para la producción de proteína vegetal para alimentación animal, han ido paulatinamente disminuyendo de manera importante la superficie ocupada dando paso a otros cultivos con menores dificultades agronómicas. Entre las principales limitaciones para su cultivo están: la falta de buenas variedades comerciales, enfermedades, bajos precios y las dificultades para controlar las malas hierbas (Torres et al., 2015).

Entre todos los problemas, la falta de herbicidas autorizados de pre y post emergencia, especialmente contra dicotiledóneas, es uno de los principales escollos para la siembra de estos cultivos en los secanos andaluces, debido a la gran diversidad y abundancia de malas hierbas entre las que se encuentran especies de gran porte muy competitivas. Ensayos con herbicidas de pre-emergencia en habas revelaron que hay materias activas que no están autorizadas para este cultivo y que presentan mayor eficacia que los herbicidas autorizados, abriendo así el abanico de posibilidades de tratamientos para el control eficaz de malas hierbas (Alcántara et al., 2015)

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar diferentes materias activas herbicidas de postemergencia por su eficacia contra las malas hierbas dicotiledóneas y su fitotoxicidad en el cultivo de las habas con el fin de posibilitar alternativas de control eficaces y seguras en este cultivo.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos se realizaron en dos fincas del IFAPA: Alameda del Obispo (Córdoba) con suelo de textura franca, pH neutro (7,4) y contenido en materia orgánica de 1,06 % y en Tomejil (Carmona, Sevilla) con suelo arcilloso, pH básico (7,9) y 1,67 % de contenido de materia orgánica. Se eligieron zonas muy infestadas de malas hierbas que no habían sido ocupadas por ningún cultivo durante el año anterior.

Las siembras se realizaron el 20/11/2013 en Alameda y el 27/11/2013 en Tomejil, con una sembradora convencional de cereales en líneas separadas 17 cm, a dosis de 160 kg/ha, de la variedad Amcor.

Se evaluaron 7 herbicidas (Tabla 1) y se incluyó un testigo sin tratar ni escardar. Entre los herbicidas ensayados estuvieron los autorizados en España para habas grano y otros autorizados en Francia o en España para otras leguminosas, y se eligieron las dosis máximas autorizadas en el cultivo y país correspondiente. El diseño experimental fue bloques al azar con cuatro repeticiones y parcelas elementales de 30 m².

Los tratamientos se realizaron el 24/01/2014 y el 26/02/2014 en Alameda y Tomejil respectivamente, a baja presión y 400 l/ha de caldo, con boquillas antideriva de abanico plano y velocidad de 6 km/h. El ancho de tratamiento fue de 4 m, dejando a ambos lados de cada parcela 0,5 m sin tratar. Las temperaturas medias los días de aplicación fueron 7 y 10,7 °C y la velocidad del viento de 0,9 y 1,4 m/s en Alameda y Tomejil respectivamente. El estado fenológico de las habas en el momento del tratamiento según la escala BBCH fue estadio 1: desarrollo de las hojas entre 4-6 hojas en Alameda y algo más avanzado en Tomejil.

En cada parcela elemental se realizaron las siguientes determinaciones:

La eficacia sobre las malas hierbas que se estimó como el porcentaje de control respecto al testigo siendo 0 (sin control)-100 (control total), el 27/3/2014 (Alameda) y 14/4/2014 (Tomejil) en floración del cultivo. Esta evaluación se realizó en las parcelas de garbanzo que se habían sembrado paralelamente porque este cultivo cubre menos y se observa con mayor claridad el efecto directo del herbicida sobre la mala hierba.

La biomasa del cultivo y de las malas hierbas en peso fresco se obtuvo cuando el cultivo cubrió el suelo. En 2 bloques se tomaron 2 muestras de 1 m² el 25/4/2014 (Alameda) y 9/5/2014 (Tomejil) en cada parcela.

La fitotoxicidad en el cultivo se estimó como el porcentaje de daño respecto al testigo, siendo 0=sin daño y 100=planta muerta. En Alameda se realizó en dos fechas (18/2/2014 y 7/3/2014) y en Tomejil solo en una, el 12/3/2014, estando las plantas en los estados fenológicos aparición del órgano floral y floración en febrero y marzo respectivamente, según la escala BBCH. Se anotaron los daños apreciados: clorosis, necrosis, deformación y/o enanismo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis de flora. La flora presente en ambas localidades fue diferente y la presión de malas hierbas fue mayor en la finca Tomejil, tanto por la cobertura y biomasa de las malas hierbas, como por la diversidad de especies catalogadas. La distribución de malas hierbas de baja y muy baja abundancia fue heterogénea en las distintas parcelas y tratamientos, no siendo posible determinar si la ausencia de las mismas en los distintos tratamientos se debió al control de la especie por el herbicida correspondiente, a la competencia ejercida por las malas hierbas más abundantes

o simplemente a la ausencia de dicha especie en la parcela evaluada. Las especies que estuvieron homogéneamente distribuidas en cada ensayo y presentaron una abundancia suficiente fueron sobre las que se realizó la evaluación de eficacia. En Alameda estas especies fueron: *Raphanus raphanistrum*, *Centaurea diluta* y *Chrysanthemum coronarium*, *Fumaria parviflora*, *Medicago polymorpha*, y en Tomejil: *Picris echioides*, *Gallium tricornutum*, *Ridolfia segetum*, y *Sinapis arvensis*.

Tabla 1. Materias activas y dosis evaluadas

Nº	Materia activa	Dosis l/ha o kg/ha	Autorización en España para habas grano
12	Bentazona 48%	2	SÍ (sí en guisante y habas)
13	Bentazona 87%	1.4	NO (sí en Francia, guisantes, judía y alfalfa)
14	Carbetamida 70%	3	NO (sí en Francia y alfalfa)
15	Propizamida 40%	1.875	NO (sí en Francia y alfalfa)
17	Metribuzina 70%	0.75	NO (sí en alfalfa)
18	Imazamox 4%	1,25	NO (sí en alfalfa)
19	2,4-DB 40%	4.5	NO (sí en alfalfa)
20	Testigo		

3.2. Eficacia visual. Las eficacias en Alameda no fueron en general muy elevadas (Tabla 2), sin embargo entre los herbicidas ensayados destacó la metribuzina por su excelente control sobre todas las especies de malas hierbas presentes, alcanzando valores de control entre el 90 y el 100%. Además de esta materia activa los tratamientos T13, T18, T19 fueron eficaces contra compuestas y los dos últimos medianamente eficaces contra crucíferas, mostrándose además el T19 medianamente eficaz contra fumariáceas. El resto de tratamientos fueron poco o nada eficaces en el control de especies. Las eficacias en Tomejil fueron bajas posiblemente debido, por un lado a que la presión de malas hierbas de difícil control así como la diversidad de especies que fue mayor que en Alameda, pero por otro lado también, el retraso de un mes en la aplicación de los tratamientos hizo que el desarrollo de las plantas fuera mayor dificultando así el control. A pesar de ello hubo un buen control de compuestas con la mayoría de los tratamientos, destacando los tratamientos T12 y T13 con eficacias alrededor del 95%, seguidos por T17 y T19 ambos con un 76% de eficacia (Tabla 2). En el control de crucíferas destacó el T19 que fue muy eficaz seguido del T17 con buena eficacia y el T18 y el T13 con eficacias medias. Ninguna materia activa controló eficazmente el nerdo (*R. segetum*) y la lapa (*G. tricornutum*) pero los porcentajes más altos de control se obtuvieron con los tratamientos T17 y T13, respectivamente.

3.3. Biomasa. En Alameda la biomasa del cultivo fue superior en todos los tratamientos a la biomasa de malas hierbas, excepto en el tratamiento 14 donde ambos alcanzaron valores similares (Fig. 1a). Cabe destacar la elevada biomasa obtenida en el tratamiento 17, siendo el valor más alto alcanzado, a pesar de los altos porcentajes de fitotoxicidad registrados. También se alcanzaron mayores valores de biomasa del cultivo en todos los tratamientos con respecto al testigo excepto en los tratamientos 12 y 14.

Tabla 2. Porcentaje de eficacia de cada tratamiento respecto al testigo sobre las principales malas hierbas en Alameda y Tomejil

Nº	Materia activa	ALAMEDA				TOMEJIL			
		Crucíferas (<i>R. raphanistrum</i>)	Compuestas (<i>C. coronarium</i>)	Leguminosas (<i>M. polymorfa</i>)	Fumariáceas (<i>F. parviflora</i>)	Crucíferas (<i>S. arvensis</i>)	Compuestas (<i>Pechioides</i>)	Umbelíferas (<i>R. segetum</i>)	Rubiáceas (<i>G. tricornutum</i>)
T12	Bentazona 48%	39	74	9	40	36	95	0	39
T13	Bentazona 87%	39	91	16	10	56	97	0	48
T14	Carbetamida 70%	15	40	9	40	16	14	0	43
T15	Propizamida 40%	9	20	0	50	0	14	37	35
T17	Metribuzina 70%	100	97	100	90	88	76	41	0
T18	Imazamox 4%	67	86	28	50	72	22	0	22
T19	2,4-DB 40%	58	77	30	70	96	76	0	17

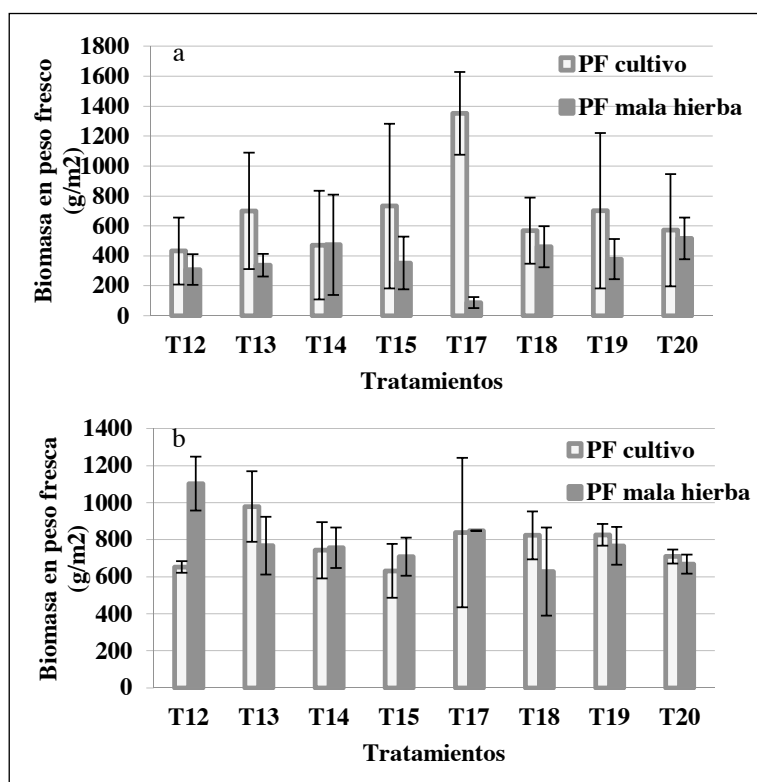


Figura 1. Biomasa en peso fresco alcanzada por el cultivo y la mala hierba en Alameda (a) y Tomejil (b).

3.4. Fitotoxicidad. En ambas localidades los tratamientos con mayor fitotoxicidad fueron los tratamientos 17,18 y 19, destacando el tratamiento 17 con porcentajes de daño entre el 55 y 85% (Fig. 2). En Alameda (Fig. 2a) donde se realizaron dos evaluaciones, se observó que con el paso del tiempo los síntomas en el tratamiento 17 se aminoraron mientras que en los tratamientos 18 y 19 los síntomas permanecieron con el mismo porcentaje de daño. No se observaron daños por encima del 10% en ningún otro tratamiento en Alameda mientras que en Tomejil (Fig. 2b) el tratamiento 13 presentó un porcentaje de daño del 20% con síntomas leves de retraso en el crecimiento y clorosis así como necrosis en hojas basales, mientras que este no fue observado en Alameda donde el cultivo mostró un buen aspecto. En el resto de los tratamientos los síntomas y niveles de daño fueron similares en ambas localidades. El tratamiento 17 produjo serios daños como necrosis agudas, deformación de la planta y retraso en el crecimiento, el tratamiento 18 retraso en el crecimiento, clorosis y leve necrosis en hojas basales y el tratamiento 19 deformación y abarquillamiento de hojas siendo en las hojas jóvenes más claros los daños.

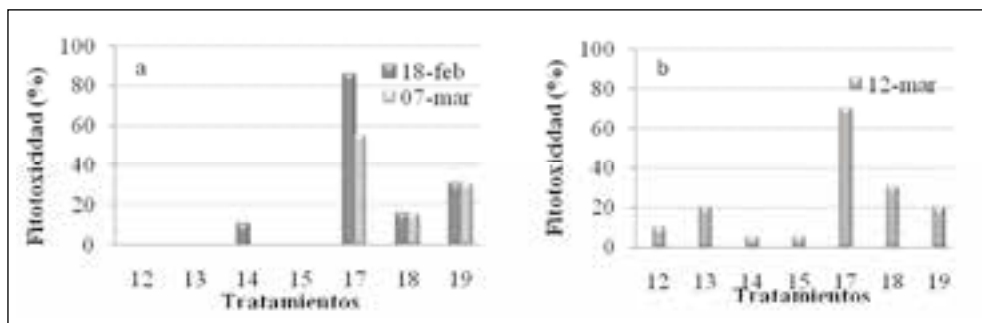


Figura 2. Porcentaje de daño en cada tratamiento en Alameda (2a) el 18 de febrero y el 7 de marzo, y en Tomejil (2b) el 12 de marzo

A la vista de estos resultados obtenidos podemos concluir:

Ninguno de los productos resultó totalmente eficaz y selectivo para el cultivo de las habas. En las condiciones ensayadas algunos de los herbicidas no autorizados en España para habas han resultado más eficaces que el único herbicida de post-emergencia autorizado, la bentazona al 48%. Este es el caso, por ejemplo, de la bentazona al 87% que mejoró la eficacia del anterior y proporcionó mayores producciones (datos no mostrados), aunque en el caso de los tratamientos en Tomejil produjo cierto grado de fitotoxicidad sobre el cultivo (mayor que el de bentazona al 48%).

Entre los herbicidas ensayados la metribuzina 70% ha presentado en general el control más eficaz, pero ha mostrado una alta fitotoxicidad aunque sin afectar a la producción (datos no mostrados). Sin embargo, para su empleo sería necesario disminuir las dosis de aplicación del producto que redujera los síntomas tan graves y en ese caso determinar si una disminución de dosis mantendría su eficacia contra las malas hierbas estudiadas.

Buena eficacia también se ha observado con imazamox 4% y 2,4-DB 40%, pero también en este caso aparecieron claros síntomas de fitotoxicidad aunque más leves que los anteriores. También con estos herbicidas sería conveniente una disminución de la dosis que redujeran los

síntomas y al igual que en el caso anterior determinar si esta disminución afectaría a la eficacia de las malas hierbas estudiadas.

El ajuste de las dosis y el establecimiento de estrategias de control mediante la combinación de materias activas de pre y post-emergencia son los pasos a seguir para conseguir que los tratamientos sean eficaces.

4. AGRADECIMIENTOS

Al proyecto sectorial de investigación en innovación del IFAPA, AVA.AVA201601.17 por el contrato de C Alcántara. A todo el personal de campo y laboratorio que ha participado en la realización de los ensayos. A las casas comerciales Dow Agrosience, Nufarm, BASF y Adama (Makhteshin Agan) por facilitarnos algunos de los herbicidas evaluados. A Asaja Córdoba y agricultores particulares por su colaboración.

5. REFERENCIAS

- Alcántara C, Pedraza V, Saavedra M, Castilla A and Perea F (2015). Búsqueda de herbicidas en leguminosas grano: herbicidas de preemergencia en habas. *Congreso SEMh 2015*, Sevilla.
- Torres AM, Rubio J, Saavedra M, Ávila CM and Alcántara C (2015). Oportunidades de las leguminosas ante la Nueva PAC (2014-2020). Producto SERVIFAPA Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera, 2015. 1-26 pp.


Testing the effectiveness and phytotoxicity of post-emergence herbicides in faba beans

Summary: The lack of post-emergence herbicides authorized and the difficult of weed control in faba beans are two of the main reasons of the decrease of the cultivated area. In order to provide new herbicides that let a sustainable faba beans crop, a field trial has been carried out in two locations to evaluate the efficacy of weed control and the crop phytotoxicity of 7 post-emergence herbicides authorized in different crops and countries in faba beans. None of the products was completely effective and/or selective, although some were more effective than the unique post-emergence herbicide authorized (bentazona 48%). That was the case of bentazona 87% which only showed slight phytotoxicity in Tomejil. Among the tested herbicides, metribuzina 70% performed the most efficient control but produced high phytotoxicity. Also imazamox 4% and 2,4 DB 40% were efficient and showed phytotoxicity although the symptoms were lower. In order to achieved an efficacy in weed control and a higher selectivity for the crop, adjust dose of these herbicides will be needed and to look for other alternatives, such as combinations of pre and post-emergence products

Keywords: *Vicia faba* L., grain legumes, weed control, phytotoxicity.

Prueba de tolerancia de quinoa (*Chenopodium quinoa*) a varios herbicidas

Irache Garnica¹, Juan Antonio Lezáun¹, Angel Santos¹, Joaquín Garnica¹.

¹Instituto Navarro de Tecnologías e Infraestructuras Agrarias (INTIA), 31610-Villava
 igarnich@navarra.es

Resumen: El cultivo de la quinoa (*Chenopodium quinoa*) está adquiriendo importancia y ya se ha empezado a cultivar en Navarra. Actualmente no existe ningún fitosanitario autorizado en este cultivo y por ello se ha planteado una primera experiencia con herbicidas para comprobar su tolerancia. Se probaron seis materias activas distintas, dos de ellas a dos dosis y dos combinaciones entre ellas. Las aplicaciones se hicieron en pre-emergencia del cultivo y de las malas hierbas. De las cinco materias activas, petoxamid y s-metolclochloro han sido selectivas a las dosis testadas. La napropamida y clomazona, han producido cierto retraso en el crecimiento del cultivo. La pendimetalina a las dos dosis y la combinación de petoxamida con clomazona han retrasado el cultivo de forma importante con respecto al testigo.

Palabras clave: quinoa, herbicida, selectividad.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de la quinoa (*Chenopodium quinoa*) está adquiriendo cada vez más relevancia y actualmente se ha empezado a cultivar en Navarra una pequeña superficie. No existe ningún fitosanitario autorizado en este cultivo, pero ante la posibilidad de que este cultivo vaya en aumento, se planteó una demostración de tolerancia a distintos herbicidas. Se eligieron varias materias activas por baja o nula eficacia contra *Chenopodium album*. Las aplicaciones se hicieron en dos localidades, Ribaforada y Cortes.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio. Este estudio se ha localizado en dos localidades: Ribaforada y Cortes en la zona sur de Navarra.

2.2. Diseño experimental. Se trata de una prueba con una única repetición de cada tratamiento herbicida. Cada tratamiento herbicida se alterna con un testigo sin herbicida.



Figura 1. Aspecto general de la prueba.

2.3. Condiciones de aplicación. Los herbicidas se aplicaron el 15 de marzo después de la siembra de quinoa variedad Titicaca perpendicularmente a las líneas de siembra y en pre-emergencia de las malas hierbas y el cultivo (Tabla 1). En el momento del tratamiento, el suelo estaba a tempero.

Tabla 1. Tratamientos herbicidas aplicados en pre-emergencia

<i>Herbicida</i>	<i>Composición</i>	<i>Dosis l/ha</i>
Testigo sin herbicida		
Dual Gold	S-metolaclo-ro-96	1,6
Dual Gold	S-metolaclo-ro-96	3,6
Stomp Aqua	Pendimetalina-45,5	1
Stomp Aqua	Pendimetalina-45,5	2
Command	Clomazona-36	0,2
Devrinol	Napropamida-45	1
Successor	Petoxamida-60	2
Command+Successor	Clomazona-36+ Petoxamida-60	0,15+1,5

Las dimensiones de la parcela elemental eran 2x5 m². Las aplicaciones herbicidas se realizaron con un equipo dotado de barra de aplicación de 2 m de ancho con boquillas de abanico plano marca Albus de color verde separadas 50 cm con un gasto de 300 l de caldo/ha aplicado a 3 kg/cm².

2.4. Métodos de evaluación. Para evaluar la selectividad se hicieron dos controles visuales. El primero se hizo en el momento de la nascencia y el segundo se hizo 3 semanas después. Se valoró la selectividad de los herbicidas con una escala de 0-10, siendo 0 ausencia de fitotoxicidad y 10 muerte o no germinación de la planta. Dicha valoración se hizo comparando la parcela tratada con el testigo contiguo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los dos test realizados, solo se muestran datos de uno (Ribaforada), ya que en Cortes no se realizó el riego de implantación, y el cultivo no nació.

En el momento de la nascencia del cultivo se empezó a apreciar cierto retraso del cultivo con Stomp Aqua a las dos dosis probadas y la mezcla de Command con Successor. La quinoa tratada con Devrinol y Command presentaba un retraso muy ligero con respecto al testigo. Dual Gold incluso a la dosis alta, Successor y el producto experimental fueron selectivos en la nascencia de la quinoa.

A las tres semanas, el retraso de la quinoa se fue acentuando con los tratamientos mencionados en el párrafo anterior, considerándose importantes ya que las plantas afectadas presentaban un 50% del tamaño con respecto a las plantas no tratadas. En el caso de la mezcla de Command y Successor podría tratarse de una mezcla sinérgica, ya que por separado solo Command produjo una ligera fitotoxicidad en las plantas.

Tabla 2. Resultados de selectividad (escala 0-10, siendo 0 ausencia de fitotoxicidad y 10, muerte o no germinación del 100% de las plantas)

<i>Herbicida</i>	<i>3 abril</i>	<i>27 abril</i>
Testigo sin herbicida	0	0
Dual Gold 1,6	0	0
Dual Gold 3,2	0	0
Stomp Aqua 1	2	4
Stomp Aqua 2	2	5
Command 0,2	1	2
Devrinol 1	1	2
Successor 2	0	0
Command+Successor	2	5

No se ha realizado ningún control de cosecha, pero se estima que la pérdida de rendimiento en casos de menor selectividad será importante, ya que ha habido muerte de planta y retraso del desarrollo en las que han sobrevivido.

Los tratamientos con Dual Gold y Successor fueron selectivos y no se observó ningún síntoma de fitotoxicidad en las plantas.

El retraso de crecimiento y la falta de plantas ha sido el único síntoma de fitotoxicidad observado en este test.

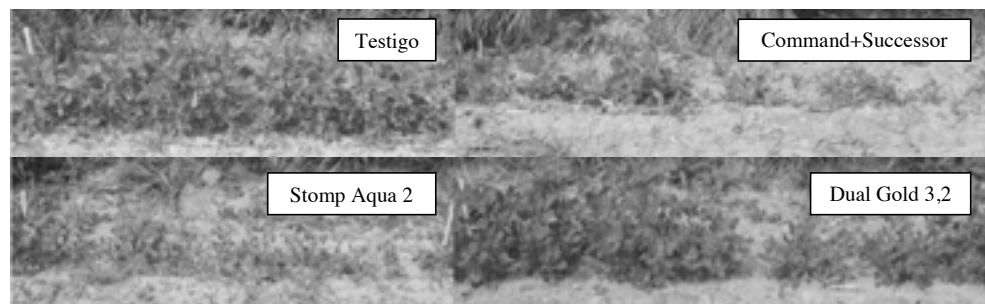


Figura 2. Aspecto de algunos tratamientos.

Si se compara la foto «Testigo» con las otras tres, se aprecia que los tratamientos Command+Successor y Stomp Aqua a 2 l/ha, hay menos plantas y presentan menor desarrollo. Sin embargo, las plantas del tratamiento Dual Gold a 3,2 l/ha (el doble de la dosis de referencia), presentan el mismo estado de desarrollo que aquellas que no han sido tratadas con herbicida.

4. AGRADECIMIENTOS

Se agradece en especial la colaboración de los técnicos de INTIA, Angel Malumbres y Angel Santos, y el trabajo realizado por Julio Zubiri del equipo de INTIA de Tafalla. Además, se agradece la colaboración prestada por David Urdániz y Felix Belío al ceder sus parcelas.

Test of tolerance of quinoa (*Chenopodium quinoa*) to herbicides

Summary: The quinoa crop is becoming more important in Navarra and some seedlings have already done in 2017. At the moment, there are not herbicides authorized, and that is the reason to set a test of herbicide tolerance. Six active ingredients with different rates and two combinations were tested. The herbicides were sprayed in pre-emergence of the quinoa and weeds. Only pethoxamide and s-metolachlore were completely selective with quinoa. The clomazone and napropamide produced a light reduction of development. The rest of the treatments, pendimetalin and clomazona+pethoxamide, were considered non selective of quinoa.

Keywords: quinoa, herbicide, tolerance.

Selectividad herbicida para un nuevo cultivo: el tritordeum

María Teresa López-Buisan¹✉, Alicia Cirujeda², Gabriel Pardo², Ana Isabel Mari²,
Joaquín Aibar¹

¹Departamento de Ciencias Agrarias y del Medio Natural. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza)

²Unidad de Sanidad Vegetal. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza). Avda. Montañana 930; 50059 Zaragoza, Spain.

✉ mtlopezb@aragon.es

Resumen: El tritordeum es un nuevo cereal obtenido por hibridación inducida de un trigo duro y una cebada silvestre originaria de Chile y Argentina. Es un cultivo prometedor, si bien hay poca información sobre la posibilidad del uso de herbicidas sobre él. Se planteó un ensayo en bloques al azar, con 4 repeticiones y dos dosis por tratamiento de los herbicidas: diclofop 36%, fenoxaprop-p-etil 6,9%, pinoxaden 6%, iodosulfuron-metil-sodio 0,6% + mesosulfuron metil 3%, iodosulfuron-metil-sodio 5%, prosulfocarb 80% y florasulam 2,28% + piroxulam 6,83%, incluyendo además parcelas testigo sin tratar. No se constataron diferencias significativa en los parámetros evaluados entre los testigos y las parcelas en las que se aplicaron los herbicidas, por lo se concluye que a las dosis ensayadas estos son selectivos para este cultivo en las condiciones del ensayo.

Palabras clave: fitotoxicidad, cereal de invierno.

1. INTRODUCCIÓN

El tritordeum es un nuevo cereal obtenido por la hibridación inducida de un trigo duro (*Triticum turgidum* conv. *durum* Desf. em. M.K.) y una cebada silvestre (*Hordeum chilense* Roem. et Schult.), originaria de Chile y Argentina.

Morfológica y agrónomicamente es similar al trigo pero con respecto a las características fisiológicas, el tritordeum que es hexaploide presenta una mayor eficiencia del uso del agua y tiene un sistema de absorción de nitrógeno más afín para el nitrato que el trigo (Álvarez and Martín, 1996), singularidades que lo hacen apto para su uso en sistemas de producción sostenible y con bajo impacto ambiental.

A diferencia del triticale, cuyo valor radica en su utilización como cereal para pienso, el tritordeum es el primer cereal híbrido interespecífico considerado apto para la alimentación humana. A nivel nutricional, destaca por su bajo contenido en proteínas indigestibles del gluten y altos niveles de luteína (pigmento carotenoide considerado antioxidante), fibra dietética, proteínas y ácidos grasos.

Las características agronómicas y nutricionales de este nuevo cultivo lo convierten en un cereal prometedor para la agricultura y la industria agroalimentaria pero, como contrapartida, existe poca experiencia sobre las técnicas de cultivo adecuadas y del uso de herbicidas en particular.

El objetivo principal de este trabajo es evaluar la selectividad de los principales herbicidas utilizados en cereales de invierno sobre un nuevo cultivo, el tritordeum.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se empleó la variedad Bulel, comercializada por la empresa Agrasys S.L. El ensayo se situó en Castiliscar (Zaragoza) en la parte norte de la comarca de las Cinco Villas; se trata de una zona prepirenaica, subhúmeda, con una media anual de precipitación de 680 mm. La textura del suelo de la parcela es franco-arcillosa, tiene un pH de 8, un contenido en materia orgánica de 2,51% y una conductividad eléctrica de 0,4 dS/m.

El ensayo tuvo un diseño en bloques al azar, con 4 repeticiones y 15 tratamientos (7 con dosis simple de herbicida, 7 con dosis doble [Tabla 1] y 1 testigo sin tratar) con parcelas elementales de 2 x 10 m².

Como labores preparatorias de suelo, en agosto de 2014 se realizó una labor con grada de discos y 15 días después se pasó una rastra con rodillo. Antes de la siembra se realizó un pase de cultivador.

La parcela del ensayo se sembró el 19/12/2014 utilizando una sembradora a chorrillo con una densidad de 625 granos/m², 4 cm de profundidad y distancia entre líneas de 12 cm. El 14/01/2015 se dio un pase de rodillo para compactar ligeramente el suelo.

Como abonado de fondo se aplicaron 25.000 l/ha de purín, lo que equivale a una aportación por hectárea de 85 U.F. de N, 45 U.F. de P₂O₅ y 57,5 U.F. de K₂O. No se aplicó ningún abonado de cobertera. Los herbicidas empleados y sus dosis se muestran en la (Tabla 1), todos ellos son comúnmente utilizados en cereales de invierno (CSCV, 2016).

Tabla 1. Materias activas, productos comerciales y dosis aplicadas

Materia activa	Producto comercial	Dosis simple	Dosis doble
Diclofop 36%	Claro	2,5 l/ha	5 l/ha
Fenoxaprop-p-etil 6,9%	Fenova Super	1,2 l/ha	2,4 l/ha
Pinoxadem 6%	Axial Pro	1 l/ha	2 l/ha
Iodosulfuron-metil-sodio 0,6% + mesosulfuron metil 3%	Atlantis	500 g/ha	1000 g/ha
Iodosulfuron-metil-sodio 5%	Hussar	200 g/ha	400 g/ha
Prosulfocarb 80%	Auros	6 l/ha	12 l/ha
Florasulam 2,28% + Piroxsulam 6,83%	Broadway	275 g/ha	550 g/ha

La aplicación de todos los herbicidas se realizó el día 31/03/2015 en post-emergencia del cereal (2-3 hijuelos). Las aplicaciones se realizaron mediante pulverización con una mochila de palanca, cuya barra pulverizadora constaba de cuatro boquillas de polietileno con salida de cerámica, un ángulo de trabajo de 110° y un caudal de 0,2 l/min (Teejet 11002VK). Se trató a razón de 300 l/ha de caldo.

En el caso de los tres herbicidas granulados: iodosulfuron + mesosulfuron, iodosulfuron y florasulam + piroxsulam, se añadió un mojante al caldo herbicida.

La cosecha se realizó el día 10/07/2015 con una microcosechadora provista de una anchura de corte de 1,2 m. Las variables elegidas en este ensayo para realizar la evaluación de la fitotoxicidad fueron:

- Estimaciones visuales de fitotoxicidad (deformación, decoloración, retraso en el crecimiento, etc.) por referencia a la escala OEPP/EPPO (2007) y mediante la comparación visual con una parcela no tratada o de referencia.
- Parámetros objetivos: Medida de la altura, contenido de clorofila, número de hijuelos, peso de biomasa seca (tomados a las 15, 30 y 45 días) y producción. La altura se midió en 10 plantas por parcela. Como medida indirecta de clorofila se utilizó un medidor (SPAD-502 Plus) en 20 plantas por parcela.

El control del número de hijuelos de las plantas se realizó cortando a nivel del cuello de la raíz 10 plantas por parcela, y se contaron los hijuelos de cada una de ellas. Estas plantas se secaron hasta peso constante para obtener el peso seco. El rendimiento se obtuvo mediante la cosecha de 12 m² con una microcosechadora.

El análisis de varianza (ANOVA) se realizó para cada parámetro como un diseño monofactorial de 15 tratamientos y 4 repeticiones, tras comprobar la distribución normal de los datos y la homogeneidad de las varianzas mediante el programa estadístico R, Versión 2.14.2.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la evaluación de la fitotoxicidad no se observaron daños en las parcelas tratadas con ninguna de las materias activas, ni a dosis simple ni a dosis doble.

Tampoco se observaron diferencias en el estado fenológico de las plantas en ninguna de las tres fechas estudiadas. El desarrollo vegetativo fue homogéneo para todos los tratamientos, incluido el testigo.

En cuanto a la altura de las plantas, no se observaron diferencias significativas, si bien cuatro de los siete tratamientos con dosis dobles presentaron la tendencia de un menor crecimiento que las parcelas testigo (Fig. 1), destacando en este aspecto el herbicida florasulam + piroxsulam con un crecimiento destacablemente menor a dosis doble.

El contenido de clorofila en las hojas tampoco fue una variable en la que se detectaron diferencias significativas. Únicamente cabe resaltar que la dosis simple y doble de florasulam + piroxsulam presentaron un contenido de clorofila menor que las parcelas testigo en la primera evaluación pero después se recuperó.

Tampoco se observaron diferencias significativas en relación al número de hijuelos de las plantas pero en la comparación dos a dos entre tratamientos sí se detectó una diferencia significativa, con mayor ahijamiento del cultivo, entre la dosis doble de florasulam + piroxsulam y el testigo a los 45 días después de la aplicación que no se tradujo en una mayor producción significativa.

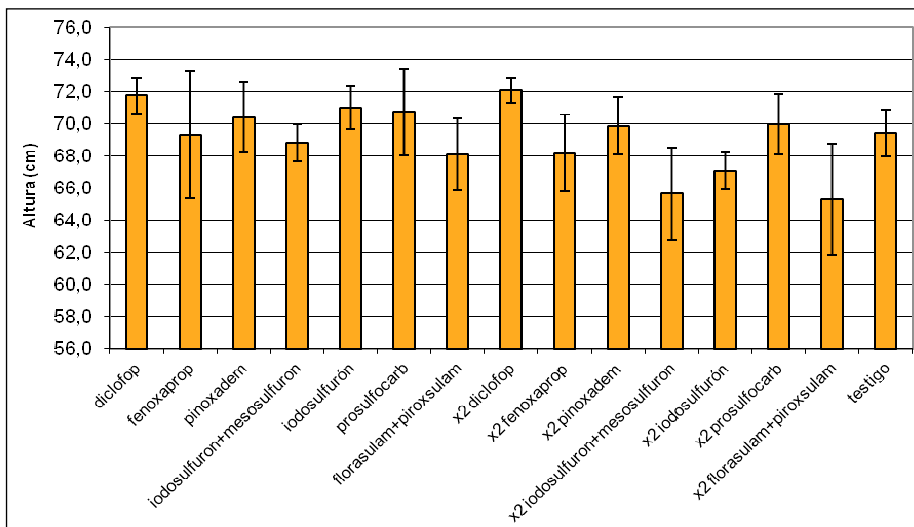


Figura 1. Altura de las plantas de tritordeum, en cm, en cada uno de los tratamientos a los 45 días después del tratamiento.

En cuanto al peso en seco de las plantas en los tres momentos evaluados, no se observaron diferencias significativas ni tendencias a destacar.

Por último, la producción obtenida en las parcelas tratadas de los ensayos fue superior, aunque no significativamente, a la obtenida en las parcelas testigo, con la excepción de la dosis doble de pinoxadem e iodosulfuron. Y entre las tratadas, en las parcelas con aplicación de dosis doble se obtuvieron rendimientos inferiores a la dosis simple en tratamientos como pinoxadem, iodosulfurón, prosulfocarb y florasulam + piroxsulam, pero estas tendencias no llegaron a ser estadísticamente significativas (Fig. 2).

La presencia de malas hierbas en el testigo, controlada por los herbicidas en las parcelas tratadas con los diferentes herbicidas pudo motivar que las producciones en varias de estas fueran superiores al testigo sin tratar.

Los herbicidas utilizados en este estudio (diclofop 36%, fenoxaprop-p-etil 6,9%, pinoxadem 6%, iodosulfuron-metil-sodio 0,6% + mesosulfuron metil 3%, iodosulfuron-metil-sodio 5%, prosulfocarb 80% y florasulam 2,28% + piroxsulam 6,83%) han resultado selectivos en tritordeum tanto para la máxima dosis comercial recomendada como para el doble de esa dosis, por lo que, desde el punto de vista agronómico se podrían utilizar hasta todo el rango de dosis ensayadas.

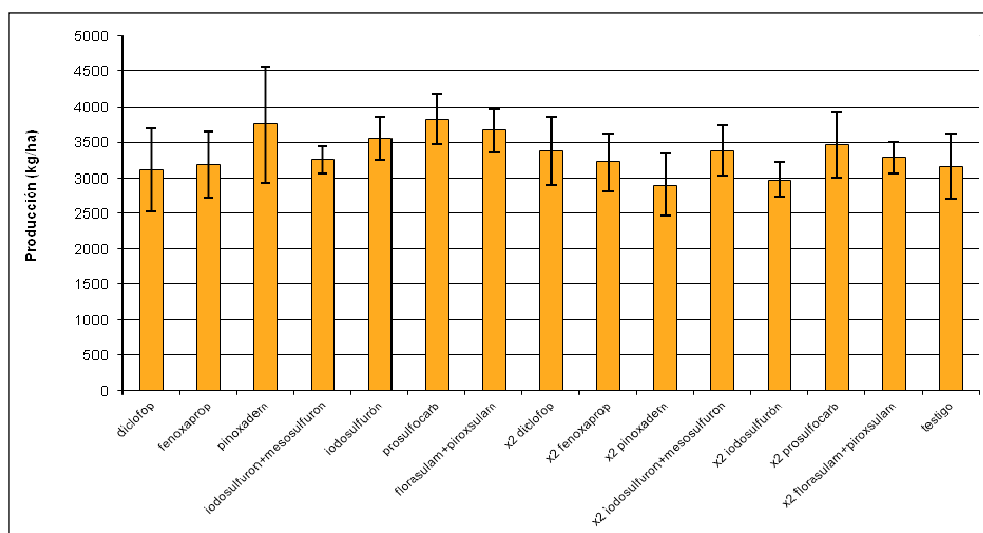


Figura 2. Producción de tritordeum (kg/ha) en los diferentes tratamientos.

4. AGRADECIMIENTOS

A Jesús Arbués, propietario de la finca donde se han realizado los ensayos, a F. Arrieta, C. Lapetra y M. Gutiérrez por su colaboración en la realización del ensayo. A la empresa Agrays S.L., por su disponibilidad para la aportación de información sobre este nuevo cultivo.

5. REFERENCIAS

- Álvarez J B & Martín LM (1996). Breadmaking quality in Triticordeum: the use-possibilities of a new cereal. In *Triticale: today and tomorrow*. Springer Netherlands, 799-805.
- CSCV (2016). Boletín fitosanitario de avisos e informaciones. Centro de Sanidad y Certificación Vegetal del Gobierno de Aragón, Nº 15. 6 pp.
- OEPP/EPP0 (2007). Efficacy evaluation of plant protection products. Phytotoxicity assessment. OEPP/EPP0 Standards PP 1/135 (3), Bulletin OEPP/EPP0 Bulletin 37, 4-10.

Herbicide selectivity for a new crop: tritordeum

Summary: Triticordeum is a new cereal obtained by hybridization induced between durum wheat and a wild barley from Chile and Argentina. It is a promising crop, although there is little information about the possibility of using herbicides on it. A field trial in blocks with 4 randomly distributed replications and two doses for treatment was made with the herbicides: diclofop-methyl 36%, fenoxaprop-p-ethyl 6.9, pinoxaden 6%, iodosulfuron-methyl-sodium 0.6% + mesosulfuron methyl 3%, iodosulfuron-methyl-sodium 5%, prosulfocarb 80% and florasulam 2,28%+ piroxsulam 6.83%, including also control plots without treatment. No significant differences were found in the evaluated parameters between control plots and plots treated with herbicides. It is concluded that these herbicides were selective of this crop in the present conditions.

Keywords: phytotoxicity, winter cereals.

La sobreexpresión del gen *ALDH7B4* alivia los efectos provocados por herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos

Miriam Gil-Monreal^{1,✉}, Ana Zabalza¹, Tagnon D. Missihoun^{2,3}, Dorothea Bartels³, Mercedes Royuela¹

¹Departamento Ciencias del Medio Natural, Universidad Pública de Navarra, Campus Arrosadía, E-31006 Pamplona, Spain

^{2,3}Department of Biology, Rutgers University, Camden, New Jersey, United States of America

³Institute of Molecular Physiology and Biotechnology of Plants (IMBIO), University of Bonn, D-53115 Bonn, Germany

✉ mirian.gil@unavarra.es

Resumen: En este trabajo se ha profundizado en el conocimiento de los efectos fisiológicos provocados por los herbicidas imazamox y glifosato. En concreto, se ha estudiado el papel de la *ALDH7B4*, aldehído deshidrogenasa, que contribuye a la tolerancia de las plantas a diversos estreses. Se cultivaron plantas de *Arabidopsis thaliana* silvestres y plantas que sobreexpresan el gen *ALDH7B4*, que fueron tratadas con dosis comparables de imazamox o glifosato. Se observó que ambos genotipos presentan valores similares de malondialdehído, indicando que la *ALDH7B4* no participa en la detoxificación de aldehídos derivados de la peroxidación lipídica. Por otro lado, se monitorizaron los principales efectos fisiológicos provocados por este tipo de herbicidas y se observó que los efectos de los herbicidas (contenido en carbohidratos y crecimiento) se atenúan en las plantas mutantes, indicando que la *ALDH7B4* contribuye a aliviar los efectos provocados por estos herbicidas.

Palabras clave: *Arabidopsis thaliana*, carbohidratos, glifosato, imazamox, peroxidación lipídica.

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, el uso de herbicidas contribuye a mantener una alta producción en la agricultura, ya que permiten controlar las malas hierbas de una manera muy eficaz. Dentro de los herbicidas que encontramos en el mercado, el grupo de los herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos es el grupo más ampliamente utilizado a nivel mundial. En este grupo se encuentra el herbicida imazamox, herbicida que inhibe la acción del enzima acetolactato sintasa (ALS) en la ruta de biosíntesis de aminoácidos ramificados, y el glifosato, herbicida inhibidor de la acción del enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) en la ruta de biosíntesis de aminoácidos aromáticos (Duke, 1990). A pesar de que estos herbicidas inhiben rutas diferentes del metabolismo de las plantas, estudios previos han descrito que provocan efectos fisiológicos similares en las plantas tratadas, lo que sugiere que ambos compuestos provocan la muerte de las plantas por un mecanismo similar (Zulet et al., 2013; Zulet et al., 2015).

Uno de los efectos comunes provocados por los herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos ramificados y aromáticos ya descritos es la inducción de la expresión del gen *ALDH7B4* (Gil-Monreal et al., 2014). Este gen codifica una aldehído deshidrogenasa la cual se ha descrito que contribuye a la tolerancia de las plantas a diversos estreses, como la salinidad o la sequía, ya que ayuda a detoxificar los aldehídos derivados de la peroxidación lipídica provocada por dichos estreses (Kotchoni et al., 2006).

En este trabajo se ha profundizado en el conocimiento de los procesos fisiológicos comunes provocados por los herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos ramificados y aromáticos. El objetivo concreto de este trabajo es conocer el papel que cumple la *ALDH7B4* en la respuesta de las plantas a la aplicación de los herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos

ramificados y aromáticos, para esclarecer si su inducción forma parte del proceso de toxicidad de los herbicidas o es una respuesta de supervivencia de las plantas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se trabajó con plantas de *Arabidopsis thaliana* silvestres (wt) y plantas mutantes que sobreexpresan el gen que codifica la ALDH7B4 (*ALDH7B4*) (Kotchoni et al., 2006). Se trabajó en cultivo hidropónico puro con aireación forzada y en condiciones controladas (Zulet et al., 2015). Cuando las plantas tenían 8 semanas, se aplicaron dosis comparables (en tiempo en causar la muerte y en intensidad de efectos) de los herbicidas imazamox o glifosato, a través de la solución nutritiva. En concreto, las dosis aplicadas fueron 1,5 mg L⁻¹ de imazamox (Pulsar[®]40, BASF Española SA, Barcelona, España) y 20 mg L⁻¹ de glifosato (Glyphos[®], Bayer CropScience, S.L, Paterna, Valencia, España). Un grupo de plantas de cada genotipo no fue tratado con herbicida y fue considerado como grupo control. Transcurridos tres días desde la aplicación de los herbicidas, se tomaron muestras de hojas y raíces de cada grupo de plantas. Se optó por esta duración de los tratamientos, ya que se buscaba un tiempo lo suficientemente corto como para que hubiera efectos de los tratamientos, pero no excesivamente largo como para que aparecieran reacciones secundarias que pudieran no ser debidas directamente a los herbicidas. Las muestras se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y fueron almacenadas a -80°C hasta su análisis.

2.1. Medida de peroxidación lipídica. Se determinó el nivel de peroxidación lipídica en raíces y hojas (0,1 g PF) mediante el método propuesto por Hodges et al. (1999). Básicamente, el método consiste en determinar el contenido en malondialdehído, compuesto que indica la existencia de peroxidación lipídica al formarse a partir de la descomposición de los ácidos grasos presentes en las membranas celulares. La peroxidación lipídica se expresa como nmol de malondialdehído, por unidad de peso fresco.

2.2. Determinación del contenido en carbohidratos. Se determinó el contenido en carbohidratos solubles en etanol (fructosa, glucosa y sacarosa) y de almidón en raíces y hojas (0,1 g PF) por electroforesis capilar (Zabalza et al., 2004). Los resultados se expresan como mg de carbohidratos por unidad de peso fresco.

2.3. Crecimiento de plantas en placas con agar. Se germinaron plantas de *A. thaliana* silvestres y plantas mutantes que sobreexpresan el gen ALDH7B4 en placas de petri con agar al 0,7%. A los 4 días tras su germinación, se trasplantaron a placas cuadradas (12 cm x 12 cm) con agar al 0,9% y medio Murashige & Skoog enriquecido con sacarosa al 1% (se colocaron 8 plántulas por placa). Las plantas se dividieron en 3 grupos, a uno de ellos se le añadió imazamox (Pulsar[®]40, BASF Española SA, Barcelona, España) al medio de cultivo en una concentración de 0,005 mg L⁻¹, a otro grupo se le incorporó glifosato (Glyphos[®], Bayer CropScience, S.L, Paterna, Valencia, España) en una concentración de 0,4 mg L⁻¹ y el otro grupo de plantas no fue tratado con herbicidas y fue el grupo control. Se realizaron tres réplicas de cada tratamiento. Se midió el crecimiento de las raíces a los 15 días tras ser trasplantadas a las placas y, para cada genotipo, se calculó el porcentaje de crecimiento de las plantas tratadas respecto a las no tratadas.

2.4. Análisis estadístico. Se compararon los efectos de los herbicidas con su respectivo control dentro de cada genotipo. Los resultados se analizaron aplicando un análisis de la varianza

(ANOVA) de una vía. La comparación de medias se realizó con la prueba de la Diferencia Mínima Significativa (DMS). Los resultados significativamente diferentes para una $p < 0,05$ se indican en las gráficas con símbolos diferentes para cada tratamiento. Para realizar el análisis estadístico se utilizó el programa IBM SPSS Statistics (v22) para Windows.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. La inducción de la expresión del gen *ALDH7B4* no está relacionada con la detoxificación de los aldehídos producidos en la peroxidación lipídica. Estudios previos de nuestro grupo de investigación han descrito una inducción de la expresión del gen *ALDH7B4* por los herbicidas imazamox y glifosato (Gil-Monreal et al., 2014). La *ALDH7B4* tiene un papel protector en las plantas frente a diversos estreses ya que contribuye a detoxificar los aldehídos producidos en la peroxidación lipídica provocada en esas condiciones (Kotchoni et al., 2006). Para conocer si la inducción del gen *ALDH7B4* en plantas tratadas con herbicidas está relacionada con la detoxificación de aldehídos por parte de la *ALDH7B4*, se midió el contenido en malondialdehído como indicador del nivel de peroxidación lipídica presente en las plantas (Fig. 1).

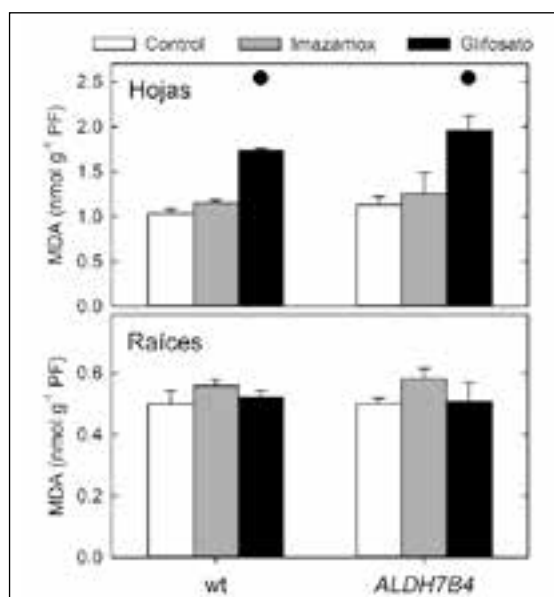


Figura 1. Efecto de los herbicidas imazamox y glifosato en el contenido de malondialdehído (MDA) en hojas y raíces de plantas silvestres (wt) de *Arabidopsis thaliana* y plantas mutantes que sobreexpresan el gen *ALDH7B4* (*ALDH7B4*), 3 días tras la aplicación de los tratamientos. • indica diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el valor de las plantas control y las tratadas con glifosato, para cada genotipo.

Los resultados mostraron que los herbicidas imazamox y glifosato no provocan peroxidación lipídica en las plantas tratadas, a excepción de las hojas de plantas tratadas con glifosato. Por otro lado, la sobreexpresión del gen *ALDH7B4* no modifica los niveles de malondialdehído presente

en las hojas y raíces de las plantas tratadas, ya que las plantas mutantes presentaron valores de malondialdehído muy similares a las plantas silvestres. Estos resultados indican que, al contrario de lo observado en otros estreses, la *ALDH7B4* no parece estar relacionada con el alivio de un estrés oxidativo en plantas tratadas con herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos.

3.2 Alivio del efecto de los herbicidas en plantas que sobreexpresan el gen *ALDH7B4*. Uno de los objetivos del presente trabajo es esclarecer si el aumento de la expresión del gen *ALDH7B4* forma parte de la toxicidad del herbicida o es un mecanismo de las plantas para sobrevivir al estrés provocado por el herbicida. Con tal efecto, se midió el contenido en carbohidratos, cuya acumulación es un indicador del efecto de los herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos (Zabalza et al., 2004). La figura 2 muestra el contenido en carbohidratos solubles totales (fructosa, glucosa y sacarosa) y almidón en hojas y raíces de plantas silvestres (wt) de *A. thaliana* y plantas mutantes que sobreexpresan el gen que codifica para la *ALDH7B4* (*ALDH7B4*), sin tratar (control) y tratadas con imazamox o glifosato durante 3 días.

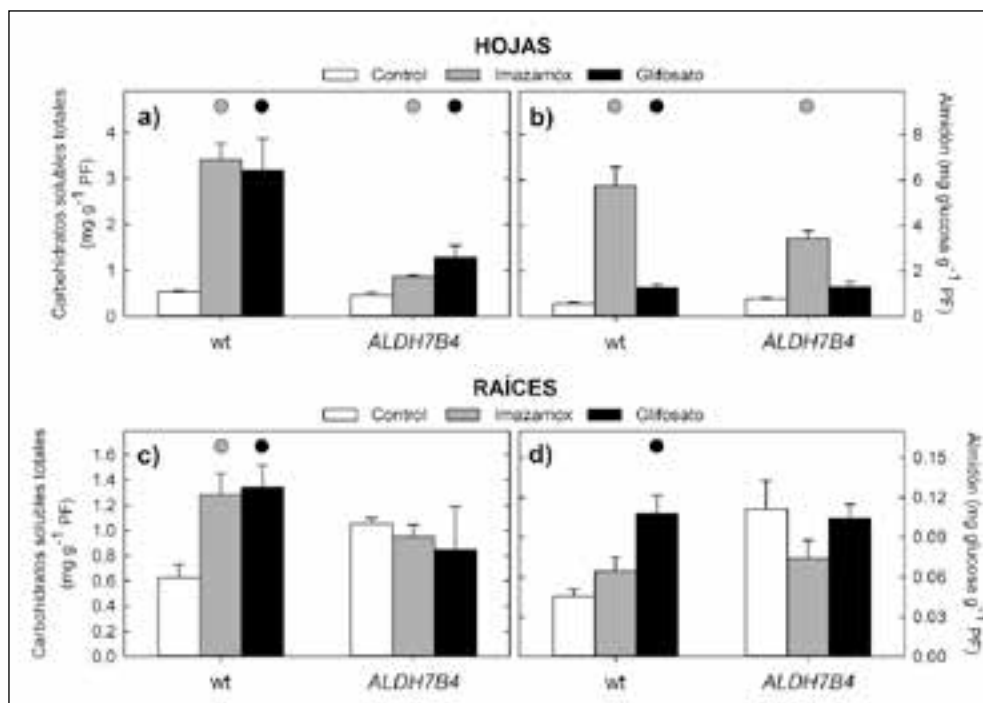


Figura 2. Efecto de los herbicidas imazamox y glifosato en el contenido en carbohidratos solubles totales (a y c) y almidón (b y d) en hojas y raíces de plantas silvestres (wt) de *Arabidopsis thaliana* y plantas mutantes que sobreexpresan el gen *ALDH7B4* (*ALDH7B4*), 3 días tras la aplicación de los tratamientos. • y • indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre el valor de las plantas control y las tratadas con imazamox o glifosato, respectivamente, para cada genotipo.

Los resultados confirmaron la acumulación de carbohidratos solubles totales y almidón en hojas y raíces de las plantas silvestres tratadas con imazamox o glifosato. Sin embargo, se observó que dicha acumulación se atenúa notablemente en las plantas que sobreexpresan el gen

ALDH7B4. Estos resultados indican que la *ALDH7B4* parece contribuir a aliviar los efectos que estos herbicidas provocan en el metabolismo del carbono.

Por otro lado, se monitorizó el efecto de los herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos en el crecimiento de las plantas. Para ello se cultivaron plantas silvestres de *A. thaliana* y mutantes que sobreexpresan el gen *ALDH7B4* en placas de agar con o sin herbicida (Fig. 3). Se calculó el porcentaje de crecimiento de las plantas tratadas con herbicidas, respecto a las plantas no tratadas, para cada genotipo.

La inhibición del crecimiento por los herbicidas fue menor en las plantas mutantes. En el caso del imazamox, mientras que las plantas silvestres crecieron un 37,2% respecto al crecimiento de las plantas control, en las plantas mutantes las plantas tratadas con imazamox crecieron un 55,8% respecto a su control. En cuanto a las plantas tratadas con glifosato, las plantas silvestres crecieron un 8% respecto a las plantas silvestres control, y las plantas mutantes *ALDH7B4* crecieron un 14,6% respecto a su control. Estos resultados demuestran que la sobreexpresión del gen *ALDH7B4* ayuda a las plantas a tolerar mejor el estrés provocado por los herbicidas.

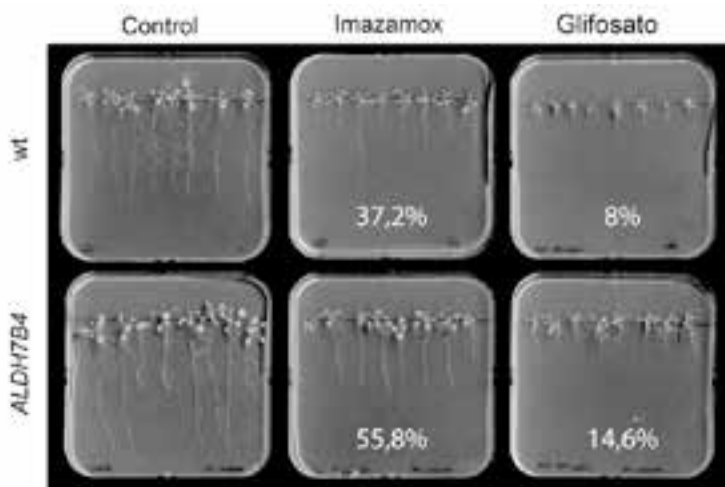


Figura 3. Efecto de los herbicidas imazamox y glifosato en el crecimiento de plantas silvestres (wt) de *Arabidopsis thaliana* y plantas mutantes que sobreexpresan el gen *ALDH7B4* (*ALDH7B4*), 15 días tras la aplicación de los tratamientos. El porcentaje insertado en cada fotografía indica el % medio de crecimiento de las plantas tratadas respecto a su control no tratado, en cada genotipo.

En conclusión, el presente estudio muestra que la *ALDH7B4* participa en el mecanismo de defensa de las plantas frente a la aplicación de herbicidas, pero, al contrario de lo que se ha observado en otros estreses, su papel no está relacionado con el alivio de la peroxidación lipídica.

4. AGRADECIMIENTOS

La investigación presentada ha sido financiada por el proyecto AGL2013-40567R. Miriam Gil-Monreal ha recibido una beca predoctoral y una beca de movilidad de la Universidad Pública de Navarra.

5. REFERENCIAS

- Duke SO (1990). Overview of herbicide mechanisms of action. *Environmental Health Perspectives*, 87, 263-271.
- Gil-Monreal M, Missihoun TD, Bartels D, Zabalza A and Royuela M (2014). Aldehyde dehydrogenases in the mode of action of amino acid biosynthesis inhibiting herbicides. *Plant Biology Europe FESP/EPPO 2014 Congress*. Convention Centre Dublin (Ireland).
- Hodges DM, DeLong JM, Forney CF and Prange RK (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207, 604-611.
- Kotchoni SO, Kuhns C, Ditzer A, Kirch H-H and Bartels D (2006). Over-expression of different aldehyde dehydrogenase genes in *Arabidopsis thaliana* confers tolerance to abiotic stress and protects plants against lipid peroxidation and oxidative stress. *Plant, Cell & Environment*, 29, 1033-1048.
- Zabalza A, Orcaray L, Gaston S and Royuela M (2004). Carbohydrate accumulation in leaves of plants treated with the herbicide chlorsulfuron or imazethapyr is due to a decrease in sink strength. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7601-7606.
- Zulet A, Gil-Monreal M, Villamor JG, Zabalza A, van der Hoorn R a L and Royuela M (2013). Proteolytic pathways induced by herbicides that inhibit amino acid biosynthesis. *PLoS ONE*, 8, e73847.
- Zulet A, Gil-Monreal M, Zabalza A, van Dongen JT and Royuela M (2015). Fermentation and alternative oxidase contribute to the action of amino acid biosynthesis-inhibiting herbicides. *Journal of Plant Physiology*, 175, 102-112.

ALDH7B4 gene overexpression alleviates the effects induced by amino acid biosynthesis-inhibiting herbicides

Summary: The present work focuses on the effects provoked by the amino acid biosynthesis-inhibiting herbicides in plants. We evaluated the role of the *ALDH7B4*, one aldehyde dehydrogenase that contributes to different stress tolerance. Wild-type *Arabidopsis thaliana* plants and mutants overexpressing the *ALDH7B4* gene were grown and treated with imazamox or glyphosate. Similar levels of malondialdehyde were observed in both studied mutants, indicating that the *ALDH7B4* is not involved in the detoxification of the aldehydes derived from lipid peroxidation in plants treated with herbicides. Additionally, the main physiological effects provoked by this type of herbicides were monitored. The results shown that the effects of herbicides on the carbohydrate content and growth of plants were alleviated on plants overexpressing the *ALDH7B4* gene, suggesting that the *ALDH7B4* contributes to the tolerance of the stress provoked by these herbicides.

Keywords: *Arabidopsis thaliana*, carbohydrates, glyphosate, imazamox, lipid peroxidation.

Efecto del glifosato y de diferentes intermediarios metabólicos en la regulación de la ruta del siquimato

Ainhoa Zulet-González¹✉, Manuel Fernández-Escalada¹, Miriam Gil-Monreal¹,
Ana Zabalza¹, Mercedes Royuela¹

¹Dpto. Ciencias Medio Natural, Universidad Pública de Navarra, 31006-Pamplona
✉ ainhoa.zulet@unavarra.es

Resumen: En este estudio se han abordado los mecanismos de regulación de la ruta del siquimato en la biosíntesis de los aminoácidos aromáticos. Para ello se han comparado el contenido de siquimato y de los enzimas EPSPS (5-enolpiruvilsiquimato-3-fosfato sintasa) y DAHPS (3-Deoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintasa, enzima de entrada a la ruta) en hojas de dos poblaciones de *Amaranthus palmeri* (una sensible y otra resistente al glifosato) incubadas con glifosato y/o con diferentes intermediarios de la ruta (siquimato, quinato, fosfoenolpiruvato, y aminoácidos aromáticos). En ambas poblaciones se dieron similares efectos regulatorios de los intermediarios, evidenciando que la sobreexpresión de EPSPS no modifica de manera significativa la regulación general de la ruta. El enzima DAHPS se confirma como enzima clave en la regulación y en la respuesta al glifosato; su síntesis es inhibida por los productos finales de la ruta y por el quinato, y su regulación puede explicar la acumulación de siquimato tras la aplicación de glifosato.

Palabras clave: ruta del siquimato, EPSPS, DAHPS, siquimato, glifosato, aminoácidos aromáticos, quinato.

1. INTRODUCCIÓN

El glifosato es un herbicida total del grupo G que actúa inhibiendo la actividad del enzima EPSPS (5-enolpiruvilsiquimato-3-fosfato sintasa). Este enzima es clave en la ruta del siquimato (Fig. 1), ruta de biosíntesis de los aminoácidos aromáticos (AAA) tirosina, fenilalanina y triptófano. El bloqueo del enzima EPSPS lleva a un aumento en el contenido de los metabolitos previos a dicho enzima en la ruta del siquimato, debido en parte a que la entrada de carbono en la misma se deja de controlar (DeMaria, 2006). Aunque se trata del herbicida más utilizado a nivel mundial, todavía no están claras las causas de por qué la planta muere tras ser tratada. En general, tras el bloqueo de un enzima por parte de un herbicida, la muerte de la planta puede producirse por los siguientes factores: acumulación de los sustratos del enzima bloqueado; falta de los productos generados por el enzima bloqueado; o por diferentes reacciones que se producen al intentar controlar el desajuste de la ruta (Siehd, 1997). Tradicionalmente se ha relacionado el efecto tóxico del glifosato con la falta de los aminoácidos aromáticos, aunque no puede detectarse un descenso de los mismos debido al propio ajuste del metabolismo que realiza la planta. Además, tras la aplicación de glifosato se ven afectados tantos procesos metabólicos que pueden asociarse con la toxicidad del mismo (Gomes et al., 2014), que todavía no está del todo claro por qué las plantas mueren.

Amaranthus palmeri es una mala hierba en la que se han descrito poblaciones resistentes por amplificación génica del gen que codifica el enzima EPSPS (mecanismo en el sitio de acción). La amplificación se debe a un aumento de número de copias del gen de EPSPS y se correlaciona positivamente con su mayor nivel transcripcional, mayor contenido del enzima y su mayor actividad (Gaines et al., 2010). Esto sirve de esponja molecular evitando los efectos del glifosato y permitiendo un correcto metabolismo (Powles and Yu, 2010).

El objetivo de este estudio fue profundizar en los mecanismos de regulación de la ruta del siquimato. Para ello se ha utilizado un novedoso método de aplicación de los tratamientos, mediante la incubación de discos de hojas de dos poblaciones de *A. palmeri* (una sensible y otra resistente por sobreexpresión de EPSPS). Así es posible comparar directamente el efecto del glifosato con el efecto de la aplicación exógena de diversos intermediarios de la misma ruta donde está localizada la diana del herbicida.



Figura 1. Esquema de la ruta del siquimato y síntesis de aminoácidos aromáticos. 3-Deoxi-D-arabino-heptulosonato-7-fosfato sintasa (DAHPS); 5-enolpiruvilsiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal. Las plantas de *A. palmeri* (Facilitadas por el Dr. Todd A. Gaines; Colorado State University, Fort Collins, CO, USA) se cultivaron en cultivo hidropónico puro con aireación forzada bajo condiciones controladas mediante el método descrito por Fernández-Escalada et al. (2016). La población resistente empleada en este ensayo presenta una amplificación génica de 47,5 veces más copias de EPSPS (Fernández-Escalada et al., 2016). Las semillas esterilizadas se colocaron individualmente sobre seedholders rellenos previamente con agar al 0.65%. Los contenedores se trasladaron a un fitotrón con condiciones controladas (fotoperiodo luz/oscuridad (h) = 16/8; T^a (°C): 22/18; y HR (%): 60/70%) durante 30 días.

Se recolectaron las hojas más jóvenes de cada uno de los individuos y se tomaron muestras frescas de discos de hoja de 4 mm de diámetro empleando un micro-perforador. Se realizaron dos experimentos: en el primero se determinó el contenido de siquimato dentro del tejido; y en el segundo se determinó el contenido de EPSPS y DAHPS mediante inmunodetección. En el primer ensayo se incubó un único disco de hoja por pocillo en microplacas de 96 pocillos con 100 µl de líquido de incubación (Fig. 2A); para el segundo se incubaron 25 discos de hoja por pocillo en microplacas de 6 pocillos con 2,5 ml de líquido de incubación (Fig. 2B). En ambos experimentos las condiciones de incubación fueron: 24°C, 24 h. Los tratamientos aplicados fueron: agua en el tratamiento control; siquimato 20 mM; quinato 50 mM; glifosato 2,7 mM; cicloheximida

200 μM ; glifosato con cicloheximida; PEP 10 mM; glifosato con PEP; AAA 10 mM de cada aa: fenilalanina, tirosina y triptófano; glifosato con AAA.

2.2. Determinaciones. Transcurrido el tiempo de incubación las placas para la determinación de siquimato se congelaron a -20°C hasta su análisis espectrofotométrico según el método descrito por Fernández-Escalada et al. (2016). En los pocillos que contenían 25 discos de hoja se retiró el medio líquido y fueron congelados en N_2 líquido y almacenados a -80°C hasta su análisis. Se determinó el contenido de EPSPS por inmunodetección según el método descrito por Fernández-Escalada et al. (2016) y el de DAHPS según el descrito por Zabalza et al. (2016).

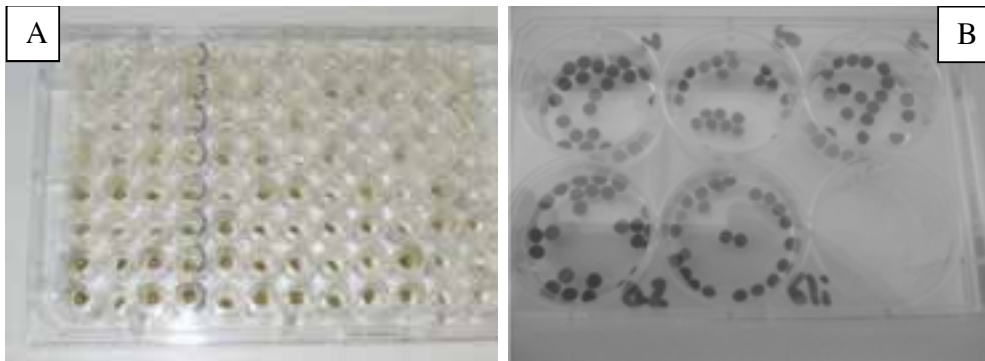


Figura 2. (A) Ensayo para la determinación de siquimato en el que se incubó un único disco por pocillo y (B) ensayo para la determinación del contenido de EPSPS y DAHPS en el que se incubaron 25 discos por pocillo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este ensayo se ha utilizado un método de incubación *in vivo* que permite tratar el material vegetal con intermediarios de la ruta del siquimato. Al tratarse de discos de hoja la incubación proporciona una mayor disponibilidad de los tratamientos en el interior de la hoja y permite trabajar en tiempos cortos (24h) lo que limita la degradación de estos compuestos.

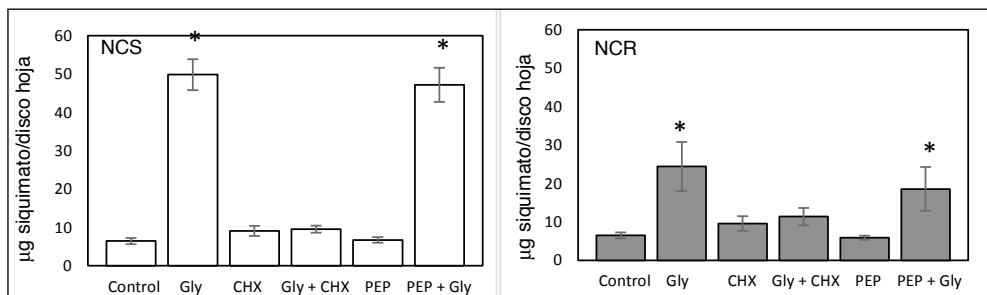


Figura 3. Contenido de siquimato en discos de hoja (población sensible en blanco, NCS, y resistente en gris, NCR). Tratamientos: agua (control); glifosato (Gly); cicloheximida (CHX); glifosato con cicloheximida; PEP; PEP con glifosato. Media \pm ES (n=10). * indica diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ese tratamiento y el control de esa población.

La inhibición del enzima EPSPS por el herbicida glifosato provoca una gran acumulación de siquimato en hojas (Lydon and Duke 1988; Becerril et al., 1989; Hernández et al., 1999; Orcaray et al., 2010, 2012). En este ensayo se observa una acumulación de este compuesto en el tratamiento con glifosato en ambas poblaciones (Fig. 3), siendo menor en la población resistente (NCR) que en la población sensible (NCS), comprobando así la resistencia de la población al herbicida (Shaner et al., 2005).

El nivel de proteína EPSPS basal es muy diferente en ambas poblaciones, hay más proteína en la población resistente lo que hace que la inmunodetección se realice partiendo de distintas concentraciones de proteína. Este mayor contenido de proteína EPSPS en poblaciones con resistencia debido a amplificación génica ya se había descrito para *A. palmeri* (Gaines et al., 2010; Gaines et al., 2011; Ribeiro et al., 2014; Fernández-Escalda et al., 2016) y para otras especies (Wiersma et al., 2015). Tras la aplicación de glifosato se produce un aumento significativo de la cantidad de EPSPS en ambas poblaciones (Fig. 4, Fernandez-Escalada et al., 2016). Ambas poblaciones mostraron un incremento no significativo de la cantidad de enzima DAHPS tras el tratamiento con glifosato (Fig. 4; Pinto et al., 1988; Zabalza et al., 2016). El hecho de haber detectado los efectos ya conocidos del glifosato (acumulación de siquimato, mayor cantidad de proteína EPSPS y DAHPS) en los discos de hojas tratadas valida este método de ensayo para poder analizar el efecto directo de diferentes intermediarios metabólicos sobre dichos parámetros.

Si la acumulación de siquimato fuera la señal que hace que aumente la expresión de DAHPS y EPSPS, debería haberse observado una mayor cantidad de las mismas tras el tratamiento con siquimato. Sin embargo, no se produce ese aumento en ninguna de las dos poblaciones (Fig. 4).

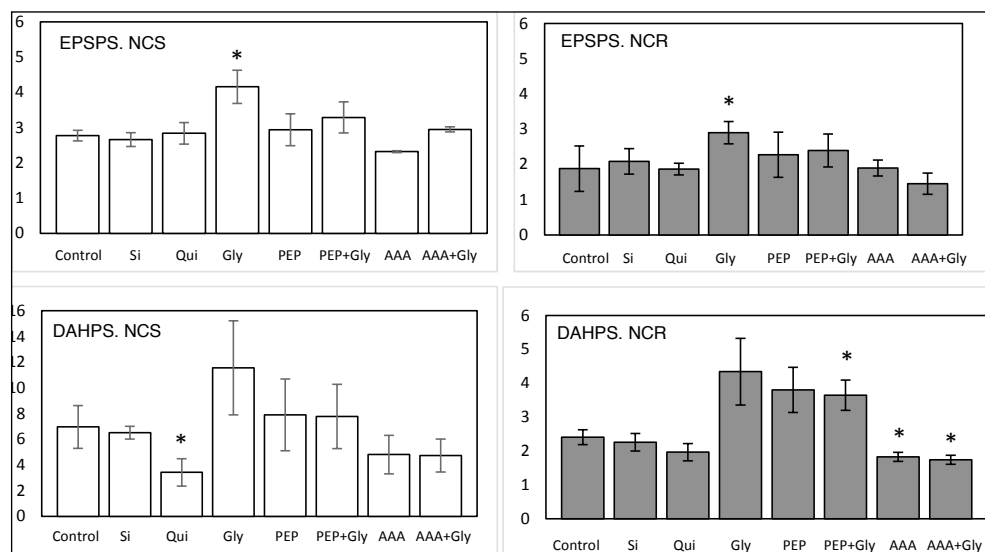


Figura 4. Efecto de los diferentes tratamientos en el contenido de los enzimas EPSPS y DAHPS (Adj. Vol. RD²mm²) en hojas de *A. palmeri*, población sensible (NCS) columnas blancas y resistente (NCR) grises. La proteína cargada en la inmunodetección de EPSPS fue de 60 µg para NCS y 15 µg para NCR, en el caso de DAHPS fue igual en ambas poblaciones (40 µg). Tratamientos: agua (control); glifosato (Gly); cicloheximida (CHX); glifosato con cicloheximida; PEP; PEP con glifosato; aminoácidos aromáticos (AAA); AAA con glifosato. Media ± ES (n=3). * indica diferencia significativa (p<0.05) con el control de la misma población.

Por otra parte, la acumulación de siquimato provocada por el glifosato fue suprimida en las plantas que fueron incubadas en presencia del herbicida y cicloheximida (Fig. 3), un inhibidor de la traducción proteica del citosol. Este resultado sugiere que únicamente se puede llegar a acumular siquimato con glifosato si se produce la síntesis simultánea de alguna proteína, que podría ser la DAHPS, al tratarse del enzima de inicio de la vía de biosíntesis de aminoácidos, donde se sintetiza siquimato y cuya síntesis aumenta en presencia de glifosato (Fig. 4).

La aplicación exógena de quinato, un metabolito formado a partir de una ramificación de la ruta del siquimato y cuya concentración aumenta con glifosato, no modificó la cantidad del enzima EPSPS pero sí disminuyó la cantidad de DAHPS en la población sensible (Fig. 4), tal y como describieron Zabalza et al. (2016) en guisante. A pesar de que se había propuesto que una hipotética mayor disponibilidad de PEP como efecto de la inhibición de EPSPS por el herbicida podría ser un factor que exacerbaría la acumulación de siquimato que provoca el herbicida (DeMaría et al., 2006), el tratamiento conjunto de PEP con glifosato provocó una acumulación de siquimato similar a la que se produce con el herbicida aplicado de forma aislada (Fig. 3). Los AAA aplicados de forma aislada o con glifosato produjeron (Fig. 4) una disminución del contenido de la proteína DAHPS en ambas poblaciones (significativa solo en la población resistente). Estos resultados sugieren que la mayor disponibilidad de productos finales, independientemente de la presencia de glifosato, regularían la cantidad de enzima DAHPS, puerta de entrada hacia la ruta del siquimato.

Este trabajo ha permitido profundizar en los mecanismos de regulación de la ruta del siquimato comprobándose que la sobreexpresión del enzima EPSPS no modifica la regulación de la vía y se propone la importancia del incremento de flujo de entrada en la vía como el principal responsable de la respuesta al herbicida.

4. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto ha sido financiado por el Ministerio Español de Economía y Competitividad (AGL-2013-40567R). M.F-E, A. Z-G y M. G-M han sido becarios predoctorales de la Universidad Pública de Navarra. Agradecemos a Gustavo Garijo por su asistencia técnica y al Dr. Todd A. Gaines (Colorado State University, Fort Collins, CO, USA) por las facilidades para realizar este trabajo.

5. REFERENCIAS

- Becerril, J.M., Duke, S.O. and Lydon, J. (1989). Glyphosate effects on shikimate pathway products in leaves and flowers of velvetleaf. *Phytochemistry*, 28, 695-699.
- DeMaría, N., Becerril J., García-Plazaola, J., Hernández, A., DeFelipe, MR. and Fernández-Pascual, M. (2006). New insights on glyphosate mode of action in nodular metabolism: Role of shikimate accumulation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 2621-2628.
- Fernández-Escalada, M., Gil-Monreal, M., Zabalza, A. and Royuela, M. (2016). Characterization of the *Amaranthus palmeri* physiological response to glyphosate in susceptible and resistant populations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 95-106.
- Gaines, T.A., Shaner, D.L., Ward, S.M., Leach, J.E., Preston, C. and Westra, P. (2011). Mechanism of resistance of evolved glyphosate-resistant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 5886-5889.

- Gaines, T.A., Zhang, W., Wang, D., Bukun, B., Chisholm, S.T., Shaner, D.L., Nissen, S.J., Patzoldt, W.L., Tranel, P.J., Culpepper, A.S., Grey, T.L., Webster, T.M., Vencill, W.K., Sammons, R.D., Jiang, J., Preston, C., Leach, J.E. and Westra, P. (2010). Gene amplification confers glyphosate resistance in *Amaranthus palmeri*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 1029-1034.
- Gomes, M.P., Smedbol, E., Chalifour, A., Häänault-Ethier, L., Labrecque, M., Lepage, L., Lucotte, M. and Juneau, P. (2014). Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: An overview. *Journal of Experimental Botany*, 65, 4691-4703.
- Hernández, A., García-Plazaola, J.I. and Becerril, J.M. (1999). Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. Merr.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2920-2925.
- Lydon, J. & Duke, S.O. (1988). Glyphosate induction of elevated levels of hydroxybenzoic acids in higher plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, 813-818.
- Orcaray, L., Igal, M., Marino, D., Zabalza, A. and Royuela, M. (2010). The possible role of quinate in the mode of action of glyphosate and acetolactate synthase inhibitors. *Pest Management Science*, 66, 262-269.
- Orcaray, L., Zulet, A., Zabalza, A. and Royuela, M. (2012). Impairment of carbon metabolism induced by the herbicide glyphosate. *Journal of Plant Physiology*, 169, 27-33.
- Pinto, J E., Dyer, W E., Weller, S C. and Herrmann, K M. (1988). Glyphosate induces 3-deoxy-d-arabino-heptulosonate 7-phosphate synthase in potato (*Solanum tuberosum* L.) Cells grown in suspension culture. *Plant Physiology*, 87, 891-893.
- Powles, S.B. & Yu, Q. (2010). Evolution in action: plants resistant to herbicides. *Annual Reviews in Plant Biology*, 61, 317-347.
- Ribeiro, D.N., Pan, Z., Duke, S.O., Nandula, V.K., Baldwin, B.S., Shaw, D.R. and Dayan, F.E. (2014). Involvement of facultative apomixis in inheritance of EPSPS gene amplification in glyphosate-resistant *Amaranthus palmeri*. *Planta*, 239, 199-212.
- Shaner, DL, Nadler-Hassa, T, Henry, WB and Koger, CH (2005). A rapid *in vivo* shikimate accumulation assay with excised leaf discs. *Weed Science*, 53, 769-774.
- Siehd D. (1997). Inhibitors. *Herbicide activity: Toxicology, biochemistry and molecular biology*. Roe R., Burton J., Kuhr R. Amsterdam. 37-67.
- Wiersma, AT, Gaines, TA, Preston, C, Hamilton, JP, Giacomini, D, Robin Buell, C, Leach, JE and Westra, P (2015). Gene amplification of 5-enol-pyruvylshikimate-3-phosphate synthase in glyphosate-resistant *Kochia scoparia*. *Planta*, 241, 463-474.
- Zabalza A., Orcaray L., Fernández-Escalada M., Zulet-González, A. and Royuela, M. (2016). The pattern of shikimate pathway and phenylpropanoids after inhibition by glyphosate or quinate feeding in pea roots. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. DOI: 10.1016/j.pestbp.2016.12.005.

Effect of glyphosate and different metabolic intermediates on the regulation of shikimate pathway

Summary: This study is an approach to the mechanisms of regulation of the shikimate pathway (located in the biosynthetic pathway of the aromatic amino acids). For that aim, shikimate content and protein amount of EPSPS (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) and DAHPS (3-Deoxy-d-arabino-heptulosonate-7-phosphate synthase, first enzyme of the pathway) have been compared in leaf discs of two populations of *Amaranthus palmeri* (one sensitive and another glyphosate-resistant) incubated with glyphosate or several intermediates of the shikimate pathway (shikimate, quinate, phosphoenol pyruvate and aromatic amino acids). Both populations showed similar regulatory patterns, evidencing that EPSPS overexpression does not significantly affect the overall regulatory mechanisms. DAHPS is confirmed to be a key enzyme in the regulation of the shikimate pathway and in the physiological response to glyphosate, as its synthesis is inhibited by aromatic amino acids and quinate and seems to be involved in the elicited shikimate accumulation after glyphosate treatment.

Keywords: shikimate pathway, EPSPS, DAHPS, shikimate, glyphosate, aromatic amino acids, quinate.

Uso de marcadores moleculares para la caracterización de malas hierbas del cultivo del arroz en Extremadura: *Echinochloa* spp. y *Leptochloa* spp.

Yolanda Romano¹, Fátima Mendoza¹, José Antonio Palmerín², José María Quiles³, Ignacio Amaro¹, María Dolores Osuna¹✉

¹Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), Guadajira (Badajoz)

²Servicio de Sanidad Vegetal (Junta de Extremadura), Don Benito (Badajoz)

³Servicio de Producción Agraria (Junta de Extremadura), Mérida (Badajoz)

✉ mariadolores.osuna@juntaex.es

Resumen: Los géneros *Echinochloa* y *Leptochloa* son las malas hierbas más problemáticas actualmente para el cultivo del arroz en Extremadura. Para controlarlas adecuadamente es imprescindible una identificación temprana, ya que las diferentes especies de ambos géneros muestran diferentes respuestas frente a un mismo herbicida. Una herramienta útil para discriminar las especies de dichas malas hierbas en estadios tempranos son los marcadores moleculares, que ayuda a planificar antes las estrategias de control adecuadas para el agricultor. En este trabajo se muestran las técnicas moleculares empleadas para diferenciar las especies del género *Echinochloa* más habituales en Extremadura: *E. oryzicola*, *E. oryzoides*, *E. crus-galli*, *E. hispidula* y *E. colona* utilizando la técnica molecular PCR-RFLP. Por otro lado, para diferenciar las especies del género *Leptochloa* (*L. fascicularis* y *L. uninervia*) se han utilizado marcadores tipo AFLP.

Palabras clave: *Echinochloa*, *Leptochloa*, marcador molecular, PCR-RFLP, AFLP.

1. INTRODUCCIÓN

De las malas hierbas presentes en el cultivo del arroz encontramos los géneros *Echinochloa* y *Leptochloa*, ambos pertenecientes a la familia Poaceae, y considerados como las malas hierbas más importantes que reducen el rendimiento del cultivo causando así grandes pérdidas económicas. Respecto al género *Echinochloa* a día de hoy no existe un acuerdo completo sobre las especies que lo constituyen. Debido a la alta variabilidad morfológica existente, para el género *Echinochloa* han sido propuestas diferentes clasificaciones taxonómicas. En el área mediterránea, la clasificación de este género se lleva a cabo principalmente según las claves taxonómicas de Pignatti (1982) y Carretero (1981). En Extremadura, el género *Echinochloa* incluye principalmente 4 especies: *E. crus-galli*, *E. hispidula*, *E. oryzoides* y *E. oryzicola*. Por otro lado, el género *Leptochloa*, comprende aproximadamente 40 especies de origen tropical y subtropical (Snow et al., 2008). En España, las primeras referencias como mala hierba aparecieron en 1985 en Lérida, en cultivos como maíz y pradera (Mayoral, 1991, 1993; Recasens and Conesa, 1995), y su presencia como mala hierba en el cultivo del arroz, ha pasado de ser algo puntual a estar ampliamente extendida en un espacio de tiempo relativamente corto. Diferenciar las especies en campo es muy complicada y la bibliografía existente las caracterizaba una vez emergida la panícula. En Extremadura, el género *Leptochloa* incluye dos especies: *L. fascicularis* y *L. uninervia*.

Tal y como se ha mencionado anteriormente, las especies de ambos géneros son difíciles de identificar morfológicamente, y además, para ello, se requiere que se encuentren en un estadio avanzado de su desarrollo, con lo cual sería tarde para llevar a cabo la aplicación del herbicida. Para poder hacer tal diferenciación de manera temprana se recurre al empleo de técnicas molecu-

lares. En este trabajo se han puesto a punto técnicas moleculares basadas en la PCR para poder diferenciar las especies de ambos géneros de campos de arroz de Extremadura en un estadio temprano.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal. Semillas de *Echinochloa* spp. recolectadas en los campos de arroz de Extremadura, se hicieron germinar en placas de Petri con papel de filtro humedecido con agua destilada y selladas con parafilm. Una vez germinadas, se procedió a su extracción. En ocasiones, la semilla no germinó, con lo que la extracción se hizo de la propia semilla hidratada. Para el caso de las semillas de *Leptochloa* spp., se germinaron en macetas de 7x7x9 cm. utilizándose un sustrato de turba-vermiculita en una proporción 3:1 en invernadero con condiciones controladas.

2.2. Extracción del ADN y reacciones de PCR. Para la extracción del ADN se utilizó el kit de extracción de ADN para plantas de BIOTOOLS siguiendo el protocolo del fabricante. Una vez extraído, se cuantificó utilizando el NANODROP 1000 (Thermo Scientific) para asegurarnos que estaba en las condiciones adecuadas de concentración y pureza. A continuación, se hicieron diluciones a 10 ng/ μ l para el caso de las muestras de *Echinochloa* spp., y a 20 ng/ μ l para el caso de las muestras de *Leptochloa* spp., que son las concentraciones utilizadas en las posteriores PCR. El ADN se conservó a -21 °C hasta su utilización en los análisis.

En el caso de *Echinochloa* spp., para la realización de la PCR se utilizaron dos parejas de cebadores. Por un lado, la pareja formada por trn-a (5'-CATTACAAATGCGATGCTCT-3') / trn-b1 (5'-AACGATCGAATGAAAATGCC-3'), y por otro lado la pareja formada por trn-c (5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3') y trn-d (5'-GGGGATAGAGGGACTTGAAC-3') (Yamaguchi et al., 2005). La mezcla de los reactivos utilizada para llevar a cabo la reacción de PCR en ambas parejas de cebadores fue de 0.75 μ l de cada uno (10pmol/ μ l), 1.6 μ l de la mezcla de dNTP (2.5mM), 2 μ l de buffer 10X, 0.2 μ l de Taq polimerasa (5U/ μ l) y se completó con agua de PCR hasta un volumen final de 20 μ l. El ciclo de PCR en ambos casos fue: 94°C 3min (x1); 94°C 30seg, 57°C 30seg, 72°C 1min (x30); 72°C 7min (x1) manteniéndose a 4°C final del ciclo. A continuación, se llevaban a cabo las respectivas digestiones utilizando las enzimas de restricción Ecor I (5'-G*AATTC-3'), Alu I (5'-AG*CT-3') y Dra I (5'-TTT*AAA-3'), de manera que la PCR realizada con la pareja trna/b1 era digerida con la enzima Ecor I, y la PCR realizada con la pareja trnc/d era digerida con las enzimas Alu I y Dra I por separado. De este modo, los 30 μ l de volumen final de la reacción contenían 2 μ l del Buffer 10X, 1 μ l de la enzima (Fast Digest Thermo Fisher), 10 μ l del producto de PCR y 17 μ l de agua. La mezcla se incubaba durante 15 minutos a 37°C. Los productos digeridos fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa al 1.3% en TBE1X, teñidos con Red Safe 20000X (INTRON), y visualizados mediante luz UV utilizando el transiluminador GEL DOC XR SYSTEM (BIO RAD).

En el caso de *Leptochloa* spp. se utilizaron marcadores AFLP (amplified fragment length polymorphism) los cuales presentan un alto nivel de polimorfismo ya que dan lugar a gran cantidad de bandas, además son muy reproducibles y no requieren información previa del genoma a analizar. Se utilizó para ello el Kit de LICOR «IRDye Fluorescent AFLP» que necesita cuatro etapas. En la primera etapa el ADN genómico se digirió con dos enzimas de restricción, Ecor I (de corte raro) y Mse I (de corte frecuente). Se emplearon 5 μ l de ADN genómico (20ng/ μ l) total para 12,5 μ l de reacción (2,5 μ l de 5x PCR buffer, 1 μ l de EcoRI/MseI enzyme mix y 4 μ l de agua).

El ciclo de PCR utilizado fue: 37°C 2h; 70°C 15min. En la segunda etapa, unos fragmentos de ADN doble denominados adaptadores se ligaron específicamente a los fragmentos de ADN obtenidos de la digestión anterior, lo cual permitió generar moldes de ADN para la amplificación posterior. Para ello se empleó 12µl del adaptador mix y 0,5µl de T4 DNA ligasa. El ciclo utilizado fue: 20°C 2h. La tercera etapa consistió en una pre-amplificación de los moldes generados mediante PCR utilizando cebadores específicos complementarios a los adaptadores. Para ello emplearon 2,5µl de la dilución 1:10 de la mezcla de ligación para 25,5µl de volumen final. Se utilizó 20µl de AFLP Pre-amp primer mix, 2,5µl de Buffer de PCR reacción (10X) y 0,5µl de taq polimerasa (5 units/µl). El ciclo fue: 20 ciclos de 94°C 30s, 56°C 1min, 72°C 1min. La cuarta y última etapa consistió en la amplificación selectiva utilizando 6 parejas de cebadores: E36-M48, E36-M60, E37-M49, E38-M59, E40-M61 y E35-M49. Se emplearon en cada reacción 2µl de la dilución 1:20 de pre-amplificación para 10,5 µl de volumen final: 6µl de taq polimerasa working mix (1,2µl buffer10X, 0,06µl taq (5U /µl) y 4,74µl de agua), 2µl de MseI primer que contenía los dNTPs, 0,5µl de IRDye 700 Labeled EcoRI primer A o 0,5µl de IRDye 800 Labeled EcoRI primer A). El ciclo utilizado en este caso fue: 1 ciclo de 94°C 30s, 65°C 30s, 72°C 1min; 12 ciclos de 94°C 30s, 65°C -0.7°C por ciclo, 72°C 1min; 23 ciclos de 94°C 30s, 56°C 30s y 72°C 1min. Los productos obtenidos tras todo el proceso fueron separados mediante electroforesis en geles de acrilamida al 6% utilizando el secuenciador de ADN automático LICOR 4300.

Con los datos obtenidos tras los análisis con AFLP se realizó una matriz que fue analizada con el programa estadístico NTSYS 2.2.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Del género *Echinochloa*. Para la puesta a punto de la técnica PCR-RFLP para diferenciar las especies del género *Echinochloa*, en primer lugar, se compararon los datos obtenidos con aquellos obtenidos en una caracterización a nivel morfológico con poblaciones de este género representativas de la zona arrocera de Extremadura (datos no mostrados). Una vez correctamente identificadas, se empleó la técnica molecular y se comprobó que se separaban de igual manera las especies con ambas técnicas, de manera que nos permitió clasificar molecularmente las especies en 3 grupos:

- Grupo 1: *E. oryzicola*/*E. oryzoides*
- Grupo 2: *E. crus-galli*/*E. hispidula*
- Grupo 3: *E. colona*.

Como ya fue nombrado con anterioridad, en esta técnica se utilizan dos parejas de cebadores. Utilizando la pareja de cebadores trn-a/trn-b1 para los grupos 1 y 2 se obtiene un fragmento de 481bp, sin embargo, para el grupo 3 el tamaño del fragmento obtenido es de 449bp. Tras la digestión con Ecor I el grupo 1 sigue dando el tamaño de banda de 481bp (la enzima no corta), el grupo 2 da dos fragmentos, uno de 178bp y otro de 271bp (la enzima sí corta), y el grupo 3 sigue dando un fragmento de 449bp (la enzima no corta) Por otro lado, utilizando la pareja de cebadores trn-c/trn-d, para los 3 grupos se obtiene un fragmento de 620bp. Tras la digestión con Dra I, el grupo 1 sigue dando el tamaño de banda de 620bp (la enzima no corta), el grupo 2 y 3 dan dos fragmentos, uno de 120bp y otro de 500bp (la enzima sí corta) Por último, tras la digestión con Alu I, el grupo 1 da 2 fragmentos, uno de 178bp y otro de 447bp (la enzima sí corta), el grupo 2 da un tamaño de banda de 620bp (la enzima no corta), y el grupo 3 da 2 fragmentos, uno de 178bp y otro de 449bp (Fig. 1).

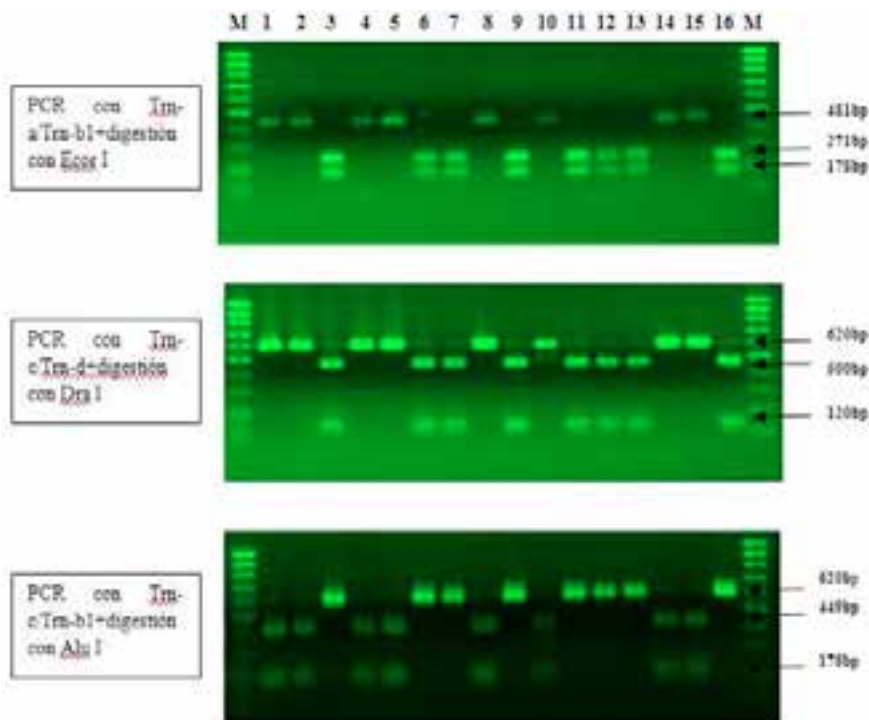


Figura 1. Productos obtenidos tras las digestiones con Ecor I, Dra I y Alu I una vez realizadas las PCR con las parejas de cebadores Trn-a/Trn-b1 y Trn-c/Trn-d. Se muestran poblaciones pertenecientes al GRUPO 1 (calles 1, 2, 4, 5, 8, 10, 14, 15) y al GRUPO 2 (calles 3, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 16).

Del total de las muestras de *Echinochloa* spp. de Extremadura caracterizadas a nivel molecular mediante esta técnica, la mayoría de ellas (un 65%) pertenecen al Grupo 1, seguidas un 34% del Grupo 2. Del Grupo 3 tan solo se han encontrado dos poblaciones (menos de un 1%).

3.2. Del género *Leptochloa*. En primer lugar, tal y como se hizo con las muestras del género *Echinochloa*, los datos moleculares obtenidos se compararon con una caracterización morfológica previa en individuos del género *Leptochloa* y se separaron por especies (datos no mostrados), comprobando la viabilidad de dichos marcadores. Por otro lado, analizando rigurosamente los fragmentos obtenidos en las electroforesis, se localizaron algunos específicos de cada especie con un 90-100% de seguridad. En la tabla 1 se muestran algunos de los tamaños de banda específicos con algunas de las parejas de cebadores utilizadas.

Podemos decir también, que de todas las muestras caracterizadas molecularmente de este género, se ha encontrado que la mayoría de ellas pertenecen a *Leptochloa uninervia* (sobre un 70%), y en menor cantidad *Leptochloa fascicularis* (sobre un 30%).

Tabla 1. Algunos de los fragmentos diferenciadores de las dos especies del género *Leptochloa* spp. encontrados tras los análisis moleculares con marcadores AFLP

Primers	Fragmento	<i>L. fascicularis</i>	<i>L. uninervia</i>
E37_M49	409bp	Presente	Ausente
E37_M49	507bp	Presente	Ausente
E40_M61	236bp	Presente	Ausente
E35_M49	153bp	Presente	Ausente
E36_M48	256bp	Ausente	Presente

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo está financiado por el proyecto INIA RTA-2014-00033-C03-01, por la ayuda a Grupos de Investigación de la Junta de Extremadura GR15112 y por el proyecto AGROS (CCESAGROS), fondos FEDER.

5. REFERENCIAS

- Carretero, JL (1981). El género *Echinochloa* Beauv. en el suroeste de Europa. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 38: 91-108.
- Mayoral A (1991). Notes Floristiques de la Plana d'Urgell, III. *Ciències*, 49, 79-81.
- Mayoral A (1993). Notes Floristiques de la Plana d'Urgell, IV. *Ciències*, 50, 9-11.
- Pignatti S (1982). Flora d'Italia. Vol. III. Bologna, Italy: Ed Agricole, p. 2324.
- Recasens J y Conesa JA (1995). Nuevas malas hierbas alóctonas en los cultivos de regadío de Cataluña. *Actas Congreso Sociedad Española de Malherbología*, 59-65.
- Snow N, Peterson PM and Giraldo-Cañas D (2008). *Leptochloa* (Poaceae, Chloridoideae) in Colombia. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas* 2(2): 861-874.
- Yamaguchi HA, Utano K, Yasuda A, Yano and A Soejima (2005). A molecular phylogeny of wild and cultivated *Echinochloa* in East Asia inferred from non-coding region sequences of trn T-L-F. *Weed Biology and Management*, 5, 210-218.

Use of molecular markers for the characterization of rice crop weeds in Extremadura


Summary: The genus *Echinochloa* and *Leptochloa* are the two most problematic weeds in rice fields in Extremadura. In order to be able to control them adequately, an early identification is essential, since the different species of both genus show different responses to the same herbicide. A powerful tool for discriminating species of these weeds are molecular markers, which have advantages over morphological characterization and can help to plan beforehand what are the appropriate control strategies for the farmer. In this work, by using the molecular technique the molecular technique PCR-RFLP we could distinguish at an early stage the species of *Echinochloa* more common in Extremadura: *E. oryzicola*, *E. oryzoides*, *E. crusgalli*, *E. hispidula* and *E. colona*. On the other hand, AFLP markers have been used to differentiate the species of the genus *Leptochloa* (*L. fascicularis* and *L. uninervia*).

Keywords: *Echinochloa*, *Leptochloa*, molecular marker, PCR-RFLP, AFLP.

Prospección de especies de malas hierbas del género *Conyza*, respuesta a glifosato y caracterización molecular en zonas de Extremadura

Ignacio Amaro¹, Yolanda Romano¹, Fátima Mendoza¹, María Dolores Osuna¹

¹Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX)

 ignacio.amaro@juntaex.es

Resumen: Ante la escasez de datos existentes sobre distribución de *Conyza* spp. y sobre respuesta a herbicidas en Extremadura y, debido a la cantidad de problemas de resistencia de esta mala hierba en otras zonas de España, se ha planteado una prospección de poblaciones de *Conyza* por zonas tanto de cultivo (principalmente olivar) como zonas urbanas. El uso del glifosato en zonas urbanas está siendo cada vez más restrictivo y aún más en áreas que son frecuentadas por el público en general. En el trabajo presentado aquí, se muestran los primeros resultados de la prospección por zonas urbanas de la provincia de Badajoz. Después de la prospección se realizó un ensayo para ver la respuesta de estas poblaciones a la dosis de campo de glifosato y se llevó a cabo su caracterización usando marcadores moleculares para ver la distribución por especies en la ciudad. Los resultados mostraron que la dosis comercial de glifosato controlaba un alto porcentaje las poblaciones recogidas y que la especie predominante en las zonas urbanas es *Conyza bonariensis* frente a *Conyza canadensis* y *Conyza sumatrensis*.

Palabras clave: *Conyza*, glifosato, marcadores moleculares.

1. INTRODUCCIÓN

El género *Conyza* abarca un conjunto de especies arvenses (*Conyza bonariensis*, *Conyza canadensis* y *Conyza sumatrensis*) que son cada vez más problemáticas en lugares donde no se puede recurrir al laboreo, por lo que, la práctica del control químico es habitual y recurrente. Dentro de los parques y áreas urbanas también suelen crecer este tipo de malas hierbas y se tiene menos alternativas de lucha contra ellas, ya que el uso de herbicidas en estas zonas está restringido debido a que son usualmente frecuentadas por el público en general, siendo el glifosato el herbicida más utilizado. Los parámetros que contribuyen a la distribución de *Conyza* spp. no están claros. Se supone que la distribución esta mayormente influenciada por el viento, pero parámetros como precipitaciones, tipo de suelo, y movimiento de humanos tienen que ser tenidas en cuenta (Matzrafi et al., 2015). En la actualidad existen 58 casos de *Conyza* spp. resistente a glifosato en el mundo (Heap, 2017). Por todo ello, el objetivo del trabajo fue realizar una prospección por zonas urbanas de Badajoz (Extremadura) para ver las especies de *Conyza* que pueden encontrarse en las distintas áreas, si éstas eran controladas a la dosis comercial de glifosato y detectar molecularmente a qué especie pertenecían los ejemplares recolectados.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Prospección. En primer lugar, se realizó una prospección de poblaciones de *Conyza* por zonas urbanas de la ciudad Badajoz y alrededores incluyendo parques, jardines, solares, medianas de calzadas, etc. La cantidad de muestras que recolectaron fue de 46. La fecha de muestreo fue durante los meses de septiembre y octubre de 2016.

2.2. Ensayo con herbicidas. Las semillas de todas estas poblaciones se pusieron a germinar para posteriormente trasplantar las plántulas cuando tenían un estadio de 2-4 hojas verdaderas a macetas de 7x8 cm. Para dicho trasplante se utilizó una mezcla de turba-vermiculita (proporción 3:1).

La aplicación del herbicida se realizó cuando las plantas tuvieron entre 6-8 hojas verdaderas. La dosis utilizada fue 1080 g i.a./ha que correspondiente a 3 l/ha de producto comercial (36% p/v) en un experimento con 5 repeticiones. Todas las plantas del ensayo tenían un estado fenológico y un tamaño similar con el objetivo de descartar cualquier duda debido al mayor desarrollo de la planta. Para la aplicación, se utilizó un pulverizador equipado con 4 boquillas espaciadas 0,5 m unas de otras y situadas a 0,5 metros de la superficie de las plantas. El volumen de aplicación empleado fue de 200 l/ha, a presión, altura de barra y velocidad de avance constantes.

Las plantas se conservaron en un invernadero de CICYTEX-La Orden equipado con un sistema de climatización programado para no superar temperaturas de 30 °C ni descender de 15 °C, e iluminación artificial para mantener 16/14 h de luz y 8/10 h de oscuridad. El parámetro evaluado fue % de supervivencia respecto a control sin tratar a los 21 días después del tratamiento (21 DDT).

2.3. Caracterización molecular de especies. Se trituraron aproximadamente 100 mg de tejido vegetal hasta que se consiguió un polvo fino. El ADN se extrajo usando el kit de extracción de ADN para plantas Speedtools (BIOTOOLS, Madrid, Spain). En todos los casos, el ADN se cuantificó usando un NANODROP-1000 (Thermo-Scientific), diluyendo a una concentración final de 10 ng μL^{-1} para ser utilizada en la PCR. Un total de 8 cebadores ISSR del set #9 del Laboratorio Biotecnológico de la Universidad de British Columbia (Vancouver, Canadá) fueron escogidos para la amplificación del ADN. La amplificación del ADN se llevó a cabo en una mezcla de reacción que contenía 1 μL (10 ng μL^{-1}) de ADN; 2,5 μL de buffer 10X (con 15 mM MgCl_2); 2 μL (2,5 mM) de una mezcla de deoxynucleotide triphosphate; 1 μL (1 μM) del cebador y 0,2 μL (5 U μL^{-1}) de Taq ADN polymerase (BIOTOOLS) por 25 μL de la mezcla de reacción. Para la PCR se utilizó un termociclador Bio-Rad programado para 38 ciclos tal que: 1 ciclo de 7 minutos a 94°C, 38 ciclos de 30 segundos a 94°C, 30 segundos a 52°C y 1 minuto a 72°C y finalmente 1 ciclo de 5 minutos a 72°C. El producto amplificado se visualizó en un gel de agarosa al 1,3% añadiéndole previamente intrón. Una vez realizado el gel, se realizó una fotografía bajo luz ultravioleta (transiluminador ALPHA-INNOTECH). El tamaño molecular de los fragmentos se estimó a partir de un marcador de 100 a 2000 pares de bases (Fisher; rango de 100 a 2000).

A partir de las fotos de los geles se creó una matriz de presencia/ausencia de bandas moleculares y se elaboró un árbol de separación de especies a partir de dicha matriz utilizando el programa NTSYSpc.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Prospección. En la tabla 1 y en la figura 1 se muestran las zonas donde se realizaron las prospecciones, siendo como se mencionó anteriormente lugares como parques, jardines, solares, medianas de calzadas, etc.

Tabla 1. Zona y lugar de las muestras de *Conyza* spp.

Zona	Lugar	Muestras
Zona 1	Universidad	ZU-4 a ZU-7
Zona 2	Urb. Gadiana	ZU-8 a ZU-11, ZU-33 a ZU-34, ZU-42 a ZU-46
Zona 3	Valdepasillas	ZU-12 a ZU-15
Zona 4	Urb. Ciudad Jardín	ZU-35 a ZU-39
Zona 5	Parque Castelar	ZU-27 a ZU-30
Zona 6	Parque Alcazaba	ZU-31 a ZU-32
Zona 7	Parques Centro Ciudad	ZU-16 a ZU-26
Zona 8	Urb. Las Vaguadas	ZU-40 a ZU-41



Figura 1. Mapa de recolección de las muestras de *Conyza* spp.

3.2. Tratamiento. Los resultados de los tratamientos realizados en macetas se muestran en la figura 2.

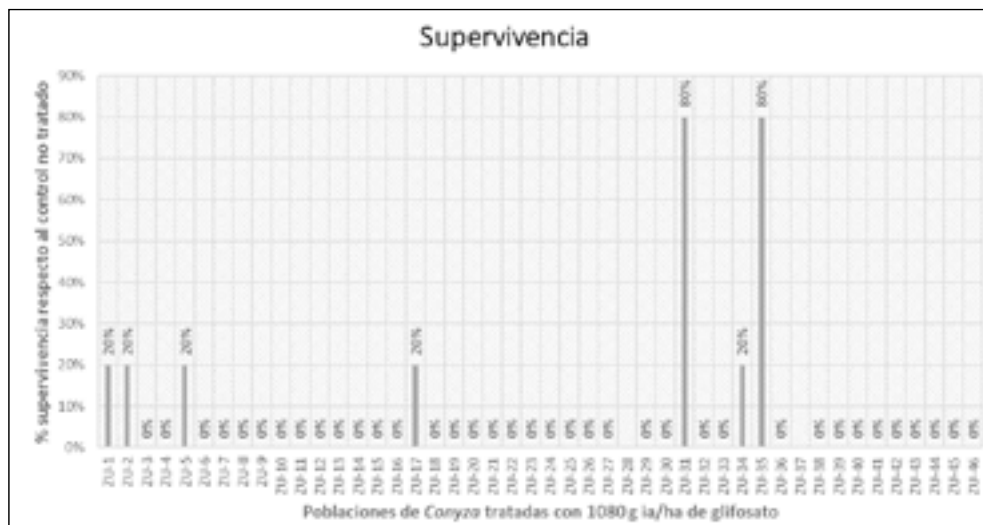


Figura 2. Supervivencia a los 21 DDT respecto al control no tratado de poblaciones de *Conyza* spp. recolectadas en zonas urbanas y tratadas con 1080 g i.a./ha de glifosato.

De las muestras recolectadas, todas presentaron una baja supervivencia respecto al control salvo ZU-31 y ZU-35 cuyo porcentaje de supervivencia fue del 80%. Estas poblaciones pertenecen a zonas diferentes de la ciudad.

3.3. Caracterización molecular de las especies. Para la caracterización de especies, se utilizaron marcadores moleculares previamente utilizados para agrupar/separar las diferentes especies de *Conyza*. Se utilizaron poblaciones «testigo» que ya habían sido caracterizadas previamente. En los resultados mostrados en la figura 3, de las 46 muestras de *Conyza* recolectadas en áreas urbanas de la provincia de Badajoz, cabe resaltar que la especie más abundante es *Conyza bonariensis* con 34 biotipos identificados, la segunda es *Conyza sumatrensis* con 7 muestras caracterizadas y, por último, *Conyza canadensis* con 5 poblaciones reconocidas.

Los resultados aquí presentados son los preliminares a un estudio más amplio que se está llevando a cabo, donde se muestrearán más zonas de la ciudad y cercanas. Con estas mismas poblaciones se están realizando estudios de control alternativo con herbicidas pertenecientes a otros modos de acción.

4. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto ha sido financiado por la Beca INIA otorgada a Ignacio Amaro Blanco y el proyecto AGROS (CCESAGROS), fondos FEDER

5. REFERENCIAS

- Heap, I. (2017). The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Internet. Available www.weedscience.com.
- Matzrafi M, Lazar TW, Sibont M and Rubin B. (2015). *Conyza* species: distribution and evolution of multiple target-site herbicide resistances. *Planta*, 242, 259-267.

Prospecting of weed species of the genus *Conyza*, response to glyphosate and molecular characterization in areas of Extremadura

Summary: Due to lack of data about the distribution of *Conyza* spp. and about its response to herbicides in Extremadura and given the amount of resistance problems of this weed in other areas of Spain, a survey of *Conyza* populations by cultivation areas (mainly olive groves) and urban areas has been carried out. The use of glyphosate in urban areas is increasingly restrictive and even more so in areas that are frequented by the general public. In the work presented here, the first results of the survey by urban areas of the province of Badajoz are shown. After the survey, an assay was performed to see the response of these populations to the field commercial dose of glyphosate and a molecular characterization was carried out to see the distribution by species in the city. The results show that the dose of glyphosate controlled a high percentage of the collected populations and that the predominant species in urban areas is *Conyza bonariensis* against *Conyza canadensis* and *Conyza sumatrensis*.

Keyword: *Conyza*, glyphosate, molecular markers.

Primera dicotiledónea caracterizada en España con resistencia metabólica y de sitio de acción a inhibidores de la ALS: *Papaver rhoeas*

Jordi Rey-Caballero^{1,2✉}, Julio Menéndez³, María Dolores Osuna⁴, Marisa Salas⁵, Joel Torra¹

¹Malherbología y Ecología Vegetal. Dpto HBJ. Agrotecnio, Universitat de Lleida. Avda. Rovira Roure 191, 25198-Lleida, España.

²FTS Agroconsulting, Pol. Ind. Argentum c/ Platino s/n, 41909-Salteras, Sevilla, España.

³Dpto de Ciencias Agroforestales, Escuela Politécnica Superior Campus de la Rábida.

Ctra. Huelva-Palos de la Frontera s/n, 21071 Palos de La Frontera, Huelva, España.

⁴Finca La Orden-Valdesequera Research Centre, Ctra. A-V, Km372, 06187 Guadajira Badajoz, España.

⁵DuPont de Nemours, Reu Delarivière Lefoullon, La Defense Cedex, Paris 92064, Francia.

✉ jrey@fts-spain.com

Resumen: Se han detectado seis sustituciones diferentes en la posición Pro197 en tres de los biotipos de *Papaver rhoeas* con resistencia múltiple. Estas sustituciones fueron responsables de la elevada resistencia a tribenurón-metil y algunas de ellas, de la resistencia cruzada a imazamox y florasulam. En aquellas plantas con resistencia múltiple y solo resistentes a 2,4-D, se observó una elevada movilidad del tribenurón-metil con respecto a las plantas sensibles. Los estudios de metabolismo confirmaron la presencia de un metabolito del imazamox en una de las poblaciones. La falta de correlación entre el genotipo y el fenotipo en plantas tratadas con imazamox y florasulam, la aparición de plantas no mutadas capaces de sobrevivir a imazamox, el patrón de translocación detectado en las poblaciones y, por último, la presencia de metabolismo aumentado son signos que evidencian la presencia de mecanismos de resistencia metabólica a inhibidores de la ALS en esta especie.

Palabras clave: imazamox, florasulam, metabolismo, mutación, resistencia múltiple, translocación, tribenurón-metil.

1. INTRODUCCIÓN

Los resultados del presente trabajo fueron publicados el pasado mes de marzo en la revista *Pesticide Biochemistry and Physiology* (Vol. 138; 57-65). Dada la relevancia de este material, parece interesante integrar este trabajo dentro del presente congreso con el fin de hacer difusión de estos resultados y así advertir de la complejidad de la problemática de la resistencia a herbicidas. Como consecuencia del monocultivo de cereal y de una continuada aplicación de herbicidas para el control de amapola (*Papaver rhoeas* L.), se han seleccionado biotipos de esta especie resistentes a herbicidas. En España, en 1992 se detectaron los primeros problemas de control de *P. rhoeas* con 2,4-D, una auxina sintética (Taberner et al., 1992), y en 1998 la presencia de biotipos con resistencia múltiple a 2,4-D y tribenurón-metil, inhibidor de la acetolactato sintasa (ALS) (Claude et al., 1998). Pero esta especie no es solo un problema en nuestro país. Biotipos con resistencia a inhibidores de la ALS también han sido citados en Francia, Reino Unido, Alemania y Grecia, mientras que poblaciones de *P. rhoeas* con resistencia múltiple (2,4-D y tribenurón-metil) también han sido detectadas en Italia y Grecia (Heap, 2015). La resistencia de esta mala hierba a tribenurón-metil ha sido estudiada profundamente, y son diversos los trabajos que han encontrado diferentes tipos de mutaciones en la posición Pro197 de la enzima ALS (Kaloumenos et al., 2009; Délye et al., 2011). Las diversas sustituciones que se producen en esta posición del gen que codifica dicha proteína otorgan una resistencia fuerte a las sulfonilureas y resistencias intermedias a imidazolinonas y triazolopirimidinas (Délye et

al., 2011). Por otro lado, por lo que a los mecanismos de resistencia al 2,4-D se refiere, en un estudio previo se vio que las plantas resistentes no movilizan el herbicida de la misma manera que lo hacen los biotipos sensibles (Rey-Caballero et al., 2016). El objetivo de este trabajo es: (1) caracterizar la resistencia a tribenurón-metil y 2,4-D de algunos biotipos de *P. rhoeas* susceptibles, así como (2) estudiar los mecanismos de resistencia en el lugar de acción y fuera del lugar de acción (absorción, translocación y metabolismo) de algunos herbicidas inhibidores de la ALS en estos mismos biotipos.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal. Se recolectaron las semillas de cuatro poblaciones de amapola (R-213, R-313, R-114 y R-703) que sobrevivieron a la aplicación de diferentes inhibidores de la ALS o mezclas de estos con auxinas sintéticas (2,4-D + florasulam), todos estos biotipos proceden de campos de cereal localizados en el Noreste de España. Junto a estas poblaciones se incorporó un estándar sensible (S-013).

2.2. Caracterización de la resistencia. En estos biotipos se aplicó: tribenurón-metil (Granstar 50 SX, DuPont), florasulam (Nikos, Dow AgroSciences), imazamox (Pulsar 40, BASF España) y 2,4-D (Esteron 60, Dow AgroSciences) a 8 dosis diferentes (Tabla 1). Se emplearon un total de cuatro repeticiones (macetas) para cada una de las dosis con tres individuos por repetición. Cuatro semanas después de las aplicaciones se estimó el peso seco (65°C durante 48h.) por maceta y posteriormente se calculó el porcentaje de reducción de peso respecto al control no tratado. Los datos de este experimento fueron analizados con modelos de regresiones no lineales. La dosis de herbicida que causa el 50% de la reducción del peso seco (RD_{50}) se calculó gracias a la curva Log-logistic de cuatro parámetros (Knezevic et al., 2007). A partir de la RD_{50} se calcularon los factores de resistencia (FR) para cada uno de los biotipos y productos.

2.3. Genotipo vs fenotipo. Un total de 51 plantas por biotipo fueron tratadas con tribenurón-metil, florasulam e imazamox (17 para cada uno de los productos). Una semana antes de las aplicaciones se extrajo un fragmento de hoja de cada una de las plantas tratadas para posteriormente enviarlo para su posterior análisis molecular (análisis de los dominios C, A, D del gen que codifica la ALS). Cuatro semanas después de los tratamientos se definió el fenotipo, aquellas plantas muertas fueron clasificadas como sensibles (S), las plantas que presentaron un rebrote en el centro de la roseta fueron caracterizadas como moderadamente resistentes (r) y las plantas que no murieron y no presentaron ningún síntoma fueron clasificadas como resistentes (R).

2.4. Absorción y translocación. Para los experimentos de absorción-translocación se empleó tribenurón-metil marcado con ^{14}C . Cada una de las repeticiones recibió cuatro gotas (2 μ L) de la mezcla de herbicida marcado y herbicida comercial a la dosis de registro (18,7 g i.a. \cdot ha $^{-1}$). La absorción y translocación de estos productos se evaluó en cinco tiempos diferentes: 0, 12, 24, 48 y 96 horas después de la aplicación. Para cada tiempo y biotipo se emplearon 5 repeticiones (una planta por repetición). Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), en aquellos casos en los que no se cumplieron las asunciones de normalidad se practicaron transformaciones (arcs $[\sqrt{(x+0.5)}]$). Finalmente, las comparaciones entre biotipos se realizaron mediante un test post-hoc de Tukey ($p=0,05$).

2.5. Estudio de metabolismo a imazamox. La metodología empleada para llevar a cabo este ensayo fue la descrita por Rojano-Delgado et al. (2014). El imazamox se aplicó a 100 g i.a.·ha⁻¹ (doble de la dosis de registro) y a dosis control. Las plantas control junto con las plantas tratadas fueron recolectadas 0, 24, 48 y 72 horas después de su aplicación y se almacenaron a -40°C hasta su posterior uso. El imazamox y sus metabolitos fueron identificados por cromatografía líquida DAD («diode array detector») y una columna de cromatografía líquida de interacción hidrofílica se empleó para separar el herbicida y sus metabolitos. Finalmente, se tomó una muestra de cada una de las plantas empleadas en este ensayo para su posterior secuenciación. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), cuando no se cumplieron las asunciones de normalidad se realizaron transformaciones ($\arcsin[\sqrt{(x+0,5)}]$). Las comparaciones entre biotipos se efectuaron mediante un test post-hoc de Tukey ($p=0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Caracterización de la resistencia. Las poblaciones R-213, R-313 y R-114 fueron 286, 695 y 351 veces más resistentes al tribenuron-metil que el biotipo sensible. Por lo que al florasulam se refiere, estos biotipos presentaron factor de resistencia (FR) del 24, 18 y 18 (en R-213, R-313 y R-114, respectivamente). Para el imazamox los FR para estas mismas poblaciones fueron de 30, 40 y 24 (R-213, R-313 y R-114 respectivamente). La población R-703 solo presentó resistencia al 2,4-D (FR de 15), las poblaciones R-213, R-313 y R-114 se confirmaron como poblaciones con resistencia múltiple al ser también resistentes al 2,4-D (FR que osciló de 12 a 18). Estos datos están en concordancia con lo observado en otros biotipos de amapola con resistencia múltiple (Kaloumenos et al., 2009).

3.2. Genotipo vs fenotipo. Ningunas de las plantas del biotipo sensible (S-013) presentó alteraciones en el aminoácido prolina en la posición 197 (Pro197), sin embargo, se identificaron seis sustituciones diferentes en esta posición (Ala, Arg, His, Leu, Ser y Thr) en las poblaciones R-213, R-313 y R-114. En la población R-703, únicamente una planta de las 51 analizadas presentó una mutación (Thr197). Los resultados de este trabajo demostraron que todas aquellas plantas que albergaban alguna mutación en la posición Pro197, presentaban una fuerte resistencia a la sulfonilurea tribenurón-metil. La mayoría de las plantas tratadas con florasulam fueron caracterizadas como r o S, pocas fueron caracterizadas como R. Todas aquellas plantas que presentaron una resistencia fuerte (R) al florasulam tenían una Ser en uno de los alelos mutados. La mayoría de las plantas tratadas con imazamox presentaron una respuesta R o r, muchas de las plantas con resistencia fuerte (R) albergaban un alelo Thr197 o Leu197. Resultados de la misma naturaleza fueron advertidos por Délye et al. (2011).

3.3. Absorción y translocación de [¹⁴C]-tribenurón-metil. No se detectaron diferencias estadísticamente significativas en términos de absorción entre biotipos. Por lo que a la translocación de este producto se refiere, se observaron diferencias estadísticamente significativas entre biotipos a partir de las 48 horas y estas fueron máximas a las 96 horas (Fig. 2). El tribenurón-metil marcado permaneció inmóvil en la hoja tratada de las plantas del estándar sensible, por el contrario, el resto de biotipos fueron capaces de movilizar de forma significativa este herbicida. De entre todas las poblaciones estudiadas, el biotipo R-313 presentó los porcentajes de movilidad más elevados (Fig. 2). Los datos de nuestro estudio están en concordancia con estudios anteriores

en los que se ha observado que los herbicidas inhibidores de la ALS afectan el transporte de asimilados en el floema de aquellas plantas sensibles (Zabalza et al., 2004). No obstante, el mismo comportamiento observado en la población solo resistente a 2,4-D podría indicar la presencia de un mecanismo de resistencia fuera del sitio de acción.

3.4. Estudio de metabolismo a imazamox. El patrón de metabolización y transporte del imazamox fue diferente entre plantas sensibles y resistentes a partir de las 48 horas (Fig. 3). El herbicida se movilizó a las raíces en las plantas sensibles a diferencia de las resistentes. Además, 72 horas después de la aplicación del herbicida se detectó la presencia de un metabolito hidroxilo del imazamox en las plantas del biotipo R-313 (19,8 y 0,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ planta en parte aérea y raíces, respectivamente). Los resultados moleculares de este ensayo corroboraron la presencia de plantas

Tabla 1. Herbicidas empleados en los experimentos dosis-respuesta y tratamientos sucesivos

Ingrediente activo	Producto comercial	Dosis recomendada (g i.a.·ha ⁻¹)	Ratio de dosis empleadas (g i.a.·ha ⁻¹)
Tribenurón-metil	Granstar 50 SX	18,7	R 1200; 600; 150; 75; 37,5; 18,7; 9,3; 4,6 y 0
			S 18,7; 9,3; 4,6; 2,3; 1,1; 0,5; 0,25 y 0
Florasulam	Nikos	7,5	R 480; 240; 60; 15; 7,5; 3,7; 1,8; 0,9 y 0
			S 7,5; 3,7; 1,8; 0,9; 0,4; 0,2; 0,1 y 0
Imazamox	Pulsar 40	50	R 3200; 1600; 400; 100; 50; 25; 12,5; 6,2 y 0
			S 50; 25; 12,5; 6,2; 3,1; 1,5; 0,7 y 0
2,4-D	Esteron 60	600	R 4800; 1200; 600; 300; 150; 75 y 0
			S 600; 300; 150; 75; 37,5; 18,7; 9,3 y 0

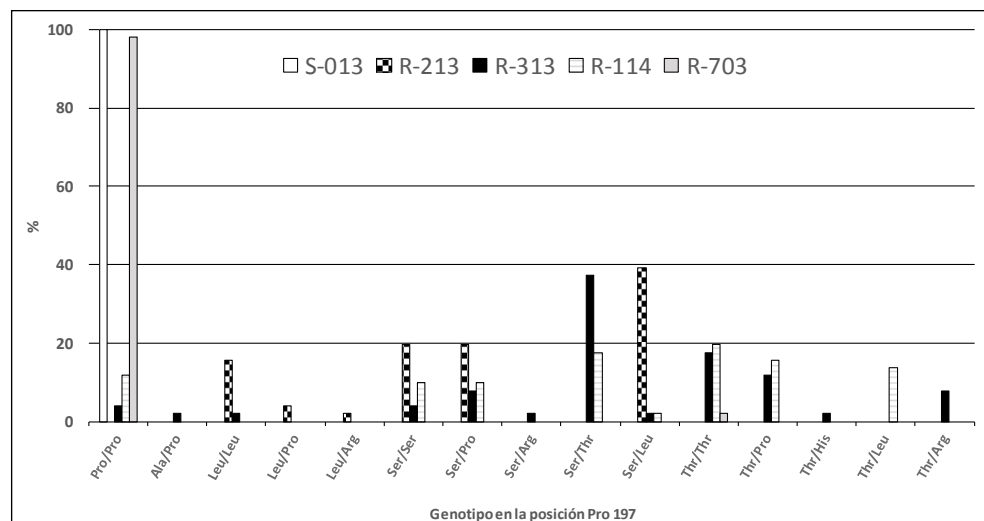


Figura 1. Genotipo detectado en la posición Por 197 del gen que codifica la ALS en 255 plantas de *P. rheoas* (51 plantas analizadas por biotipo).

con mutaciones en los biotipos R-213 y R-313 (Ser/Ser, Pro/Ser y Thr/Pro); ninguna de las plantas empleadas en los biotipos R-703 y S-013 presentó alteraciones en la posición Pro197. De esta manera, se confirma por primera vez en *P. rhoeas* la co-existencia de mecanismos de resistencia en el sitio de acción y fuera del sitio de acción (metabolismo) en una misma planta de poblaciones con resistencia múltiple (Rey-Caballero et al., 2017).

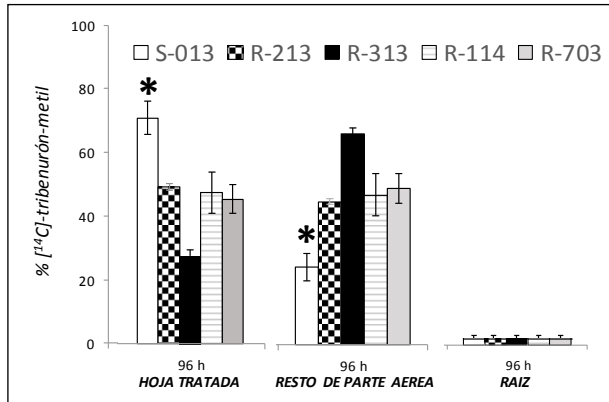


Figura 2. Porcentaje de translocación del [¹⁴C]-tribenurón-metil. Radioactividad medida en la hoja tratada, resto de la parte aérea y raíces de diferentes poblaciones de *P. rhoeas* a las 96 horas después de la aplicación. Las barras representan el error estándar de la media y * indica diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre la población sensible (S-013) y el resto de poblaciones.

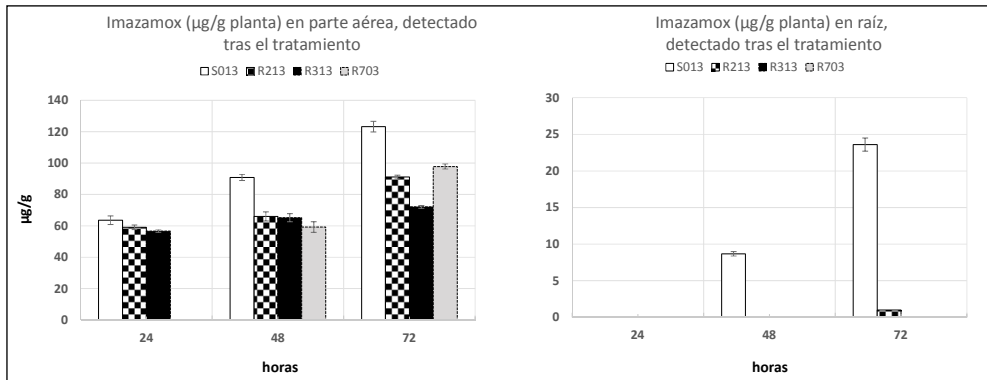


Figura 3. Cantidad de imazamox ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ planta, $n = 3$ réplicas) detectada por cromatografía líquida DAD a las 24, 48 y 72 horas después del tratamiento.

4. AGRADECIMIENTOS

Este estudio se ha realizado gracias a la financiación de Du Pont de Nemours (Francia). Además, los autores agradecemos la ayuda prestada por parte de J.S. Notter, Y. Romano, E. Edo y A.M. Rojano-Delgado en estos experimentos.

5. REFERENCIAS

- Claude JP, Gabard J, De Prado R and Taberner A (1998). An ALS-resistant population of *Papaver rhoeas* in Spain. *Compte Rendu XVII Conference COLUMA, Journées Internationales sur la Lutte contre les Mauvaises Herbes, ANPP*, pp. 141-147. Montpellier, France.
- Délye C, Pernin F and Scarabel L (2011). Evolution and diversity of the mechanisms endowing resistance to herbicides inhibiting acetolactate-synthase (ALS) in corn poppy (*Papaver rhoeas* L.). *Plant Science*. 180, 333-342.
- Heap I (2015). International Survey of Herbicide Resistant Weeds. [http:// www.weedscience.org/in.asp](http://www.weedscience.org/in.asp). Accessed April 01, 2015.
- Kaloumenos NS, Dordas CA, Diamantidis GC and Eleftherohorinos IG (2009). Multiple Pro 197 substitutions in the acetolactate synthase of corn poppy (*Papaver rhoeas*) confer resistance to tribenuron. *Weed Science*. 57, 362-368.
- Knezevic SZ, Streibig JC and Ritz C (2007). Utilizing R software package for dose-response studies: the concept and data analysis. *Weed Technology*. 21, 840-848.
- Rey-Caballero J, Menéndez J, Osuna MD, Salas M and Torra J (2017). Target-site and Non-target-site resistance mechanisms to ALS inhibiting herbicides in *Papaver rhoeas*. *Pest Biochemistry Physiology*. 138, 57-65.
- Rey-Caballero J, Menéndez J, Giné-Bordonaba J, Salas M, Alcántara R and Torra J (2016). Unravelling the resistance mechanisms to 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) in corn poppy (*Papaver rhoeas*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 133, 67-72.
- Rojano-Delgado A.M, Priego-Capote F, De Prado R and Luque de Castro M.D (2014). Ultrasound-assisted extraction with LC–TOF/MS identification and LC–UV determination of imazamox and its metabolites in leaves of wheat plants. *Phytochemical. Analyses*. 25 357-363.
- Taberner A, Estruch F and Sanmarti X (1992). Balance de 50 años de control de malas hierbas. Punto de vista del agricultor/aplicador. In: *Proceedings of the 3rd Spanish Weed Science Congress*. Spanish Weed Science Society. pp. 43-48. Lleida, Spain.
- Zabalza A, Orcaray L, Gaston S and Royuela M (2004). Carbohydrate accumulation in leaves of plants treated with the herbicide chlorsulfuron or imazethapyr is due to a decrease in sink strength. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52 7601-6.

First dicotyledonous in Spain with metabolic and target-site resistance to ALS inhibitors: *Papaver rhoeas*

Summary: Six different amino-acid replacements at the Pro197 have been found in three multiple resistant populations. These replacements were responsible for the high tribenuron-methyl resistance response, and some of them, especially Thr197 and Ser197, elucidated the cross-resistant pattern for imazamox and florasulam, respectively. Higher mobility of labeled tribenuron-methyl in plants with multiple resistance was, however, similar to plants with only 2,4-D resistance, indicating the presence of non-target-site resistance mechanisms (NTSR). Metabolism studies confirmed the presence of a hydroxy imazamox metabolite in one of the populations. Lack of correlation between phenotype and genotype in plants treated with florasulam or imazamox, non-mutated plants surviving imazamox, ALS inhibitors translocation patterns and the presence of enhanced metabolism revealed signs of the presence of NTSR mechanisms to ALS inhibitors in this species.

Keywords: imazamox, florasulam, metabolism, multiple resistance, mutation, tribenuron-methyl, translocation.

Metabolismo mediado por citocromo P450 en biotipos de *Papaver rhoeas* resistentes a auxinas sintéticas

Joel Torra¹✉, Jordi Rey-Caballero¹, Aritz Royo-Esnaol¹, Marisa Salas²

¹Malherbología y Ecología Vegetal. Dpto. HBJ. Agrotecnio, Universitat de Lleida. Avda. Rovira Roure 191, 25198-Lleida, España

²DuPont de Nemours, Reu Delarivière Lefoullon, La Defense Cedex, Paris 92064, Francia

✉ joel@hbj.udl.cat

Resumen: El objetivo de este trabajo es estudiar la presencia de metabolismo al 2,4-D con un experimento de curvas dosis-respuesta utilizando el insecticida malatión como inhibidor del citocromo P450. Se trataron tres biotipos (sensible, resistente a 2,4-D y resistente múltiple a 2,4-D e inhibidores de la ALS) a un rango de dosis de 2,4-D. La mitad de las macetas habían sido previamente tratadas con malatión. Se estimaron los porcentajes de supervivencia y reducción de peso seco en un diseño al azar con cuatro repeticiones. Los parámetros RS50 (supervivencia) y RC50 (peso seco) fueron estimados mediante un ajuste sigmoidal y comparados estadísticamente. Los resultados indican la presencia de metabolismo mediado por citocromo P450 al menos en el biotipo con resistencia solo a 2,4-D, mecanismo de resistencia que no ha sido descrito previamente.

Palabras clave: 2,4-D, curva dosis-respuesta, supervivencia, peso seco.

1. INTRODUCCIÓN

Las auxinas sintéticas se comercializan desde los años cuarenta, pero se desconocen los modos de acción exactos (Grossmann, 2010). Por ello es complicado el estudio de los mecanismos de resistencia implicados, tanto en el lugar de acción como fuera del lugar de acción. La amapola (*Papaver rhoeas* L.) no es una excepción, y aunque se detectaron biotipos resistentes al 2,4-D en España ya en los noventa (Taberner et al., 1992), aún se sabe poco de los mecanismos de resistencia presentes. En un estudio previo se vio que las plantas resistentes no movilizan el herbicida, pero se necesitan más estudios para entender completamente los procesos moleculares y bioquímicos responsables (Rey-Caballero et al., 2016). En otras especies de malas hierbas con resistencia a auxinas sintéticas como *Galeopsis tetrahit* L., *Raphanus raphanistrum* L. y *Stellaria media* (L.) Vill., se ha demostrado que las plantas son capaces de metabolizar el herbicida (Coulpland et al., 1990; Goggin and Powles, 2014; Weinberg et al., 2016). Las monocotiledóneas tolerantes al 2,4-D lo metabolizan principalmente a través de una reacción de hidroxilación, mediada por la familia de enzimas del citocromo P450 (Hatzios et al., 2005), implicada en el metabolismo y degradación de diversas familias de herbicidas. Las especies de malas hierbas resistentes y los cultivos tolerantes presentan un transporte reducido probablemente como consecuencia de la capacidad de degradar las auxinas (Peterson et al., 2016).

El objetivo de este trabajo es aportar evidencias de la presencia de metabolismo al 2,4-D en *Papaver rhoeas* con un experimento de curvas dosis-respuesta utilizando el insecticida malatión como inhibidor del citocromo P450.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas de dos biotipos de amapola, R-703 y R-213, previamente caracterizadas como resistentes a 2,4-D, y como resistentes a 2,4-D y tribenurón-metil, respectivamente

(Rey-Caballero et al., 2016). Estos biotipos proceden de fincas comerciales de cereal localizados en Noreste de España. Junto a estos biotipos, también se empleó un estándar sensible (HS). Las semillas de estos biotipos se colocaron en placas de Petri (1,4% agar complementado con 0,2% KNO₃ y 0,02% de ácido giberélico GA₃) y éstas a su vez en cámaras de germinación (20/10°C y fotoperiodo 16/8 h). Catorce días más tarde las plántulas fueron trasplantadas a macetas de 8x8x8 cm que contenían una mezcla de turba (55%), arena (30%) y perlita (15%) y fueron ubicadas en invernadero. Inicialmente se trasplantaron un total de cinco plántulas por maceta, y cuando las plantas alcanzaron la fenología apropiada se redujo su número a tres plantas por maceta. Cuando alcanzaron la fenología de seis-ocho hojas (5-6 centímetros) se aplicó el insecticida malatión (pro) a 2000 g i.a./ha a la mitad de las macetas. Al cabo de hora y media, se aplicó el 2,4-D a las dosis indicadas en la tabla 1.

Tabla 1. Ingrediente activo, producto comercial y dosis empleadas para las biotipos resistentes (R) y sensibles (S) de amapola

Ingrediente activo	Producto	Dosis empleadas (g i.a./ha)	
2,4-D	Esteron 60 (60% p/v)	R	2400, 600*, 150, 50 y 0
		S	600, 300, 150, 50 y 0
malatión	Malathion 50% CE	R	2000
		S	

* Dosis máxima registrada

Se emplearon un total de cuatro repeticiones para cada dosis. Tres semanas después de las aplicaciones se evaluó el porcentaje de supervivencia por maceta. Posteriormente, se estimó el peso seco (48 h a 65°C) de la parte aérea de las plantas de cada maceta, y finalmente se calculó el porcentaje de reducción de peso seco respecto al testigo no tratado. La dosis de herbicida que causa el 50% de la supervivencia (RS50) y el 50% reducción del peso seco (RC50) se calculó gracias a la curva Log-logistic de cuatro parámetros (1).

$$y = c + \frac{(d - c)}{1 + \text{EXP} [b(\log(x) - \log(RC50))]} \quad (1)$$

donde c era el límite inferior (fijado en cero), d era el límite superior (fijado en 100) y b la pendiente alrededor de RC50 o de RS50. La dosis de herbicida (g i.a./ha) era la variable independiente (x) y el peso seco (% de reducción respecto al control no tratado) o el % de supervivencia las variables dependientes (y). A partir de la RC50 se calcularon los factores de resistencia (FR) para cada uno de los biotipos y tratamientos. Los parámetros estimados RC50 y SC50 fueron comparados estadísticamente entre los biotipos sensible y resistentes, y entre los tratamientos con o sin previa aplicación de malatión, mediante el método Delta ($P < 0.05$) que se basa en los intervalos de confianza.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El biotipo más resistente obtuvo un FR (para reducción del peso seco) de 13 (R-213) mientras que el otro biotipo (R-703) alcanzó un FR de 5 (Tabla 2).

Tabla 2. RS50, RC50, pendientes (y errores típicos), y factor de resistencia (FR*) para tres biotipos de amapola, una sensible (HS) y dos resistentes (R-703 y R-213), tratadas previamente o no con malatión y después a diferentes dosis de 2,4-D. R-703: resistente a 2,4-D; R-213: resistente a 2,4-D y tribenurón-metil

Biotipo	Tratamiento	% Supervivencia		% reducción Peso seco*		FR**
		RS50 (g i.a./ha)	Pendiente	RC50 (g i.a./ha)	Pendiente	
HS	- malatión	219 ± 21	4.9 ± 1.3	86 ± 23	1.4 ± 0.5	1
	+ malatión	179 ± 39	3.1 ± 0.4	91 ± 19	1.2 ± 0.4	0.9
R-703	- malatión	568 ± 156	1.6 ± 0.5	415 ± 200	1.6 ± 1.1	5
	+ malatión	182 ± 190	5.6 ± 30	140 ± 62	1.4 ± 0.7	2
R-213	- malatión	848 ± 53	7.8 ± 1.4	1102 ± 228	2.9 ± 0.9	13
	+ malatión	190 ± 39	4.4 ± 7.8	721 ± 176	1.6 ± 0.5	8

* Calculado respecto al testigo no tratado.

**FR: factor de resistencia, RC50 resistente / RC50 sensible.

En todos estos biotipos la dosis de 2,4-D que causó en 100% de mortalidad fue 2400 g i.a./ha (Fig. 1). Los FR moderados están en el rango de los calculados para estas mismas biotipos en trabajos anteriores (Rey-Caballero et al., 2016), aunque fueron más bajos en el presente estudio, debido probablemente a un menor tamaño general de las plantas en el momento de realizar los tratamientos herbicidas.

Cuando se realizó una aplicación previa de malatión, los factores de resistencia estimados disminuyeron en los dos biotipos, R-213 y R-703, a 8 y 2, respectivamente. Para el biotipo sensible, se obtuvieron resultados parecidos con la aplicación previa o no del malatión, tanto para la supervivencia como para la reducción del peso seco respecto al testigo no tratado (diferencias no significativas), confirmando que este tratamiento no tiene ningún efecto nocivo sobre la amapola (Fig. 1).

Cuando se compararon estadísticamente RS50 y RC50 entre plantas tratadas o no previamente con malatión para los dos biotipos resistentes, las diferencias fueron significativas solo para el biotipo con resistencia únicamente al 2,4-D, tanto para el porcentaje de supervivencia como de reducción del peso seco (datos no mostrados). Al menos en este biotipo, el metabolismo mediado por citocromo P450 está implicado como mecanismo de resistencia. La figura 2 muestra el aspecto visual de los dos biotipos cuando fueron tratados a dosis de registro (600 g i.a./ha) y previamente con malatión o no. La mortalidad aumentó en el biotipo R-703 y no en el biotipo con resistencia múltiple (aunque presentó una clara reducción de tamaño). Esto pudo ser debido a que el metabolismo por citocromo P450 fuera más elevado en el biotipo R-703 que en el R-213. Además, en el momento de la aplicación la fenología de este biotipo era más retrasada, debido a

una germinación en cámara más lenta. Al recibir una cantidad relativa de malatión más elevada respecto al tamaño de las plantas en comparación con la biotipo R-213, se consiguió una mayor inhibición del citocromo P450.

La comparación visual de las pendientes de las curvas dosis-respuesta solo permite apuntar alguna hipótesis para la población solo resistente a 2,4-D (R-703). Para los datos de supervivencia, las pendientes de las curvas de la población sensible y la población R-703 con aplicación previa de malatión parecen iguales, pero diferentes sin la aplicación previa de malatión en la población resistente (Fig. 1). Esto indicaría la presencia de un mecanismo de resistencia diferente cuando se inhibe o no con el insecticida el metabolismo por citocromo P450. Además, este mecanismo sería predominante sobre la no translocación del herbicida, ya que parece necesario para poder obtener un fenotipo resistente. Sin embargo, esto no se observa para los datos de reducción de peso seco de esta población, ni tampoco para la población con resistencia múltiple (R-213).

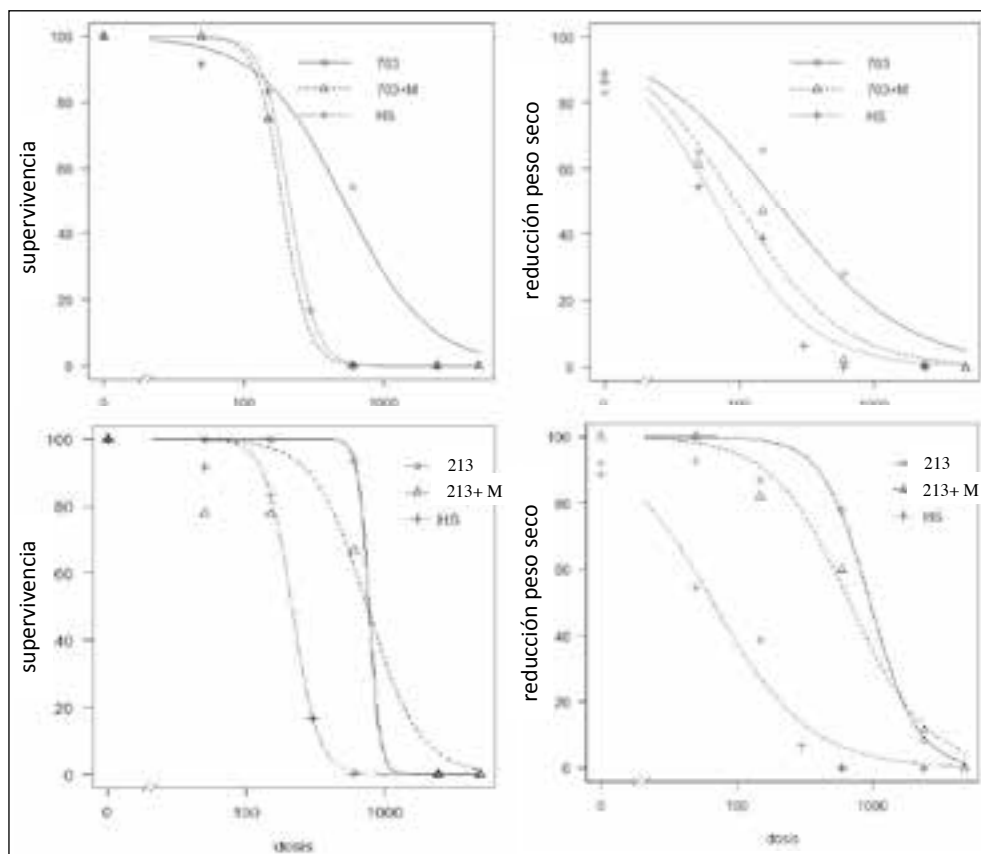


Figura 1. Curvas dosis-respuesta ajustadas para tres biotipos de amapola, una sensible (HS) y dos resistentes (R-703 y R-213), tratadas previamente o no con malatión y después a diferentes dosis de 2,4-D. R-703: resistente a 2,4-D (gráficas superiores); R-213: resistente a 2,4-D y tribenurón-metil (gráficas inferiores). A la izquierda, % de supervivencia; a la derecha, % de reducción del peso seco respecto al control no tratado.

Las evidencias de metabolismo por citocromo P450 encontradas en este trabajo concuerdan con trabajos previos para otras malas hierbas con resistencia a auxinas sintéticas. En otras especies se ha demostrado que son capaces de metabolizar el herbicida (Coupland et al., 1990; Goggin and Powles, 2014; Weinberg et al., 2016). Por ejemplo, en el caso de *S. media* también se apunta también al citocromo P450 en la degradación de este grupo de herbicidas (Yuan et al., 2007).



Figura 2. Plantas tratadas con 2,4-D (600 g i.a./ha) sin previa aplicación de malatión (izquierda) y con previa aplicación de malatión (derecha) para tres biotipos de amapola. 1a: biotipo sensible (HS); 1b: biotipo resistente a 2,4-D (R-703); 1c: biotipo resistente a 2,4-D y tribenurón-metil (R-213).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo nos permiten apuntar la presencia de metabolismo de 2,4-D mediado por citocromo P450 como mecanismo de resistencia, al menos en uno de los biotipos estudiados. Futuros estudios deberían identificar cuáles son los principales metabolitos y establecer la relación entre este mecanismo y el transporte reducido de herbicida observado en las mismas biotipos en trabajos previos (Rey-Caballero et al., 2016).

4. AGRADECIMIENTOS

Este estudio se ha realizado gracias a la financiación de Du Pont de Nemours (Francia). Además, se agradece la ayuda prestada por parte de María Tricas, Berta Singla, Maria Casamitjana y Jordi Recasens en estos experimentos.

5. REFERENCIAS

- Coupland D, Lutman PJW and Heath C (1990). Uptake, translocation, and metabolism of mecoprop in a sensitive and a resistant biotype of *Stellaria media*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 36, 61-67.
- Goggin DE & Powles SB (2014). Detoxification of 2,4-D in resistant wild radish (*Raphanus raphanistrum*). *Proceedings of the Weed Science Society of America Meetings*. Weed Science Society of America, p. 161. Lawrence, KS, EUA.
- Grossmann K (2010). Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action. *Pest Management Science*, 66, 113-120.
- Hatzios K, Hock B and Elstner E (2005). Metabolism and elimination of toxicants. Páginas 469-518 in *Plant Toxicology*. 4th edn. Boca Raton, FL: CRC Press.
- Peterson MA, McMaster SA, Riechers DE, Skelton J and Stahlman PW (2016). 2,4-D Past, Present, and Future: A Review. *Weed Technology*, 30, 303-345.
- Rey-Caballero J, Menendez J, Gine-Bordonaba J, Salas M, Alcántara R and Torra J (2016). Unravelling the resistance mechanisms to 2,4-D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) in corn poppy (*Papaver rhoeas*). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 133, 67-72.

- Taberner A, Estruch F and Sanmarti X (1992). Balance de 50 años de control de malas hierbas. Punto de vista del agricultor/aplicador. *Proceedings of the 3rd Spanish Weed Science Congress*. Spanish Weed Science Society, pp. 43-48. Lleida, Spain.
- Weinberg T, Stephenson GR, McLean MD and Hall JC (2006). MCPA (4-chloro-2-ethylphenoxyacetate) resistance in hemp-nettle (*Galeopsis tetrahit* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9126-9134.
- Yuan JS, Tranel PJ, Stewart CN (2007). Non-target-site herbicide resistance: a family business. *Trends Plant Science*, 12, 6-13.

Metabolism by Cytochrome P450 in *Papaver rhoeas* populations resistant to synthetic auxins

Summary: The objective of the present study is to study the presence of 2,4-D metabolism with a dose-response experiment using the insecticide malathion as a cytochrome P450 inhibitor. Three populations were treated (susceptible, 2,4-D resistant and multiple resistant to 2,4-D and ALS inhibitors) with a range of 2,4-D doses. Half of the pots had been previously treated with malathion. Survival and dry weight were estimated in completely randomized block design with four repetitions. A four parameters log-logistic curve was fitted and the ED50 and GR50 were estimated and statistically compared. Results indicated the presence of enhanced metabolism by means of cytochrome P450, at least in the only 2,4-D resistant population. Therefore, in this population, the enhanced metabolism by cytochrome P450 is a resistance mechanism not previously described.

Keywords: 2,4-D, dose-response curve, survival, dry weight.

Caracterización de la resistencia al herbicida nicosulfuron en una población de *Setaria adhaerens* en el cultivo de maíz

María Concepción Escorial, María Cristina Chueca, Iñigo Loureiro[✉]

Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), Dpto. Protección Vegetal, Ctra. La Coruña Km 7,5, 28040-Madrid
[✉] loureiro@inia.es

Resumen: La especie *Setaria adhaerens* es una mala hierba gramínea importante en los cultivos de maíz. En un ensayo de control de malas hierbas en maíz se detectó una población de *S. adhaerens* que no era controlada por el herbicida nicosulfuron. Se ha realizado un estudio de dosis-respuesta de esta población (R) y de otra que resultó sensible (S) a la aplicación del herbicida. El I_{50} del biotipo R fue de 17,13 g m.a. ha⁻¹, mientras que el del S fue 0,67 g m.a. ha⁻¹, con lo que el factor de resistencia fue >25. El tratamiento del biotipo R con el insecticida malatión, inhibidor de citocromo P450, aumentó el efecto fitotóxico del nicosulfuron, por lo que el mecanismo implicado en la resistencia podría ser el metabolismo del herbicida. Es la primera resistencia a ALS en esta especie caracterizada en España. Se discuten las implicaciones del desarrollo de resistencia en el control de gramíneas en maíz.

Palabras clave: almorejo, resistencia a herbicidas, inhibidores ALS, malatión, resistencia no de sitio de acción, metabolismo de herbicida.

1. INTRODUCCIÓN

Las malas hierbas son un problema de gran importancia en el cultivo de maíz por su capacidad para competir con el cultivo por el agua, los nutrientes del suelo y la luz solar, fundamentalmente durante el periodo inicial de establecimiento y desarrollo del mismo, así como por la dificultad de su control. Entre las principales malas hierbas gramíneas adventicias en el maíz se encuentran diferentes especies anuales como *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv., *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. y varias especies pertenecientes del género *Setaria*, denominadas comúnmente almorejitos. Entre éstas, las que aparecen más frecuentemente son *S. adhaerens* (Forssk.) Chiov., *S. verticillata* (Mill.) Hassl., *S. pumila* (Poir.) Schultes (= *S. glauca* (L.) Beauv.) y *S. viridis* (L.) Beauv. (Recasens and Conesa, 2015). Entre las gramíneas perennes más importantes se encuentran el sorgo, *Sorghum halepense* (L.) Pers. y la juncia *Cyperus rotundus* (L.).

La utilización de herbicidas es la base del control de malas hierbas en maíz, siendo necesario su control efectivo para una mayor producción. Aunque en el cultivo del maíz existen numerosas materias activas disponibles, con diferentes mecanismos de acción (Loureiro et al., 2015), el nicosulfuron, de la familia de las sulfonilureas, ha sido y es un herbicida muy utilizado en post-emergencia puesto que posee actividad además de contra gramíneas, sobre algunas dicotiledóneas. Este herbicida es absorbido rápidamente por las hojas y translocado por el xilema y floema a la zona meristemática, donde inhibe el enzima acetolactato sintasa (ALS). Este enzima es clave en la biosíntesis de aminoácidos ramificados, lo que tiene efecto sobre la división celular y el crecimiento de las plantas. La selectividad del nicosulfuron en maíz se basa en la capacidad que el cultivo posee para metabolizarlo y transformarlo en metabolitos inactivos. El hecho de que sea un herbicida efectivo a dosis bajas y una de las pocas sustancias activas eficaces para el control de *S. halepense*, mala hierba de gran importancia en el cultivo de maíz, ha contribuido a su amplia y reiterada utilización.

Este uso extensivo y continuado de herbicidas con el mismo modo de acción ha llevado a la aparición de poblaciones resistentes de malas hierbas, principalmente en zonas de cultivo de maíz intensivo en las que no se ha practicado rotación. En la actualidad son más de 300 los biotipos resistentes a herbicidas que se han citado en el cultivo de maíz, pertenecientes a más de 50 especies diferentes y a diferentes modos de acción (Heap, 2017).

El objetivo de este trabajo es caracterizar una población de *S. adhaerens* resistente a nicosulfuron.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Material vegetal. En la realización de los ensayos de respuesta a nicosulfuron se ha utilizado semilla de diferentes poblaciones de dos especies del género *Setaria*. Las poblaciones se han recogido en muestreos de malas hierbas realizados al azar en campos de maíz de Castilla y León y en un campo de maíz de Seseña (Toledo). Se han empleado 6 poblaciones de *S. viridis* (L.) Beauv., cinco de Castilla y León: 108, 182, 186, 198 y 200, y una, la 12, procedente de Seseña; y 6 poblaciones de *Setaria adhaerens* (Forssk.) Chiov., cinco de Castilla y León: 110, 120, 175, 195 y 205, y la población 18 procedente de Seseña.

2.2. Tratamientos con nicosulfuron. La semilla de cada población se pre-germinó y las plántulas se trasplantaron a vasos de plástico de 200 ml rellenos con una mezcla al 50% de tierra:mantillo:arena (1:1:1) y vermiculita, con 3 plántulas por vaso y 15 vasos por dosis. Cuando las plántulas alcanzaron 3 hojas, se pulverizaron con nicosulfuron 6% (Elite Plus® 6 OD, Syngenta) a la dosis recomendada (1x) de 39 g m.a. ha⁻¹. Transcurridas 3 semanas del tratamiento se evaluó para cada población el nº de plantas supervivientes al tratamiento. El ensayo se repitió 2 veces en el tiempo.

Se realizaron ensayos de dosis-respuesta a nicosulfuron para la población de *S. adhaerens* que sobrevivió a la aplicación de la dosis 1x (R, 18) y una población susceptible (S, 110). Los ensayos se prepararon del mismo modo que el explicado en el apartado anterior, con 3 plántulas por vaso y tres vasos por dosis. Cuando las plántulas alcanzaron 3 hojas se pulverizaron con nicosulfuron. Para el biotipo R se emplearon las dosis de 0; 2,44; 4,88; 9,75; 19,5; 39 (1x) y 78 g m.a. ha⁻¹, mientras que para el S: 0; 0,07; 0,15; 0,30; 0,61; 1,22 y 2,44 g m.a. ha⁻¹. Se realizaron 3 repeticiones en el tiempo. Transcurridas 3 semanas del tratamiento, se pesó la parte aérea de las plantas para obtener el parámetro de peso fresco y se desecaron en estufa a 80° C durante 48 h para obtener el peso seco. Con el fin de detectar si la resistencia al herbicida está basada en el metabolismo del herbicida, se llevó a cabo de forma simultánea un ensayo de dosis respuesta en el que se aplicó malatión, insecticida organofosforado inhibidor del complejo citocromo P₄₅₀. El malatión se aplicó a la dosis de 1.000 g m.a. ha⁻¹, 30 minutos antes de la aplicación de las dosis de nicosulfuron (Owen et al., 2012). La respuesta a las diferentes dosis de herbicida se calculó mediante el ajuste de los datos de peso seco al modelo log-logístico de Seefeldt et al. (1995).

Todos los tratamientos se realizaron con un pulverizador automático (Devries Manufacturing, Hollandale, EEUU) equipado con una boquilla plana Teejet 8002-E calibrado para pulverizar 175 L.ha.⁻¹ a 130 kPa. Los ensayos se llevaron a cabo en cámara con un fotoperíodo de 16 horas de luz (250-300 µE m⁻²s⁻¹ PAR) a 30 ± 1° C y 8 de oscuridad a 16 ± 1° C.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las poblaciones de *S. viridis* ensayadas fueron sensibles a la aplicación de la dosis 1x de nicosulfuron y en ninguna de ellas se detectaron plantas supervivientes al tratamiento. En el caso de *S. adhaerens*, las 5 poblaciones procedentes de campos de maíz de Castilla y León fueron igualmente susceptibles con un 100% de mortalidad de las plantas. Sin embargo, el porcentaje de plantas supervivientes al tratamiento herbicida en la población 18 procedente de Seseña fue del 96 ± 3 , por lo que fue considerada resistente a nicosulfuron.

La figura 1 muestra la respuesta de la población resistente (18) y de una susceptible (110) cuando se emplean a las mismas dosis de nicosulfuron en los ensayos de dosis-respuesta para ambas poblaciones. Las plantas de la población susceptible mostraban daño visible a la dosis más baja empleada, $2,44 \text{ g m.a. ha}^{-1}$, mientras que a esa dosis las plantas de la población resistente mostraban un aspecto similar al testigo no tratado, por lo que se seleccionaron diferentes dosis para ambas poblaciones para los ensayos de dosis-respuesta.

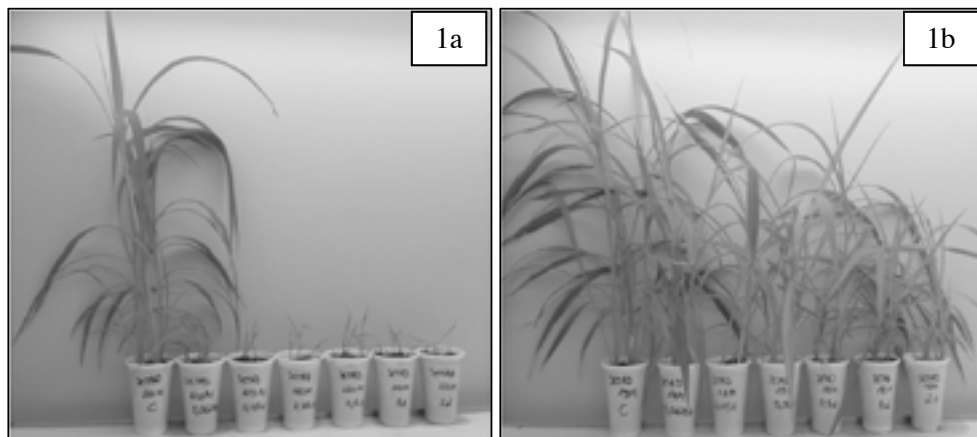


Figura 1. Respuesta de las poblaciones de *S. adhaerens* a la pulverización en plántula con el herbicida nicosulfuron. 1a) población S susceptible; 1b) población 18 resistente.

La figura 2 muestra las curvas de dosis-respuesta. Los parámetros de las ecuaciones de las curvas se muestran en la tabla 1. La dosis I_{50} (dosis que reduce el 50% el crecimiento en relación al testigo no tratado) para la población S fue de $0,67 \text{ g. m.a. ha}^{-1}$, mientras que el valor I_{50} para la población resistente fue de $17,13 \text{ g m.a. ha}^{-1}$, por lo que el factor de resistencia ($I_{50} R/I_{50} S$) fue de 26 (Fig. 2).

El I_{50} de la población R tratada con malatión con anterioridad a nicosulfuron fue de $5,99$ (Fig. 2), un 65% menor que el de la población sin tratar con el insecticida. La aplicación de malatión no tuvo efecto sobre la población S. Este aumento en la fitotoxicidad después del uso de este insecticida inhibidor del P_{450} indica que la resistencia a nicosulfuron en esta población pudo ser debida a que el herbicida es metabolizado por enzimas monooxigenasas pertenecientes a este complejo, ya que su inhibición reduce considerablemente el factor de resistencia (de 26 a 9). Esto es consistente con el hecho de que las curvas de dosis-repuesta para la población R y la S no sean paralelas, lo que sugiere que el mecanismo implicado en la resistencia no es de sitio de

acción (Seefeldt et al., 1995). Este tipo de mecanismos de resistencia no de sitio de acción son comunes en otras malas hierbas gramíneas como *Lolium rigidum* Gaud., *Alopecurus myosuroides* Huds., *Bromus spp.* o *Echinochloa phyllopogon* (Stapf.) Koss., a herbicidas inhibidores de ALS y ACCasa (acetyl coenzima A carboxilasa (Délye et al., 2013).

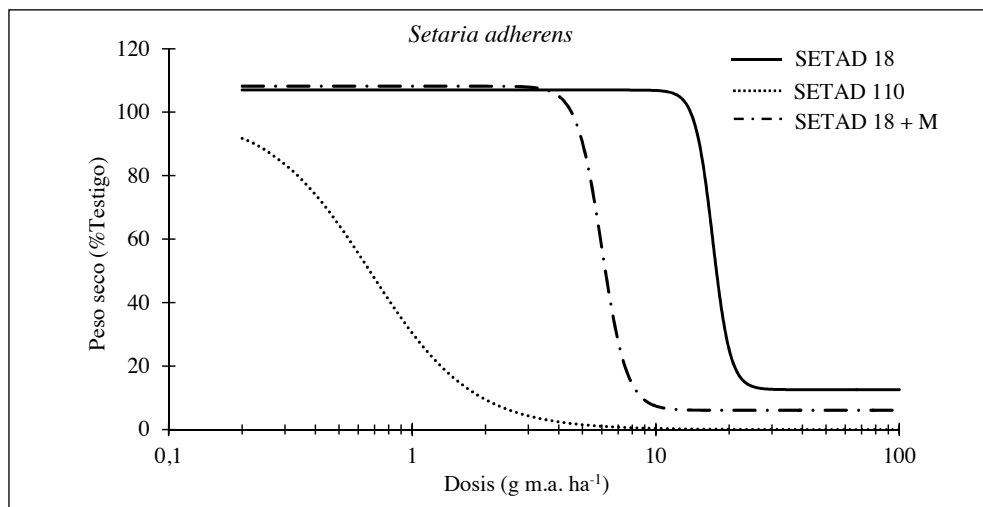


Figura 2. Curvas de dosis respuesta de las poblaciones de *S. adherens* (SETAD) a la pulverización en plántula con el herbicida nicosulfuron. SETAD 110 es la población susceptible; SETAD 18, la población resistente; y SETAD 18 + M, la población 18 previamente tratada con el insecticida malatión (M).

Tabla 1. Parámetros de la regresión del modelo no lineal estimados para los ensayos de dosis-respuesta al herbicida nicosulfuron en poblaciones de *Setaria adherens*. Las ecuaciones de las curvas corresponden al ajuste de los datos de peso seco (% control no tratado) al modelo log-logístico de Seefeldt et al. (1995): $Y = C + (D-C) / [1 + (x/I_{50})^b]$

Población	Parámetros de la regresión				Factor de resistencia (FR)
	D	C	b	I ₅₀	
110 (S)	99,21	21,22	2,07	0,67	---
18 (R)	106,97	12,55	12,06	17,13	25,56
18 + M	108,22	6,09	8,47	5,99	8,94

Todas las poblaciones de *Setaria* ensayadas proceden de campos donde el maíz ha sido la principal opción de cultivo durante años. En estos campos, la utilización de herbicidas residuales en pre-emergencia y post-emergencia precoz es la base del control de malas hierbas. El nicosulfuron es un herbicida muy utilizado principalmente contra *Setaria spp.* y en especial para el control de cañota, *S. halepense*, puesto que hay pocas materias activas específicas disponibles para el control de esta especie en maíz, todas ellas inhibidoras de ALS. En España, se han detectado poblaciones de *S. halepense* resistentes a herbicidas de este grupo B (CPRH, 2016). La resistencia en estos biotipos está conferida por mutaciones en el sitio de acción de los herbicidas, en concreto en el aminoácido triptófano en posición 574 (Trp574) del gen de la ALS (Montull and Taberner, 2017). En parcelas

como la de Seseña de la que proviene la población R, con altas densidades de estas especies, una estrategia utilizada con el fin de ahorrar los costes que supone la realización de más de un tratamiento, es la realización de una única aplicación en post-emergencia tardía con una mezcla de herbicidas que incluye nicosulfuron, en ocasiones con dosis más bajas de las recomendadas, y otro herbicida contra dicotiledóneas. Todos estos factores han podido contribuir al desarrollo de esta resistencia metabólica al herbicida nicosulfuron en *S. adhaerens*, la primera citada en España. Esta resistencia se ha detectado en otras especies de este género como *S. viridis* o *S. glauca* (Darmency, 2017), El desarrollo de la resistencia tiene grandes implicaciones tanto para el manejo de la población resistente como de aquellas especies para las que esta materia activa era una buena solución.

4. AGRADECIMIENTOS

Se agradece a Raquel García Alaiz, contratada en el Plan Empleo Juvenil 2015 de la Comunidad de Madrid, la asistencia técnica en la realización de los ensayos.

5. REFERENCIAS

- CPRH (Comité Prevención Resistencia Herbicidas) (2016). ¿Cómo prevenir y manejar una población de *Sorghum halepense* resistente a los herbicidas en el cultivo del maíz?. <http://semh.net/wp-content/uploads/2015/09/Diptico-Sorghum-halepense.pdf>.
- Darmency H, Wang T, Délye C (2017). Herbicide resistance in Setaria. En: Doust A, Diao X (eds). Genetics and Genomics of Setaria. Plant Genetics and Genomics: Crops and Models, vol 19. Springer.
- Délye C (2013). Unravelling the genetic bases of non-target-site-based resistance (NTSR) to herbicides: a major challenge for weed science in the forthcoming decade. *Pesticide Management Science*, 69, 176-187.
- Heap I (2017). The international survey of herbicide resistant weeds. Online. Internet. Friday, April 28, 2017. Available www.weedscience.org.
- Loureiro I, Escorial M, Chueca MC (2015). Control de malas hierbas en los cultivos de cereal de invierno y maíz. *Phytoma-España*, 266, 35-39.
- Montull JM & Taberner (2017). Malas hierbas emergentes en el cultivo del maíz: *Sorghum halepense* y *Echinochloa crus-galli* resistentes a inhibidores de la ALS. XXVIII Jornada de Ciencia y Tecnología de la Escuela Politécnica Superior de Huesca. Huesca, 20 Abril 2017.
- Owen MJ, Goggin DE, Powles SB (2012). Non-target-site-based resistance to ALS-inhibiting herbicides in six *Bromus rigidus* populations from Western Australian cropping fields. *Pest Management Science*, 68, 1077-1082.
- Recasas J and Conesa JA (2015). Gramíneas malas hierbas en maíz, su identificación en plántula. *Vida Rural*, 390, 54-64.
- Seefeldt S, Jensen J, Fuerst P (1995). Log-Logistic analysis of herbicide dose- response relationships. *Weed Technology*, 9, 218-227.

Characterization of nicosulfuron resistance in one *Setaria adhaerens* population in maize

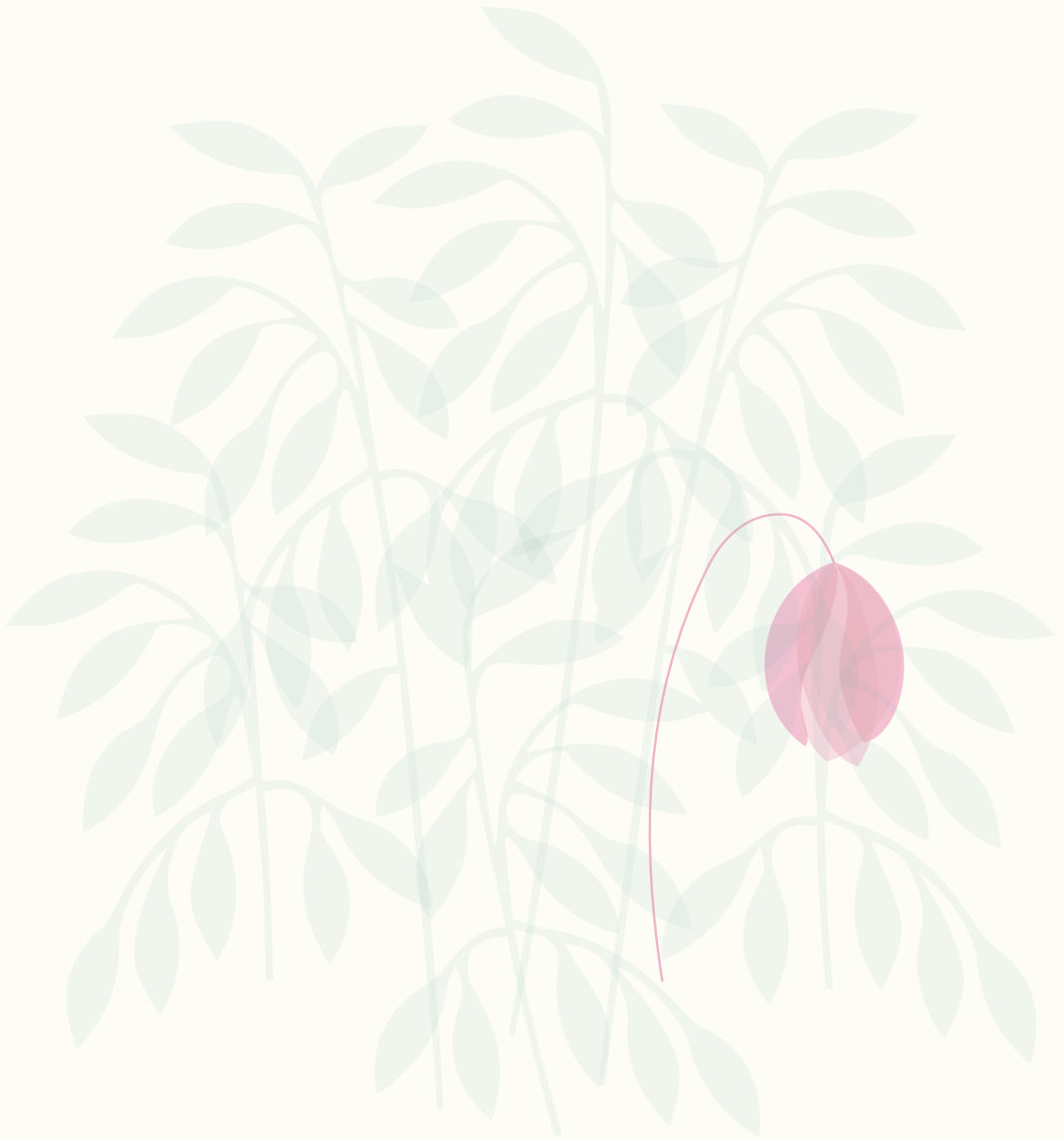
Summary: *Setaria adhaerens* is an important grass weed in maize crops. One *S. adhaerens* population not controlled by the herbicide nicosulfuron was detected in a weed control field trial in maize. Dose-response studies were conducted with this population (R) and another population that resulted susceptible (S) to herbicide application. The I_{50} of the R biotype was 17.13 g m.a. ha⁻¹, while I_{50} for the S was 0.67 g m.a. ha⁻¹, a resistance factor >25. The treatment of the R biotype with the insecticide malathion, a cytochrome P450 inhibitor, increased the fitotoxicity of nicosulfuron, so the mechanism involved in resistance could be the metabolism of the herbicide. This is the first ALS resistant biotype characterized in this species in Spain. The resistance development implications in grass weed control in maize are discussed.

Keywords: foxtail, herbicide resistance, ALS inhibitors, malathion, non-target site resistance, herbicide metabolism.

Sesión 4

MALHERBOLOGÍA ECO-INNOVADORA

O4.0. Weed seed control at harvest: preliminary results	369	P4.1. Detección temprana de malas hierbas dentro y fuera de la línea de cultivo mediante imágenes-UAV y modelos 3D	407
O4.1. Últimos avances en tecnologías para una gestión sostenible de las malas hierbas	375	P4.2. Generación de mapas de malas hierbas en viñedos con cubierta vegetal utilizando una cámara SLR	413
O4.2. Herbicidas alternativos en viña ecológica	381	P4.3. Optimización de la cartografía de malas hierbas mediante técnicas geoestadísticas y teledetección con UAV	419
O4.3. Influencia de un tapiz de musgos de olivar sobre la evaporación del agua del suelo	385	P4.4. Principales variables para la detección de plántulas de amapola (<i>Papaver rhoeas</i>) en imágenes tomadas con un vehículo aéreo no tripulado	425
O4.4. METEO: Una herramienta informática para la optimización en tiempo real de las medidas de control del vallico (<i>Lolium rigidum</i>) en cereales	391	P4.5. MalezappUS-Comparator. Nueva herramienta de ayuda para la identificación de malas hierbas	431
O4.5. Cartografía de <i>Cynodon dactylon</i> en viñedo mediante imágenes UAV y tecnología OBIA para un uso sostenible y localizado de herbicidas	395	P4.6. MalezappUS Quiz: una nueva <i>app</i> lúdico-docente para el entrenamiento de la identificación de plántulas de malas hierbas	437
O4.6. Modelización 3D de malas hierbas en cultivos de maíz mediante fotogrametría digital automatizada	401	P4.7. La evaluación del desarrollo inicial de plántulas contribuye a la determinación de la potencialidad bioherbívora de aceites e hidrolatos de especies aromáticas	443
		P4.8. Evaluación de la potencialidad bioherbívora de orégano, romero y tomillo sobre la germinación de <i>Rumex obtusifolius</i> L. y <i>Spergula arvensis</i> L.	449
		P4.9. Environmental impact and energy demand comparison of vineyard by the life cycle assessment methodology	455
		P4.10. Las (malas) hierbas como elemento publicitario en el ámbito turístico y comercial	461



Weed seed control at harvest: preliminary results

Judit Barroso¹, Carolina San Martín¹, Jennifer A. Gourlie¹

¹Columbia Basin Agricultural Research Center – Oregon State University, 48037 Tubbs Ranch Road, 97810 Adams, OR,
 judit.barroso@oregonstate.edu

Summary: The continuing evolution of herbicide resistance in major crop weeds is a driving force to develop new weed control strategies. The use of chaff carts and direct bale systems are two sustainable practices that have not been adequately evaluated. The objectives of this study were: 1) Evaluation of seed retention of important weed species at harvest, 2) Evaluation of chaff collection and chaff plus straw collection at harvest to reduce weed infestations. Preliminary results show that the efficacy of control, among other factors, will depend on the species characteristics and harvest time. The average percentage of relative weed reduction (for only one year of study) was 15% for the chaff collection and 22% for the chaff plus straw collection compared to harvest with the combine alone.

Keywords: seed retention, chaff cart, direct bale system, HWSC.

1. INTRODUCTION

Conservation agriculture (no-till or minimum tillage systems) and the use of herbicide resistant crops are two agricultural practices that rely heavily on the use of herbicides for weed control. The wide adoption of both practices in the USA and worldwide has produced an exponential development of herbicide resistant weed populations that are threatening some cropping systems such as the wheat-based systems of the Pacific Northwest (PNW). In wheat production systems, crop productivity and herbicide efficacy go hand-in-hand, particularly in dryland production systems. The consequence of herbicide resistance is that some herbicides are no longer useful. It is critical that herbicide resources are supported and preserved through the use of integrated weed management and innovative weed control techniques such as the ones proposed in this study.

Harvest weed seed control practices (HWSC) have been identified in Australia as an opportunity to control weeds and enhance the efficacy of herbicide-based weed management programs (Walsh et al., 2013). The objective of these practices is to prevent weed seeds collected by the combine from becoming part of the weed seedbank. Producers in Australia, after having adopted HWSC practices for several years, are nearly eliminating infestations of weeds. With these very low weed densities, the amount and frequency of herbicide use can be significantly reduced.

Although there is little use of HWSC outside Australian wheat cropping systems, there is much interest in the global potential for these strategies (Walsh and Powles, 2014). The potential of HWSC practices is dependent on having a significant proportion of total weed seed retained at crop maturity. Seed retention is likely to be influenced by each weed species biology, climatic and agronomic variables, with the potential for significant variation across regions.

The objectives of this study were: 1) Evaluate seed production, height, and retention at harvest of important weed species in wheat-production systems of the PNW, and 2) Evaluate the use of chaff carts (chaff collection) and direct bale systems (chaff plus straw collection) pulled behind the combine at harvest to reduce weed infestations.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Objective 1. Evaluation of seed production, height and retention of important weed species at wheat harvest. In surrounding areas of four experiments established for Objective 2 (see below), six weeks approximately before harvest, ten plants per weed species were collected. Each plant was bagged independently in a paper bag for later processing. At two sampling dates, the total plant and seed height per sample was also measured. At the laboratory, different protocols per weed species were followed to count or estimate the number of seeds per plant at each collection time.

The species that we were studying are: *Secale cereale*, *Bromus tectorum*, *Vulpia myuros*, *Sisymbrium altissimum*, *Choriospora tenella*, *Descurainia pinnata* and *Amsinckia intermedia*.

2.2. Objective 2. Evaluation of chaff collection and chaff plus straw collection practices at harvest to reduce weed species density and dispersion. Experiments were established on naturally occurring weed-infested areas at three farms of northeastern Oregon in spring 2016. The Coppock, Nelson, and Allen farms, which were located at Adams, Pendleton and Pilot Rock, receive a mean annual precipitation of 500, 360, and 350 mm, respectively. The experiments were randomized complete block designs with two treatments and three repetitions. Each plot was more than 60 m long and the width of the farmer's combine (commonly 12 m). The two treatments were harvesting with the combine alone (control treatment), and using a chaff cart pulled by the combine (chaff collection) at The Coppock and Allen farms, and harvesting with the combine alone and using a direct bale system (chaff plus straw collection) pulled by the combine at Nelson's farm. In addition to the on-farm experiments, we conducted a supplemental experiment at the Columbia Basin Agricultural Research Center (CBARC) (Adams, OR) that receive 425 mm of annual precipitation on average. At CBARC, we had both treatments/practices (i.e. chaff collection and chaff plus straw collection) in the same location with four replications each.

At CBARC, control and direct bale plots were harvested on July 14. Two of the chaff cart plots were harvested on July 15 and the other two on July 28. Plots at the Nelson, Coppock and Allen farms were harvested on July 26, August 5, and August 10, respectively.

In all experiments (commercial and research farms), weed infestations were evaluated before crop harvest and in the following spring. The evaluations were conducted with a discrete sampling using frames of 0.5 m x 0.5 m along two equidistant transects inside the plots, parallel to the long side of the plots. The frames were thrown every three meters along the transects. Weed cover and density per species were measured in each frame (approximately 40 frames per plot).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Objective 1. *Bromus tectorum*, the most problematic weed species in small grain crops of the PNW, was collected at three farms. Preliminary results showed that the species did not shed the seed until mid-June. However, after that date, the species shed the seed very quickly. By early July, seed retention was less than 50% and by mid-July the species only retained 27% of the seed on average. Thereafter, the species did not shed much until early August, which was when the last two farms were harvested (Fig. 1a). In 2016, the average *B. tectorum* seed production was 450 seeds per plant.

Sisymbrium altissimum, one of the most common broadleaved weeds in the semi-arid region of the PNW, was collected at two farms. It did not get total seed maturity until the end of June. However, once total maturity was reached, the species started to shed seeds quickly. In ten days, the species shed 50% of its seed on average (Fig. 1b). In 2016, the average *S. altissimum* seed production was 53,600 seeds per plant.

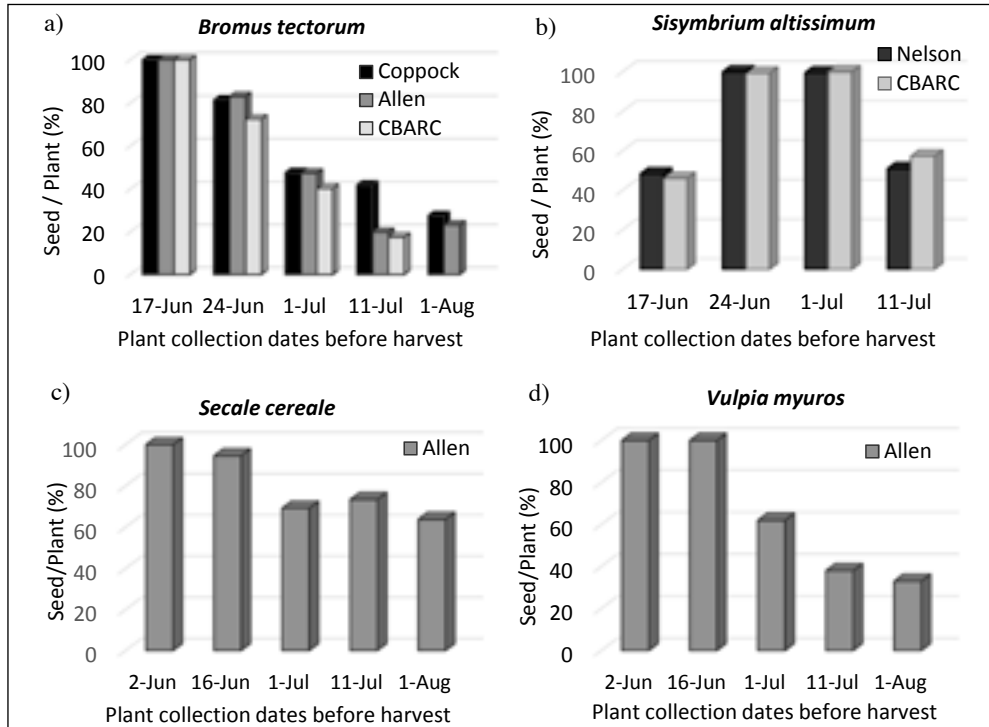


Figure 1. Percentage of seed retention per weed species at harvest: 1a) *Bromus tectorum*, 1b) *Sisymbrium altissimum*, 1c) *Secale cereale*, and 1d) *Vulpia myuros*.

Secale cereale, a problematic weed species because of the absence of herbicide options to control it in traditional wheat varieties, was sampled at one farm. This species started to shed seed earlier than others, but slowly. On average, by mid-July, the species retained 71% and by beginning of August still maintained 64% of the seed (Fig. 1c). In 2016, the species had 175 seed per plant on average (35 seeds per spike and 5 spikes per plant).

Vulpia myuros, a weed that is increasing in the PNW due to the increasing adoption of no-till systems, was collected at one farm. Its seed shedding pattern was similar to *B. tectorum* (Fig. 1d). By early July, the percentage seed retention was about 60% and by late July about 30% on average. In 2016, the average *V. myuros* seed production was 335 seeds per plant.

The seeds of most of the species studied were above a regular cutting height of combines in the region (between 25 and 30 cm). *Vulpia myuros* and *Choriospora tenella* were the only two spe-

cies where an important proportion of seeds might develop or laid out below the cutting height. It reduces the potential control of these two species with HWSC practices.

The rate of seed shedding in most of the studied species in the PNW seems to be faster than the species studied in Australia by Walsh and Powles (2014). In Western Australia, those scientists found that brome species retained 50% of its seed 30 days past crop maturity. In our experiments, considering end of July as 30 days past crop maturity, preliminary results showed that the brome species most commonly found in the region (*B. tectorum*) retained only 25% of the seed by that time. The only weed species where harvest time did not seem to be as critical to improve potential control was *Secale cereale*.

Growers in this region say that harvest season starts after the 4th of July. However, the winter wheat crop can be matured by the end of June in the lower precipitation areas such as at two of the farms included in this study depending on the year conditions. According to preliminary

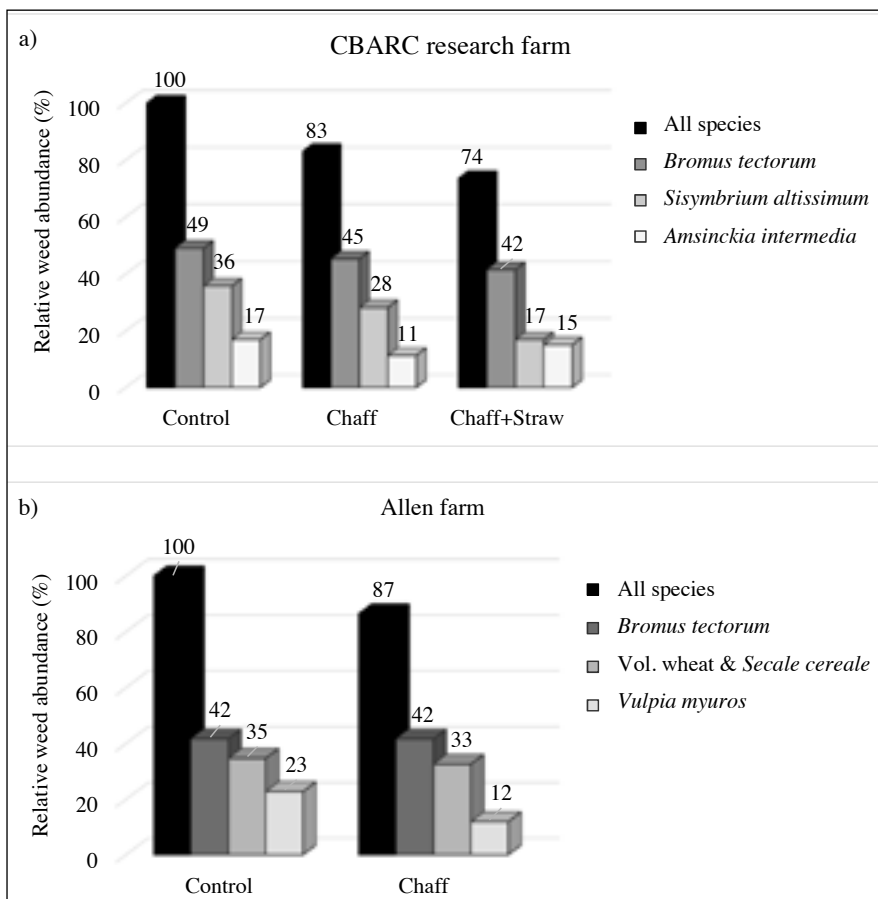


Figure 2. Relative percentage of weed abundance in plots harvested pulling a chaff cart (chaff collection) or a direct bale system (chaff plus straw collection) behind the combine compared with plots harvested with the combine alone (control) in spring 2017, 2a) at CBARC research farm, and 2b) at the Allen farm.

results, the potential HWSC will dependent on harvest time, seed shedding pattern of the weed species, cutting height of the crop, and height of the seeds in the weed species.

3.2. Objective 2. Weed infestation reduction was obtained with the collection of chaff or chaff plus straw at harvest. At CBARC, for all the species present at harvest, an averaged reduction of 17% for the chaff collection and 26% for the direct bale system was found compared with the control (Fig. 2a). *S. altissimum* was the species that showed the highest percentage of control with HWSC practices (37% on average). At the Nelson farm, the same species harvested 12 days later showed an averaged reduction of 22% with the direct bale systems (data are not shown).

At the Allen farm, the average weed reduction (volunteer wheat was included as a weed in the spring evaluation) with the chaff cart for all the species present at harvest was 13% (Fig. 2b). The lower percentage of reduction found in this farm compared to CBARC research farm could be due to it being harvested one month later. At CBARC, the average reduction of *B. tectorum* with the chaff collection was 7%, however, at the Allen and Coppock farms, we did not observe any reduction of this species (results are not shown for the Coppock farm).

Preliminary results showed that collection of chaff and/or collection of chaff plus straw could be useful to reduce weed pressure in integrated weed control plans and help extend the life of herbicides. However, more years of study are necessary to have more conclusive results and evaluate how the year effect could impact the percentage of seed retention and the efficacy of these practices.

4. ACKNOWLEDGEMENTS

This research was possible thanks to the funds of a WesternSARE project and to the collaboration of the growers Larry Coppock, Sterling Allen, and Eric Nelson. In addition, we want to thank the summer students Austin Weinke and Mikayla Kelly for helping us with the sample processing.

5. REFERENCES

- Walsh M, Newman P and Powles S (2013). Targeting weed seeds in-crop: a new weed control paradigm for global agriculture. *Weed Technology*, 27, 431-436.
- Walsh M & Powles S (2014). High seed retention at maturity of annual weeds infesting crop fields highlights the potential for harvest weed seed control. *Weed Technology*, 28, 486-493.

Eco-innovación en malherbología y su transferencia

Resumen: La evolución continua de la resistencia a herbicidas en las principales malas hierbas es una fuerza impulsora para desarrollar nuevas estrategias de control. La recogida del tamo y la recogida del tamo más la paja directamente en la cosecha son dos prácticas sostenibles que no han sido evaluadas adecuadamente. Los objetivos de este estudio fueron: 1) Evaluación de la retención de semillas de malas hierbas de trigo a la cosecha; 2) Evaluación de la eficacia de las prácticas mencionadas. Resultados preliminares muestran que la eficacia de control está determinada, entre otros factores, por el momento de la cosecha y por las características de las especies a controlar. Los porcentajes medios de reducción relativa de malas hierbas (obtenidos de un solo año de estudio) fueron de 15% cuando se recolectó el tamo y de 22% cuando se recolectó el tamo y la paja.

Palabras clave: retención de semillas, recolección del tamo, empaçado directo de la paja, control de semillas de malas hierbas en la cosecha.

Últimos avances en tecnologías para una gestión sostenible de las malas hierbas

César Fernández-Quintanilla^{1✉}, José Dorado¹, Dionisio Andújar¹, José María Peña¹,
Ángela Ribeiro², Ana Isabel de Castro³, Francisca López-Granados³

¹Instituto de Ciencias Agrarias, CSIC, Serrano 115B, 28006 Madrid

²Centro de Automática y Robótica, CSIC, 28500 Arganda del Rey, Madrid

³ Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, 14004 Córdoba

✉ cesar@ica.csic.es

Resumen: Hoy en día es posible realizar una detección temprana de malas hierbas en cultivos de girasol y maíz desde drones, habiéndose avanzado en el establecimiento de umbrales de acción y en la elaboración de mapas de tratamiento. En el caso del trigo es posible cartografiar zonas de riesgo en base a imágenes adquiridas al final del ciclo. Asimismo, existen diversos sensores (LIDAR, cámaras RGB y RGB-D) para la detección temprana en cultivos en líneas amplias desde plataformas terrestres. En cuanto a las tecnologías de actuación, existen diversos equipos para realizar tratamientos localizados de herbicidas y escardas mecánicas de precisión. El valor añadido de estas soluciones debería ser evaluado, validado y demostrado en la práctica en explotaciones comerciales.

Palabras clave: detección de malas hierbas, drones, sensores, tratamientos localizados, escardadores inteligentes.

1. INTRODUCCIÓN

Durante los últimos años el desarrollo de nuevas tecnologías para la agricultura de precisión ha alcanzado un considerable grado de madurez. En el ámbito específico de la gestión de las malas hierbas se han desarrollado numerosas tecnologías tanto de detección como de actuación. A los procedimientos disponibles para la detección desde satélite o desde avión se han unido otros mucho más precisos para la detección desde drones volando a baja altura (López-Granados, 2011). Por otro lado, la disponibilidad actual de sensores y cámaras 2D y 3D de muy alta resolución y de ordenadores más rápidos capaces de procesar grandes volúmenes de datos abre la posibilidad de llevar a cabo actuaciones en tiempo real. En este trabajo haremos una breve síntesis de los últimos avances producidos en sistemas de detección aérea y terrestre así como de algunos de los equipos inteligentes disponibles para el control físico o químico de las malas hierbas detectadas. La revisión realizada se ha centrado principalmente en trabajos desarrollados dentro de nuestro país en los últimos cinco años.

2. TECNOLOGÍAS PARA LA DETECCIÓN DE MALAS HIERBAS

2.1. Desde plataformas remotas. La teledetección de malas hierbas puede hacerse desde diferentes tipos de plataformas remotas (Fig. 1). Castillejo-González et al. (2014) fueron capaces de generar mapas bastante precisos de la posición de *Avena sterilis* en parcelas de trigo utilizando imágenes multiespectrales en rango visible e infrarrojo cercano (RGB+NIR) obtenidas por el satélite QuickBird. La discriminación entre el cultivo y la mala hierba se basó en el hecho de que la senescencia en trigo se inició antes que en *A. sterilis*, por lo que era relativamente fácil detectar las panículas verdes de esta especie sobresaliendo por encima de las espigas doradas del trigo.

La utilización de aviones volando a altitudes mucho menores permite la detección de las malas hierbas en estados tempranos de su desarrollo, posibilitando la elaboración de mapas de

prescripción y la ejecución de tratamientos localizados en esa misma campaña. En un vuelo llevado a cabo sobre una parcela de maíz en el estado de 4-6 hojas, utilizando un sensor hiperespectral, fue posible definir la localización de las zonas libres de malas hierbas y las infestadas por *Sorghum halepense*, *Xanthium strumarium* y *Abutilon theophrasti* (Martín et al., en preparación).

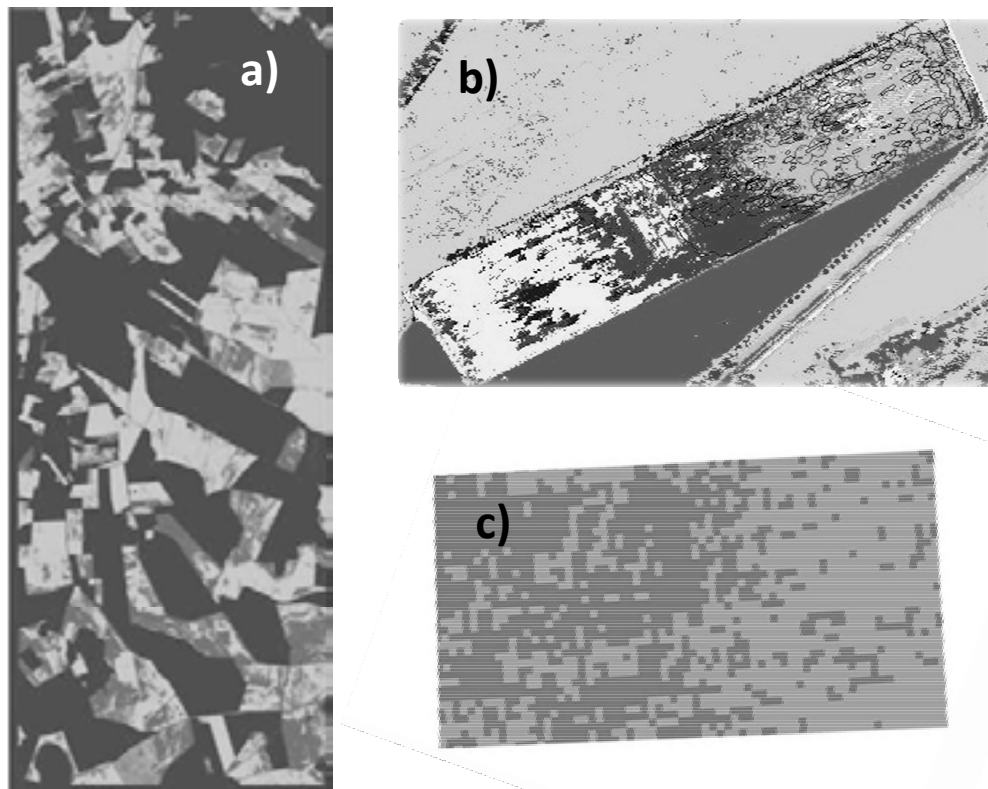


Figura 1. Ejemplos de imágenes remotas obtenidas con diferentes tipos de plataformas: a) Territorio de 73 km² con parcelas de trigo infestadas por *A. sterilis*; desde el satélite QuickBird a 450 km de altitud; b) Parcela de maíz de 5 ha infestada por varias especies de malas hierbas; desde un avión C-212-200 RS a 1.000 m de altitud; c) Parcela de girasol de 1 ha infestada por varias especies de malas hierbas; desde un dron a 30 m de altitud.

El empleo de drones volando a baja altura permite la obtención de imágenes con mucha mayor resolución espacial. Diversos estudios llevados a cabo con drones volando entre 30 y 60 m de altitud equipados con cámaras multispectrales (RGB+NIR) y cámaras RGB convencionales han mostrado la capacidad de estos equipos para obtener imágenes de muy elevada precisión de las malas hierbas presentes en cultivos de viña, girasol y maíz (de Castro et al., 2017; López-Granados et al., 2016 a y b). Sin embargo, en cultivos de trigo la detección temprana de malas hierbas está en proceso de solventarse ya que es más compleja dada la proximidad de las líneas del cultivo y el hecho de que este cubre rápidamente todo el terreno enmascarando a las malas hierbas presentes (Torres-Sánchez et al., 2014).

Las imágenes aéreas obtenidas deben ser procesadas para poder disponer de mapas de prescripción. En ese sentido, Peña et al. (2013) elaboraron un mapa con tres categorías de cobertura de malas hierbas (alta-mediana-baja) a partir de las imágenes obtenidas desde un dron volando sobre una parcela de maíz. Dicho mapa se ajustaba a la realidad con un grado de precisión cercano al 90%. En la elaboración de los mapas de prescripción, un parámetro fundamental es el umbral de tratamiento. Este parámetro condiciona de forma directa la superficie final que debe ser tratada. Por ejemplo, en un estudio realizado sobre una parcela de girasol se encontró que, dependiendo del umbral utilizado, el porcentaje de superficie tratada variaba desde un 23% (con un umbral de 0% de cobertura) hasta un 2,5% (con un umbral de 15% de cobertura). Paralelamente, la precisión de la definición de las zonas a tratar se incrementó desde un 71% a un 100% al incrementar el umbral utilizado (López-Granados et al., 2016).

2.2. Desde plataformas terrestres. Los métodos de detección más utilizados se basan en el empleo de imágenes obtenidas por cámaras RGB. El procedimiento usado para discriminar las malas hierbas de los otros elementos de la imagen consta generalmente de tres pasos: 1) segmentación de la imagen, separando los píxeles correspondientes a vegetación del resto de elementos que aparecen en la imagen (suelo, sombras, rastrojo, etc.); 2) identificación y eliminación de las zonas de vegetación correspondientes a las líneas de cultivo; 3) identificación de la mala hierba como las zonas de la capa vegetal que permanece (Burgos-Artizzu et al., 2011). En algunos casos es incluso posible la discriminación de diferentes tipos de malas hierbas en base a su altura, forma o tamaño. Así, Herrera et al. (2014) describen una aproximación que permite la discriminación entre infestaciones de malas hierbas mono y dicotiledóneas en cultivos de maíz alcanzado una precisión media de clasificación entorno al 93%.

El análisis de estas imágenes necesita de una elevada capacidad computacional para procesar la gran cantidad de datos provenientes de las cámaras RGB. En la actualidad, la disponibilidad de mayores capacidades de procesamiento unido a cámaras digitales de alta resolución puede permitir la utilización de estas técnicas. De hecho, ya se ha comercializado un equipo (H-Sensor, Agricon) capaz de discriminar plántulas en base a formas lo suficientemente rápido como para poder realizar tratamientos localizados con herbicidas en tiempo real.

Otra posibilidad es la utilización de sensores LiDAR, sensores que emiten pulsos láser y miden el tiempo de retorno de dichos pulsos al emisor, lo que permite calcular la distancia a cada punto que integra la superficie objetivo. Estos sensores se han empleado en el seguimiento del desarrollo de cultivos y en la caracterización de la arquitectura de frutales y viña. Andújar et al. (2013) exploraron su uso para caracterizar la superficie del terreno en cultivos de maíz, discriminando la presencia del cultivo y de las infestaciones de malas hierbas dicotiledóneas y gramíneas (*Sorghum halepense*) basándose en la altura.

La combinación de varios sensores en un mismo equipo puede mejorar la detección y discriminación de malas hierbas. Las cámaras de profundidad (tipo Kinect) combinan 3 tipos de cámaras: infrarroja, RGB y RGB-D, permitiendo crear nubes de puntos y modelos 3D de la vegetación presente. Este principio ha sido utilizado por Andújar et al. (2016) para discriminar un cultivo de maíz de las malas hierbas acompañantes. Dado que la gramínea predominante (*S. halepense*) tenía una altura superior a las dicotiledóneas vecinas fue posible discriminarla en base a ese criterio, utilizando asimismo el color para aislar (segmentar) inicialmente la capa vegetal.

3. TECNOLOGÍAS PARA LA ACTUACIÓN CONTRA LAS MALAS HIERBAS

3.1. Control químico. Dentro del Proyecto RHEA (www.rhea-project.eu) se diseñó, fabricó y evaluó un prototipo de pulverizador inteligente capaz de realizar tratamientos muy precisos en base a mapas de prescripción construidos a partir de imágenes aéreas obtenidas desde drones (Pérez-Ruiz et al., 2015). Dicho equipo consta de un sistema de inyección central y de 12 válvulas de solenoide de alta velocidad. La evaluación en campo de este sistema demostró que era capaz de aplicar el herbicida de forma localizada con menos de un 5% de errores.

Para la ejecución de tratamientos herbicidas localizados en tiempo real se han comercializado, al menos, dos equipos diferentes: el ya mencionado H-Sensor de Agricon (<http://www.p3-sensor.de/produkte/h-sensor/>) y el Spot Sprayer de Garford (www.garford.com/news_latest.html). Este último equipo utiliza varias cámaras colocadas en la barra del pulverizador para definir la posición de las líneas del cultivo y localizar plantas individuales o rodales de malas hierbas presentes entre las líneas. Posteriormente, aplica un herbicida (selectivo o total) a esas zonas, utilizando un sistema innovador de pulverización de alta precisión. Este equipo se emplea en diversos cultivos de alto valor económico y baja competitividad con las malas hierbas (p. ej. remolacha, cebolla) y para la eliminación mediante glifosato de plantas de patata provenientes de la anterior campaña en cultivos de cebolla o zanahoria.

3.2. Control físico. Existen diversos equipos comerciales capaces de realizar una escarda mecánica muy precisa, utilizando cámaras de vídeo que permiten ajustar lo más posible la labor a las líneas del cultivo, evitando daños a este. Un nivel superior de precisión, consistente en realizar la escarda dentro de la misma línea, ha sido abordado con éxito mediante varios procedimientos (Fennimore et al., 2016). Uno de los más extendidos es el Robocrop de Garford (http://www.garford.com/spanish/products_robocrop_es.html). Dicho equipo dispone de unos discos rotativos cuyo movimiento está controlado por un sistema de visión que detecta la presencia de plantas de cultivo y evita que se labore esa zona. Estos dispositivos se emplean comercialmente en cultivos hortícolas con formas fácilmente identificables tales como la lechuga, la col o el apio.

Recientemente la empresa Bosch, bien conocida por sus desarrollos tecnológicos, ha iniciado la comercialización de una plataforma robótica («Bonirob»)(www.deepfield-robotics.com/index-en.html) que puede ser equipada con una variedad de componentes para realizar diversas operaciones agrícolas. Uno de estos componentes permite la escarda mecánica, utilizando un sistema de visión que detecta la presencia de plántulas de malas hierbas y un mecanismo de presión que las aplasta y entierra en el suelo (Michaels et al., 2015).

Dentro del Proyecto RHEA se desarrolló un apero que combina la escarda mecánica de las malas hierbas entre las líneas del cultivo, utilizando un cultivador binador, con el control térmico localizado en las líneas, utilizando unos quemadores de propano que ajustan la intensidad de la llama a la densidad de malas hierbas detectadas por un sistema de visión (González de Santos et al., 2016). Tanto este equipo como el anterior pueden integrarse en un robot móvil autónomo lo que permite una ejecución autónoma de esta operación

4. APLICACIONES EN INVESTIGACIÓN

La disponibilidad de algunas de estas herramientas para detectar y discriminar automáticamente y de forma precisa las malas hierbas, abre nuevas posibilidades para abordar estudios agro-ecológicos con el fin de mejorar su gestión. Los investigadores en malherbología podrían así

dar el salto desde los ensayos en parcelas de tamaño reducido en fincas experimentales a estudios a mayor escala que incluyan las condiciones reales de campos comerciales. Dichas investigaciones producirían resultados más próximos a la realidad y facilitarían la participación de los agricultores, que aportarían de esa forma sus conocimientos, experiencia e ideas.

5. CONCLUSIONES

Aunque existe un arsenal bastante amplio de nuevas tecnologías para el control de malas hierbas, su adopción por parte de los agricultores es todavía escasa. Hoy en día la oferta es superior a la demanda. Para superar este reto es necesario que los agricultores y las cooperativas jueguen un mayor papel en la búsqueda de soluciones técnicas. El valor añadido de estas soluciones debe ser evaluado, validado y demostrado en la práctica en explotaciones comerciales. Asimismo es necesario tener en cuenta que el empleo de estas tecnologías puede tener efectos tanto positivos (mejora de la eficiencia y sostenibilidad de la producción) como negativos (eliminación de puestos de trabajo).

6. AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el proyecto coordinado AGL2014-52465-C4.

7. REFERENCIAS

- Andújar D, Fernández-Quintanilla C, Dorado J and Ribeiro A (2016). An approach to the use of depth cameras for weed volume estimation. *Sensors*, 972, 1-11.
- Andújar D, Escola A, Dorado J and Fernández-Quintanilla C (2013). Potential of a terrestrial LiDAR-based system to characterize weed vegetation in maize crops *Computers and Electronics in Agriculture*. *Computers and Electronics in Agriculture*, 92, 11-15.
- Burgos-Artizzu XP, Ribeiro A, Guijarro M and Pajares G (2011). Real-time image processing for crop/weed discrimination in maize fields. *Computers and Electronics in Agriculture*, 75(2), 337-346.
- Castro de AI, Peña JM, Torres-Sánchez J, Jiménez-Brenes FM and López Granados F (2017). Uso de drones (UAV) para la detección de grama en cubiertas de viña. [https://www.interempresas.net/Grandes-cultivos/Articulos/167846-Uso-de-drones-\(UAV\)-para-la-deteccion-de-grama-en-cubiertas-de-vina.html](https://www.interempresas.net/Grandes-cultivos/Articulos/167846-Uso-de-drones-(UAV)-para-la-deteccion-de-grama-en-cubiertas-de-vina.html). *Grandes Cultivos*, 12, 4-8.
- Castillejo-González IL, Peña-Barragán JM, Jurado-Expósito M, Mesas-Carrascosa FJ and López-Granados F (2014). Evaluation of pixel- and object-based approaches for mapping wild oat (*Avena sterilis*) weed patches in wheat fields using QuickBird imagery for site-specific management. *European Journal of Agronomy*, 59, 57-66.
- Fennimore SA, Slaughter DC, Siemens MC, Leon RG and Saber MN (2016). Technology for automation of weed control in specialty crops. *Weed Technology*, 30, 823-837.
- González-de-Santos, Ribeiro, Fernández-Quintanilla et al. (2016) Fleets of robots for environmentally-safe pest control in agriculture. *Precision Agriculture*, doi:10.1007/s11119-016-9476-3.
- Herrera PJ, Dorado J and Ribeiro A (2014). A novel approach for weed type classification based on shape descriptors and a fuzzy decision-making method. *Sensors*, 14, 15304-15324.
- López-Granados F (2011). Weed detection for site-specific weed management: mapping and real-time approaches. *Weed Research*, 51, 1-11.
- Lopez-Granados F, Torres-Sanchez J, Serrano-Perez A, de Castro AI, Mesas-Carrascosa FI and Peña JM (2016a). Early season weed mapping in sunflower using UAV technology: variability of herbicide treatment maps against weed thresholds. *Precision Agriculture*, 17, 183-199.

- López-Granados F, Torres-Sánchez J, de Castro AI, Serrano-Pérez A, Mesas-Carrascosa FJ and Peña J M (2016b). Object-based early monitoring of a grass weed in a grass crop using high resolution UAV-imagery. *Agronomy for Sustainable Development*, 36 (4): paper 67. DOI: 10.1007/s13593-016-0405-7.
- Martin P, Dorado J, Fernández-Quintanilla C (en preparación). The spatial distribution of *Sorghum halepense*, *Xanthium strumarium* and *Abutilon theophrasti* populations in maize fields can be mapped through airborne hyperspectral imaging.
- Michaels A, Haug S and Albert A (2015). Vision-based high-speed manipulation for robotic ultra-precise weed control. *Intelligent Robots and Systems (IROS), 2015 IEEE/RSJ International Conference*, 5498-5505.
- Peña J M, Torres-Sánchez J, de Castro A I, Kelly M, and López-Granados F (2013). Weed mapping in early-season maize fields using object-based analysis of unmanned aerial vehicle (UAV) images. *PLoS ONE*, 8, e77151.
- Pérez-Ruiz M, Gonzalez-De-Santos P, Ribeiro A, Fernandez-Quintanilla C, Peruzzi A, Vieri M, Tomic S and Agüera J (2015). Highlights and preliminary results for autonomous crop protection. *Computers and Electronics in Agriculture*, 10, 150-161.
- Torres-Sánchez J, Peña-Barragán J M, de Castro AI and López-Granados F (2014). Multi-temporal mapping of the vegetation fraction in early-season wheat fields using images from UAV. *Computers and Electronics in Agriculture*, 103, 104-113.

Recent advances in technologies for a sustainable weed management

Summary: In maize and sunflower crops it is possible to use drones for monitoring weed populations at early growth stages. In wheat crops, although it is not feasible to conduct an early weed detection from aerial platforms, it is possible to define zones of high risk of infestation based on drone images obtained at the end of the season. In addition, it is possible to use various types of sensors (LIDAR, RGB cameras, Depth cameras) on ground platforms for an early weed detection in wide-row crops. For actuation, machine vision technology, together with data processors, have been developed to enable commercial machines to recognize crop row patterns and control weeds using mechanical and chemical tools. The added value of these solutions should be tested, validated and shown in commercial farms.

Keywords: weed detection, drones, sensors, patch sprayers, smart cultivators.

Herbicidas alternativos en viña ecológica

Glòria Roig¹, José María Montull¹, Josep María Llenes², Andreu Taberner^{1,2}✉

¹Departamento de Hortofruticultura, Botánica y Jardinería. Universitat de Lleida

² Servicio Sanidad Vegetal. Generalitat de Catalunya. Rovira Roure 191, 25198 Lleida

✉ taberner@hbj.udl.cat, ataberner@gencat.cat

Resumen: En el año 2009 se realizó un ensayo con diferentes productos herbicidas alternativos y aplicables en agricultura ecológica. Se aplicó vinagre del 6% de ácido acético pulverizado directamente a 300 l/ha y 600 l/ha, dos soluciones de ácido tartárico del 10 % y del 30% a 300 l/ha, dos soluciones de urea del 20% y del 40% a 300 l/ha y dos soluciones de cloruro potásico del 10% y del 30% a 300 l/ha. Estos tratamientos se compararon con un testigo sin tratar, y con glifosato del 36% a 1 l/ha y a 2 l/ha de producto comercial. Ninguno de los tratamientos herbicidas alternativos resultó eficaz en el control de la vegetación. La dosis alta del vinagre, la urea y el cloruro de potasio fueron diferentes significativamente del testigo a 8 días después del tratamiento (DDT). 30 DDT solo el vinagre a dosis alta fue diferente significativamente del testigo.

Palabras clave: herbicidas, vinagre, ácido acético, urea, KCl, ácido tartárico.

1. INTRODUCCIÓN

En la producción ecológica de vid no se permite el uso de herbicidas de síntesis, por lo que el control se realiza de forma mecánica y con cubiertas vegetales. El uso de cubiertas vegetales permite el control de la vegetación entre hileras pero no bajo las cepas donde se requiere varias pasadas de cultivadores intercepas. Este método presenta algunos inconvenientes como pueden ser la pérdida de algunas cepas, en lugares con pendiente pronunciada el uso continuado de control mecánico puede conllevar un alto riesgo de erosión así como una pérdida de calidad del suelo y económicamente es un método costoso tanto desde el punto de vista del tiempo necesario para llevarlo a cabo como del coste económico.

Existen productos alternativos con aptitud herbicida aplicables en agricultura ecológica. Consisten en ácidos orgánicos naturales y extractos de plantas como pueden ser: ácido acético (Evans and Belinder, 2009; Isaac et al., 2007; Johnson and Mullinix, 2008; Johnson et al., 2008; Young, 2004), ácido cítrico (Johnson and Mullinix, 2008; Johnson et al., 2008), ácido pelargónico (Webber and Shrefler, 2006), aceite de clavo (Boyd and Brennan, 2006; Johnson and Mullinix, 2008; Johnson et al., 2008) y aceite de pino (Young, 2004). Comercialmente se pueden encontrar solos o mezclados. Estos herbicidas destruyen el tejido de la planta por contacto. Son productos de acción rápida y la cantidad de daño a la planta depende del momento de aplicación y de la concentración del producto. Los ratios de producto para el control de las malas hierbas a menudo no están indicados así como el estadio de la planta, el tiempo de repetición del tratamiento y las formulaciones exactas tampoco vienen especificadas (Young, 2004).

Las sales como la urea y el cloruro potásico además de sus propiedades fertilizantes pueden tener efecto herbicida con el mismo modo de acción que los productos orgánicos naturales (Davynejad, 2001; Sardi and Beres, 1996; Sinha et al., 2008).

El objetivo de este trabajo fue estudiar las posibilidades de control de malas hierbas en viña de diferentes productos naturales y sales comparado con un herbicida sintético.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la entidad municipal descentralizada de Raimat en Lleida, Cataluña, durante el mes de marzo de 2009. Pertenece al Valle del Ebro donde el clima es Mediterráneo continental templado con veranos secos y calurosos e inviernos fríos y secos. El suelo es un Xerofluvent típico de textura franco-arenosa. Se escogió un campo de gramínea forrajera (*Lolium multiflorum*) en regadío mediante un pivote en una finca de viñedos, no se hizo en una parcela de viña porque se desconocía las consecuencias al ser el primer ensayo. Las especies que se encontraron son: *Taraxacum officinalis*, *Rumex obtusifolium*, *Polygonum aviculare*, *Veronica hederifolia*, *Capsella bursa-pastoris*, *Trifolium repens*, *Diplotaxis eruroides*, *Stellaria media*, *Cerastium glomeratum*, *Poa annua* y *Lolium rigidum*. El diseño experimental fue en bloques completamente aleatorizados con parcelas de 2 x 5 m², 11 tratamientos y tres repeticiones.

El estadio fenológico de las plantas en el momento del tratamiento variaba entre 1 y 4 hojas excepto las perennes que ya estaban establecidas. Los tratamientos fueron: un testigo donde no se aplicó herbicida, glifosato del 36% a 1 L/ha y 2 L/ha, vinagre del 6% de ácido acético pulverizado directamente a 300 L/ha y 600 L/ha, dos soluciones de ácido tartárico del 10% y del 30% a 300 L/ha, dos soluciones de urea del 20% y del 40% a 300 L/ha y dos soluciones de cloruro potásico (KCl) del 10% y del 30% a 300 L/ha.

Las aplicaciones se hicieron el día 24 de marzo de 2009 con un pulverizador de batería Syngenta que trabaja a una presión entre 1 y 4 bar, tiene una barra de 2 m y 4 boquillas, un caudal de salida que va de 0,7 a 1, 8 L/min y el volumen de agua utilizado fue de 300 L/ha.

Dado que la eficacia obtenida fue baja se hizo una valoración visual de la superficie de cubierta vegetal total a 8, 21 y 30 días después del tratamiento (DDT) y se estimó la eficacia comparando visualmente las parcelas tratadas con el testigo de cada bloque.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Toda la vegetación tratada mostró algún grado de fitotoxicidad por los tratamientos. La dosis elevada de vinagre, glifosato, urea y cloruro de potasio controló la vegetación entre un 40 y un 44% diferenciándose claramente del testigo y del resto de tratamientos a 8 DDT (Tabla 1). Los mismos productos y el glifosato a dosis baja son los que fueron mas eficaces a 21 DDT aunque con diferencias notables entre vinagre, urea, cloruro de potasio con una eficacia del 35, 40 y 35%, respectivamente, y glifosato a dosis elevada que controló un 83% de la vegetación y a dosis baja que controló un 54%. A 30 DDT solo presentaron diferencias evidentes con el testigo el vinagre a dosis elevada con una eficacia del 16% y las dos dosis de glifosato con eficacias del 32% la dosis baja y de 88% la dosis alta, siendo significativamente diferentes los tres tratamientos.

Ninguna de las dosis de ácido tartárico resultó diferente de forma notoria del testigo en ningún momento después del tratamiento.

Aunque alguno de los tratamientos alternativos presentó diferencias en el control de las malas hierbas con el testigo, no se puede considerar que lo hayan conseguido de forma eficaz ya que no supera el 70%. Esta baja eficacia puede ser debida a la falta de más tratamientos especialmente en el caso del vinagre donde otros autores llegan a hacer hasta 5 tratamientos para conseguir controlar la vegetación (Young, 2004). Otro posible motivo es la cantidad de agua que recibió la vegetación al día siguiente de los tratamientos mediante el riego y la lluvia que podría haber hecho bajar la eficiencia de la aplicación, especialmente en el caso de las sales. La recomendación

Tabla 1. Eficacia media y desviación estándar (DE) en porcentaje de tratamientos herbicidas y dosis a 8, 21 y 30 días después de tratamiento (DDT).

Tratamiento	Eficacia \pm DE (%)			
	Dosis (L/ha)	8DDT	21DDT	30DDT
Vinagre de vino	300	22,02 \pm 8,44	28,80 \pm 12,26	6,13 \pm 6,25
Vinagre de vino	600	44,05 \pm 16,88	35,99 \pm 12,14	16,18 \pm 9,64
Glifosato 36%	1	33,33 \pm 28,87	54,04 \pm 39,96	32,11 \pm 4,67
Glifosato 36%	2	40,48 \pm 26,81	83,38 \pm 4,83	88,77 \pm 1,61
Urea 20 %	300	16,67 \pm 28,87	26,80 \pm 24,2	6 \pm 5,89
Urea 40 %	300	43,45 \pm 18,76	40,36 \pm 10,36	7,97 \pm 3,3
KCl 10 %	300	43,45 \pm 6,27	35,20 \pm 6,91	3,92 \pm 6,79
KCl 30 %	300	25,60 \pm 21,15	23,34 \pm 10,73	3,92 \pm 6,79
Acido tartárico 10 %	300	21,43 \pm 6,19	27,54 \pm 27,5	0 \pm 0
Acido tartárico 30 %	300	26,19 \pm 12,67	23,74 \pm 5,57	2,08 \pm 3,61

de otros autores es hacer el tratamiento en el momento de máxima radiación solar (Anderson, 2007; Young, 2004), pero en la zona de estudio y en la época del ensayo se dan unas condiciones de viento superior a 4 m/s a partir de las 10 de la mañana que puede provocar una aplicación irregular y una mezcla de tratamientos, por lo que para evitarlo se realizó a primera hora de la mañana, cuando la radiación solar es baja.

Por otra parte, el uso de coadyuvantes puede hacer que el tratamiento sea más eficaz (Davarynejad, 2001; Isaac et al., 2007; Sinha et al., 2008), por lo que habría que investigar la posibilidad de añadir productos coadyuvantes para mejorar la eficacia.

El vinagre es el producto alternativo que más posibilidades de control de la vegetación tiene en las condiciones del estudio y al ser un producto fácil de producir en una bodega todavía tiene más interés, por lo que hay que realizar un estudio de dosis-respuesta para este producto, así como otros ensayos en campo y en invernadero con la posibilidad de repetir el tratamiento hasta controlar de manera eficaz la vegetación.

En cuanto al ácido tartárico en este ensayo no tiene prácticamente efecto herbicida. Esto podría ser por las condiciones climáticas en el momento de la aplicación o bien porque las dosis aplicadas son demasiado bajas. De todos modos si se compara con el vinagre, que es el producto más parecido, a la dosis más baja que se ha empleado en este ensayo, la eficacia es la misma. Con el vinagre doblando la dosis también se dobla la eficacia, sin embargo con el ácido tartárico al triplicar la dosis la eficacia solo se incrementó un 4% a los 8 DDT. Esto puede indicar que el ácido tartárico no tiene efecto herbicida en estas condiciones y que habría que estudiar más condiciones de empleo antes de descartar su uso ya que es un producto interesante al ser un subproducto de bodega.

Finalmente, la urea y el KCl también pueden tener efecto herbicida los primeros días después de tratamiento, pero terminan siendo ineficaces completamente, la aplicación de más tratamientos quizá mejoraría la eficacia pero habría que estudiar hasta qué punto estas aplicaciones afectan al suelo y el cultivo de la vid ya que estas dosis son mucho más elevadas que cuando se aplican

como fertilizantes y a la larga se podría dar un exceso en suelo y convertirse en una contaminación de los acuíferos.

Se requiere una búsqueda exhaustiva de más herbicidas aplicables en viña ecológica y estudiar las posibilidades de aplicación.

4. REFERENCIAS

- Anderson LWJ (2007). Potential for sediment-applied acetic acid for control of invasive *spartina alterniflora*. *Journal of Aquatic Plant Management*, 45, 100-105.
- Boyd NS, Brennan EB (2006). Burning nettle, common purslane, and rye response to a clove oil herbicide. *Weed Technology*, 20, 646-650.
- Davarynejad GH (2001). Application of urea as a post-emergence herbicide for pistachio orchards. In B.E. Ak (ed.) *Cahiers options méditerranéennes*; XI GREMPA seminar on pistachios and almonds, 265-266.
- Evans GJ and Bellinder RR (2009). The potential use of vinegar and a clove oil herbicide for weed control in sweet corn, potato, and onion. *Weed Technology*, 23, 120-128.
- Isaac WAP, Brathwaite RAI, Cohen JE and Bekele I (2007). Effects of alternative weed management strategies on *commelina diffusa burm.* infestations in fairtrade banana (*musa* spp.) in st. vincent and the grenadines. *Crop Protection*, 26, 1219-1225.
- Johnson WC, III & Mullinix BG JR (2008). Potential weed management systems for organic peanut production. *Peanut Science*, 35, 67-72.
- Johnson WC, III, Mullinix BG, JR. and Boudreau MA (2008). Peanut response to naturally-derived herbicides used in organic crop production. *Peanut Science*, 35, 73-75.
- Sardi K & Beres I (1996). Effects of fertilizer salts on the germination of corn, winter wheat, and their common weed species. International symposium on soil testing and plant analysis - quality of soil and plant analysis, in view of sustainable agriculture and the environment, Wageningen, Netherlands, 1227-1235.
- Sinha PS, Kumar R, Beck S, Joshi MC and Sinhadeo SN (2008). Innovative eco friendly techniques to control the weed menace in sericulture. *Agricultural Journal*, 3 (2), 125-128.
- Webber CL & Shrefler JW (2006). Pelargonic acid weed control parameters. *HortScience*, 41, 220.
- Young SL (2004). Natural product herbicides for control of annual vegetation along roadsides. *Weed Technology*, 18, 580-587.

Alternative herbicides in organic vineyards

Summary: In 2009, a trial was carried out with different alternative herbicide products applicable in organic farming. 6% of acetic acid spray directly applied at 300 l / ha and 600 l / ha, two solutions of 10% tartaric acid and 30% at 300 l / ha were applied, two solutions of urea 20% and 40% % To 300 l / ha and two solutions of potassium chloride of 10% and 30% to 300 l / ha. These treatments were compared with an untreated control, and with glyphosate from 36% to 1 / ha and to 2 l / ha of commercial product. None of the alternative herbicidal treatments proved to be effective in controlling vegetation. The high dose of vinegar, urea, and potassium chloride were significantly different from the control at 8 days post treatment (DDT). 30 DDT only high dose vinegar was significantly different from the control.

Keywords: herbicides, vinegar, acetic acid, urea, KCl, tartaric acid.

Influencia de un tapiz de musgos de olivar sobre la evaporación del agua del suelo

Milagros Saavedra¹✉, Susana Rams², Francisco Orgaz³, Sivan Ben Sasson⁴

¹IFAPA, CAPD, Apdo 3092, 14080-Córdoba

²Dpto. Didáctica de las CC. Experimentales, Facultad de CC. de la Educación, 18071 – Campus de Cartuja, U. de Granada, Granada

³Instituto de Agricultura Sostenible, CSIC, Fca. Alameda del Obispo, s/n, 14080, Córdoba

⁴Departamento de Agronomía, Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales s/n, 14080 Córdoba

✉ mariam.saavedra@juntadeandalucia.es

Resumen: En tres tratamientos de cobertura de suelo (musgo, paja y suelo desnudo) en macetas de 25 litros se ha evaluado la evaporación del agua del suelo mediante la ecuación de Ritchie durante tres ciclos de desecación. Las menores pérdidas diarias se produjeron con paja y las más elevadas con suelo desnudo. La fase I más larga se produjo con paja y la más corta con suelo desnudo. Los valores a y α de las ecuaciones de Ritchie fueron normales, sin embargo los valores de U (24,98 a 38,24 mm) resultaron excesivamente altos, lo que es atribuible a las condiciones artificiales de experimento. Estos resultados son preliminares y será necesario no solo estimar los parámetros en condiciones de campo, sino considerar también la frecuencia de las lluvias para evaluar las ventajas de los musgos como cubierta vegetal en relación con el balance hídrico respecto al suelo desnudo.

Palabras clave: olivar, musgo, evaporación, balance hídrico, cubierta vegetal.

1. INTRODUCCIÓN

En zonas áridas y cálidas como la mediterránea las pérdidas de agua por evaporación llegan a alcanzar entre 30-80% de la evapotranspiración (Yanusa et al., 1993). En marcos tradicionales de olivar ésta puede ser muy elevada debido a la dispersión de los árboles y la baja cobertura del suelo (Bonachela et al., 1999). Por otro lado, en los olivares la producción está limitada por la falta de agua (Villalobos et al., 2000) y pequeñas variaciones en las cantidades de agua disponibles pueden afectar significativamente al crecimiento y producción del olivar (Pastor, 2008), por lo que es importante reducir las pérdidas, por ejemplo cubriendo el suelo.

Por otro lado, las condiciones de la superficie del suelo tienen una gran influencia en los regímenes hidrológicos locales, ya que controlan los procesos de infiltración, generación de escorrentía y erosión (Le Bissonnais et al., 2005). En zonas desprovista de vegetación se forman costras biológicas, de las que forman parte los musgos, que influyen en la microtopografía del suelo aumentando la rugosidad y actuando como estructuras de retención de agua que pueden por tanto favorecer la infiltración (Chamizo et al., 2010) y que tienen un papel fundamental en el control de los procesos hidrológicos (Benlap, 2006).

Los musgos no presentan raíces, sino rizoides, y la absorción de agua se realiza a través de toda la superficie de la planta. De hecho, la conducción externa de agua, mediante capilaridad a lo largo de la superficie de la planta, es la que resulta fisiológicamente más significativa (Estébanez-Pérez et al., 2011). Estos autores comprobaron la función de los musgos en el mantenimiento de las condiciones de humedad y temperatura en los ecosistemas. Los estratos briofíticos son aislantes térmicos efectivos (Longton, 1997).

En olivar en España se ha constatado la formación de importantes tapices de musgos en olivar en condiciones de no laboreo (Rams et al., 2011; Saavedra et al., 2013 y 2014). Estos tapices compiten, reducen la instalación de las malas hierbas (Ben Sasson et al., 2013) y en muchos casos llegan a ser cobertura dominante. También se han observado en Italia e Israel, y tanto en suelos

tratados con herbicidas como en olivares ecológicos (Ben Sasson, 2013). Sin embargo, no existen trabajos sobre el efecto que pudieran tener sobre el balance de agua del suelo, salvo el estudio previo (Ben Sasson, 2013) que forma parte de esta comunicación.

En el balance de agua, juega un papel fundamental la evaporación del agua del suelo. El modelo establecido por Ritchie (1972) está basado en la premisa de que la evaporación desde el suelo (E_s) ocurre en 2 fases, descritas por Philips (1957). La primera, fase I, controlada por las condiciones externas, atmosféricas, y la segunda, fase II, controlada por las características propias de la transmisión del agua del suelo, edafológicas. La evaporación del agua del suelo en fase I, tiene gran importancia en la agronomía e hidrología para aprovechar o predecir el comportamiento del agua en un suelo entre chubascos sucesivos.

Ante la importancia que la evaporación de agua del suelo puede tener sobre las cosechas de aceituna, en este trabajo se ha planteado como objetivo evaluar la evaporación del agua en suelo desnudo respecto a suelo cubierto con musgo o paja.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Los experimentos se realizaron entre mayo y julio de 2013 en el Centro IFAPA Alameda del Obispo, Córdoba (37.51°N, 4.48° W) en 18 macetas de polietileno con 0,117 m² de superficie y suelo compuesto por una mezcla de arena, limo y turba a partes iguales en volumen. Las macetas se dispusieron al aire libre a finales de abril en zona soleada y se establecieron 3 tratamientos de cobertura de suelo con 6 repeticiones: T1-suelo desnudo (19 kg de suelo por maceta); T2-suelo con cubierta de paja (18,8 kg de suelo y 0,2 kg de paja) y T3-suelo cubierto con musgo (18,8 kg de suelo y 0,2 kg de trozos de musgos triturados). Para T3, previamente en julio 2012, se recolectaron musgos secos de un olivar en la misma finca mezclados con algo de suelo y se disgregaron a tamaño <0,2 mm y se sembraron en la superficie, manteniéndolos en un umbráculo húmedo hasta que a los 10 meses se formó un tapiz denso. El diseño experimental del ensayo fue bloques al azar. El ensayo consistió en evaluar la evaporación a lo largo de 3 ciclos de desecación: ciclo 1º, del 1 al 14 de mayo, ciclo 2º del 12 al 18 de junio y ciclo 3º del 20 de junio al 5 de julio. Las macetas se regaron al inicio de cada ciclo hasta capacidad de campo (CC) y posteriormente se pesaron diariamente a las 8:00 h y se determinó la evaporación diaria mediante diferencia de pesada entre dos días consecutivos. Los datos de evaporación del suelo (E_s) así calculado, se compararon con los valores diarios de evapotranspiración de referencia (E_{To}) tomados de la estación meteorológica del IFAPA.

Para evaluar el efecto de los tratamientos sobre E_s se utilizó el modelo de Ritchie (1972), el cual contempla la E_s como un proceso en dos fases. En la fase I, tras una lluvia o riego, la superficie del suelo se encuentra húmeda y la evaporación depende de la energía disponible en la superficie del suelo: $E_s(I) = a \times E_{To}$. El coeficiente a depende del nivel de cobertura del suelo. Para un suelo desnudo a vale aproximadamente 1 (Ritchie, 1972). La fase I se mantiene hasta que se ha evaporado una cantidad de agua en milímetros que se cuantifica con el parámetro U . Una vez evaporados U mm y se seca la superficie del suelo, comienza la fase II, en la que la conductividad hidráulica del suelo es el factor limitante de la E_s . Durante esta fase II, la E_s se va reduciendo según una función de la raíz cuadrada del tiempo: E_s acumulada (II) = $\alpha \times \sqrt{t}$. En esta ecuación t es el tiempo en días desde el comienzo de la fase II, y α es otro parámetro que depende del tipo de suelo. La obtención de valores empíricos de U y α son suficientes, por tanto, para la evaluación de un determinado tratamiento en la evaporación del suelo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las evaluaciones de evaporación diaria, evaporación acumulada y la relación entre E_s y E_{To} para los tres ciclos se representa en la figura 1 y la duración de la fase I y la evaporación acumulada (U) durante la misma y durante cada ciclo en la tabla 1. Los ciclos 1º y 2º se interrumpieron por lluvia imprevista.

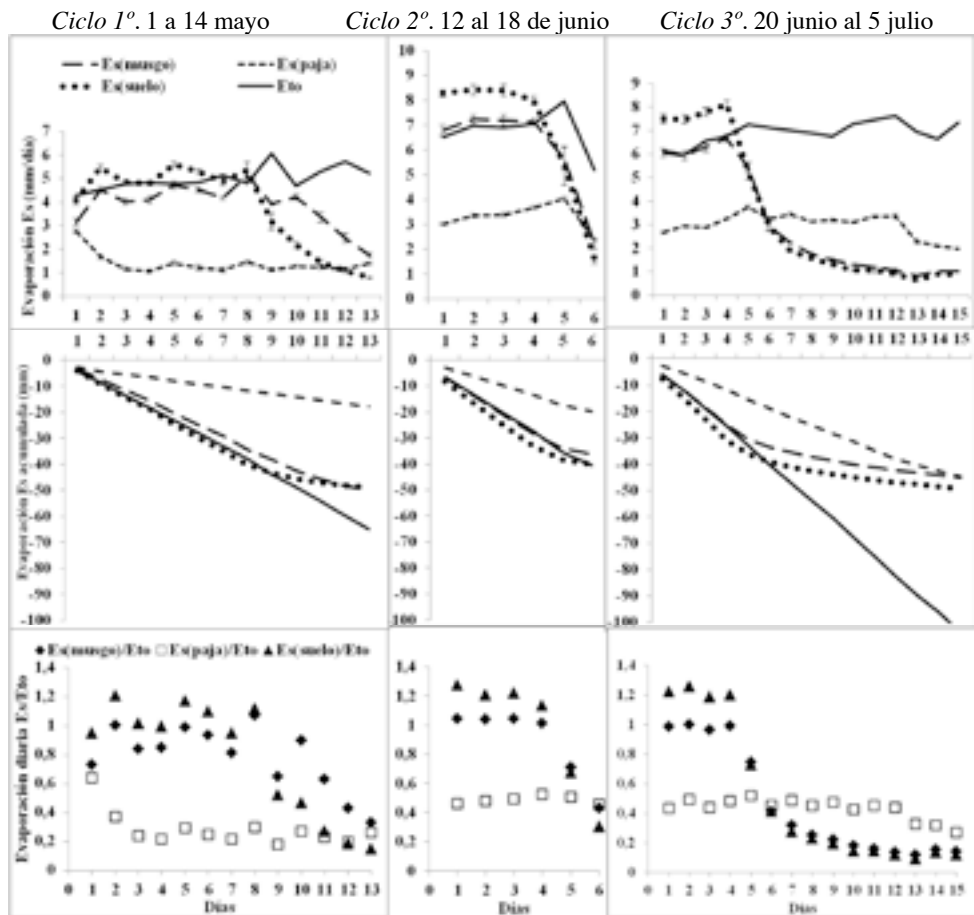


Figura 1. Evaporación E_s , evaporación acumulada y evaporación diaria en tres ciclos de desecación del suelo cubierto con musgo, paja o desnudo.

La fase I tuvo una duración más prolongada en el Ciclo 1º de desecación, y algo mayor en musgo (9 días) que en suelo desnudo (7 días), frente a los 4 que duró en los otros dos ciclos. La E_s acumulada en ese tiempo fue excesivamente elevada respecto a los valores habituales en condiciones de campo, que no suelen superar los 15 mm, lo que se atribuye a las condiciones del ensayo, en maceta y además son un suelo artificial. Con cubierta de paja apenas se vislumbró el

comienzo de la fase II al final de los ciclos 1º y 3º. En los 3 ciclos, la evaporación diaria en fase I con paja fue la más baja, y la más elevada en suelo desnudo. El musgo redujo la evaporación diaria frente al suelo desnudo en torno a 1 mm diario, pero en el ciclo 1º la fase I duró 2 días más en el musgo que en el suelo desnudo, por lo que, al finalizar éstas, la Es acumulada total de las fases I fue más alta en musgo que en suelo desnudo.

Tabla 1. Pérdidas por evaporación acumuladas durante la fase I y en el total del ciclo evaluado

Tipo de cobertura	Ciclo 1 (1-14 mayo) 13 días			Ciclo 2 (12-18 junio) 6 días			Ciclo 3º (20 junio a 5 julio) 15 días		
	Fase I	Fase I ES U	Total ciclo Es	Fase I	Fase I ES U	Total ciclo Es	Fase I	Fase I ES U	Total ciclo Es
	días	mm	mm	días	mm	mm	días	mm	mm
Musgo	9	38,24	50,01	4	28,35	36,11	4	24,98	45,11
Paja	>13	--	17,93	>6	--	19,81	12	38,27	44,62
Suelo desnudo	7	34,16	48,92	4	33,08	40,02	4	30,88	49,35
ETo			66,51			40,56			103,8

El ahorro de agua respecto al suelo desnudo (%) en el tiempo que duró la Fase I en el suelo desnudo se representa en la tabla 2. Este ahorro fue muy importante en los 3 ciclos, entre el 59,42 y 70,3% en suelo con paja. Cabe señalar que el volumen de paja aportado fue muy elevado, 23,38 t/ha, y posiblemente se crearon unas condiciones que solo se producen en campo en zonas de acumulación de restos secos. Con musgo el ahorro resultó entre un 14,31 y un 19,12%, pero las condiciones del ensayo no nos permiten hacer extensivos estos balances a condiciones de campo, aunque sí el considerar que los musgos reducen la evaporación respecto a suelo desnudo durante la fase I de la evaporación.

Tabla 2. Ahorro de agua en % respecto al suelo desnudo durante la fase I del suelo desnudo

	Ciclo 1 (1-14 mayo)	Ciclo 2 (12-18 junio)	Ciclo 3º (20 junio a 5 julio)
Duración fase I en suelo desnudo (días)	7	4	4
% Ahorro con musgo	16,51	14,31	19,12
% Ahorro con paja	70,38	59,42	62,08

Los parámetros de las ecuaciones de Richie para la fase II de los ciclos 1º y 3º se presentan en la tabla 3. El 2º ciclo no permitió obtenerlas debido a lluvia imprevista.

Los valores de α resultaron ligeramente altos en ambos ciclos, atribuible a las condiciones del ensayo, pero dentro de valores normales (Bonachela et al., 1999). En el ciclo 1º α fue algo menor con musgo, pero en el ciclo 2º fue al contrario. Estas pequeñas diferencias podrían deberse asimismo a las condiciones del ensayo, aunque esto solo podrá determinarse en condiciones de campo y perfeccionado el diseño del ensayo y la toma de datos.

Tabla 3. Ecuación de Richie para la fase II en suelo cubierto con musgos y suelo desnudo en dos ciclos de desecación durante la primavera y verano $E_s \text{ acumulada (II)} = \alpha \times \sqrt{t^2}$

	Ciclo 1º			Ciclo 3º		
	n	α	R ²	n	α	R ²
Cubierta de musgo	4	5,57	0,92	6	6,11	0,99
Suelo desnudo	11	5,91	0,98	11	5,67	0,99

Ante estos resultados, podemos augurar que los tapices de musgos en olivar pueden suponer un ahorro de agua respecto al suelo desnudo en la fase I de evaporación, lo que tiene lugar en las zonas olivereras durante muchos días entre el otoño y la primavera, y esto beneficiaría a la producción oleícola. Con esos valores y aplicando los modelos de evaporación que se han obtenido para olivar (Villalobos et al., 2000) podría estimarse la repercusión que tendría la presencia de un tapiz de musgos sobre la cobertura del suelo en diferentes condiciones climáticas. Para ello, no solo es preciso tener en cuenta la evaporación, sino también la frecuencia y periodicidad de las lluvias. Esto sería además importante de cara a evaluar los posibles ahorros en condiciones climáticas más adversas que las actuales.

4. AGRADECIMIENTOS

Al Proyecto TRA. TRA. 201600.2 financiado con fondos FEDER (80%) e IFAPA. A Andrés Gutiérrez, Trinidad Gutiérrez, Juana Mes y M^a Ángeles Gutiérrez por su asistencia en campo.

5. REFERENCIAS

- Ben Sasson (2013). Iniciación al estudio de los musgos en el olivar mediterráneo. Tesis de Máster. Universidad de Córdoba. 138 pp.
- Ben Sasson S, Rams S, Alcántara C and Saavedra M (2013). Influencia de la presencia de musgo sobre la instalación de malas hierbas en suelos de olivar. In Osca JM., Gómez de Barreda-Ferraz D., Castell V. y Pascual N. (Eds.). 2013. XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología. Valencia 5-7 noviembre. 25-29.
- Benlap J (2006). The potential Roles of Biological Soil Crusts in Dryland Hydrologic Cycles. *Hydrological Processes*, 20 (15), 3159-3178.
- Bonachela S, Orgaz F, Villalobos FJ and Fereres E (1999). Measurement and simulation of evaporation from soil in olive orchards. *Irrigation Science*, 18, 205-211.
- Chamizo S, Rodríguez-Caballero E, Miralles-Mellano I, Afana A, Lázaro R, Domingo F, Calvo-Cases A, Sole-Benet A, Cantón Y (2010). Características de las costras físicas y biológicas del suelo con mayor influencia sobre la infiltración y la erosión en ecosistemas semiáridos. Pirineos. *Rev. Ecol. Mont.*, 165, 69-96.
- Estébanez-Pérez B, Draper y Días De Aauri I and Medina-Bujalance R (2011). Briófitos: una aproximación a las plantas terrestres más sencillas. *Memorias R. Soc. Esp. Hist. Nat.* 2ª ép. 19-73.
- Le Bissonnais Y, Cerdan O, Lecomte V, Benkhadra H, Souchère V and Martin P (2005). Variability of Soil Surface Characteristics Influencing Runoff and Interrill Erosion. *Journal of Arid Environment*, 48, 373-395.
- Longton RE (1997). The role of bryophytes and lichens in polar ecosystems. Ed by Woodin SJ & Marquiss M. *Ecology of arctic environment*, pp. 69-96. Blackwell Science, Oxford.

- Pastor M (2008). Capítulo VIII: Sistemas de manejo del suelo. Ed. by Barranco, D., Fernández-Escobar, R. and Rallo, L. El Cultivo del Olivo. 6ª edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 846 pp.
- Philips JR (1957). Evaporation, and moisture and heat fields in the soil. *Journal Meteorology*, 14, 354-366.
- Rams S, Saavedra M, Alcántara C, Cabezas C and Jiménez-Moreno MJ (2011). Primera aproximación al estudio del estrato muscinal en el olivar andaluz. *XIII Congreso Nacional de Malherbología*. Ed. by Arévalo JR, Fernández S, López F, Recasens J and Sobrino E. Plantas Invasoras Resistencias a Herbicidas y Detección de Malas Hierbas. pp. 267-270. La Laguna, Tenerife.
- Ritchie JT (1972). Model for predicting evaporation from a row crop with incomplete cover. *Water Resources Research*, 8, 1204-1231.
- Saavedra M, Rams S, Ben Sasson S, Cabezas C, Castillo F and Alcántara C (2014). Los musgos como parte de la cubierta vegetal en olivar. IFAPA. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural. 17 p., www.servifapa.es.
- Saavedra M, Rams S and Ben Sasson S (2013). Los musgos una alternativa o un complemento a las cubiertas vegetales en olivar mediterráneo. *Vida Rural*, 368, 30-34.
- Villalobos FJ, Orgaz F, Testi L and Fereres E (2000). Measurement and modeling of evapotranspiration of olive (*Olea europea* L.) orchards. *European Journal of Agronomy*, 13, 155-163.
- Yanusa IAM, Sedgley RH, Belford RK and Tennant D (1993). Dynamics of water use in a Mediterranean environment. I. Soil evaporation little affected by presence of plant canopy. *Agric. Water Management*, 24, 205-224.

Influence of olive groves moss crust on soil evaporation

Summary: In three treatments of soil cover (moss, straw and bare soil) in pots 25 L of capacity, it has been evaluated the soil evaporation using Ritchie equation during 3 cycles of desiccation. The lowest daily loss occurred with straw and the highest with bare soil. The longest fase I was formed with straw, and the shortest with bare soil. The a and α values of Ritchie's equations were similar to others situations in crops conditions, but U (24,98 to 38,24 mm) were very high. These are attributable to artificial conditions of the experiment. In consequence, these results are considered preliminary, and it is necessary to evaluate the evaporation in crop conditions in order to evaluate the positive results of the moss crust during the fase I of evaporation and to consider the rain frequency and climatic conditions.

Keywords: olive groves, moss, evaporation, water balance, cover crops.

METEO: Una herramienta informática para la optimización en tiempo real de las medidas de control del vallico (*Lolium rigidum*) en cereales

José Luis González-Andújar¹✉, Lidia Molero², María de los Ángeles Ruiz de Aldana², Jordi Izquierdo³, Fernando Bastida⁴, Pilar Martínez²

¹Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), Avda. Menéndez Pidal s/n, Apdo 14004-Córdoba

²Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales, Dpto. Física Aplicada, Apdo 14071-Córdoba

³Universidad Politécnica de Cataluña, Departament d'Enginyeria Agroalimentària i Biotecnologia, Campus Baix Llobregat, Apdo. 08860, Castelldefels

⁴Universidad de Huelva, Dpto. de CC. Agroforestales, Carretera de Palos de la Frontera S/N, Apdo. 21819, La Rábida,

✉ andujar@cica.es

Resumen: METEO es una herramienta informática desarrollada para la web y teléfonos móviles que permite predecir la emergencia del vallico (*Lolium rigidum*) en cereales. El sistema accede en tiempo real a los datos climáticos de estaciones meteorológicas ubicadas en Andalucía. Esta información es almacenada en una base de datos y posteriormente recuperada para ser utilizada por un modelo de emergencia previamente desarrollado. A partir de los resultados generados por el modelo, METEO es capaz de predecir el porcentaje acumulado de emergencia de vallico para el año en curso en una localidad concreta. En base a esa información el agricultor o técnico puede conocer en una determinada fecha el porcentaje emergido y tomar la decisión más oportuna para la optimización de las medidas de control.

Palabras clave: modelo de emergencia; tiempo termal, control de malas hierbas, estación meteorológica.

1. INTRODUCCIÓN

La presencia de vallico (*Lolium rigidum* Gaud.) es muy común en los cultivos cerealistas de nuestro país. Es una de las malas hierbas más dañinas de los cereales. Se ha establecido que infestaciones altas de esta mala hierba llegan a reducir un 80% la producción (Izquierdo et al., 2003). El control de *L. rigidum* se realiza principalmente mediante la aplicación de herbicidas en su estado de plántula. El éxito de las prácticas de control de malas hierbas en sistemas agrícolas depende en gran medida del estado fenológico de las mismas en el momento de aplicación de las medidas de control. Por consiguiente, a fin de optimizar la efectividad de las prácticas de control deberíamos poder predecir la emergencia de la plántulas de malas hierbas. Para este fin se han desarrollado modelos basados en la temperatura y humedad del suelo que permiten predecir la emergencia y ayudar a ajustar el momento de los tratamientos de control (González-Andújar et al., 2016). Una vez desarrollados los modelos, el siguiente paso sería establecer un proceso de transferencia de tecnología a los agricultores y técnicos agrícolas que permitiera disponer de la información en tiempo real. Para ello las actuales plataformas digitales (smartphones, tablets, etc.) son herramientas idóneas para realizar ese proceso de transferencia tecnológica de una manera eficiente, barata y en tiempo real (González-Andújar, 2009).

El objetivo de este trabajo es presentar un programa informático dirigido a smartphones y tablets que permite optimizar el control de *L. rigidum* en cultivos de cereales en tiempo real.

2. DESCRIPCIÓN DEL PROGRAMA

La aplicación desarrollada (METEO) permite consultar la emergencia de *L. rigidum* en cualquier localidad de Andalucía y guardar la información. METEO automatiza el proceso de recuperación de la información climatológica disponible en las estaciones meteorológicas de la Junta de Andalucía. La consulta se realiza seleccionando una provincia y a continuación una estación meteorológica concreta, cada provincia cuenta con un cierto número de estaciones que varía según la provincia. La información obtenida es incorporada a la Base de Datos de la aplicación para su posterior utilización en la predicción de la emergencia. El modelo predictivo que permite simular la emergencia de *L. rigidum* ha sido tomado del desarrollado por Izquierdo et al. (2013). Además de la base de datos y el modelo de emergencia, METEO consta de un conjunto de páginas web que constituyen la interfaz con el usuario. La página principal e inicio de la aplicación, contiene un mapa georeferenciado en el que se han situado las distintas estaciones agroclimáticas (Fig. 1).



Figura 1. Página principal de METEO.

3. FUNCIONAMIENTO GENERAL

- El usuario deberá seleccionar la estación agroclimática más cercana a su campo y la fecha actual (Fig. 2). Con esa información el sistema importará de la estación meteorológica los datos climáticos necesarios para «alimentar» el modelo de emergencia.
- A partir de los datos meteorológicos obtenidos, el sistema realizará los cálculos necesarios y proporcionará al usuario un gráfico de los resultados en porcentaje de emergencia a la fecha actual (Fig. 3). En base a esa información el agricultor o técnico puede conocer en una determinada fecha el porcentaje emergido y tomar la decisión mas oportuna para la optimización de las medidas de control.
- El usuario tendrá también la opción de poder exportar los resultados a un documento Excel o Word.



Figura 2. Selección de una estación meteorológica.



Figura 3. Ejemplo de gráfica de la emergencia.

4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha beneficiado de la información recogida en el proyecto AGL2005-405 financiado por fondos FEDER y el Plan Nacional de Investigación (I+D) del Ministerio de Economía y Competitividad.

5. REFERENCIAS

- González-Andújar JL (2009). Expert System for pest, diseases and weed identification in olive crops. *Expert systems with applications*, 36, 3278-3283.
- González-Andújar JL, Chantre GR, Morvillo C, Blanco A and Forcella F (2016). Predicting field weed emergence with empirical models and soft computing techniques. *Weed Research*, 56, 415-423.
- Izquierdo J, Recasens J, Fernández-Quintanilla C and Gill G (2003). The effects of crop and weed densities on the interactions between barley and *Lolium rigidum* in several Mediterranean locations. *Agronomie*, 23, 529-536.
- Izquierdo J, Bastida F, Lezaún JM, Sánchez del Arco MJ and González-Andújar JL (2013). Development and validation of a model for predicting *Lolium rigidum* emergence in winter cereal fields. *Weed Research*, 53, 269-278.

METEO: A computer tool for the real-time optimization of control measures of annual ryegrass (*Lolium rigidum*) in cereals

Summary: METEO is a computer tool developed for the web and mobile phones that allows predicting the emergency of *Lolium rigidum* in cereals. The system accesses in real time the climatic data of meteorological stations located in Andalusia. These data are stored in a database and later retrieved to be used by a thermal emergence model previously developed. From the information generated by the model, METEO is able to predict the accumulated emergency percentage of *L. rigidum* for the current year in a specific locality. Based on this information, the farmer or technician can know the percentage emerged on a given date and make the most timely decision to optimize the control measures.

Keywords: emergence model, thermal time, weed control, meteorological station.

Cartografía de *Cynodon dactylon* en viñedo mediante imágenes UAV y tecnología OBIA para un uso sostenible y localizado de herbicidas

Ana Isabel de Castro¹✉, José Manuel Peña², Jorge Torres-Sánchez¹,
Francisco M. Jiménez-Brenes¹, Jordi Recasens³, Francisco Valencia³,
Francisca López-Granados¹

¹Instituto de Agricultura Sostenible (IAS-CSIC), Córdoba

²Instituto de Ciencias Agrarias (ICA-CSIC), Madrid

³Depto. Hortofruticultura, Botánica y Jardinería. ETSEA. Universitat de Lleida. Lleida.

✉ anadecastro@ias.csic.es

Resumen: El manejo adecuado de las cubiertas vegetales en viñedos de regadío protege el suelo de la erosión y permite equilibrar el vigor y rendimiento de la viña, lo que redundará en una mejora de la calidad de la cosecha. Estas ventajas quedan mermaidadas con las infestaciones de grama (*Cynodon dactylon*) en las cubiertas, una especie perenne, altamente competitiva y difícilmente controlable. El objetivo de este trabajo consistió en la detección temprana y mapeo de *C. dactylon* en viñedos con cubierta vegetal mediante el uso de imágenes UAV (vehículos aéreos no tripulados) y técnicas de análisis de imágenes basadas en objetos (OBIA). El algoritmo desarrollado permitió la clasificación de los 4 usos principales presentes en el viñedo (viña, suelo desnudo, grama y cubierta vegetal) y la generación de mapas de grama para su control localizado, disminuyendo de esta manera el coste económico y medioambiental del tratamiento.

Palabras clave: viticultura de precisión, cubiertas vegetales, teledetección, análisis de imágenes basado en objetos (OBIA), mapa de manejo localizado de malas hierbas.

1. INTRODUCCIÓN

La viticultura de precisión busca el manejo diferenciado del viñedo de acuerdo a la variabilidad espacio-temporal existente en la parcela, ajustándose las tareas y los tratamientos agrícolas a las necesidades reales de cada zona del cultivo. La aplicación de estas técnicas consigue reducir costes y aumentar la rentabilidad y la sostenibilidad del sistema agrícola; beneficios promovidos por el actual marco político europeo y nacional, donde se aboga por el Uso Sostenible de Productos Fitosanitarios (Directiva 2009/128/CE, Reglamento (CE) 1107/2009 y Real Decreto 1311/2012), destacando «el fomento del bajo consumo (reducción de las aplicaciones) y la utilización de dosis adecuadas y ajustadas a la superficie a tratar». Una de las estrategias adoptadas por el sector vitivinícola para alcanzar una gestión más sostenible del sistema consiste en el uso de cubiertas vegetales, que han mostrado ser útiles para el control de algunas especies de malas hierbas consiguiendo reducir el uso de herbicidas (Ramírez Pérez and Lasheras Ocaña, 2015). Este sistema de cultivo permite además equilibrar el vigor y rendimiento de la viña, resultando en un aumento en la calidad de la cosecha, así como proteger el suelo contra la erosión, mejorar su estructura y oxigenación y aumentar la materia orgánica (Sagüés Sarasa et al., 2013). Sin embargo, el aumento progresivo de las poblaciones de la mala hierba *Cynodon dactylon* (L.) o grama, tanto en cubiertas naturales como en cubiertas sembradas en viñedos, está mermando estos beneficios. La grama es una especie gramínea perenne altamente competitiva, de latencia invernal y un agresivo desarrollo de estolones rastreros y

rizomas subterráneos principalmente en verano, por lo que incide en la disponibilidad de agua del suelo (Valencia et al., 2015). Asimismo, al ser rastrera no se ve afectada por las siegas periódicas realizadas a las cubiertas, lo que favorece su desarrollo pudiendo llegar a invadir la hilera de cepas. Una vez que infesta la zona de la cepas se convierte en una mala hierba de muy difícil control debido a las escasas herramientas químicas disponibles.

El diseño de mapas de manejo y/o tratamiento localizado de malas hierbas dentro del contexto de Viticultura de Precisión, requiere conocer la posición y densidad de los rodales de las mismas dentro del viñedo (Peña et al., 2013), de manera que se aplique el herbicida o la medida de control adecuada solo en aquellas zonas infestadas de la parcela. En este sentido, los Vehículos Aéreos No Tripulados (UAVs, por sus siglas en inglés) o drones han demostrado ser una herramienta muy útil y eficiente para monitorizar los cultivos y las malas hierbas asociadas gracias a la elevada resolución de imagen que ofrecen y permitir la adquisición de imágenes en momentos críticos del cultivo (Zhang et al., 2014), por lo que han generado un destacado interés del sector agrario en general y de la viticultura en particular (Matese et al., 2015).

Por todo lo anterior, el objetivo de este trabajo consistió en la detección de grama en viñedos con cubierta vegetal y, seguidamente, el diseño de mapas de tratamiento localizado aplicando tecnología basada en UAV. Esta investigación se enmarca dentro de los objetivos del proyecto TecnoGIM que busca aportar los conocimientos, conceptos y herramientas tecnológicas necesarios en el desarrollo de estrategias de Gestión Integrada de Malas hierbas, lo que permitirá reducir notablemente del uso de productos fitosanitarios mediante su aplicación localizada, así como la realización de tareas agrícolas más eficientes.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Adquisición y pre-procesado de las imágenes. Los vuelos fueron realizados con un quadrotor modelo md4-1000 (microdrones GmbH, Siegen, Alemania) (Fig. 1a) equipado con una cámara convencional de bajo coste (Olympus PEN E-PM1) a 30 m de altura en febrero-2016, con un solapamiento transversal y longitudinal que permitiese el posterior mosaicado preciso de las imágenes. En este trabajo se presenta el análisis de las imágenes tomadas en una parcela de viña localizada en Raimat (LLeida), variedad *Pinot Noir*, situada en espaldera con 3 m de distancia entre hileras y cobertura vegetal naturalmente instalada e infestada de grama (Fig. 1b).

Como paso previo al análisis, las imágenes individuales se ortomosaicaron y se generó el modelo digital de superficies (MDS) (Fig. 2a) con el programa Agisoft Photoscan Professional 1.2.4

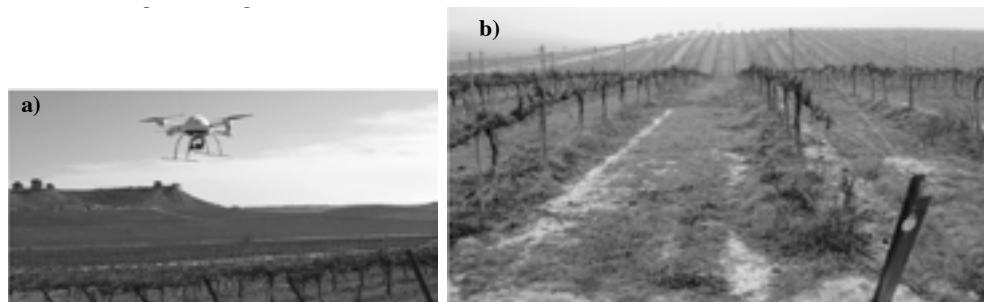


Figura 1. a) Dron modelo md4-1000 durante el vuelo; b) Detalle de una de las calles del viñedo sobrevolado en el estudio.

(Agisoft LLC, San Petersburgo, Rusia). Este pre-proceso permitió obtener una única imagen de toda la parcela con información espectral (Azul-Verde-Rojo) y espacial (X, Y, Z) de cada punto de la misma (Fig. 2b).

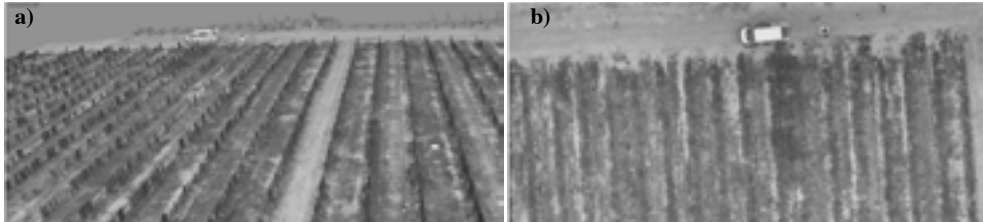


Figura 2. a) Detalle del MDS; b) Detalle de la imagen mosaicada generada para la parcela de viña.

2.2. Análisis de las imágenes. Nuestra hipótesis de trabajo consistió en la detección temprana de *C. dactylon* durante su parada vegetativa y cuando la cubierta aún no ha emergido o está en inicios de emergencia. Si se retrasara la toma de las imágenes, la cubierta vegetal estaría en pleno desarrollo y cubriría parcialmente la infestación de grama imposibilitando así su detección. Sin embargo, durante la parada vegetativa existe un problema de similitud espectral entre la mala hierba, el suelo y la cubierta, lo cual ha sido solventado recurriendo a técnicas de análisis de imagen basada en objetos (algoritmos OBIA, de Object-Based Image Analysis). Las técnicas OBIA son un método automático de clasificación de imágenes que permite incorporar en los algoritmos, además de la información espectral, información contextual de la parcela tales como la posición de la mala hierba con respecto a la línea de viña, el tamaño de las plantas, o parámetros de textura de los objetos presentes en la imagen (Peña et al., 2013). Para este estudio, se desarrolló un algoritmo que genera mapas formados por los 4 usos principales que conforman la parcela: viña, cubierta vegetal, suelo desnudo y grama. Las fases seguidas por el algoritmo son las siguientes:

Fase 1. *Segmentación de la imagen*: formación de *objetos* homogéneos o *agrupaciones de píxeles* que representen plantas individuales, utilizando información espacial y espectral.

Fase 2. *Clasificación de las cepas*: basado en la información espacial obtenida por el MDS generado, que permite reconocer cada una de las cepas de viña comparando alturas con el suelo circundante, según metodología de Torres et al. (2017).

Fase 3. *Clasificación de la cubierta vegetal*: generación de índices de vegetación, que son ratios entre las bandas de la imagen que resaltan ciertas características de la vegetación, a partir de la información espectral. Se seleccionó el Color index of vegetation (CIVE) (Kataoka et al., 2003) por su efectividad en resaltar la vegetación verde de las plantas que conforman la cubierta vegetal.

Fase 4. *Clasificación de la grama*: mediante el índice Excess Green minus Excess Red (ExGR) (Neto, 2014), seleccionado en estudios estadísticos previos donde alcanzó una alta precisión en la separación grama-suelo desnudo.

Fase 5. *Clasificación del suelo desnudo*: los objetos remanentes en la imagen fueron clasificados como suelo.

2.3. Validación. La precisión del mapa de clasificación fue evaluado a partir de datos verdad-terreno tomados en campo el mismo día de la toma de la imagen. Se georreferenciaron en campo una serie de marcos de aluminio de 1x1m, en los que se tomaron datos de la vegetación

presente (Fig. 3). Los marcos fueron clasificados en función del porcentaje de infestación y comparados con los datos verdad-terreno obtenidos en campo.

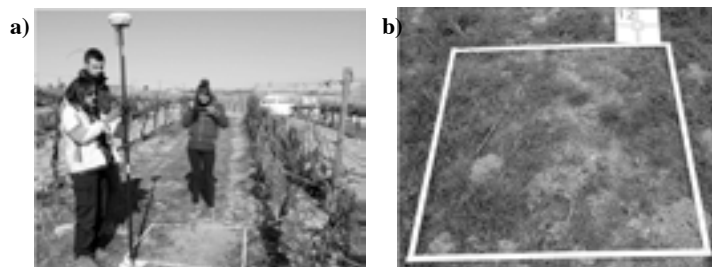


Figura 3. a) Toma de datos en campo y georreferenciación de marco de muestreo en el viñedo; b) Detalle de uno de los marcos utilizados en el trabajo.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El algoritmo desarrollado consiguió la **clasificación del 100% de las cepas** presentes en el viñedo (Fig. 4), demostrando así la necesidad y eficiencia de la información espacial aportada por el MDS. Sin esta información no habría sido posible aislar cada una de las viñas dada la similitud espectral con las cubiertas. Este desarrollo permitió también la obtención de parámetros morfológicos de cada una de las cepas (p.ej, altura, diámetro, área proyectada y volumen). Las cubiertas vegetales fueron correctamente clasificadas de acuerdo a la información recogida en cada uno de los marcos utilizados como verdad-terreno, incluso aquellas plántulas de menor tamaño (Fig. 5). Estos resultados señalan la importancia del uso de imágenes UAV que permiten obtener imágenes de alta resolución espacial, en este caso de 1 cm de tamaño de píxel, así como el uso del índice CIVE especializado en resaltar aquellos objetos de color verde.

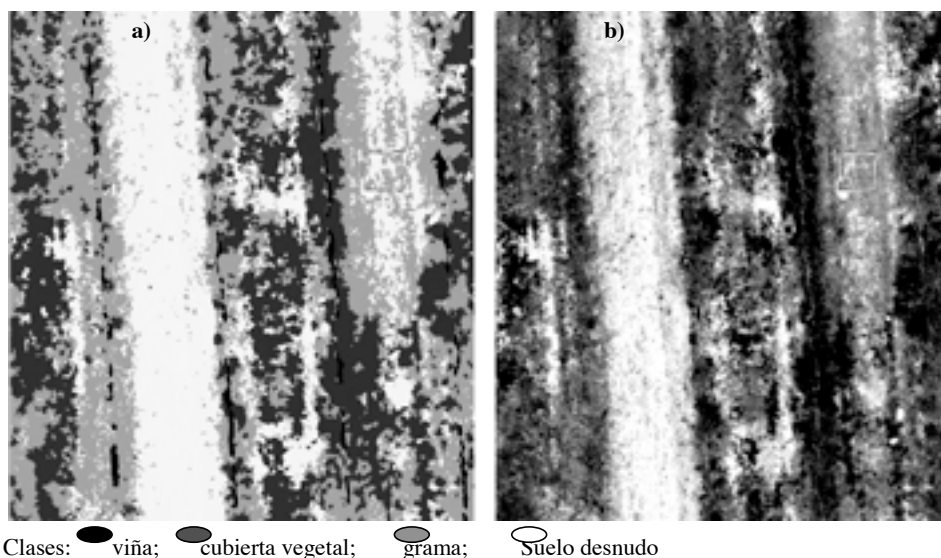


Figura 4. a) Detalle de la imagen clasificada; b) Detalle de la imagen mosaicada.

La precisión alcanzada en la detección de la grama fue calculada en función del porcentaje correctamente clasificado por el algoritmo en cada marco (Fig. 5), según las clases: Baja (grama <5%); Media (grama=5-30%); Alta (grama >30%), obteniendo un valor de exactitud en la clasificación del 100%, 71,4% y de 80%, respectivamente, lo que ofreció un valor de fiabilidad global del mapa clasificado de 83,3%. En el caso de marcos con cobertura de grama Baja o Alta, se consiguió una detección precisa, disminuyendo en los marcos con cobertura Media, donde la grama presentó un color más claro y menor densidad. Esta situación ocasionó una clasificación errónea de algunos de estos objetos como suelo debido a la influencia en la respuesta espectral del suelo que se dejaba entrever. Estos primeros resultados presentan un elevado porcentaje de acierto en las clasificaciones y ha supuesto un gran desafío en teledetección dada la complejidad de detectar pequeñas plántulas de grama con un comportamiento espectral muy similar al del suelo y al de las cubiertas en el momento de la toma de la imagen. Actualmente estos resultados están siendo mejorados incorporando parámetros de textura que permiten separar de forma más precisa la grama presente en las cubiertas vegetales de la viña.

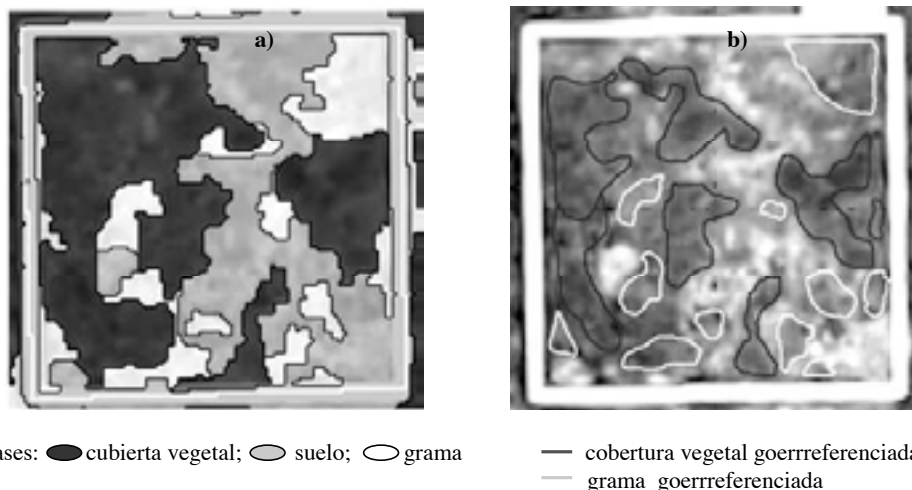


Figura 5. a) Detalle de un marco verdad-terreno en la imagen clasificada; b) Información verdad-terreno georreferenciada del mismo marco.

El algoritmo automático desarrollado mediante técnicas OBIA aplicado a imágenes UAV permite la cartografía temprana de los principales usos presentes en el viñedo (viña, suelo, cubiertas vegetales y grama). Aunque se trate de un momento complicado para la detección de la grama, los mapas generados en ese momento ofrecen al viticultor una herramienta útil de apoyo en la toma de decisiones que podría utilizarse en esa misma campaña, ya que los tratamientos de grama se llevan a cabo durante la primavera (generalmente de abril a junio). Al realizar los tratamientos herbicidas únicamente en las zonas de presencia de grama, se obtendría una disminución del coste económico y medioambiental de su manejo. Además, si se cartografiaban los rodales de grama y se controlan durante 2-3 años agrícolas, se podría erradicar la mala hierba y favorecer el paso a producción ecológica, aumentando su valor añadido.

4. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a RAIMAT S.A. (Lleida) el uso de sus parcelas para realizar los vuelos. Esta investigación fue financiada por el proyecto AGL2014-52465-C4-4R (Ministerio de Economía y Competitividad, fondos FEDER: Fondo Europeo de Desarrollo Regional). La investigación del Dr. Jorge Torres-Sánchez, Dr. Ana de Castro y el Dr. José M. Peña fue financiada por los programas FPI (BES-2012-052424), Juan de la Cierva (MINECO) y Ramón y Cajal (MINECO), respectivamente.

5. REFERENCIAS

- Kataoka T, Kaneko T, Okamoto H and Hata S (2003). Crop growth estimation system using machine vision. *IEEE/ASME International Conference on Advanced Intelligent Mechatronics*. Proceedings, pp. b1079-b1083 vol.2. Kobe (Japan).
- Matese A, Toscano P, Di Gennaro SF, Genesio L, Vaccari FP, Primicerio J, Belli C, Zaldei A, Bianconi R, Gioli B (2015). Intercomparison of UAV, aircraft and satellite remote sensing platforms for precision viticulture. *Remote Sensing*, 7, 2971-2990.
- Neto JC (2004). A combined statistical—soft computing approach for classification and mapping weed species in minimum tillage systems. University of Nebraska, Lincoln, NE.
- Peña JM, Torres-Sánchez J, de Castro AI, Kelly M and López-Granados F (2013). Weed Mapping in Early-Season Maize Fields Using Object-Based Analysis of Unmanned Aerial Vehicle (UAV) Images. *PLoS ONE*, 8: e77151.
- Ramírez Pérez P & Lasheras Ocaña JM (2015). *Guía de Cubiertas vegetales en vid*. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Junta de Andalucía, Andalucía (España).
- Sagüés Sarasa A, Aguirrezabal Bujanda F, Cibrián Sabalza F, Caminero Lobera L and Suberviola Rípa J (2013). *Gestión del suelo vitícola: cubiertas vegetales e incidencia en la calidad del mosto y vino*. ACE-NOLOGÍA, Asociación catalana de Enólogos. http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/gestion_suelo_viticola_cienc0813.htm.
- Torres-Sánchez J, López-Granados F, Jiménez-Brenes FM, Borra-Serrano I, de Castro AI and Peña JM (2017). 3-D Vineyard monitoring with UAV images and a novel OBIA procedure for precision viticulture applications. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing* (en revisión).
- Valencia F, Civit J, Esteve J and Recasens J (2015). Cover-crop management to control *Cynodon dactylon* in vineyards: balance between efficiency and sustainability. *7th International Weed Science Congress*, Proceedings, 228. Prague (Czech Republic).
- Zhang C, Walters D and Kovacs JM (2014). Applications of Low Altitude Remote Sensing in Agriculture upon Farmers' Requests— A Case Study in Northeastern Ontario, Canada. *PLoS ONE*, 9(11): e112894.

Mapping *Cynodon dactylon* in vineyard by using UAV-images and OBIA technology for site-specific weed management

Summary: The use of cover crops is a usual management practice for irrigated vineyards that allows controlling vineyard vigor and yield, also improving the crop quality. However, those advantages have been reduced by bermudagrass (*C. dactylon*) populations infesting cover crop areas. Bermudagrass is a perennial, very competitive grass and tolerant of reap, pretty difficult to control. The objective of this research was the early mapping of *C. dactylon* patches in order to provide an optimized site-specific weed management. Object-based image analysis (OBIA) techniques applied to unmanned aerial vehicle (UAV) imagery solved the limitation of spectral similarity between bermudagrass and cover crops or bare soil. The classified maps showed the four main classes in the vineyard (vine, cover crop, *C. dactylon* and bare soil) with 85% overall accuracy, that allow developing new strategies for site-specific control of *C. dactylon* infestations and decreasing economical and environmental costs.

Keywords: precision viticulture, cover green, remote sensing, object-based image analysis (OBIA), site-specific weed map.

Modelización 3D de malas hierbas en cultivos de maíz mediante fotogrametría digital automatizada

Dionisio Andújar¹✉, Mikel Calle², José Manuel Peña¹, Ángela Ribeiro³, César Fernández-Quintanilla¹, José Dorado¹

¹ Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), 28006 Madrid

² Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), 28006 Madrid

³ Centro de Automática y Robótica (CSIC), 28500 Arganda del Rey, Madrid

✉ dionisioandujar@hotmail.com

Resumen: Este trabajo describe un proceso de fenotipado (i.e. reconstrucción y caracterización de la estructura geométrica de plantas) de *Xanthium strumarium* mediante técnicas de fotogrametría digital automatizada (Structure from Motion, SfM). La captura de imágenes se realizó con una cámara digital orientada en posición cenital y oblicua, ésta última a dos alturas, permitiendo cubrir todos los ángulos alrededor de las plantas seleccionadas. Se muestreó un total de 10 plantas de *X. strumarium* presentes en un campo de maíz, que sirvieron para crear sus respectivos modelos tridimensionales en base a algoritmos SfM y tecnología de reconstrucción 3D multi-vista. Estos modelos fueron validados con los datos reales de biomasa, altura de planta e índice de área foliar. Los resultados mostraron un ajuste satisfactorio entre los parámetros extraídos del modelo y la verdad terreno. Este trabajo demuestra las posibilidades de este método para la caracterización digital de poblaciones de malas hierbas.

Palabras clave: fotogrametría, fenotipado, modelos 3D.

1. INTRODUCCIÓN

Las técnicas de fenotipado permiten medir diversas características de las plantas mediante técnicas no destructivas ni invasivas. El creciente empleo de estas técnicas ha incrementado la demanda de la reconstrucción mediante modelos tridimensionales. Con este objetivo se han adaptado y mejorado métodos existentes y han surgido nuevas metodologías de caracterización digital. La utilización de laser-escáner (Andújar et al., 2013), cámaras de profundidad (Andújar et al., 2016) o sistemas basados en luz estructurada (Rosell-Polo et al., 2015) han creado modelos muy cercanos a la realidad que permiten el estudio detallado de las características morfológicas de cada planta utilizando para ello modelos digitales 3D. La extracción, a partir de dichos modelos, de parámetros tales como volúmenes, área foliar o ángulo de emergencia de nuevas hojas permite ampliar el conocimiento de la morfología de las plantas. Sin embargo, la creación de modelos 3D necesita de una gran capacidad computacional para procesar y modelar la gran cantidad de datos provenientes de los sensores así como de las múltiples combinaciones de datos para la generación del modelo. En la actualidad, la disponibilidad de mayores capacidades de procesamiento unido a cámaras digitales RGB (sigla en inglés de Red, Green, Blue) de alta resolución, permiten la utilización de técnicas fotogramétricas como la visión estereoscópica (multiestereovisión) o fotogrametría digital automatizada (Structure from Motion, SfM) para su utilización en procesos de fenotipado.

La calidad de modelos 3D creados mediante fotogrametría ha incrementado con la mejora en la calidad de imágenes. Estos procesos se utilizan ya en fenotipado y también en caracterización vegetal con objeto de toma de decisiones en el manejo de plantaciones. Estas técnicas han sido utilizadas para caracterizar plantaciones de tomate y apoyar la toma de decisiones en la selección de plantas derivadas de parámetros tales como área foliar o volumen de planta (Aguilar

et al., 2008). También se han extraído parámetros como el ángulo de las hojas o el diámetro del tallo, que permiten caracterizar variedades o el grado de crecimiento adecuado de las plantas (Rose et al., 2015). En todos estos casos, el procesamiento de las imágenes se realizó a través de SfM, utilizando esta técnica para almacenar la posición relativa de cada imagen y para caracterizar múltiples especies vegetales.

Sin embargo, existen problemas aún por resolver cuando se intentan caracterizar plantas con formas complejas o de escaso tamaño con cámaras convencionales. En el caso de la malherbología y dado que el principal objetivo es el control de las poblaciones de malas hierbas, nuestra propuesta es caracterizar sus plántulas en los primeros estadios de crecimiento, cuando aún son controlables con labores o herbicidas. En este trabajo se ha tomado como ejemplo una de las especies más problemáticas en cultivos de maíz, *Xanthium strumarium* L. En este contexto, se pretende evaluar posibilidades, precisión y errores asociados a la creación de modelos 3D obtenidos en esta especie durante la época temprana de desarrollo, utilizando para ello cámaras RGB y técnicas de reconstrucción SfM para la creación de modelos digitales de plantas.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Sitio de estudio y toma de imágenes. Este estudio se ha llevado a cabo en la finca experimental La Poveda (Arganda del Rey, Madrid) durante mayo de 2016 en un cultivo de maíz. Para ello se seleccionaron 10 plantas de *X. strumarium* en estado fenológico de 2 a 8 hojas verdaderas, las cuales fueron muestreadas mediante toma secuencial de imágenes desde diferentes ángulos. Las malas hierbas adyacentes a la planta seleccionada fueron eliminadas manualmente con objeto de obtener imágenes aisladas y sin interferencias de otras plantas. Se evitó la alteración del suelo durante la eliminación de estas plantas para no causar cambios en la angulación del tallo o de las hojas. Seguidamente se colocaron tres escalas gráficas de 10 cm en el suelo en forma de triángulo, quedando la planta localizada en el punto central de éste. Las escalas gráficas permiten el posterior escalado en postproceso para asimilar el modelo a los valores de distancia reales.

Para la toma de imágenes se utilizó una cámara digital compacta Nikon D5500 con una resolución de 24 Mp y una distancia focal que oscilaba entre 30 y 35 mm. Para la toma de imágenes se utilizó un sistema de sombreado formado por una estructura metálica que soportaba la tela blanca que eliminaba las sombras y permitía unos niveles de iluminación relativamente constantes durante todo el muestreo. Las imágenes se capturaron de forma secuencial siguiendo una trayectoria concéntrica respecto del eje central de la planta, manteniendo siempre una distancia de 50 cm y utilizando tres ángulos que oscilaban entre la vista perpendicular y la vista cenital (Fig. 1). De esta forma se garantizaba un solape de al menos un 90% entre dos imágenes del conjunto, lo que permitía la creación de un modelo tridimensional con suficiente detalle y escasas áreas sin reconstruir. La separación entre dos puntos vecinos para la toma de imágenes se estableció en función de la resolución deseada del modelo 3D y el desplazamiento necesario para obtener cada imagen al mover la cámara perpendicularmente a la planta seleccionada. De esta forma se adquirieron tantas imágenes como fueron necesarias para hacer un recubrimiento total, lo que precisó de 40 a 50 imágenes para cada modelo (Fig. 1). Al utilizar la técnica SfM, las diferentes posiciones de la cámara en cuanto a escala y orientación no están prefijadas dado que las variaciones entre imágenes pueden ser corregidas por el algoritmo.

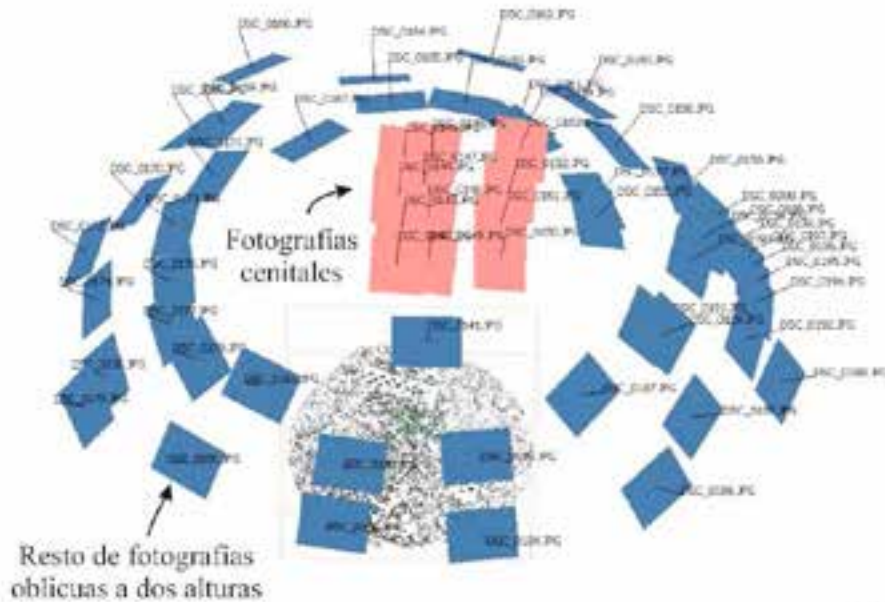


Figura 1. Posiciones de la cámara respecto de una planta de *Xanthium strumarium* durante la captura de imágenes.

2.2. Creación y análisis de modelo. De las imágenes obtenidas se desecharon aquellas que estaban desenfocadas antes del proceso de reconstrucción del modelo mediante Agisoft Photoscan®. El objetivo del procesamiento de las imágenes es construir un modelo 3D escalado con textura. El procesamiento de imágenes comprende cuatro pasos principales: alineación de la cámara, creación de la nube de puntos, construcción de la malla y texturización.

En un primer proceso, el programa detecta puntos singulares bajo diferentes puntos de vista y con variaciones de luz generando un descriptor para cada punto basado en localización, un descriptor que sirve para asociar correspondencias en las imágenes siguientes. La localización de estos puntos singulares en más de una imagen se emplea para el posicionamiento de las cámaras en el espacio. De esta forma, mediante la técnica SfM no es necesario una toma de imágenes estandarizada, ya que mediante el algoritmo SIFT (Scale Invariant Feature Transformation) se pueden identificar las características invariantes (escala, rotación e iluminación) de forma automática en cada imagen.

Sobre las imágenes posicionadas, un segundo proceso consiste en generar una nube de puntos densa, la cual puede ser editada antes de la creación de modelos de malla 3D. Este proceso requiere un elevado tiempo de procesamiento, el cual depende de la precisión y el número de puntos a generar. Dado que en este estudio nos limitamos a extraer parámetros tales como la superficie, no fue necesario llegar al detalle de otros procesos de fenotipado donde se identifican otros parámetros como nerviación, órganos florales, etc. La nube de puntos es entonces transformada a una malla poligonal 3D que representa la superficie de la planta que finalmente es texturizada. En el último paso, se re-escala el modelo utilizando las escalas gráficas presentes en las imágenes para así exportar el modelo tridimensional escalado y listo para el análisis de cada una de las plantas seleccionadas (Fig. 2).

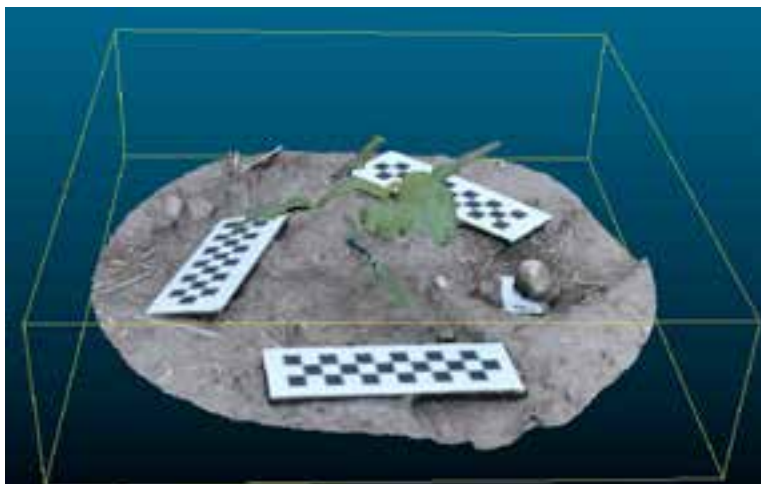


Figura 2. Ejemplo de un modelo 3D de una planta de *Xanthium strumarium*.

De cada uno de los modelos se calculó el área foliar y la altura máxima, utilizando para ello el programa CloudCompare®. Estos valores se compararon con los siguientes valores reales obtenidos en cada planta: biomasa seca determinada tras 48 horas en estufa a 78°C, altura máxima medida en campo y área foliar calculada mediante fotografía plana. Para esto se deshojó cada una de las plantas y las hojas obtenidas se colocaron sobre una base plana para su fotografía con la cámara antes mencionada, instalándose a su vez un cuadrado de dimensiones conocidas para su escalado. Estas imágenes fueron segmentadas por combinación de planos RGB ($R=-0,884$, $G=1,262$, $B=-0,311$). Estos coeficientes fueron calculados mediante algoritmos genéticos para la obtención de la imagen gris segmentada. Seguidamente se aplicó el método del valor umbral (Otsu, 1979) para separar el fondo (blanco) de las plantas (negro) y calcular la superficie foliar (Fig. 3).

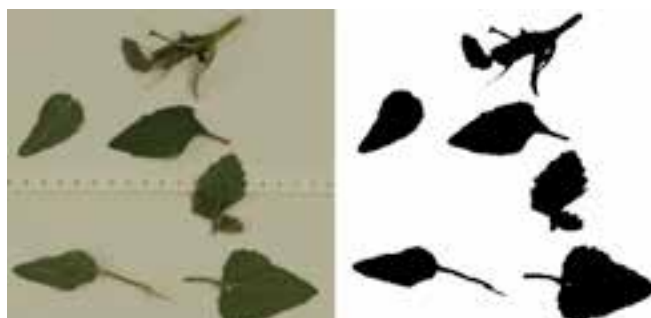


Figura 3. Ilustración del proceso de cálculo del área foliar de las muestras tomadas en imagen plana.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los modelos creados representaban con gran exactitud los detalles de las plantas de los que se podían extraer parámetros fisiológicos tales como número de hojas, ángulos de tallos y ramificaciones (Fig. 2). En los modelos puede apreciarse que las hojas más cercanas al suelo presentan ángulos más abiertos que aquellas nuevas que surgen de la parte apical de la planta. Es decir, tras la emergencia de las hojas, éstas van abriéndose hasta presentar una posición paralela al suelo. Cuando se comparan las dimensiones de la planta medidas manualmente con respecto a aquellas estimadas sobre el modelo digital 3D, se han encontrado errores de ± 3 mm tanto en la altura de planta como en su anchura obtenida en los dos ejes perpendiculares (datos no mostrados). Esta precisión de los modelos podría permitir su uso en el establecimiento de las bases del crecimiento vegetal y su evolución a lo largo del tiempo.

Por otro lado, se ha encontrado un alto grado de correlación entre el índice de área foliar (LAI) estimado en el modelo 3D y dos parámetros medidos en planta (Fig. 4). En lo que respecta al área foliar, el modelo se mostró estable y con un buen grado de acuerdo para la estimación de este parámetro con respecto a métodos tradicionales y destructivos basados en fotografía plana ($R^2=0,951$). Igualmente, el LAI estimado en el modelo 3D estuvo relacionado con la biomasa seca medida en planta ($R^2=0,963$). Además, se ha podido comprobar la validez de los modelos contrastando otras dimensiones de la planta, por ejemplo su altura, donde se ha obtenido un buen ajuste entre los valores estimados y reales ($R^2=0,998$).

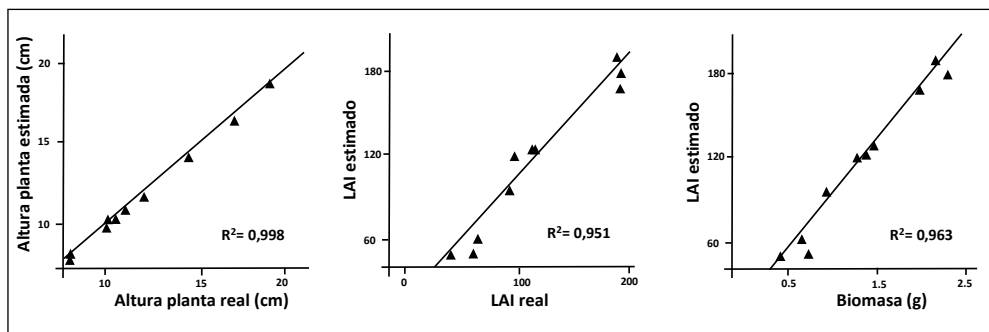


Figura 4. Análisis de regresión comparando valores reales de plantas de *Xanthium strumarium* (eje X) y valores estimados en el modelo tridimensional (eje Y).

La utilización de estos modelos ha mostrado una gran exactitud con respecto a las medidas reales de la planta así como con otros parámetros únicamente medibles mediante métodos destructivos como la biomasa. Por otra parte, estos modelos permiten estimar otros parámetros de interés biológico tales como el número de hojas, la superficie de cada una de ellas o el ángulo de inserción de estas sobre el tallo. Estas estimaciones pueden mejorar su precisión tan solo aumentando el número de imágenes y optimizando los procesos de reconstrucción utilizando procesadores más potentes o mayores tiempos de procesado.

4. AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por MINECO a través del proyecto AGL2014-52465-C4-1R.

5. REFERENCIAS

- Aguilar M, Pozo J, Aguilar F, Sanchez-Hermosilla J, Páez F and Negreiros J (2008). 3D Surface Modelling of Tomato Plants Using Close-Range. *The International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences*. XXXVII, 139-144, Beijing, China.
- Andújar D, Escola A, Rosell-Polo JR, Fernández-Quintanilla C and Dorado J (2013). Potential of a terrestrial LiDAR-based system to characterise weed vegetation in maize crops. *Computers and Electronics in Agriculture*, 92, 11-15.
- Andújar D, Fernández-Quintanilla C, Dorado J and Ribeiro A (2016). An approach to the use of depth cameras for weed volume estimation. *Sensors*, 16, 972, 11pp.
- Otsu N (1979). A threshold selection method from grey level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, 9, 62-66.
- Rose JH, Paulus S and Kuhlmann H (2015). Accuracy analysis of a multi-view stereo approach for phenotyping of tomato plants at the organ level. *Sensors*, 15, 9651-9665.
- Rosell-Polo JR, Auat F, Gregorio E, Andújar D, Puigdomenech JM and Escola A (2015). Advances in structured light sensors applications in precision agriculture and livestock farming. *Advances in Agronomy*, 133, 71-112.

Weed modeling in maize crops using photogrammetric range imaging techniques

Summary: This work describes a phenotyping process (i.e. reconstruction and characterization of the geometric structure of plants) for *Xanthium strumarium* using automated digital photogrammetry (Structure from Motion, SfM) techniques. The images were taken using a digital camera oriented in a zenith and lateral position, the latter at two heights, allowing to cover all the angles around the selected plants. A total of ten *X. strumarium* plants present in a maize field were sampled, which served to create their respective three-dimensional models based on SfM algorithms and multi-view 3D reconstruction technology. These models were validated with the actual data of biomass, plant height and leaf area index. The results showed a satisfactory adjustment of the parameters extracted from the model with the ground truth. This work demonstrates the possibilities of this method for the digital characterization of weed populations.

Keywords: photogrammetry, phenotyping, 3D models.

Detección temprana de malas hierbas dentro y fuera de la línea de cultivo mediante imágenes-UAV y modelos 3D

Jorge Torres-Sánchez^{1✉}, Francisca López-Granados¹, Ana Isabel de Castro¹,
Francisco M. Jiménez-Brenes¹, José Manuel Peña¹

¹Grupo imaPing, Instituto de Agricultura Sostenible, 14004-Córdoba
✉jtorres@ias.csic.es / www.ias.csic.es/imaping

Resumen: Se ha desarrollado una metodología automática para la detección temprana de malas hierbas dentro y fuera de la línea de cultivo en fase temprana usando como variable discriminante la altura de las plantas (cultivo y malas hierbas), calculada mediante técnicas fotogramétricas. Se utilizó un UAV equipado con una cámara modificada para captar información en las bandas del Rojo, Verde e Infrarrojo Cercano. Se tomaron imágenes sobre una parcela de girasol infestada por diferentes especies de malas hierbas en fase temprana. Las imágenes fueron procesadas para generar una ortoimagen y un modelo tridimensional del cultivo y malas hierbas para su posterior análisis usando métodos orientados a objetos y el clasificador Random Forest. Se comparó la infestación de malas hierbas detectada con la realmente existente en el campo en una serie de marcos de referencia, obteniéndose un coeficiente de determinación de 0,91 entre ambas variables.

Palabras clave: vehículo aéreo no tripulado, OBIA, Random Forest, manejo localizado, agricultura de precisión, girasol.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años ha quedado demostrada la idoneidad de las imágenes procedentes de vehículos aéreos no tripulados (UAVs, por las siglas en inglés de Unmanned Aerial Vehicle) para la detección tanto de especies invasoras como de malas hierbas en cultivos (Hung et al., 2014; López-Granados et al., 2016, ver más publicaciones en www.ias.csic.es/imaping), siendo esto posible incluso en circunstancias complejas como las que se producen en la fase de plántula, en que el cultivo y las malas hierbas son difíciles de discriminar debido a su similitud espectral. La aplicabilidad de la tecnología UAV a la detección de malas hierbas en fase temprana se debe principalmente a tres factores: 1) las imágenes pueden ser tomadas con el UAV en el momento agronómico que interesa, lo que permite adaptarse muy bien a las condiciones del cultivo; 2) los ortomosaicos derivados de las imágenes-UAV tienen una alta resolución espacial (ej.: < 5cm píxel) debido a que se puede volar a baja altura, haciendo posible la detección de las plantas incluso en sus fases más tempranas de crecimiento; y 3) el desarrollo de técnicas de análisis de imagen orientado a objetos (OBIA, por las siglas en inglés de *Object Based Image Analysis*) que mediante la agrupación de píxeles en «objetos» posibilitan: a) un adecuado manejo de la elevada cantidad de información presente en las imágenes de alta resolución espacial, y b) una mayor precisión en las clasificaciones que la obtenida usando el análisis basado en píxeles (Blaschke, 2010).

La utilización de cámaras fotográficas a bordo de los UAVs permite, además de tomar imágenes de muy alta resolución espacial, la generación de modelos digitales de superficie (MDS) mediante la utilización de técnicas de fotogrametría y visión artificial. Estos MDS representan la superficie sobrevolada en tres dimensiones, haciendo posible el cálculo de alturas tanto de cultivos leñosos (Torres-Sánchez et al., 2015) como herbáceos (Geipel et al., 2014).

Hasta ahora la aplicación de técnicas OBIA a imágenes tomadas con UAV había permitido la detección automática de las malas hierbas presentes *entre* las líneas de cultivo, al asumirse que toda vegetación creciendo fuera de la línea de cultivo era mala hierba. Sin embargo, para detectar las plantas no deseadas creciendo *dentro* de la línea de cultivo, se han utilizado técnicas que exigen, aunque sea de forma reducida, la intervención del usuario para entrenar al algoritmo de clasificación (Pérez-Ortiz et al., 2016). Por tanto, el objetivo del presente trabajo ha sido combinar información espectral (ortomosaico) y tridimensional (MDS) para, aplicando técnicas de aprendizaje automático en un entorno OBIA, conseguir la discriminación automática de malas hierbas en fase temprana tanto dentro como fuera de la línea de cultivo. Para ello, se presentan los resultados obtenidos en un cultivo de girasol.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio y vuelo UAV. El ensayo fue realizado en una parcela de girasol situada en una finca privada en el término municipal de Osuna (Sevilla), con una extensión de 2,5 ha. Se tomaron imágenes a 30 m de altura, lo que resultó en un tamaño de píxel de 0,6 cm. En el momento de la adquisición de las imágenes, el girasol estaba en el estado 14-15 de la escala BBCH, y se encontraba infestado de manera natural por diferentes especies de malas hierbas de hoja ancha (*Convolvulus arvensis* L., *Chrozophora tinctoria* (L.) A. Juss., *Polygonum aviculare* L. y *Amaranthus blitoides* S. Wats.) y hoja estrecha (*Phalaris* spp.).

El UAV empleado fue un multirrotor MD4-1000, con capacidad para transportar un sensor de hasta 1,25 kg y una autonomía de vuelo de hasta 45 minutos. Este modelo de despegue y aterrizaje vertical está dotado de un GPS que le permite seguir automáticamente una ruta previamente programada por el piloto. El sistema de manejo del UAV incluye una emisora de radiocontrol, una estación base para recepción de datos de telemetría, así como un paquete de software para diseño de rutas, configuración del vehículo e interpretación de la telemetría. A bordo del UAV se instaló una cámara convencional Sony ILCE-6000, con un sensor de 24 Mp. La cámara, gracias a una modificación de los filtros internos, captura información en las zonas del espectro correspondientes al Rojo, Verde e Infrarrojo cercano (NIR por las siglas en inglés de Near InfraRed). Ello hace que se mejore su capacidad para detectar vegetación, al tener ésta una respuesta muy característica en el NIR. La generación de los ortomosaicos y el MDS (Fig. 1) se almacenaron en formato TIFF mediante Agisoft Photoscan Professional versión 1.2.4.

2.2. Funcionamiento del algoritmo. El algoritmo de análisis de imagen se desarrolló usando Cognition Network Language dentro del entorno del programa eCognition Developer 9.1, lo que permitió combinar el análisis de imagen orientado a objetos con la utilización de un método de aprendizaje automático conocido como Random Forest que está siendo ampliamente utilizado en teledetección (Belgiu and Drăguș, 2016). El funcionamiento del algoritmo se puede dividir en los siguientes pasos:

1. División del campo de cultivo en parcelas. El campo se analiza en pequeñas parcelas de unos 100 m² para tener en cuenta la variabilidad del mismo.
2. Segmentación de una microparcela en objetos y detección de la vegetación, aplicando el método Otsu para calcular el umbral del índice NGDVI (Ec. 1) que separa entre ve-

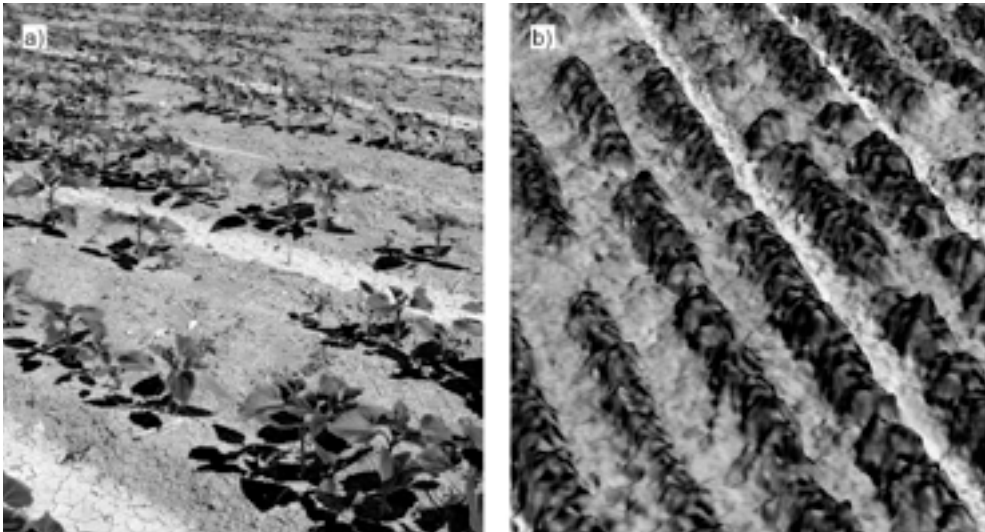


Figura 1. a) Imagen de la parcela de ensayo tomada a pie de campo. b) Vista parcial del modelo digital de superficies (MDS) representando en oscuro las hileras. Se aprecian en la figura los fallos de siembra.

getación y suelo (Otsu, 1979). El método Otsu también se aplica a los valores de brillo de los objetos para discriminar las sombras presentes en la imagen y que pueden causar confusión en la clasificación.

$$NGDVI = \frac{NII - Verde}{NII + Verde} \quad (\text{Ec. 1})$$

3. Cálculo de la altura de los objetos de vegetación (girasol y malas hierbas) con respecto a la altura de los objetos clasificados como suelo.
4. Delineación de las líneas de cultivo mediante una rutina automática que busca la orientación de las mismas buscando el patrón lineal que abarque el mayor número de objetos de vegetación.
5. Una vez que se han ejecutado los pasos 2 y 3 en 10 microparcels, se procede al entrenamiento del clasificador Random Forest, usando como muestras de cultivo los objetos de vegetación dentro de la línea con mayor altura, y como muestras de mala hierba los objetos fuera de la línea con menor altura. Para el entrenamiento del clasificador se usaron los valores de las diferentes bandas de la imagen, así como el índice NGDVI y el brillo.
6. Aplicación de los parámetros calculados por el clasificador Random Forest al resto de objetos de las 10 microparcels estudiadas para discriminar mala hierba, suelo desnudo, cultivo y sombras.
7. Los pasos 2 a 5 se repiten tantas veces como sea necesario hasta completar el análisis de la parcela de cultivo al completo.

2.3. Validación del algoritmo. A fin de evaluar la precisión de la clasificación automática realizada por el algoritmo, se dibujaron sobre la ortoimagen de la parcela una serie de marcos de

referencia de 2×2 m distribuidos de manera regular cada 20 m, obteniéndose un total de 65 marcos. En cada uno de estos marcos se realizó una clasificación manual de la mala hierba presente, comparándose con posterioridad la cantidad de mala hierba clasificada de manera manual con la clasificada de manera automática. Se utilizó el programa JMP 10.0 para calcular el coeficiente de determinación entre ambas variables.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 2 se muestra la comparativa gráfica entre las infestaciones de malas hierbas clasificadas de manera manual y la infestación discriminada de manera automática por el algoritmo presentado en este trabajo. El coeficiente de determinación entre ambas variables fue de 0,91, lo que indica una correlación satisfactoria y una gran capacidad del algoritmo diseñado para discriminar las malas hierbas. Se puede apreciar que se consigue la detección de malas hierbas en todo el rango de cobertura que aparece en los marcos de referencia, sin que haya casos de falsos negativos en los que no se produce la detección y que podrían ocasionar que se dejen de tratar adecuadamente las infestaciones.

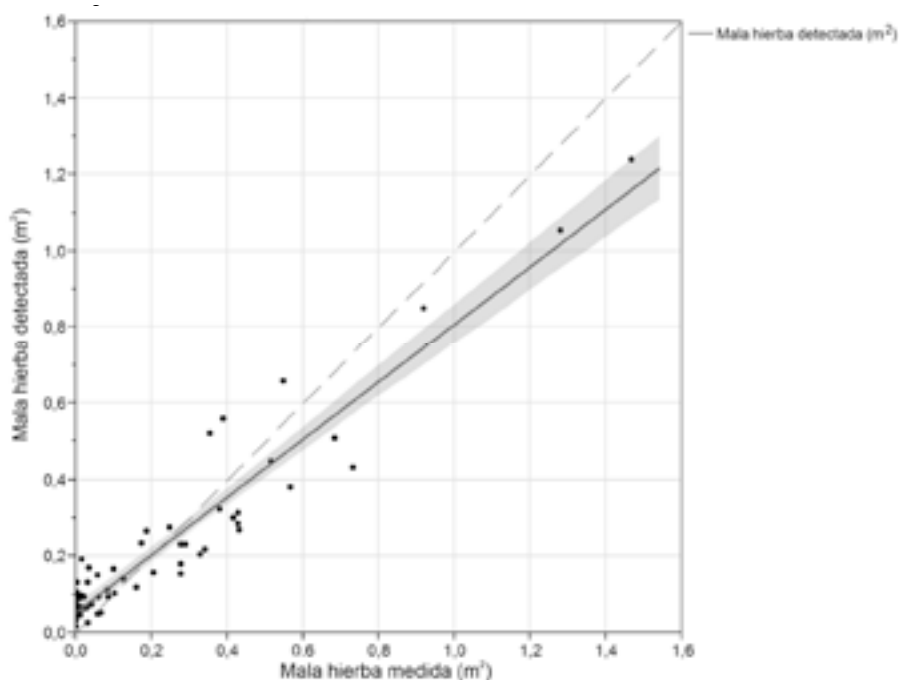


Figura 2. Comparación entre la mala hierba medida y la detectada de manera automática por el algoritmo en cada una de las superficies de referencia. La línea discontinua representa la línea 1:1.

El algoritmo aquí presentado, además de la detección de malas hierbas *entre* las hileras de girasol gracias a la posición de las plantas con respecto a éstas, llega a detectar las malas hierbas que crecen *dentro* de la línea de cultivo (Fig. 3) gracias al uso de técnicas de aprendizaje automático.

Por tanto, con el presente algoritmo se realiza un gran avance en la detección de malas hierbas al permitir una cartografía de las infestaciones dentro y fuera de la línea de cultivo. A partir de estas infestaciones se diseñan los mapas de tratamiento localizado correspondientes para controlar las malas hierbas presentes en el campo independientemente de su localización respecto a la línea de cultivo.

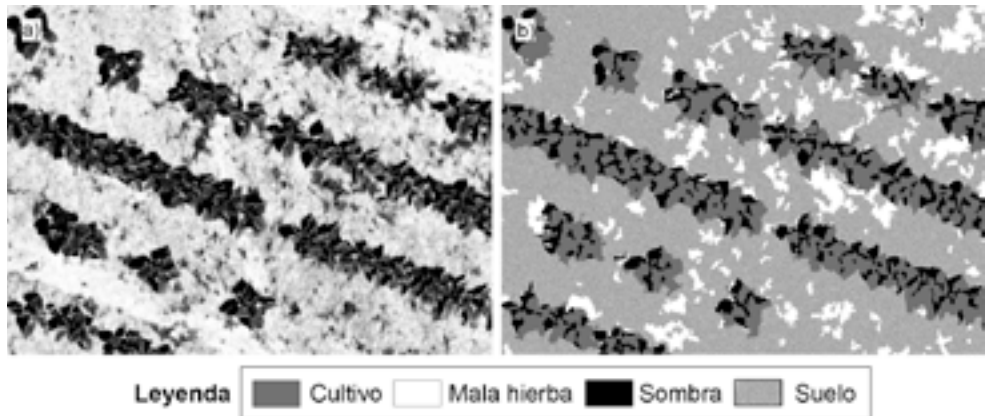


Figura 3. a) Fragmento del ortomosaico mostrando cultivo y malas hierbas; b) comparado con la imagen clasificada por el algoritmo de manera automática.

4. CONCLUSIONES

Se ha demostrado la eficacia del algoritmo desarrollado para la discriminación automática de malas hierbas en fase temprana en un cultivo de girasol, haciendo uso de procedimientos de análisis OBIA y del método Random Forest de aprendizaje automático. El algoritmo diseñado no necesita de intervención alguna del usuario y permite discriminar las malas hierbas *dentro y fuera* de la línea de cultivo con una gran precisión.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Ovidiu Csillik (Universidad de Salzburgo, Austria) sus aportaciones en la discusión del análisis de las imágenes. Este trabajo fue financiado por el proyecto AGL2014-52465-C4-4-R MINECO-FEDER. La investigación de Jorge Torres Sánchez, Ana Isabel de Castro Megías y José Manuel Peña Barragán fue financiada por los programas FPI, Juan de la Cierva, y Ramón y Cajal, respectivamente. La estancia de Jorge Torres Sánchez en la Universidad de Salzburgo fue financiada por el programa FPI.

6. REFERENCIAS

Belgiu M. & Drăguț L. (2016). Random forest in remote sensing: A review of applications and future directions. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 114, 24-31.

- Blaschke T (2010). Object based image analysis for remote sensing. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 65(1), 2-16.
- Geipel J, Link J and Claupein W (2014). Combined Spectral and Spatial Modeling of Corn Yield Based on Aerial Images and Crop Surface Models Acquired with an Unmanned Aircraft System. *Remote Sensing*, 6(11), 10335-10355.
- Hung C, Xu, Z and Sukkarieh S (2014). Feature Learning Based Approach for Weed Classification Using High Resolution Aerial Images from a Digital Camera Mounted on a UAV. *Remote Sensing*, 6(12), 12037-12054.
- López-Granados F, Torres-Sánchez J, Castro A-I D, Serrano-Pérez A, Mesas-Carrascosa F-J and Peña J-M (2016). Object-based early monitoring of a grass weed in a grass crop using high resolution UAV imagery. *Agronomy for Sustainable Development*, 36(4), 67.
- Otsu N (1979). A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. *IEE Transactions on systems, man, and cybernetics*, 9(1), 62-66.
- Pérez-Ortiz M, Peña JM., Gutiérrez PA, Torres-Sánchez J, Hervás-Martínez, C and López-Granados F (2016). Selecting patterns and features for between- and within- crop-row weed mapping using UAV-imagery. *Expert Systems with Applications*, 47, 85-94.
- Torres-Sánchez J, López-Granados F, Serrano N, Arquero O & Peña JM (2015). High-Throughput 3-D Monitoring of Agricultural-Tree Plantations with Unmanned Aerial Vehicle (UAV) Technology. *PLoS ONE*, 10(6), e0130479.

Early weed detection between and within the crop row using UAV images and 3D models

Summary: An automatic methodology for early season weed detection between and within the crop rows has been developed, where the main innovation was the use of plant height as discriminant feature. An UAV equipped with a conventional camera modified for R (red), G (green) and NIR (near infrared) acquisition was used for taken images over a sunflower plot infested with different weed species in early season. The images were processed to generate an orthomosaic and a digital surface model (DSM) representing both the crop and weeds, and they were analyzed using object based image analysis (OBIA) and Random Forest classifier. Automatically detected weed cover was compared with the real weed cover in the field in a number of reference frames, and the determination coefficient between both variables was 0.91.

Keywords: unmanned aerial vehicle, OBIA, Random Forest, site-specific weed management, precision agriculture, sunflower.

Generación de mapas de malas hierbas en viñedos con cubierta vegetal utilizando una cámara SLR

Karla Cantuña^{1,2}, Dionisio Andújar^{1,3}, Jordi Recasens⁴, Francisco Valencia⁴, José María Bengochea-Guevara¹ y Ángela Ribeiro¹✉

¹Grupo de Percepción Artificial. Centro de Automática y Robótica (CSIC-UPM), 28500-Madrid

²Departamento de Ingeniería Informática y Sistemas Computacionales, Universidad Técnica de Cotopaxi, 050101-Latacunga, Ecuador

³Grupo de Ecología de Malas Hierbas. Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), 28006-Madrid.

⁴Grupo de Malherbología y Ecología Vegetal, ETSEA-Agrotecnio. Universitat de Lleida, 25198-Lleida

✉ angela.ribeiro@csic.es

Resumen: En los tratamientos selectivos en agricultura de precisión es necesario conocer la ubicación precisa de los rodales de malas hierbas. Este artículo describe la generación de mapas de malas hierbas combinando las imágenes adquiridas en condiciones reales de campo con iluminación no controlada con una cámara réflex de lente única (SLR), integrada en un vehículo eléctrico que se mueve a 3 km/h, y la información de ubicación para cada fotografía suministrada por un receptor RTK-GNSS. Las imágenes se combinan en una ortofoto en la que se discriminan las zonas de mala hierba con una técnica de segmentación basada en índices de color. El mejor método de segmentación se determinó comparando 10 estrategias bien conocidas. El análisis comparativo estableció que las técnicas más adecuadas son las basadas en los índices: COM1 (53,01%), EXGR (52,08%) y CIVE (50,52%), no existiendo diferencias significativas entre ellas.

Palabras clave: agricultura de precisión, ortofoto, segmentación de mala hierba, test de Newman-Keuls, índice de Jaccard.

1. INTRODUCCIÓN

Los mapas de cobertura vegetal se construyen utilizando sistemas de posicionamiento global (GPS) que proveen datos de localización (Borgelt, Harrison, Sudduth and Birrell, 1996) junto con información suministrada por cámaras visibles (López-Granados et al., 2016) o cámaras multiespectrales (Peña, Torres-Sánchez, Castro, Kelly and López-Granados, 2013) embarcadas en vehículos aéreos no tripulados (UAV, por sus siglas en inglés) o en vehículos terrestres de pequeña o mediana envergadura (Bengochea-Guevara, Andújar, Conesa-Muñoz, Cantuña and Ribeiro, 2016). Las imágenes adquiridas desde plataformas terrestres pueden presentar alta resolución espacial, del orden de milímetros por píxel, y es posible obtener información tridimensional (3D) de la zona inspeccionada con una sola cámara aplicando técnicas de fotogrametría siempre que exista solapamiento entre las imágenes (Piermattei, Karel, Vettore and Pfeifer, 2016).

Este artículo describe la generación de mapas de malas hierbas en viñedos con cubierta vegetal a partir de imágenes capturadas con una cámara réflex de lente única (acrónimo en inglés SLR) embarcada en un vehículo y combinada con información de localización proporcionada por un sistema global de navegación por satélite de alta precisión y tiempo real (acrónimo en inglés RTK-GNSS).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en los viñedos propiedad de Codorníu S.A. (Raimat, Lleida). Las imágenes se tomaron el 5 de julio de 2016 en 8 calles de la parcela 30, donde se habían sembrado, el otoño anterior, distintas cubiertas vegetales a base de gramíneas y leguminosas anuales. Cada calle

tiene una anchura de 2,40 m. y mostraban, en esa fecha, una infestación por parte de distintas malas hierbas, principalmente grama (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.). En esa fecha, la grama y otras hierbas mostraban plenitud vegetativa y una coloración contrastada con la cubierta vegetal ya segada y seca.

La cámara (EOS 7D, Canon) iba anclada a una estructura integrada en un vehículo eléctrico (Twizy, Renault) que también incluye un computador y un receptor RTK-GNSS (R220, Hemisphere) capaz de suministrar 20 localizaciones por segundo con un error inferior a 2 cm (Fig. 1). Como la frecuencia de captura de imágenes es de 2 fotogramas por segundo, durante el muestreo la velocidad del vehículo se mantuvo alrededor de los 3Km/h (aproximadamente 0,83 m/s) para garantizar un solape mínimo de un 60% entre imágenes consecutivas.



Figura 1. Plataforma autónoma terrestre.

Se tomaron un total de 1664 imágenes de color (modelo de color *red, green* y *blue* o RGB) de 2592 x 1728 píxeles, aproximadamente 200 imágenes por calle, georreferenciadas en coordenadas proyectadas UTM, datum WGS84. De este conjunto se seleccionó aleatoriamente una muestra de 313 imágenes. Para determinar el tamaño de la muestra se aplicó al conjunto total de imágenes dividido en 8 estratos (calle) un muestreo estratificado con afijación proporcional sin reposición con un margen de error del 2,5% y un nivel de confianza del 95% (Pérez-López, 2005).

Para cada una de las imágenes de la muestra se construyó manualmente la verdad terreno siguiendo los pasos que se ilustran en la figura 2, obteniéndose imágenes en blanco y negro que representan la mala hierba en píxeles blancos y el resto (suelo, residuos, etc.) en píxeles negros.



Figura 2. Elaboración de la imagen verdad-terreno utilizando Photoshop CS6: 2a) imagen original; 2b) delimitación manual de la zona de interés; 2c) conversión a blanco y negro.

Por otra parte, para generar el mapa se empleó un software comercial (Agisoft, PhotoScan), construyendo la ortofoto de cada calle de viñedo a partir de todas las imágenes tomadas en la calle (Wolf, Dewitt and Wilkinson, 2014). El proceso tiene 4 fases: 1) Alineación de la cámara localizando puntos comunes en imágenes consecutivas (similitudes en color, textura, forma, etc.) para estimar el movimiento de la cámara entre dos imágenes (Fig. 3a). 2) Generación de una nube de puntos a partir de las posiciones estimadas de la cámara (Fig. 3b). 3) Construcción de una malla poligonal 3D con la nube de puntos que representa la superficie de la cubierta de la calle (Fig. 3c). 4) Obtención de la ortofoto (Fig. 3d) con la malla y un proceso de ortorectificación que elimina el desplazamiento debido a la perspectiva de las imágenes. La ortofoto contiene además información geográfica como la resolución/tamaño del píxel en x e y, rotación en x e y, y el origen de coordenadas.

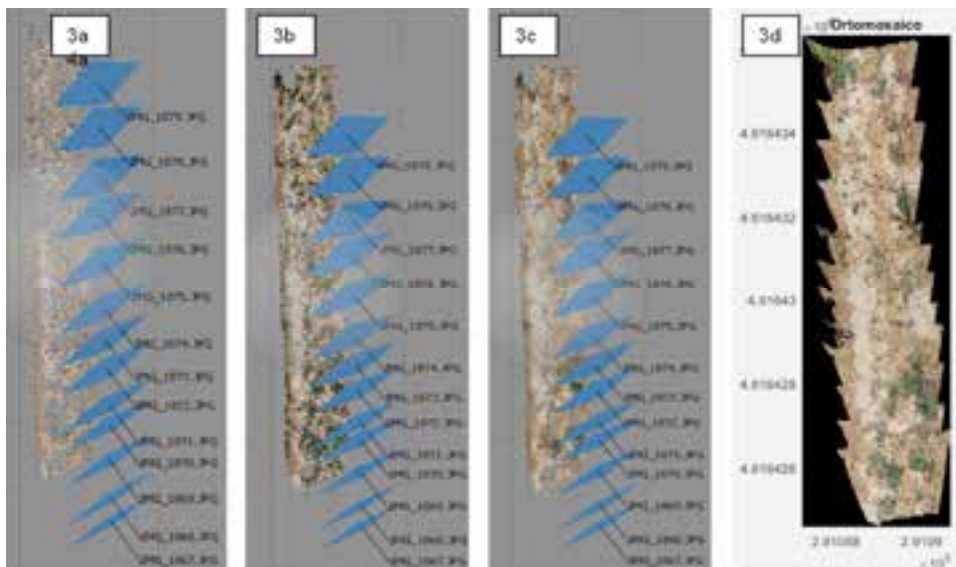


Figura 3. Etapas de construcción del ortomosaico: 3a) puntos de coincidencia y posiciones de la cámara; 3b) nube de puntos; 3c) malla poligonal; 3d) ortomosaico.

El siguiente paso (segmentación) es la discriminación en la ortofoto entre los píxeles asociados a zonas de malas hierbas (en este caso de color verde coincidente con su estado vegetativo) y el resto (de color amarillo correspondiente a suelo y restos de la cubierta). La mejor segmentación se seleccionó de un conjunto de 10 estrategias basadas en el índice de color, muy utilizadas y descritas en (Guijarro, Pajares, Riomoros, Herrera, Burgos-Artizzu and Ribeiro, 2011): 1) índice de diferencia normalizada (NDI), 2) índice exceso de verde (ExG), 3) índice exceso de rojo (ExR), 4) índice de color de extracción de la vegetación (CIVE), 5) índice exceso de verde menos exceso de rojo (ExGR), 6) índice invariante a la sombra o vegetativo (VEG), 7) índice de diferencia normalizada verde menos rojo (NGRDI), 8) índice combinado 1 (COM1), 9) índice de exceso de verde modificado (MExG), y 10) índice combinado 2 (COM2). Se comparó el funcionamiento de los distintos métodos de segmentación para 313 imágenes de la muestra y en cada caso, teniendo en cuenta la

imagen verdad-terreno, se calculó el índice binario de similitud de Jaccard (Jaccard, 1908) según la ecuación (1), donde Vp es el número de píxeles que coinciden en blanco en la imagen segmentada y la imagen verdad-terreno, Fp es el número de píxeles blancos en la imagen segmentada que son negros en la imagen verdad-terreno y Fn es el número de píxeles negros en la imagen segmentada que son blancos en la imagen verdad-terreno. El índice de Jaccard toma valores entre cero (no existe similitud entre las imágenes) y uno (máxima similitud, las imágenes son iguales).

$$Jaccard = 100 * \frac{Vp}{Vp + Fn + Fp} \quad (1)$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mejor técnica de segmentación se obtuvo de un análisis de varianza (ANOVA). En primer lugar, se identificaron distintos elementos: i) Variable respuesta: porcentaje de similitud de Jaccard obtenido por las técnicas de segmentación, ii) Factor: técnicas de segmentación, con diez niveles para los índices basados en el color considerados, iii) Técnica: cada una de las técnicas de segmentación, iv) Unidades experimentales: cada una de las imágenes seleccionadas aleatoriamente (muestra), en total 313 imágenes y, finalmente, v) Bloques: ocho calles muestreadas del viñedo compuestas por n_b imágenes, es decir, 42, 35, 40, 37, 45, 38, 41 y 35 unidades experimentales, respectivamente. Un valor alto de la media y una desviación estándar baja determinan un rendimiento elevado de la estrategia de segmentación (Meyer and Neto, 2008). Los datos de la tabla 1 se obtuvieron aplicando el análisis de la varianza (ANOVA) utilizando el programa estadístico SPSS de IBM.

Tabla 1. Análisis de la varianza para las técnicas de segmentación consideradas

Fuente	Suma de cuadrados (tipo I)	gl	Cuadrados Medios	F	p-valor
Modelo corregido	460384,76a	79	5827,66	16,42	0,000
Intersección	5376826,05	1	5376826,05	15148,17	0,000
Técnica	245668,14	9	27296,46	76,90	0,000
Calle	179266,25	7	25609,46	72,15	0,000
Técnica * Calle	35450,37	63	562,70	1,59	0,002
Error	1082594,19	3050	354,95		
Total	6919805,01	3130			
Total corregida	1542978,95	3129			

a. R cuadrado = 0,298 (R cuadrado corregida = 0,280).

Se observa que las calles de viñedo influyen en los resultados de segmentación y, por tanto, en los porcentajes de similitud del índice de Jaccard, ya que el valor del cociente de los cuadrados medios de Calle y Error es mayor que la unidad ($F = 72,15$) y p -valor es menor de 0,05. Del mismo modo, a partir de los valores de la tabla se puede concluir que las distintas técnicas de segmentación analizadas tienen distinto comportamiento, ya que el valor del cociente de los cuadrados medios de Técnica y Error es mayor que la unidad ($F = 76,90$) con p -valor = 0,000.

Las mejores estrategias de segmentación se obtienen empleando el test de comparación múltiple Newman-Keuls con un nivel del 5%, similar al usado en la tabla ANOVA. Como resultado, las técnicas de segmentación más adecuadas son: COM1 (53,01%), EXGR (52,08%) y CIVE (50,52%) con un p -valor = 0,22, que indica que las medias no difieren significativamente entre sí.

Finalmente, las técnicas de segmentación elegidas se aplican sobre la ortofoto. La figura 4 muestra de izquierda a derecha la ortofoto de parte de una de las calles muestreadas y el mapa de distribución de malas hierbas obtenido.

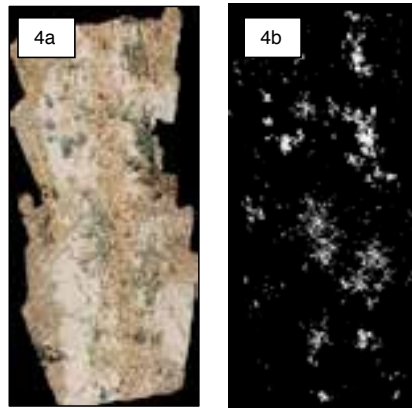


Figura 4. De izquierda a derecha, ortomosaico en Agisoft y resultado de la segmentación con el índice CIVE de la imagen 4a.

4. CONCLUSIONES

Este artículo presenta una tecnología de inspección que permite la generación de mapas de distribución de mala hierba en viñedos con cubierta vegetal. La inspección parte de la adquisición automática de un conjunto de imágenes de la cubierta utilizando una cámara réflex de lente única (SLR) embarcada en un vehículo terrestre eléctrico que se desplaza con una velocidad aproximada de 3 km/h. Del trabajo desarrollado se desprende que, con el equipo utilizado, es posible construir una ortofoto precisa de la cubierta con una resolución de alrededor de 0,9 mm por píxel siempre que las imágenes consecutivas presenten un solapamiento superior al 60%. El mapa de infestaciones, en el que aparecen en blanco los píxeles asociados a zonas de malas hierbas y en negro los asociados al resto de la cubierta, puede obtenerse aplicando una técnica adecuada de segmentación a la ortofoto. De los 10 métodos de segmentación basados en índices de color considerados destacan en análisis de varianza (ANOVA) los métodos basados en los índices COM1 (53,01%), EXGR (52,08%), CIVE (50,52%), presentando el mejor porcentaje promedio de similitud entre la imagen segmentada y la imagen verdad-terreno. Además, no aparecen diferencias significativas de funcionamiento entre los tres métodos por lo que se concluye que un método de segmentación basado en cualquiera de los índices COM1, EXGR y CIVE es apropiado para discriminar las zonas de malas hierbas, en este caso de color verde coincidente con su estado vegetativo.

5. AGRADECIMIENTOS

Investigación en el marco de los proyectos AGL2014-52465-C4-2-R y AGL2014-52465-C4-3-R. Karla Cantuña agradece la comisión de servicios con remuneración otorgada por la Universidad Técnica de Cotopaxi (Ecuador). Agradecemos a Codorniu SA las facilidades mostradas para el desarrollo de este trabajo en la finca de Raimat.

6. REFERENCIAS

- Bengochea-Guevara JM, Andújar D, Conesa-Muñoz J, Cantuña K and Ribeiro Á (2016). A medium size field inspection vehicle, 1-7.
- Borgelt SC, Harrison JD, Sudduth KA and Birrell SJ (1996). Evaluation of GPS for Applications in Precision Agriculture. *Applied Engineering in Agriculture*, 12(6), 633-638.
- Guijarro, M, Pajares G, Riomoros I, Herrera PJ, Burgos-Artizzu X. P and Ribeiro A (2011). Automatic segmentation of relevant textures in agricultural images. *Computers and Electronics in Agriculture*, 75(1), 75-83.
- López-Granados F, Torres-Sánchez J, Serrano-Pérez A, de Castro AI, Mesas-Carrascosa F-J and Peña J-M (2016). Early season weed mapping in sunflower using UAV technology: variability of herbicide treatment maps against weed thresholds. *Precision Agriculture*, 17(2), 183-199.
- Meyer GE and Neto JC (2008). Verification of color vegetation indices for automated crop imaging applications. *Computers and Electronics in Agriculture*, 63(2), 282-293.
- Peña JM, Torres-Sánchez J, Castro AI, Kelly M and López-Granados F (2013). Weed Mapping in Early-Season Maize Fields Using Object-Based Analysis of Unmanned Aerial Vehicle (UAV) Images. *PLoS ONE*, 8(10), e77151.
- Pérez-López C (2005). Muestreo estadístico. Conceptos y problemas resueltos. Madrid: Editorial Pearson Prentice Hall.
- Piermattei L, Karel W, Vettore A and Pfeifer N (2016). Panorama image sets for terrestrial photogrammetric surveys, III(July), 12-19.
- Wolf PR and Dewitt BA (2000). Elements of photogrammetry: with applications in GIS (Vol. 3). New York: McGraw-Hill.

Weed map generation in vineyards with cover crop using a SLR camera

Summary: Selective treatments in precision agriculture require of a precise location of the weed patches. This article describes the generation of weed maps by combining the images acquired under actual field conditions with uncontrolled illumination with a Single Lens Reflex (SLR) camera, integrated into an electric vehicle moving at around 3 km/h, and the position information of each photo, provided by a RTK-GNSS receptor. The images are combined in an orthophoto for afterwards discriminating weed by a segmentation technique based on a color index. The best segmentation method was determined by comparing 10 well-known strategies. The comparative analysis established that the most appropriate techniques are those based on index COM1 (53.01%), EXGR (52.08%) or CIVE (50.52%), and there are no significant differences between them.

Keywords: precision agriculture, orthophoto, weed segmentation, Newman-Keuls test, Jaccard index.

Optimización de la cartografía de malas hierbas mediante técnicas geoestadísticas y teledetección con UAV

Montserrat Jurado Expósito¹✉, Ana Isabel de Castro¹, Jorge Torres-Sánchez¹,
Francisco M. Jiménez-Brenes¹, Francisca López-Granados¹

¹Instituto de Agricultura Sostenible (IAS-CSIC), Avda. Menéndez Pidal s/n, 14004-Córdoba
✉ montse.jurado@ias.csic.es

Resumen: Se evalúa una metodología para la cartografía de malas hierbas en época tardía del cultivo combinando datos espaciales georreferenciados (variable primaria) con información espectral (variables secundarias). Como variable 1^a se ha estudiado *Papaver rhoeas* L. en trigo y como variables 2^{as}: las bandas Rojo, Verde, Azul y NIR (Near-InfraRed) de imágenes UAV (Unmanned Aerial Vehicles) tomadas en campo el día del muestreo. Se comparan dos tipos de estimadores: krigeado ordinario (análisis de la variable 1^a) y cokrigeado (análisis incorporando variables 2^{as}). La comparación de la precisión de los mapas de infestación obtenidos se ha realizado en base a la incertidumbre de las estimas. Los resultados muestran que la incorporación de variables secundarias espectrales al proceso de interpolación geoestadística mejora la estimación de la variable 1^a, especialmente cuando se incluye en el análisis la banda Verde.

Palabras clave: agricultura de precisión, cokrigeado, krigeado, variogramas.

1. INTRODUCCIÓN

La mejora de la gestión de la producción de cultivos mediante técnicas de Agricultura de Precisión (AP) requiere una evaluación precisa de la variabilidad espacial de aquellos factores que influyen en la producción, especialmente las malas hierbas, a resoluciones espaciales cada vez más elevadas. Esta información precisa de la distribución espacial de malas hierbas en campo es esencial para reducir el uso de herbicidas mediante el diseño de tratamientos localizados. Para desarrollar estrategias efectivas de tratamientos localizados se requieren cartografías de malas hierbas de alta precisión, elaboradas con métodos robustos de adquisición de datos y procedimientos de análisis que integren conocimientos de densidad y variabilidad espacial de las infestaciones, y que sean económicamente rentables. Asumiendo que los rodales de las malas hierbas tienden a ser relativamente persistentes en el espacio y en el tiempo (Barroso et al., 2004; Heijting, 2007), se pueden cartografiar las infestaciones en estados de crecimiento tardíos que facilitan su discriminación y el diseño de mapas de tratamientos para aplicar en post-emergencia tardía el mismo año o en años sucesivos.

La geoestadística y sus principales herramientas, semivariogramas y krigeados, han mostrado ser muy útiles para el estudio de distribución espacial de variables agronómicas mediante muestreos georreferenciados en campo. Son numerosos los trabajos de cartografía de malas hierbas en fase avanzada del cultivo en girasol, cereales, etc. utilizando estimadores univariantes tipo Krigeado (Jurado-Expósito et al., 2003, 2004; Izquierdo et al., 2009; Barroso et al., 2004). Se ha realizado también algunos estudios en el que se complementa la variable primaria (1^a) con información secundaria (2^a) correlacionada con la variable 1^a para incrementar la precisión de las estimas, así Jurado-Expósito et al. (2009) incluyeron como información secundaria en el análisis de la variable 1^a el modelo digital de elevaciones.

Las malas hierbas pueden ser discriminadas y cartografiadas mediante técnicas de teledetección utilizando imágenes procedentes de sensores remotos. Así, se han realizado cartografías

de *Avena sterilis*, *Phalaris brachystachys*, *Lolium rigidum* en trigo (López-Granados et al., 2006); *Ridolfia segetum* en girasol (Peña-Barragán et al., 2007); crucíferas en trigo y leguminosas (De Castro et al., 2012, 2013) en fase avanzada de los cultivos con técnicas de teledetección. La reciente disponibilidad de imágenes de alta resolución espacial procedentes de vehículos aéreos no tripulados (UAV) abre nuevas oportunidades en malherbología, especialmente para aplicaciones que requieren información detallada, como la cartografía de rodales de malas hierbas y el diseño de tratamientos localizados. Las imágenes UAV han sido probadas con éxito en la discriminación entre plántulas de malas hierbas y cultivo y para la cartografía de malas hierbas en fase temprana del cultivo (Torres-Sánchez et al., 2014).

El uso combinado de información espectral de imágenes-UAV e información georreferenciada en campo mediante algoritmos geoestadísticos multivariantes podría aumentar la precisión de las estimas de la variable 1^a. La combinación de teledetección-UAV y geoestadística puede ofrecer un medio rápido y económico de obtener información espacial precisa de infestaciones de malas hierbas para una determinada parcela o finca y aumentar la precisión de los mapas de infestación y, por tanto, la de los mapas de tratamiento localizados diseñados a partir de ellos. El potencial de esta metodología combinada para cartografiar malas hierbas en fase tardía del cultivo no ha sido aún evaluado.

El objetivo del trabajo fue desarrollar una metodología para optimizar la cartografía de malas hierbas en época tardía del cultivo combinando datos georreferenciados en campo con información espectral de imágenes UAV. El trabajo se desarrolló con los objetivos específicos: 1) estudiar la variabilidad espacial de *Papaver rhoeas* L. en trigo, 2) incorporar información 2^a espectral en los análisis geoestadísticos y 3) comparar la precisión de los mapas de infestación obtenidos con los distintos métodos y estimadores.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio y toma de datos de *P. rhoeas*. Los estudios se realizaron en un área de 0,5 ha en un campo de trigo (Baldomar) localizado en Lleida (coordenadas centrales 41° 54.59' 82" N, 1° 1' 14.57" E). Los datos de densidad de *P. rhoeas* (variable primaria) se tomaron a mediados del mes de mayo, cuando el trigo estaba en inicio de maduración (color verde-amarillo) y la mala hierba en estado de floración (color rojo oscuro). El muestreo se realizó siguiendo una malla de 10x10 m, georreferenciándose con DGPS un total de 50 puntos. En cada punto de la malla se contó el número de *P. rhoeas* en una cuadrícula de 1 m.

2.2. Adquisición y preprocesamiento de imágenes UAV. Las imágenes UAV se tomaron el mismo día del muestreo en campo. El UAV empleado fue un multirrotor MD4-1000, con capacidad para llevar acoplado un sensor de hasta 1,25 kg y una autonomía de vuelo de 45 min. A bordo del UAV se instalaron por separado dos sensores para sendas evaluaciones, una cámara convencional Olympus PEN E-PM1 y una cámara convencional modificada Sony ILCE-6000. La cámara Olympus tiene un sensor de 12 megapíxeles y registra imágenes en rango visible (canales rojo, verde y azul). La cámara Sony ILCE-6000 tiene un sensor de 24 megapíxeles, y fue modificada para adquirir información en el rango infrarrojo mediante la eliminación del filtro infrarrojo de la cámara y la instalación de un filtro amarillo, lo que posibilita que la cámara tome información en el rojo, verde e infrarrojo. El UAV fue programado para volar a 40 m de altura con un solape transversal del 60% y longitudinal del 90%, lo que permitió la generación de ortomosaicos de calidad (Torres-Sánchez et al., 2013).

2.3. Obtención de las variables secundarias. Para la extracción de los datos espectrales de las imágenes UAV (variables 2^{ias}) se utilizó el software ENVI 5.0. Sobre las ortoimágenes mosaicadas multiespectrales se localizaron los puntos GPS tomados en campo y se extrajeron los valores digitales de cada clase (*P. rhoeas* y trigo) en cada banda (R: Rojo, V: verde, A: azul y NIR: Near-InfraRed).

2.4. Análisis geoestadísticos. Se llevaron a cabo dos tipos de análisis: a) Análisis de la variable 1^{ia}: datos georreferenciados de *P. rhoeas*, variable objeto de estudio y conocida solo en los puntos de muestreo en campo y b) Análisis con variables 2^{ias}: incluyen en el análisis de la variable 1^{ia} la información espectral de imágenes-UAV. El análisis exploratorio inicial de los datos de *P. rhoeas* puso de manifiesto una distribución sesgada, para satisfacer la condición de normalidad requerida en los estudios geoestadísticos se transformaron los datos antes de realizar los análisis. Se usó la transformación logarítmica [$\ln(\text{papaver}+1)$] que proporcionó una asimetría que satisface la condición de normalidad.

2.4.1. Análisis de la variable primaria. La estructura espacial de la variable 1^{ia} se caracterizó mediante la definición de los semivariogramas experimentales y su ajuste a modelos teóricos esféricos, exponenciales y gaussianos. Se calcularon sus parámetros (pepita, rango y meseta), y se determinó el grado de dependencia espacial de *P. rhoeas* en campo. La selección del mejor modelo de semivariograma se llevó a cabo mediante validación cruzada, calculándose los estadísticos de validación (media y varianza del error, error cuadrático medio y error cuadrático medio estandarizado). Los modelos que cumplieron los criterios de validación se usaron para la estimación espacial con Krigado Ordinario (KO). Se elaboraron mapas de infestación tardía (floración) de *P. rhoeas*, cartografiando la distribución de los rodales. Estos mapas de infestación son los que servirán de base para diseñar los mapas de tratamientos localizados para aplicar en post-emergencia tardía o en la siguiente campaña.

2.4.2. Análisis espacial con variables secundarias. Para optimizar la cartografía de *P. rhoeas* en época tardía obtenida con el análisis univariante se realizaron análisis geoestadísticos con un estimador multivariante que incorpora diferentes variables 2^{ias} en el proceso de interpolación de la variable 1^{ia}. Se evaluó el estimador cokrigado (CoKg), que es una extensión del KO que tiene en cuenta la correlación espacial cruzada entre dos variables: variable 1^{ia} (*P. rhoeas*) y otra variable 2^{ia} (datos espectrales imágenes-UAV). Ambas variables tienen un semivariograma cruzado que proporciona información sobre la estructura de la variabilidad espacial y ayuda a definir el tamaño y la forma del vecindario para la posterior interpolación.

Las cuatro bandas espectrales (R; V; A y NIR) de las imágenes UAV se incluyeron en los análisis como variables 2^{ias}. Para la estimación con CoKg se definieron los semivariogramas experimentales de la variable 1^{ia}, de cada variable 2^{ia} y el semivariograma cruzado entre *P. rhoeas* y cada una de las bandas espectrales. Los tres tipos de semivariogramas experimentales se ajustaron a modelos teóricos. Los semivariogramas cruzados mejor ajustados al modelo según los estadísticos de validación cruzada, se utilizaron para la interpolación espacial mediante cokrigado ordinario (CokgO) y elaborar los mapas de infestación de *P. rhoeas*. Todos los análisis geoestadísticos y la cartografía de *P. rhoeas* se realizaron con el software ArcGis 10.1 (módulo Geostatistical Analyst).

2.5. Comparación de la precisión de los mapas. Para analizar el potencial de la metodología combinada y determinar qué método de interpolación presenta mayor precisión se utilizaron los estadísticos de validación, principalmente el ECM, obtenidos con los estimadores KO y CoKgO para cada una de las variables 2^{ias} consideradas.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis de la variable primaria. La estructura espacial de *P. rhoeas* en trigo se caracterizó mediante un semivariograma exponencial sin pepita (Fig. 1a) y con un rango de 30,75 m (Tabla 1). El análisis de los parámetros del semivariograma puso de manifiesto una distribución espacial en agregados o rodales fuerte.

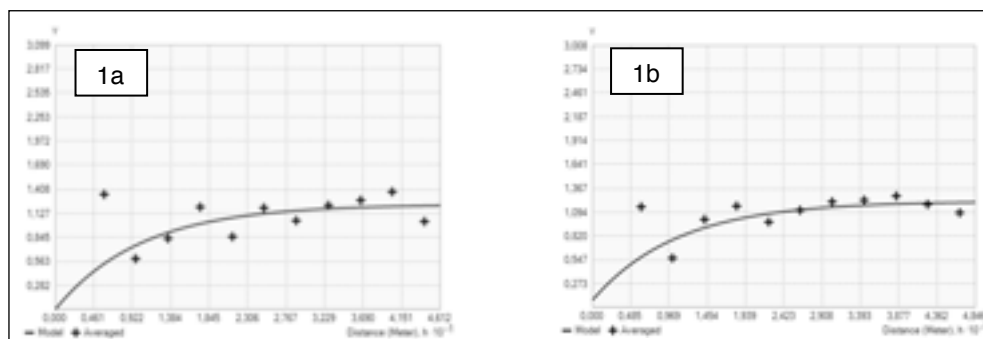


Figura 1. 1a) Semivariograma experimental (+) y modelizado (o) de *P. rhoeas*; 1b) Semivariograma cruzado experimental (+) y modelizado (o) de *P. rhoeas* y Banda V.

Los mapas de infestación obtenidos de la interpolación espacial de la densidad de *P. rhoeas* en puntos no muestreados mediante KO se presentan en la (Fig. 2a).

Tabla 1. Características de la distribución espacial de *P. rhoeas*: modelos y parámetros de semivariogramas correspondientes al análisis univariante (KO) y multivariante (CoKgO)

V. 1 ^{ia}	V. 2 ^{ia} Banda	Modelo	Pepita	Rango (m)	Meseta	Ratio Pepita/ meseta (%)	Distribución en agregados
KgO							
Papaver	--	Exponencial	0,000	30,749	1,232	0,000	Fuerte
CoKgO							
Papaver	Rojo	Exponencial	0,000	22,051	1,385	0,000	Fuerte
Papaver	Verde	Exponencial	0,083	32,309	1,138	7,293	Fuerte
Papaver	Azul	Exponencial	0,000	29,263	1,351	0,000	Fuerte
Papaver	NIR	Exponencial	0,000	30,748	1,239	0,000	Fuerte

3.2. Análisis espacial con variables secundarias. Los semivariogramas cruzados entre *P. rhoeas* y las bandas R, V, A y NIR fueron ajustados a modelos exponenciales sin pepita (Fig. 1b) excepto para el caso de la variable secundaria V, que presentó una pepita de 0,083; y valores de rango entre 22,05 y 32,30 m (Tabla 1). Al igual que en el análisis univariante, los parámetros de los semivariogramas cruzados pusieron de manifiesto, en todos los casos, una distribución fuerte espacial en rodales de *P. rhoeas* en trigo. La interpolación espacial con CoKgO generó una cartografía de los rodales con una mayor definición que la obtenida con KO con todas las variables 2^{ias} analizadas. En la figura 2a se muestra el mapa de infestación obtenido para el caso de CoKgO con la Banda V como variable 2^{ia}.

3.3. Comparación de la precisión de los mapas. La tabla 2 muestra los estadísticos de validación cruzada y el ECM, que fue el parámetro utilizado para comparar la precisión de los diversos estimadores: KO y CoKgO (Papaver-R, Papaver-V, Papaver-A y Papaver-NIR).

El CoKgO, método de estimación espacial que incorpora la información 2^{ia} derivada de imágenes UAV obtuvo mejores resultados de ECM (más bajos) que el KO, método de estimación que solo utiliza la variable 1^{ia} (densidad de *P. rhoeas*). Así, el KO dio un valor de ECM de 0,97 bastante más elevado que los obtenidos con el CoKgO con cualquiera de las variables 2^{ias}. Así, el ECM para las bandas A y V fue de 0,88 y 0,85, respectivamente.

Los resultados obtenidos del estudio de *P. rhoeas* en trigo muestran que la incorporación de variables 2^{ias} espectrales-UAV al análisis geoespacial de la variable 1^{ia} con CoKgO mejora en todos los casos la estimación de la variable 1^{ia} y por tanto la precisión los mapas de infestación tardía, especialmente cuando la variable 2^{ia} incluida es la banda V. Se pone de manifiesto el gran potencial de esta metodología para optimizar la cartografía de infestaciones de malas hierbas en fase tardía del cultivo, combinando datos espaciales georreferenciados en campo con información espectral procedente de imágenes UAV.

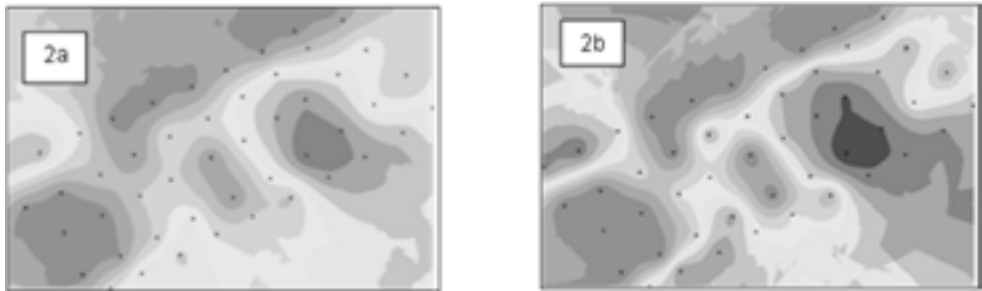


Figura 2. Distribución espacial de *P. rhoeas* obtenida mediante: KO (2a) y CoKgO con la Banda V (2b). Las zonas más oscuras representan los rodales de *P. rhoeas* con densidades más altas y las blancas, las zonas libres de mala hierba.

Con la metodología propuesta se abre un nuevo campo de investigación, en el que se está incorporando otro tipo de información secundaria, como son variables 2^{ias} derivadas de las bandas espectrales de las imágenes UAV: ratios de bandas e índices de vegetación, más correlacionados con las infestaciones de malas hierbas que las bandas.

Tabla 2. Estadísticos de validación cruzada para el análisis univariante (KO) y multivariante (CoKgO)

V. 1 ^{ia}	V. 2 ^{ia} Banda	Estimador	EEM ¹	ECM ²	ECME ³	Varianza del error
Papaver	---	KgO	0,00508	0,97028	0,93021	0,77282
Papaver	Rojo	CokgO	-0,00425	0,88961	0,84123	0,84711
Papaver	Verde	CokgO	0,00099	0,85069	0,95326	0,80755
Papaver	Azul	CokgO	0,00028	0,88616	0,89390	0,80130
Papaver	NIR	CokgO	0,01272	0,91114	0,91789	0,73828

¹EEM: error estimación medio; ²ECM: error cuadrático medio; ³ECME: error cuadrático medio estandarizado.

4. AGRADECIMIENTOS

Estudio financiado por el proyecto AGL2014-52465-C4-4-R MINECO-FEDER. Agradecemos al Dr. Recasens y su grupo su valiosa ayuda en las prospecciones de campo. La investigadora Dr. Ana Isabel de Castro fue financiada por el programas Juan de la Cierva (MINECO).

5. REFERENCIAS

- Barroso J, Fernández-Quintanilla C, Ruiz D, Hernaiz P and Rew RJ (2004). Spatial stability of *Avena sterilis* ssp ludoviciana populations under annual. *Weed Research*, 44, 178-186.
- De Castro AI, Jurado-Expósito M, Peña-Barragán JM and López-Granados F (2012). *Precision Agriculture*, 13, 302-321.
- De Castro AI, López-Granados F and Jurado-Expósito M (2013). Broad-scale cruciferous weed patch classification in winter wheat using QuickBird imagery for in-season site-specific control. *Precision Agriculture*, 14, 392-413.
- Heijting S, Van Der Werf W, Stein A and Kropff MJ (2007). Are weed patches stable in location? Application of an explicitly two-dimensional methodology. *Weed Research*, 47, 381-395.
- Izquierdo J, Blanco-Moreno JM, Chamorro L, Recasens J and Sans FX (2009). Spatial Distribution and Temporal Stability of Prostrate Knotweed (*Polygonum aviculare*) and Corn Poppy (*Papaver rhoeas*). Seed Bank in a Cereal Field. *Weed Science*, 57, 505-511.
- Jurado-Expósito M, López-Granados F, García-Ferrer A and Atenciano S (2003). Multi-species weed spatial variability and site-specific management maps in cultivated sunflower. *Weed Science*, 51, 319-328.
- Jurado-Expósito M, López-Granados F, González-Andújar JL and García-Torres L (2004). Spatial and temporal analysis of *Convolvulus arvensis* L. populations over four growing seasons. *European Journal of Agronomy* 2, 287-296.
- Jurado-Expósito M, López-Granados F, Peña-Barragán JM and García-Torres L (2009). A digital elevation model to aid geostatistical mapping of weeds in sunflower crops. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 391-400.
- López-Granados F, Jurado-Expósito M, Peña-Barragán JM and García-Torres L (2006). Using remote sensing for identification of late-season grass weed patches in wheat. *Weed Science*, 54, 346-353.
- Peña-Barragán JM, López-Granados F, Jurado-Expósito M and García-Torres L (2007). Mapping *Ridolfia segetum* patches in sunflower crop using remote sensing. *Weed Research*, 47, 164-172.
- Torres-Sanchez J, López-Granados F, De Castro AI and Peña-Barragán JM (2013). Configuration and Specifications of an Unmanned Aerial Vehicle (UAV) for Early Site Specific Weed Management. *PLoS ONE*, 8, e58210.
- Torres-Sánchez J, Peña JM, De Castro AI and López-Granados F (2014). Multi-temporal mapping of the vegetation fraction in early-season wheat fields using images from UAV. *Computers & Electronics in Agriculture*, 103, 104-113.

Optimization of weed mapping using geostatistical techniques and remote sensing with UAV

Summary: A methodology for late weed mapping combining georeferenced spatial data (1st variable) with spectral information (2nd variables) is evaluated. The *Papaver rhoeas* L. spatial data in wheat was used as 1st variable and Red, Green, Blue and NIR bands from UAV images as 2nd variables. Two types of algorithms were compared: Ordinary Kriging (analysis of 1st variable) and CoKriging (to incorporate the 2nd variables). Comparison of infestations maps accuracy was based on cross validation statistics. Results showed that including spectral secondary variables into geostatistical analysis improves the accuracy of 1st variable estimations, especially when band G is included as 2nd variable.

Keywords: variograms, kriging, cokriging, precision agriculture.

Principales variables para la detección de plántulas de amapola (*Papaver rhoeas*) en imágenes tomadas con un vehículo aéreo no tripulado

José Manuel Peña^{1✉}, Ana Isabel de Castro², Jorge Torres-Sánchez²,
Francisco M. Jiménez-Brenes², Francisco Valencia³, Francisca López-Granados²

¹Instituto de Ciencias Agrarias (ICA-CSIC), Madrid

²Instituto de Agricultura Sostenible (IAS-CSIC), Córdoba

³Dpto. Hortofruticultura, Botánica y Jardinería. ETSEA. Universitat de Lleida

✉ jmpena@ica.csic.es

Resumen: En este trabajo se han evaluado variables espectrales, morfológicas (forma, tamaño), contextuales (posición) y texturales que permitan desarrollar un procedimiento automático de clasificación de plántulas de amapola, otras malas hierbas, cultivo y suelo desnudo en imágenes adquiridas con un vehículo aéreo no tripulado (UAV). Las imágenes se tomaron con una cámara modificada para la obtención de información en infrarrojo-color y a una resolución espacial de 0,60 cm/píxel. Se aplicaron técnicas avanzadas de análisis de imágenes basadas en objetos para la obtención de las variables descritas y se desarrolló un modelo tipo árbol de decisión para cuantificar la importancia de cada variable en la clasificación. Los resultados indicaron que la información espectral basada en el índice de vegetación de diferencias normalizadas (NDVI, por sus siglas en inglés) aportó un 46% al modelo de clasificación, principalmente para la discriminación de objetos de vegetación y suelo desnudo. Por otra parte, para la identificación de las plántulas de amapola fue necesario incorporar además variables morfológicas (principalmente, el área [tamaño] del objeto, que aportó un 36% al modelo) y texturales (p.ej., textura media y entropía, con un 11% de contribución en el modelo). Por su parte, la distancia relativa de los objetos a la línea de cultivo tuvo escasa importancia en la clasificación total.

Palabras clave: UAV, análisis de imágenes basado en objetos (OBIA), árboles de decisión, cereal de invierno, control localizado de malas hierbas.

1. INTRODUCCIÓN

La detección de plántulas de malas hierbas en cultivos herbáceos y la generación de mapas para un control localizado de las mismas en época temprana es actualmente posible combinando dos tecnologías: 1) imágenes de muy alta resolución espacial tomadas con vehículos aéreos no tripulados (UAV) y 2) aplicación de algoritmos avanzados de análisis de imágenes basados en objetos (OBIA) (Peña et al., 2013). En dichos escenarios, la elección de resoluciones espacial, espectral y temporal de las imágenes aéreas que se adapten correctamente a las condiciones del cultivo y las malas hierbas es fundamental (Peña et al., 2015). Por su parte, las imágenes UAV no solo incluyen la información espectral de las plantas de cultivo y malas hierbas, sino que además aportan otros datos relacionados con la posición, forma y textura de dichas plantas, lo que aumenta notablemente el número de variables de análisis en comparación con las imágenes tomadas con plataformas remotas convencionales (satélite y avionetas) y, por tanto, la capacidad para obtener mejores resultados de clasificación (Laliberte et al., 2010).

Aun así, la discriminación de plántulas de amapola (*Papaver rhoeas*) en cultivos de cereal de invierno es especialmente complejo por dos razones fundamentales. Por una parte, el tamaño de las plántulas es muy reducido en el momento en que se recomienda el tratamiento herbicida, lo que exige la utilización de imágenes de resolución espacial < 1 cm/píxel para su detección, que

actualmente solo pueden obtenerse con vuelos UAV a baja altura (< 30 m). Por otra parte, las plántulas de amapola y las del cultivo presentan un color verde similar, lo que dificulta aún más su discriminación espectral.

Por tanto, en este trabajo se evaluaron múltiples variables espectrales (basadas en índices de vegetación), morfológicas (tamaño y parámetros de forma), contextuales (posición relativa) y texturales con el objetivo de desarrollar un procedimiento automático basado en algoritmos de árboles de decisión para la posterior clasificación de amapola, otras malas hierbas, cultivo y suelo desnudo en las imágenes-UAV.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Zona de estudio y adquisición de imágenes UAV. El trabajo se realizó en una parcela de cebada de una extensión aproximada de 0,50 ha localizada en el municipio de Muller (Lleida), que presentaba una elevada infestación natural de amapola y otras especies de malas hierbas en estado de plántula. Las imágenes se tomaron en febrero de 2016, usando una cámara convencional Sony ILCE-6000, cuyos filtros internos fueron previamente modificados para permitir la adquisición de información espectral en las bandas verde, rojo e infrarrojo-cercano (IC). La cámara se instaló en un vehículo aéreo no tripulado, modelo quadrotor md4-1000 (microdrones GmbH, Siegen, Alemania), y los vuelos se realizaron a 30 m de altura, con una resolución espacial de 0,60 cm/píxel (Fig. 1).

2.2. Procesamiento de las imágenes y análisis de los datos. Las imágenes UAV se tomaron con solapamiento transversal del 60% y longitudinal superior al 90%, lo que permitió la correcta generación del ortomosaico de la parcela completa, que fue realizado con el programa Agisoft Photoscan Professional 1.2.4 (Agisoft LLC, San Petersburgo, Rusia). Los datos verdad-terreno se tomaron en varias zonas de la parcela caracterizadas por la presencia de plántulas de amapola, y que fueron localizadas mediante la colocación en la parcela de 35 marcos de aluminio blanco de 1x1 metro y que eran perfectamente visibles en el ortomosaico. Todos los marcos fueron fotografiados en campo, lo que permitió, posteriormente, localizar las plántulas de amapola en las imágenes UAV (Fig. 2) y extraer los datos de cada variable espectral, contextual, morfológica y textural estudiada.



Figura 1. Vehículo aéreo no tripulado durante la ejecución del vuelo y la toma de imágenes en la parcela de estudio.

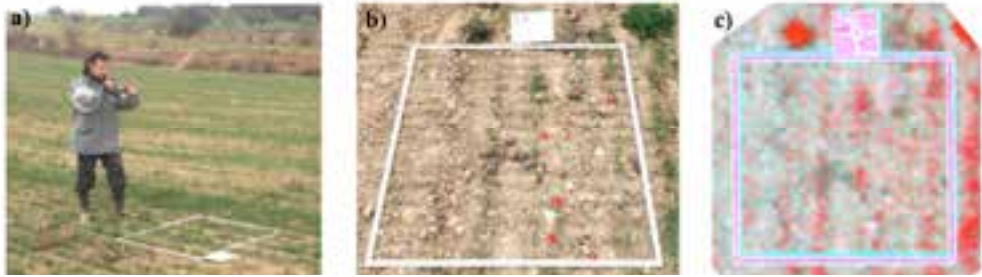


Figura 2. Procedimiento de toma de datos en los marcos verdad-terreno: a) toma de fotografías en campo, b) fotografía del marco n° 24, en donde se localizan las plántulas de amapola (dibujadas en rojo), y c) detalle de la imagen UAV del marco n° 24.

Las imágenes UAV se segmentaron y analizaron con técnicas OBIA usando el programa eCognition Developer (Trimble GeoSpatial, Munich, Alemania) y aplicando el algoritmo desarrollado en (Torres-Sánchez et al., 2014). En las zonas del ortomosaico limitadas por los marcos verdad-terreno se clasificaron manualmente los objetos correspondientes a plántulas de amapola y al resto de clases presentes en la parcela: plantas de cultivo, plántulas de otras malas hierbas y suelo desnudo. Se consideraron los siguientes parámetros de los objetos (Tabla 1): 1) características espectrales o índices de vegetación obtenidos de la distintas combinaciones entre las tres bandas de la imagen, 2) características morfológicas de los objetos, 3) características texturales basadas en la matriz de co-ocurrencia (Haralick et al., 1973), y 4) posición relativa de los objetos con respecto a la línea de cultivo.

Los datos obtenidos en cada marco se exportaron para su análisis estadístico al programa programa JMP (SAS Institute Inc., Cary, EE.UU.), con el que se desarrolló un modelo de clasificación de las imágenes aplicando técnicas de Árbol de Decisión. Los parámetros que caracterizaban cada clase y su importancia en el modelo se determinó mediante el estadístico ratio de probabilidad chi-cuadrado (G^2), que considera el ratio entre las frecuencias observadas y esperadas.

Tabla 1. Variables analizadas en las imágenes UAV según su tipología

Espectral ¹	Morfológica ²	Textural ³	Posición
NDVI	Área	Homogeneidad	Distancia a la fila de cultivo
GNDVI	Asimetría	Contraste	
Vigreen	Compacidad	Disimilaridad	
	Densidad	Entropía	
	Forma rectangular	Ang. 2º momento	
	Redondez	Textura media	
	Índice de forma	Textura SD	
		Correlación	

¹ Índices de vegetación calculados: NDVI = (IC-Rojo)/(IC+Rojo); GNDVI = (IC-Verde)/(IC+Verde); Vigreen = (Verde-Rojo)/(Verde+Rojo).

² Variables descritas en (Trimble Geospatial, 2017).

³ Variables descritas en (Haralick et al., 1973).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El modelo de árbol de decisión generado para la clasificación de las plántulas de amapola y el resto de clases estuvo formado por una combinación de 14 variables diferentes (Fig. 3). Se observa que los objetos de suelo desnudo y cultivo se discriminaron generalmente bien de las plántulas de amapola con las variables NDVI (umbral inferior a 0,18 para suelo desnudo), y área de los objetos (umbral superior a 5,28 cm² para cultivo), respectivamente. Sin embargo, la principal confusión de la amapola se produjo con las otras malas hierbas presentes en la parcela. En este caso, el modelo utilizó variables de los cuatro tipos para discriminar entre ambas clases mediante múltiples divisiones del árbol de decisión y diversidad de umbrales, lo que indica cierto grado de especificidad a las condiciones del estudio.

En total se generaron 30 divisiones, siendo el índice de vegetación NDVI y el área de los objetos las dos variables que más contribuyeron al modelo con un 46% y un 36%, respectivamente (Tabla 2), principalmente debido a su participación en la discriminación de suelo desnudo y cultivo. Las variables texturales tuvieron una contribución moderada en el modelo, con un porcentaje total del 10,72%, destacando la textura media como la tercera variable más importante (5,60%). Otras variables morfológicas, a parte del área del objeto, aportaron tan solo un 3,60% al modelo, mientras que la variable de la distancia de los objetos a la línea de cultivo solo contribuyó en 0,93%. Este baja contribución de la variable de posición se explica porque un número notable de plántulas de amapola y otras malas hierbas se localizaron junto a la línea de cultivo, por lo que esta variable no aportó mucho al modelo de clasificación.

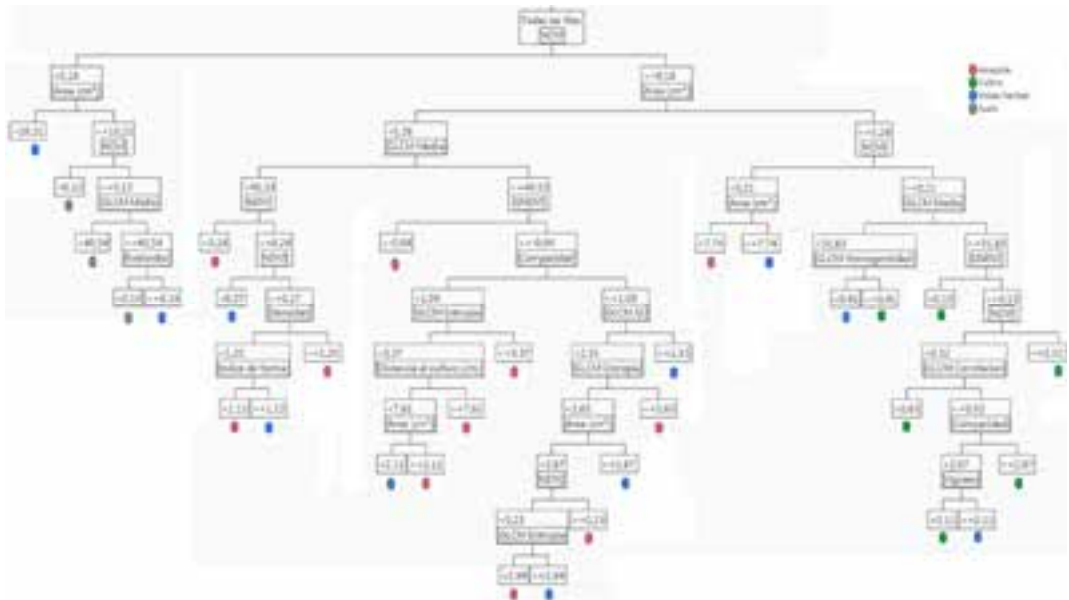


Figura 3. Modelo tipo árbol de decisión generado para la clasificación de plántulas de amapola, cultivo, otras malas hierbas y suelo desnudo en las imágenes UAV.

Tabla 2. Variables espectrales, morfológicas, texturales y de posición seleccionadas para la clasificación de las imágenes UAV y su grado de contribución en el modelo (%G²: porcentaje del ratio de probabilidad chi-cuadrado)

Variable	Tipo	%G ²
NDVI	Espectral	46,38
Área (cm ²)	Morfológica	35,87
Textura media	Textural	5,60
GNDVI	Espectral	2,26
Entropía	Textural	2,10
Compacidad	Morfológica	1,49
Textura SD	Textural	1,13
Homogeneidad	Textural	1,11
Redondez	Morfológica	1,07
Distancia al cultivo (cm)	Posición	0,93
Correlación	Textural	0,78
Densidad	Morfológica	0,66
Índice de forma	Morfológica	0,38
Vlgreen	Espectral	0,25

4. CONCLUSIONES

Mediante el análisis basado en objetos de imágenes UAV y el desarrollo de un modelo de árboles de decisión se han identificado las variables espectrales, morfológicas, texturales y de posición que contribuyen en mayor medida a la clasificación de plántulas de amapola, otras malas hierbas, cultivo y suelo desnudo en una parcela de cebada en época temprana. El índice de vegetación NDVI, el tamaño de los objetos y la textura media fueron notablemente las variables más importantes en el modelo. Si bien el cultivo y el suelo desnudo se discriminó con cierta facilidad, el principal grado de confusión de las amapolas se debió a la presencia de otras malas hierbas en la parcela. Los resultados obtenidos permitirán focalizar el desarrollo de los algoritmos de clasificación de imágenes sobre las variables seleccionadas, con el objetivo final de generar un mapa de malas hierbas (y, específicamente, de amapola) que permita proponer estrategias de control localizado en el contexto de la agricultura de precisión.

5. AGRADECIMIENTOS

Investigación financiada por el proyecto MINECO AGL2014-52465-C4-4R. La investigación de Dr. José M. Peña, Dr. Ana de Castro y Dr. Jorge Torres-Sánchez fue financiada por los programas Ramón y Cajal (MINECO), Juan de la Cierva (MINECO) y FPI (BES-2012-052424), respectivamente.

6. REFERENCIAS

- Haralick RM, Shanmugam K, Dinstein I (1973). Textural Features for Image Classification. *IEEE Transactions on Systems, Man and Cybernetics*, 3, 610-621.
- Laliberte AS, Herrick JE, Rango A, Winters C (2010). Acquisition, orthorectification, and object-based classification of unmanned aerial vehicle (UAV) imagery for rangeland monitoring. *Photogrammetric Engineering & Remote Sensing*, 76, 661-672.
- Peña JM, Torres-Sánchez J, de Castro AI, Kelly M, López-Granados F (2013). Weed Mapping in Early-Season Maize Fields Using Object-Based Analysis of Unmanned Aerial Vehicle (UAV) Images. *PLoS ONE*, 8, e77151.
- Peña JM, Torres-Sánchez J, Serrano-Pérez A, de Castro AI, López-Granados F (2015). Quantifying Efficacy and Limits of Unmanned Aerial Vehicle (UAV) Technology for Weed Seedling Detection as Affected by Sensor Resolution. *Sensors*, 15, 5609-5626.
- Torres-Sánchez J, Peña JM, de Castro AI, López-Granados F (2014). Multi-temporal mapping of the vegetation fraction in early-season wheat fields using images from UAV. *Computers and Electronics in Agriculture*, 103, 104-113.
- Trimble Geospatial (2017). *eCognition Developer, user's book*.

Main features for the detection of *Papaver rhoeas* seedlings in images collected with an unmanned aerial vehicle

Summary: A group of spectral, morphological (shape-based, size), contextual (location), and textural features were evaluated with the aim of automatic classification of *Papaver rhoeas* seedlings, other weeds, crop plants and bare soil in images collected with an unmanned aerial vehicle (UAV). The images were taken with a color-infrared modified camera at 0,60 cm/pixel of spatial resolution. The features were obtained by applying advanced object-based images techniques, and their contribution to the classification was analyzed with decision tree modeling. Spectral information from the normalized difference vegetation index (NDVI) contributed 46% to the model, mainly due to its capacity to discriminate vegetation and bare soil objects. Additionally, identification of *Papaver rhoeas* seedlings was possible by incorporating morphological (mainly object size, which contributed to 36% to the model) and textural features (e.g., mean and entropy, which contributed to 11% to the model). Finally, relative distance of the objects to the crop-rows had a low importance in the total classification results.

Keywords: UAV, object-based image analysis (OBIA), decision tree models, winter cereals, site-specific weed control.

MalezappUS-Comparator. Nueva herramienta de ayuda para la identificación de malas hierbas

Carlos Sousa¹, José María Urbano¹✉

¹Universidad de Sevilla, ETSIA. Ctra de Utrera km 1, 41013-Sevilla
✉ urbano@us.es

Resumen: La identificación temprana de las malas hierbas es prioritaria en cualquier programa MIP y se está volviendo aún más importante debido a las nuevas circunstancias como la resistencia a herbicidas. El objetivo de este proyecto es desarrollar una nueva aplicación que permita al técnico comparar los principales rasgos morfológicos de especies previamente seleccionadas. Para lograr este objetivo se han utilizado los programas MySQL y Netbeans. El resultado es una aplicación web con 2 opciones. La opción COMPARAR permite elegir especies de malezas de una lista y muestra los rasgos morfológicos en una tabla para una comparación fácil. Para los técnicos menos capacitados, la opción FILTROS permite elegir los rasgos morfológicos para la identificación de las plántulas. También se mencionan las debilidades para tenerlas en cuenta para versiones posteriores. MalezappUS-Comparator, así como otras aplicaciones de la Catedra Adama, se pueden encontrar en www.adamacatedra.es/.

Palabras clave: *app*, aplicación, reconocimiento de plántulas.

1. INTRODUCCIÓN

La identificación temprana de especies arvenses es esencial en el manejo integrado de malas hierbas debido a 2 factores. El primer factor es que evita la competencia con el cultivo que se produce en las primeras semanas de convivencia (Barros and Freixial, 2015; Zimdahl, 2007). En segundo lugar, la eficacia de los métodos de control suele ser mayor en aplicaciones precoces, ya que la mala hierba (si es anual) es más vulnerable en plántula, con la consiguiente ventaja económica y ambiental (Shaner and Beckie, 2014). Este último aspecto es de importancia creciente debido a que el control de las malas hierbas es cada vez más complejo por la capacidad de adaptación de la flora arvense. El problema de la resistencia a herbicida es uno de los ejemplos más preocupantes (Heap, 2016), aunque no el único.

En la actualidad hay disponibles recursos de calidad para la identificación de especies arvenses presentes en España (Valdes et al., 1987). Sin embargo, la utilidad de estos recursos es limitada cuando se trata de reconocer plántulas con 1 ó 2 hojas verdaderas.

Para superar las limitaciones de la identificación en plántulas se adoptan una serie de estrategias, como son: a) acotar el número de especies a identificar, b) utilizar todos los caracteres morfológicos posibles, c) utilizar información agroecológica, como puede ser el tipo de cultivo o de ambiente en el que se encuentra.

Actualmente existen recursos en papel de gran utilidad para el reconocimiento de plántulas arvenses (Recasens and Conesa, 2009), aunque este sistema presenta el inconveniente de que es difícilmente actualizable. También existen recursos electrónicos dedicados a la identificación de plántulas como MalezappUS-Identificación (Catedra Adama, 2016), WeedID (BASE, 2017), SIMHierbas (AIMCRA, 2017) y Ag Weed ID (FarmProgress, 2017). Sin embargo, no se han encontrado herramientas que sirvan de ayuda al técnico de campo para comparar, o para determinar a modo de clave, especies arvenses de actualidad en España.

El objetivo de este trabajo es el diseño y creación de una aplicación web que reúna las siguientes características: 1) que permita comparar caracteres morfológicos de 2 o más especies arvenses, 2) que pueda usarse a modo de clave para la determinación de una especie arvense, 3) que sea una herramienta de utilidad para el técnico de campo, lo que implica que sea amigable y práctica.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Diseño de la app. Una vez se entra en la aplicación, ésta ofrece al usuario la posibilidad de elegir entre la opción COMPARAR o FILTROS. Si se elige la opción COMPARAR, aparece otra pantalla con el listado de especies donde el usuario selecciona las que desea comparar. Si se elige la opción FILTROS, la aplicación debe de mostrar los distintos tipos de caracteres morfológicos para realizar el filtrado de especies arvenses (Fig. 1).



Figura 1. Diseño de funcionamiento de la aplicación.

2.2. Programas informáticos utilizados. Los datos se han introducido en hojas de cálculo (tipo MS Excel, Google Spreadsheet, etc), y para la gestión de las bases de datos se ha utilizado MySQL (2017).

Para la creación y edición de la página web se ha utilizado el programa Netbeans (2017).

2.3. Fuentes de información. Para rellenar la información de cada parámetro se han utilizado los resultados de observaciones propias, complementados con diversos recursos bibliográficos entre los que destacan: Recasens and Conesa (2009), HYPPA (2017), UC-IPM (2017) y Flora Vascular (2017).

Para elegir las especies arvenses a incluir se ha utilizado el listado de especies del jardín arvense de la ETSIA y una publicación de las malas hierbas más importante en España (Ortiz et al., 2015).

Para conseguir que la aplicación sea amigable se han utilizado para cada especie fotografías propias de las semillas, de la plántula, de los cotiledones, de las hojas y de un carácter específico de cada especie. Adicionalmente se han elaborado una serie de ilustraciones para representar los distintos tipos de caracteres entre los cuales tiene que elegir el usuario si elige la opción FILTROS

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

MalezappUS-Comparator cuenta con una base de datos que incluye 108 especies de plantas dicotiledóneas consideradas malas hierbas. En base a las fuentes de información consultadas se han elegido 20 parámetros de utilidad taxonómica (Tabla 1) unidos a caracteres identificativos como son el código EPO (EPO Global Database, 2017), la especie y la familia botánica.

Tabla 1. Parámetros considerados de interés taxonómico en estado de plántula

1. EPP0	13. Tipo de cotiledón
2. Especie	14. Pubescencia del cotiledón
3. Familia	15. Nervadura del cotiledón
4. Comentario de plántula	16. Tipo de porte
5. Comentario del cotiledón	17. Tipo de filotaxis
6. Comentario de hojas	18. Tipo de hojas
7. Comentario especial	19. Pubescencia en el haz
8. Imágenes de semilla	20. Tipo pelos
9. Imágenes de plántula	21. Presencia de espinas
10. Imágenes del cotiledón	22. Producción de látex
11. Imágenes de hojas	23. Pubescencia en el hipocótilo
12. Imágenes de particularidades	

A continuación, se muestra una serie de figuras con los distintos pantallazos si se elige la opción COMPARAR (Fig. 2 a 4).



Figura 2. Pantalla de entrada de la aplicación.

Nombre	Foto	Selección	Nombre	Foto	Selección
AMARANTHUS ALBUS		<input checked="" type="checkbox"/>	AMARANTHUS BLITOIDES		<input type="checkbox"/>
AMARANTHUS BLITUM		<input type="checkbox"/>	AMARANTHUS HIBRIDUS		<input type="checkbox"/>
AMARANTHUS RETROFLEXUS		<input type="checkbox"/>	ANACYCLUS CLAVATUS		<input type="checkbox"/>
ASTER SQUAMATUS		<input type="checkbox"/>	CALENDULA ARVENSIS		<input type="checkbox"/>
CENTAUREA CYANUS		<input checked="" type="checkbox"/>	CENTAUREA DILUTA		<input type="checkbox"/>
CENTAUREA MELITENSIS		<input type="checkbox"/>	CHAMAEMELUM FUSCATUM		<input type="checkbox"/>
CHRYSANTHEMUM CORONARIUM		<input type="checkbox"/>	CHRYSANTHEMUM SEGETUM		<input type="checkbox"/>
CIRSIUM ARVENSE		<input type="checkbox"/>	CONYZA BONARIENSIS		<input type="checkbox"/>

Consultar Limpiar selección

Figura 3. Elección de especies en la opción COMPARAR. El usuario puede elegir 2 o más especies.

Si el usuario elige la opción FILTROS, la aplicación muestra una pantalla con las ilustraciones de los caracteres morfológicos (Fig. 5).

Tras la selección de los caracteres morfológicos, la aplicación le devuelve una lista con todas las especies que coinciden ellos. Posteriormente se escogen las especies que se quieren comparar o conocer sus características morfológicas.

3.1. Aspectos mejorables de la aplicación. El resultado de este trabajo es la versión 1 de MaleappUS-Comparator. Esta versión cumple con los objetivos establecidos en el trabajo pero presenta detalles pendientes de mejorar en futuras versiones. Entre las carencias más importantes se encuentran: 1) no incluye especies monocotiledóneas, 2) no incluye caracteres de plantas adultas que pueden ser útiles en algunos casos, 3) en ocasiones el tamaño de las imágenes es excesivo, lo cual ralentiza la aplicación, 4) solo está disponible en formato web, 5) la aplicación no permite conocer cual son las especies más consultadas. Todas estas deficiencias son susceptibles de ser subsanadas en futuros trabajos.

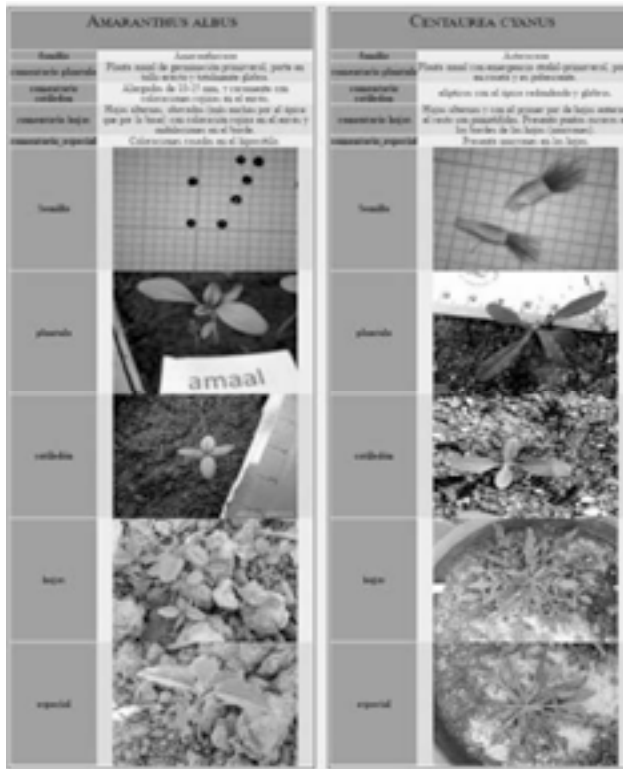


Figura 4. Resultado de la opción COMPARAR una vez seleccionadas las especies.

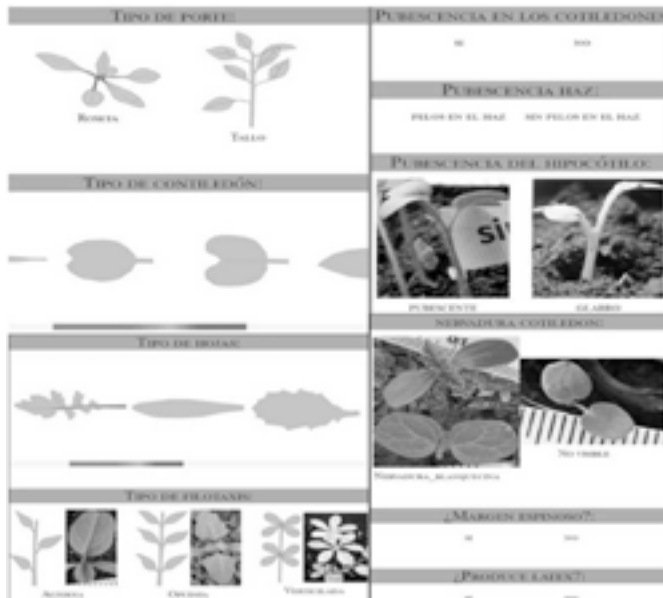


Figura 5. Pantallazo que muestra la representación de los caracteres morfológicos en la opción FILTROS.

4. AGRADECIMIENTOS

Los autores quieren hacer constar su agradecimiento a la Cátedra Adama, que ha financiado la beca que ha permitido realizar este trabajo.

5. REFERENCIAS

- AIMCRA (2016). Identificación de plántulas. <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.ThomasNies.simhierbasAIMCRA&hl=es>.
- Barros, JB & Freixial R (2015). El control de malezas en agricultura de conservación y siembra directa. Instituto de Ciências Agrárias E Ambientais Mediterrânicas (ICAA), Universidade de Évora, 7002-554 Évora, Portugal (July).
- BASF (2016). Weed ID. <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.weedid>.
- Cátedra Adama (2016). MalezappUS ID Online. <https://play.google.com/store/apps/details?id=io.gonative.android.qnbwa&hl=es>.
- EPPO Global Database (2017). <https://gd.eppo.int/>.
- Heap I (2016). International Survey of Herbicide Resistant Weeds.
- HYPPA (2016). https://www2.dijon.inra.fr/hyppa/hyppa-a/hyppa_a.htm.
- MySQL (n.d.). <https://www.mysql.com/>.
- NetBeans IDE (n.d.). <https://netbeans.org/>.
- Penton Farm Progress (2016). Ag Weed ID. <https://play.google.com/store/apps/details?id=com.digitalinsincts.weeds.ios>.
- Recasens J & Conesa JA (2009). Malas hierbas en plántula: guía de identificación. Universitat de Lleida.
- Shaner DL & Beckie HJ (2014). The future for weed control and technology. *Pest Management Science*, 70(9), 1329-1339. <https://doi.org/10.1002/ps.3706>.
- UC-IPM (2016). <http://ipm.ucanr.edu/>.
- Valdes B, Talavera S & Fernandez-Galiano E (1987). FLORA VASCULAR DE ANDALUCIA OCCIDENTAL. Barcelona: Ketres. <http://es.slideshare.net/donaireli/flora-vascular-andaluciaoccidental1>.

MalezappUS-Comparator, a new tool for weed seedling identification assistance

Summary: Early weed identification is priority in any IWM program and is becoming even more important due to new circumstances as herbicide resistance. The goal of this project is to develop a new application that allow the technician to compare the main morphological traits of previously selected species. To achieve this goal we have used the programs MySQL and Netbeans, to fill the app with rigorous descriptions many hours have been dedicated both the field and in the office. The result is a web app with 2 options. The option COMPARAR allows choosing weed species from a list and shows morphological traits as a table for an easy comparison. For less trained technicians, FILTROS option allows choosing morphological traits for seedling identification. Weakness are also mentioned to keep in mind for later versions. MalezappUS-Comparator, as well as others apps of Catedra Adama can be accessed in the site www.adamacatedra.es/.

Keywords: app, application, seedling identification.

MalezappUS Quiz: una nueva *app* lúdico-docente para el entrenamiento de la identificación de plántulas de malas hierbas

Orly Enrique Apolo-Apolo¹, Julián Alberto García García², Jose María Urbano¹✉

¹Dpto. de Ciencias Agroforestales, Universidad de Sevilla, ETSIACtra. De Utrera km 1, 41013 Sevilla España

²Grupo de Ingeniería Web y Testing Temprano, Dpto. Lenguajes y Sistemas Informático, Universidad de Sevilla, ETSII
✉urbano@us.es

Resumen: Para conseguir un control racional de malas hierbas es imprescindible la correcta identificación de las especies arvenses en sus estados más precoces. Esta habilidad necesita además un continuo entrenamiento. Por otro lado, el desarrollo de las nuevas tecnologías de la información (bases de datos, sistemas operativos, lenguajes de programación, etc.) ha permitido la creación de aplicaciones útiles, usables e innovadoras. En este trabajo se presenta la aplicación MalezappUS Quiz, que está disponible en versión web y móvil (concretamente, para sistemas Android). MalezappUS Quiz puede considerarse una herramienta lúdica y docente. Lúdica, porque puede utilizarse como un juego sin necesidad de registrarse, y docente porque permite la realización de exámenes a propuesta de un profesor. MalezappUS Quiz ha sido desarrollada a propuesta de la Cátedra Adama en colaboración con el Grupo de investigación de Ingeniería Web y Testing Temprano, ambos de la Universidad de Sevilla.

Palabras clave: *app*, malherbología, Android, docencia, identificación de plántulas.

1. INTRODUCCIÓN

Las malas hierbas constituyen un problema de primer orden a nivel mundial (Oerke, 2006), ya que son las causantes de casi el 50% del consumo en productos fitosanitarios en la agricultura (López-Granados et al., 2012). Una correcta identificación en el estado de plántula permite un control racional, ayuda a optimizar los métodos de control, produce un menor impacto ambiental y se traduce en un ahorro económico para el agricultor (Aldrich and Kremer, 1997).

El primer paso para conseguir un correcto manejo de las malas hierbas es identificar las causas del problema y olvidarse de la idea falaz de que es posible eliminar toda la flora que acompaña al cultivo. Esto no es realista, no es necesario, no es aconsejable y no es deseable.

Un técnico y los futuros técnicos agrícolas interesados en formarse en esta habilidad, no disponen de muchas herramientas. Como ejemplo de las existentes se pueden citar: cursos presenciales de identificación (Universidad de Lérida, Universidad de Zaragoza y Universidad de Sevilla), bibliografía como el libro *Malas hierbas en plántula. Guía de identificación* de Recasens y Conesa (2009) y herramientas a través de internet como la página web «Statewide Integrated Pest Management» de la Universidad de California. Sin embargo, a pesar de que estas herramientas permiten adquirir ciertos conocimientos no son fáciles de utilizar para el aprendizaje y el entrenamiento.

Para cubrir este gap en España se propone diseñar una aplicación informática, MalezappUS Quiz, que sirva para el entrenamiento de los conocimientos en la identificación de malas hierbas. Como objetivos específicos se persiguen los siguientes:

- Que la aplicación incluya las especies de malas hierbas más importantes a nivel de España.
- Que la aplicación pueda utilizarse como herramienta lúdica y docente en Universidades donde se imparta la malherbología como asignatura.
- Que la aplicación pueda ser utilizada desde un dispositivo móvil o desde un ordenador con conexión a internet.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

La aplicación MalezappUS Quiz ha sido desarrollada para ser utilizada en dispositivos móviles con sistema operativo Android, el cual ha sido diseñado por Google y está basado en S. O. Linux, que es otro sistema operativo de código abierto (Ribas Lequerica, 2016). Por otra parte, dado que actualmente las aplicaciones informáticas necesitan de una mayor atención en la definición de los requerimientos funcionales, de navegación y de almacenamiento (servidores) de la información (García García et al., 2012), se ha optado por utilizar la metodología NDT (Navigational Development Techniques). Esta metodología tiene más de 10 años de historia a través de los cuales ha podido ser validada y aplicada en numerosos contextos de negocio, proporcionando de esta manera un marco de trabajo eficaz y estandarizado durante el ciclo de vida de desarrollo del software.

Actualmente, la mayor parte de dispositivos móviles funcionan bajo los sistemas operativos Android e iOS, abarcando el 95% de todo el mercado (Market Share Statistics for Internet Technologies, 2017). Por tanto, interesa desarrollar una aplicación que funcione para estos sistemas operativos. Sin embargo, dado que el 65 % de los móviles trabajan con el sistema de Google, se programará la aplicación en primer lugar para el sistema Android. Además, para que la aplicación también la puedan utilizar usuarios con otros sistemas operativos, se programará la aplicación como una página web con capacidad para adaptarse a cualquier dispositivo móvil.

Finalmente, para la generación del archivo de instalación de la aplicación, se utilizará el programa Android Studio, que es el entorno de desarrollo integrado oficial para la plataforma Android. Está basado en IntelliJ IDEA, mejor conocido como lenguaje Java, que es un lenguaje de programación orientado a objetos (Cernuda, 2016).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha obtenido una aplicación multiplataforma online que puede ser utilizada a través de un teléfono móvil o desde un ordenador. La versión móvil para Android se puede descargar desde Google Play y la versión web a través de la dirección www.malezappus.es. La aplicación MalezappUS Quiz cuenta con tres módulos de acceso: el módulo *libre*, módulo *docentes* y el módulo *alumnos*.

El módulo *libre* que está diseñado para el uso de la aplicación en modo lúdico, de forma que no es necesario registrarse y el usuario accede a cuestionarios de 10 preguntas que puede repetir ilimitadamente (Fig. 1).



Figura 1. Pantallas del módulo libre: (izquierda) pantalla de ingreso a la app; (centro) se muestran las instrucciones para realizar el test; y (derecha) elección de la familia.

El módulo *docentes* está diseñado para que puedan acceder únicamente docentes que previamente han sido registrados. Existen dos tipos de docentes: el *docente administrador*, que en este caso es la Cátedra Adama, y el usuario *docente normal*, éste último será registrado por el administrador. Para acceder a este módulo será necesario una cuenta de correo y una contraseña, siendo la contraseña normalmente el DNI o la que se haya proporcionado desde la Cátedra Adama. Si se accede como *docente administrador*, se dispone de las siguientes opciones: *Alumnos registrados*, *Notas de alumnos*, *Profesores registrados*, *Registrar alumnos* y *Registrar Profesores* (Fig. 2). Con este perfil se tiene control absoluto, ya que se puede eliminar cualquier usuario, ya sea de un profesor o de un alumno, así mismo se pueden registrar profesores o alumnos. Sin embargo, el *docente normal* solo puede registrar alumnos y ver sus calificaciones.



Figura 2. Pantallas del módulo Docentes: (izquierda) instrucciones para acceder al módulo; (central) pantalla de docente administrador; y (derecha) acceso a las opciones del módulo de administrador.

Para acceder al módulo *alumnos* se necesitará una cuenta de correo y una contraseña que normalmente será el DNI, siendo el docente quien registre a sus alumnos (Fig. 3). La estructura de las preguntas es exactamente la misma que en el módulo *libre*, la diferencia radica en que esta vez son 20 preguntas y se escogen al azar del total de preguntas de la aplicación, y una vez que finaliza el test se guarda un registro de la nota obtenida por el alumno que puede ser consultada por el docente.

Una vez que finaliza el test, tanto para el módulo *libre* como para el módulo *alumnos*, se puede conocer la nota final obtenida numéricamente (Fig. 4). Además, se podrá comprobar cuántas respuestas se han marcado correctamente, las que no se han contestado y las que se han fallado. Finalmente, se puede obtener un listado con todas las preguntas que han aparecido en el test, mostrando de color verde la opción correcta y de color rojo la opción no correcta.

Para concluir, dado que en el módulo *alumnos* se tiene un registro de la actividad del mismo, existe la posibilidad tanto si se trata de un *docente administrador* o *normal*, de obtener un informe en formato CSV, XSLX o PDF con las calificaciones de los alumnos. Para ello cada vez que se registre un docente, desde la Cátedra Adama se enviará un correo con la confirmación del registro y un enlace para poder descargar el informe.



Figura 3. Pantalla módulo alumnos: (izquierda) pantalla de acceso; (central) instrucciones del examen; y (derecha) pantalla final.



Figura 4. Pantalla final de preguntas y respuestas: (izquierda) ventana resumen; (central) resumen de calificación final; y (derecha) comprobación de respuestas.

4. CONCLUSIONES

Se ha diseñado una aplicación original que se ha denominado MalezappUS Quiz que presenta las siguientes funcionalidades:

- Consta de una serie de 1400 preguntas basadas en imágenes de malas hierbas. Para cada pregunta hay cuatro posibles respuestas de las cuales solo una es verdadera.
- Tiene un módulo de acceso *libre* que permite usar la aplicación a modo de juego sin necesidad de registrarse. En este módulo el usuario puede realizar un número indefinido de intentos y en cada intento tiene 10 preguntas.
- Dispone de dos módulos más de acceso restringido, el módulo *docente* y el módulo *alumnos*, con finalidad de docencia, que necesitan de un registro previo tanto del profesor como de los alumnos. El módulo *alumnos* permite realizar un cuestionario de 20 preguntas tomadas al azar de la base de 1400 quedando un registro de la actividad de los alumnos a disposición del profesor.

- La aplicación MalezappUS Quiz ha demostrado tener una importante aceptación ya que en sus primeros días tras su lanzamiento ha sido descargada desde el Google Play algo más de 100 veces y recibiendo comentarios bastante positivos.

5. AGRADECIMIENTOS

Esta aplicación ha sido desarrollada con la financiación de la Cátedra Adama de la Universidad de Sevilla como parte de sus actividades de transferencia de conocimientos.

6. REFERENCIAS

- Aldrich RJ, Kremer, RJ (1997). *Principles in Weed Management*. (No. Ed. 2) Iowa State University Press.
- Cernuda JH (2016). *Creación de juegos y aplicaciones para Android: desarrollo práctico de proyectos*. Ra-Ma, Paracuellos del Jarama, Madrid.
- García García JA, Alba Ortega M, García Borgoñón L, Escalona MJ (2012). NDT-Suite: A model-based suite for the application of NDT. *Web Eng. 12th Int. Conf. ICWE 7387*, 469-472.
- López-Granados F, Gómez-Candón D, De Castro AI, Jurado-Expósito M, Peña-Barragán JM (2012). Discriminación de malas hierbas en cultivos: de las imágenes de satélite a los vehículos aéreos no tripulados. *Tierras Castilla y León Agric.* 192, 28-35.
- Oerke E-C (2006). Crop losses to pests. *Journal Agricultural Science* 144, 31-43.
- Recasens J, Conesa JA (2009). *Malas hierbas en plántula guía de identificación*. Universitat de Lleida, Lérida.
- Ribas Lequerica J (2016). *Manual imprescindible de desarrollo de aplicaciones para Android: edición 2017*. Anaya Multimedia, Madrid.

MalezappUS Quiz: a new educational & game app for weed seedling identification training

Summary: The identification of harmful weed seedlings in crops is a crucial prerequisite to achieve sustainable weed management. The ability to accurately identify harmful weeds requires continuous training. The technology development of programming languages, data base and operative systems, have opened up many opportunities to design innovative and useful apps for weed control. MalezappUS Quiz is a new app that is available both in web and android format. MalezappUS Quiz can be considered both a game and an educational tool. There are three versions of this app, one is for professor, one students and one for the general public. MalezappUS Quiz is an initiative of Catedra Adama at University of Sevilla.

Keywords: app, weed science, Android, educational, weed seedling identification.

La evaluación del desarrollo inicial de plántulas contribuye a la determinación de la potencialidad bioherbicida de aceites e hidrolatos de especies aromáticas

Lucía Torres^{1,2,✉}, Elvira A. Díaz Vizcaíno^{2,3}, Antonio Rigueiro¹

¹Departamento de Producción Vegetal y Proyectos de Ingeniería, EPS, Universidade de Santiago de Compostela, 27002-Lugo

²Departamento de Botánica, Escuela Politécnica Superior, Universidade de Santiago de Compostela, 27002-Lugo

³Instituto de Biodiversidad Agraria y Desarrollo Rural, Universidade de Santiago de Compostela, 27002-Lugo

✉ lucia.torres@usc.es

Resumen: Se ha realizado un seguimiento del desarrollo inicial (hasta 15 días) de las semillas germinadas, de dos especies de malas hierbas, obtenidas en bioensayos con concentraciones decrecientes de cuatro aceites y tres hidrolatos quimiotipados comerciales de orégano, romero y tomillo, establecidos para evaluar su potencialidad bioherbicida. Se han cuantificado las plántulas viables (bien desarrolladas y verdes) y las que no lo son (con clorosis y/o escaso desarrollo del epicotilo o hipocotilo). Los resultados muestran que aceites y/o hidrolatos que mostraron escasa potencialidad bioherbicida, especialmente a concentraciones bajas, pueden mostrar finalmente potencialidad elevada si se considera el desarrollo inicial de las plántulas, como es el caso de los hidrolatos estudiados.

Palabras clave: malas hierbas, fitotoxicidad, *Rumex obtusifolius* L., *Spergula arvensis* L., *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* Loeff. ex L.

1. INTRODUCCIÓN

En los numerosos estudios sobre la potencialidad bioherbicida de aceites y/o hidrolatos de plantas aromáticas, se evalúa habitualmente su efecto reductor sobre el nivel de germinación y sobre el crecimiento inicial, así como mediante la elaboración de índices de vigor de plántulas obtenidos a partir de dichos datos (Hussain and Reigosa, 2014), independientemente de su capacidad para desarrollar una nueva planta (Verdeguer et al., 2009, 2011; Blázquez and Carbó, 2015; Pinheiro et al., 2015; Santos et al., 2015), características sin duda relacionadas entre sí. Nuestros estudios sobre el control de la germinación de *Parietaria judaica* L. (Torres et al., 2014, 2016) han permitido detectar variabilidad en el desarrollo inicial de las plántulas (5-15 días) que posiblemente no pueda ser detectada analizando su crecimiento; por lo que hemos establecido la hipótesis de que la actividad fitotóxica no solamente se refleja en el nivel de germinación o en el crecimiento inicial, sino también en la viabilidad de las plántulas, por lo que la evaluación de su desarrollo inicial y más concretamente la determinación de dicha viabilidad, puede contribuir también, o incluso mejorar, a la caracterización de la actividad bioherbicida.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un seguimiento del desarrollo inicial (hasta 15 días) de todas las semillas germinadas de *Rumex obtusifolius* L. y *Spergula arvensis* L. en bioensayos de cuatro réplicas y 25 semillas cada una, con concentraciones decrecientes de cuatro aceites y tres hidrolatos quimiotipados comerciales de orégano, romero y tomillo y un control, establecidos previamente para evaluar su potencialidad bioherbicida sobre la germinación (Tabla 1).

Tabla 1. Productos comerciales (aceites esenciales –AE- e hidrolatos –H-) utilizados en los bioensayos de fitotoxicidad, caracterizando las especies quimiotipadas (*Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L. y *Thymus zygis* Loefl. ex L.), y potencialidad bioherbida sobre la germinación de *Rumex obtusifolius* (ROB) y *Spergula arvensis* (SAR) en cada uno de los productos, estudiados en dosificaciones decrecientes, y el control. MB: muy baja; B: baja; M: media; E: elevada; ME: muy elevada

Producto	Quimiotipo	Dosis	Germinación	
			Rob	Sar
Control	–	2.00 ml	ME	ME
AE <i>Rosmarinus officinalis</i> (AERO-C)	1,8 Cineol	4.00 µl	MB	MB
		2.00 µl	MB	MB
		1.00 µl	E	MB
		0.50 µl	–	B
AE <i>Thymus vulgaris</i> (AETV-L)	Linalol	4.00 µl	ME	B
		2.00 µl	–	M
		1.00 µl	–	–
		0.50 µl	–	–
AE <i>Origanum vulgare</i> (AEOV-)	–	4.00 µl	M	MB
		2.00 µl	ME	B
		1.00 µl	–	B
		0.50 µl	–	B
AE <i>Thymus zygis</i> (AETZ-T)	Timol	4.00 µl	MB	MB
		2.00 µl	M	MB
		1.00 µl	ME	B
		0.50 µl	–	M
H <i>Thymus vulgaris</i> (HTV-T)	Timol	2.00 ml	M	MB
		1.00 ml	ME	MB
		0.50 ml	ME	ME
		0.25 ml	–	ME
H <i>Origanum vulgare</i> (HOV-)	–	2.00 ml	MB	MB
		1.00 ml	M	MB
		0.50 ml	ME	M
		0.25 ml	-	ME
H <i>Thymus zygis</i> (HTZ-T)	Timol	2.00 ml	MB	MB
		1.00 ml	E	MB
		0.50 ml	ME	ME
		0.25 ml	–	ME

Para ello diariamente se han retirado las semillas germinadas (número variable según el nivel de germinación indicado en la tabla 1) en cada réplica de aceite e hidrolato, transfiriéndolas a nuevas placas de tratamiento (preparadas simultáneamente al bioensayo previo) e identificándolas según su edad, para construir cada nueva réplica se ha homogeneizado la distribución temporal de la germinación.

Dicho seguimiento ha consistido en la cuantificación de plántulas viables (bien desarrolladas y verdes) y de las que no lo son (con clorosis y/o escaso desarrollo del epicotilo o hipocotilo) transcurridos los 5 primeros días de desarrollo, verificando dicha cuantificación transcurridos los 15 días. La proporción media de plántulas no viables en cada tratamiento se ha comparado mediante el ANOVA, y el test DMS (Diferencia Mínima Significativa) *a posteriori* ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayoría de los aceites e hidrolatos afectaron al desarrollo inicial de las plántulas de las dos especies a la dosificación más elevada estudiada, reduciendo su viabilidad, que resultó muy baja (0-3.70%); con la excepción del aceite de romero para *Rumex obtusifolius* L. en el que la mayor parte (99%) fueron viables (motivo por el que no se han ensayado dosificaciones más bajas) (Tabla 2).

Al reducir la dosificación, inicialmente se mantuvo dicho efecto fitotóxico en la mayoría de los aceites e hidrolatos de las dos especies, que presentaron un nivel bajo o muy bajo de plántulas viables (0-12.15%); con la excepción de aceite de tomillo linalol, con una proporción muy elevada (98.96%). Con la tercera dosificación continuó apreciándose la toxicidad de todos los productos en las plántulas de *Spergula arvensis*, pero no en las de *Rumex obtusifolius*, con una viabilidad muy baja o baja en los aceites de orégano y tomillo timol (2.22-26.98%), pero media o elevada en los hidrolatos (37.13-82.29%). Finalmente, en la dosificación más baja, realizada únicamente en *Spergula arvensis*, la proporción de plántulas viables resultó media o elevada en casi todos los productos, con la excepción del aceite de orégano, en el que continuó siendo muy baja.

Puesto que la potencial actividad herbicida de aceites e hidrolatos de plantas aromáticas se analiza habitualmente evaluando el nivel de germinación de las semillas de las especies a controlar y/o el crecimiento inicial (5 días) de las plántulas (Verdeguer et al., 2009, 20011; Blázquez and Carbó, 2015), así como mediante la elaboración de índices de vigor de plántulas obtenidos a partir de dichos datos (Hussain and Reigosa, 2014), nuestra aportación requiere realizar, además de los bioensayos dosis-respuesta, una evaluación individualizada del aspecto de las plántulas determinando su capacidad para desarrollar una planta adulta, y los resultados obtenidos demuestran que puede contribuir a caracterizar dicha potencialidad.

En efecto, productos como los hidrolatos con un nivel de germinación elevado o muy elevado tanto en *Rumex obtusifolius* como en *Spergula arvensis*, pueden ser evaluados inicialmente con escasa potencialidad bioherbicida; sin embargo, mientras en la primera la proporción de plántulas viables es media o elevada, en la segunda es muy baja, manifestando una potencialidad mayor según la especie.

La realización de nuevos estudios en esta línea, ampliando tanto los productos evaluados como las especies ensayadas, permitirá determinar en qué medida la viabilidad de las plántulas debe ser considerada en la evaluación de la potencial actividad fitotóxica.

Tabla 2. Plántulas viables (%) de *Rumex obtusifolius* y *Spergula arvensis* en cada uno de los aceites e hidrolatos estudiados en dosificaciones decrecientes a los cinco días de desarrollo. AEOV-: aceite esencial de *Origanum vulgare*; AERO-C: aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* cineol; AETV-L: aceite esencial de *Thymus vulgaris* linalol; AETZ-T: aceite esencial de *Thymus zygis* timol; HOV-: hidrolato de *Origanum vulgare*; HTV-T: hidrolato de *Thymus vulgaris* timol; HTZ-T: hidrolato de *Thymus zygis* timol

Producto	Dosis	Plántulas viables (%)	
		<i>Rumex obtusifolius</i>	<i>Spergula arvensis</i>
C	2.00 ml	98.99±1.01 ^a	100.00±0.00 ^a
AERO-C	4.00 µl	99.19±0.81 ^a	22.22±22.22 ^b
	2.00 µl	—	100±0.00 ^c
	1.00 µl	—	—
	0.50 µl	—	—
AETV-L	4.00 µl	3.70±3.70 ^b	—
	2.00 µl	98.96±1.04 ^a	13.33±6.67 ^b
	1.00 µl	—	41.67±8.33 ^c
	0.50 µl	—	87.50±7.22 ^d
AEOV-	4.00 µl	—	—
	2.00 µl	—	—
	1.00 µl	2.22±2.22 ^b	0.00±0.00 ^b
	0.50 µl	—	0.00±0.00 ^b
AETZ-T	4.00 µl	—	—
	2.00 µl	0±0.00 ^b	—
	1.00 µl	26.98±12.10 ^c	0.00±0.00 ^b
	0.50 µl	—	41.35±14.24 ^c
HTV-T	2.00 ml	0±0.00 ^b	—
	1.00 ml	0±0.00 ^b	—
	0.50 ml	37.13±8.92 ^c	0.00±0.00 ^b
	0.25 ml	—	51.34±1.16 ^c
HOV-	2.00 ml	0.00±0.00 ^b	—
	1.00 ml	12.15±4.64 ^c	0.00±0.00 ^b
	0.50 ml	82.29±3.23 ^d	3.93±2.70 ^b
	0.25 ml	—	86.73±9.63 ^c
HTZ-T	2.00 ml	—	—
	1.00 ml	6.35±3.86 ^b	—
	0.50 ml	51.02±4.12 ^c	0.00±0.00 ^b
	0.25 ml	—	95.00±4.19 ^a

4. REFERENCIAS

- Blázquez MA & Carbó E (2015). Control of *Portulaca oleracea* by boldo and lemon essential oils in different soils. *Industrial Crops and Products*, 515-521.
- Hussain MI & Reigosa M (2014). Evaluation of herbicide potential of sesquiterpene lactone and flavonoid: impact on germination, seedling growth indices and root length in *Arabidopsis thaliana*. *Pakistan Journal of Botany*, 46, 995-1000.
- Pinheiro PF, Costa AV, Alves TD, Gaiter IN, Pinheiro CA, Pereira AF, OLiveira CMR and Fontes MMP (2015). Phytotoxicity and cytotoxicity of essential oil from leaves of *Plectranthus amboinicus*, carvacrol, and Thymol in plant bioassays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 8981-8990.
- Santos CA, Cardodo MD, Moreira ML, Silva AC and de Andrade J (2015). Chemical characterisation and allelopathic potential of essential oils from leaves and rhizomes of White ginger. *Ciencia Agronomica*, 46, 555-562.
- Torres L, Díaz-Vizcaíno EA and Rigueiro A (2014). Effect of blue gum, silver wattle and common gum cistus extracts on seed germination and seedlings development of *Parietaria judaica* L. *Organic Agriculture. International Symposium*. Pedrol N, Puig CG and Souza-Alonso P, p. 36. Tórculo Comunicación Gráfica S.A., Santiago de Compostela.
- Torres L, Díaz-Vizcaíno EA and Rigueiro A (2016). Efecto de hidrolatos de romero y tomillo sobre la germinación y el desarrollo de plántulas de *Parietaria judaica* L. *XII Congreso SEAE*. Sociedad Española de Agricultura Ecológica/Sociedad Española de Agroecología (SEAE), pp. 200-207. IMAG-Impressions S.L., Valencia.
- Verdeguer M, Blázquez A and Boira H (2009). Phytotoxic effects of *Lantana cámara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriocephalus africanus* essential oils in weeds of Mediterranean summer crops. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37, 362-369.
- Verdeguer M, Blázquez A and Boira H (2011). Chemical composition and herbicidal activity of the essential oil from a *Cistus ladanifer* L. population from Spain. *Natural Product Research*, 26, 1602-1609.

The evaluation of the initial development of seedlings contributes to the determination of the bioherbicide potential of oils and hydrolates of aromatic species

Summary: Seedling development of two weed species has been studied during fifteen days on germinated seeds obtained in bioassays after applying decreasing concentrations of four commercial essential oils and three hydrolates (oregano, rosemary and thyme) and their chemotypes, which were tested for their herbicide potential. Viable (green coloured, well developed) and no viable (chlorosis and/or poor hypocotyl or epicotyl development) seedlings have been quantified. The results show that essential oils and/or hydrolates which showed little herbicide potential, especially at low concentrations, when considering the germination level, show high potential when analysing initial seedling development.

Keywords: weeds, phytotoxicity, *Rumex obtusifolius* L., *Spergula arvensis* L., *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* Loefl. ex L.

Evaluación de la potencialidad bioherbicida de orégano, romero y tomillo sobre la germinación de *Rumex obtusifolius* L. y *Spergula arvensis* L.

Lucía Torres^{1,2,✉}, Elvira A. Díaz Vizcaíno^{1,3}, Antonio Rigueiro²

¹Departamento de Botánica, Escuela Politécnica Superior, Universidade de Santiago de Compostela, 27002-Lugo

²Departamento de Producción Vegetal y Proyectos de Ingeniería, Escuela Politécnica Superior, Universidade de Santiago de Compostela, 27002-Lugo

³Instituto de Biodiversidad Agraria y Desarrollo Rural, Universidade de Santiago de Compostela, 27002-Lugo

✉ lucia.torres@usc.es

Resumen: Se han evaluado cuatro aceites y tres hidrolatos quimiotipados comerciales de orégano, romero y tomillo, con el objetivo de detectar si presentan actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas de *Rumex obtusifolius* L. y *Spergula arvensis* L., y si por lo tanto se podría incorporar su utilización a los tratamientos de control de malas hierbas, contribuyendo así a una agricultura sostenible. Se han realizado bioensayos sobre semillas de ambas especies, en concentraciones decrecientes de cada producto (primera fase) y, posteriormente, en agua (segunda fase). La mayoría de los aceites e hidrolatos inhiben fuertemente la germinación de las semillas en concentración elevada; manteniendo dicha inhibición solamente en una de ellas en las concentraciones más bajas analizadas. Tras la exposición al aceite/hidrolato, se aprecia una recuperación muy baja o nula de la germinación de las semillas.

Palabras clave: fitotoxicidad, semillas, *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* Loefl. ex L.

1. INTRODUCCIÓN

Los compuestos fitotóxicos de las plantas son productos naturales que pueden ser una alternativa frente a los herbicidas y agroquímicos convencionales, cuyos efectos negativos relativos a resistencia de malas hierbas, degradación del suelo y ambientales, así como sobre los seres vivos son cada vez más evidentes, contribuyendo a la sostenibilidad de los sistemas de producción agrícola (Dayan et al., 2009).

El efecto fitotóxico de los aceites esenciales, cuyos compuestos pueden encontrarse en bajas concentraciones también en los hidrolatos, se ha encontrado en numerosas especies, produciendo un retraso o una inhibición de la germinación y del desarrollo inicial (longitud y biomasa) de las plántulas (Verdeguer et al., 2011; Blázquez and Carbó, 2015; Santos et al., 2015), como consecuencia de su efecto fisiológico que puede afectar tanto al proceso fotosintético, como a la actividad respiratoria de las plántulas, así como al metabolismo energético (Singh et al., 2004; Setia et al., 2007).

Estudios realizados con cuatro aceites (datos no publicados) y tres hidrolatos quimiotipados comerciales de orégano, tomillo y romero (Torres et al., 2014, 2016), han demostrado potencialidad fitotóxica sobre las semillas de *Parietaria judaica* L., por lo que se han evaluado nuevamente, con el objetivo de detectar si alguno de ellos presenta actividad fitotóxica sobre la germinación de las semillas de las plantas de *Rumex obtusifolius* L. y *Spergula arvensis* L., y si se podría incorporar por tanto su utilización a los tratamientos de control de malas hierbas, contribuyendo así a una agricultura sostenible.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se recogieron frutos de *Rumex obtusifolius* y *Spergula arvensis* a finales del pasado verano en la finca de prácticas del *campus* universitario de Lugo, que se han almacenado en condiciones ambientales en el exterior, hasta la realización de los tratamientos. Los cuatro aceites y tres hidrolatos comerciales de orégano, romero y tomillo se han adquirido en diferentes empresas y su composición se presenta en la tabla 1.

Tabla 1. Productos comerciales (aceites esenciales –AE- e hidrolatos –H-) utilizados en los bioensayos de fitotoxicidad, indicando empresa suministradora y caracterizando las especies quimiotipadas (*Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L. y *Thymus zygis* Loeff. ex L.)

Producto	Casa Comercial	Quimiotipo
AE <i>Origanum vulgare</i> L. (AEOV-)	Esencias Martínez Lozano, S.A.	–
AE <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (AERO-C)	Marnys-Martínez Nieto, S.A.	1,8 Cineol
AE <i>Thymus vulgaris</i> L. (AETV-L)	Marnys-Martínez Nieto, S.A.	Linalol
AE <i>Thymus zygis</i> Loeff. ex L. (AETZ-T)	Esencias Martínez Lozano, S.A.	Timol
H <i>Origanum vulgare</i> L. (HOV-)	Oshadhi España	–
H <i>Thymus vulgaris</i> L. (HTV-T)	Esencias Martínez Lozano, S.A.	Timol
H <i>Thymus zygis</i> Loeff. ex L. (HTZ-T)	Artesanía Ágave	Timol

Para evaluar el efecto de los cuatro aceites y tres hidrolatos sobre la germinación de las semillas de *Rumex obtusifolius* (en este caso frutos monoespermos) y *Spergula arvensis*, se ha diseñado un bioensayo dosis-respuesta, en condiciones controladas (fotoperiodo de 18 horas luz, a 22°C, y 6 horas oscuridad, a 18°C), que según estudios preliminares resultaron muy adecuadas para su germinación (datos no publicados).

En cada tratamiento se ha ensayado inicialmente una dosificación máxima, de 4 µl en el caso de los aceites, y la del producto sin dilución (100%) en los hidrolatos, y posteriormente, cuando se observó la eficacia del mismo (por inhibición de la germinación), tres dosificaciones decrecientes (2, 1, 0.5 µl para un volumen de 2 ml, en el caso de los aceites, y 50, 25 12.5% en los hidrolatos), de manera similar a las utilizadas en estudios con aceites (Verdeguer et al., 2009, 2011) y con hidrolatos (Valiño, 2013); así como un control, únicamente en agua destilada (2 ml para dicho volumen).

Cada ensayo se ha realizado en dos fases: una fase de producto (Fase I), las semillas estuvieron en presencia del producto en cada dosificación; y una siguiente fase de agua (Fase II), las semillas aparentemente viables al final de la fase anterior (solo cuando su proporción fue superior al 10%), fueron transferidas a nuevas placas y estuvieron únicamente en presencia de agua, en dosificación constante, simulando un hipotético lavado del producto, analizando así su posible recuperación, de manera similar a los estudios del efecto de la salinidad o el estrés hídrico sobre la germinación de las semillas (Guja et al., 2010); procedimiento que ha sido aplicado en estudios similares a éste en *Parietaria judaica* L. (Torres et al., 2014, 2016).

En cada tratamiento se han preparado cuatro réplicas de 25 semillas de las especies estudiadas, colocadas en placas Petri de 9 cm de diámetro sobre doble capa de papel de filtro, hume-

decido con la correspondiente dosificación, y cerradas con parafilm para evitar variaciones de la misma. El seguimiento diario de la germinación se ha realizado durante cuatro semanas, tiempo suficiente para que se estabilizara la dinámica de germinación.

Los porcentajes finales medios de germinación, se han comparado mediante el ANOVA o pruebas T, según resultase procedente, y el test DMS (Mínima Diferencia Significativa) *a posteriori* ($p < 0,05$), previa transformación «arco seno \sqrt{p} » (donde p: valor de germinación en tanto por uno), para garantizar su normalidad y verificación de la homogeneidad de su varianza mediante la prueba de Levene; realizado con el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 20 para WINDOWS, con licencia de la USC.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La mayoría de los aceites e hidrolatos inhibieron fuertemente la germinación de las semillas de las dos especies estudiadas a la dosificación más elevada ensayada, que se redujo desde un nivel muy elevado en el control hasta niveles muy bajos (Tabla 2). Dicha reducción se apreció significativamente con todos los productos en *Spergula arvensis*, mientras que en *Rumex obtusifolius* no resultó evidente con el aceite de romero, con el que la germinación se mantuvo muy elevada, ni con el aceite de tomillo linalol y el hidrolato de orégano, con los que se mantuvo en un nivel elevado que difirió significativamente del control.

A medida que disminuyó la dosificación también lo hizo la actividad fitotóxica de reducción de la germinación, de forma más apreciable en *Rumex obtusifolius* a partir de la segunda dosificación, con la que sin embargo se mantuvo un nivel muy bajo en *Spergula arvensis*; de modo que la germinación se mantuvo, en su menor dosificación, en niveles muy elevados, similares al control, con casi todos los productos. Esta tendencia de pérdida de eficacia en función de la dosificación, en mayor o menor medida, no se observa en *Spergula arvensis* en tomillo linalol, donde cabría esperar dicha tendencia ensayando dosificaciones aún menores, habitualmente no utilizadas en estudios de fitotoxicidad. Entre todos los productos destacan el aceite de tomillo timol y el de orégano, que mantuvieron su eficacia, con niveles muy bajos y bajos de germinación respectivamente en la menor dosificación; en la que en el resto de los productos se observó una reducción de la eficacia.

Los niveles de inhibición de la germinación producidos en las diferentes dosificaciones de los aceites e hidrolatos se mantuvieron en la segunda fase, cuando las semillas fueron lavadas y transferidas a agua, puesto que la recuperación de la capacidad germinativa resultó muy baja, o incluso nula; de modo que la germinación acumulada en esta fase prácticamente no difirió de la detectada en la primera, manteniéndose las diferencias significativas apreciadas previamente.

Es de señalar que durante el tiempo de realización de los ensayos (un mes en cada fase), se ha alcanzado un nivel de germinación muy elevado de las dos especies estudiadas, tanto en alguna de las dosificaciones analizadas de los diferentes productos como en el control, lo que evidencia la idoneidad de dichas especies para los bioensayos de fitotoxicidad.

La actividad fitotóxica de los aceites de diferentes especies de tomillo también ha sido encontrada por Ali et al. (2014), Kashkooli and Saharkhiz (2014) y Onaran et al. (2014) en *Medicago sativa* L., *Lepidium sativum* L. y *Triticum aestivum* L., entre otras, la del romero es bien conocida (Chen et al., 2013), y la de los hidrolatos lo es menos (Valiño, 2013); cuyos resultados, como en otros estudios, establecen que la actividad fitotóxica depende de la composición en aceites esenciales de cada producto, de la dosis aplicada y de la especie de mala hierba estudiada.

Tabla 2. Germinación media acumulada (G) de *Rumex obtusifolius* y *Spergula arvensis* en cada una de las fases (Fase I: fase de producto; Fase I+II: fase de producto+agua), para los cuatro aceites y tres hidrolatos estudiados en dosificaciones decrecientes. AEOV-: aceite esencial de *Origanum vulgare*; AERO-C: aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* cineol; AETV-L: aceite esencial de *Thymus vulgaris* linalol; AETZ-T: aceite esencial de *Thymus zygis* timol; HOV-: hidrolato de *Origanum vulgare*; HTV-T: hidrolato de *Thymus vulgaris* timol; HTZ-T: hidrolato de *Thymus zygis* timol

Producto	Dosis	<i>Rumex obtusifolius</i>		<i>Spergula arvensis</i>	
		Fase I (P) G(%)	Fase I+II (P+A) G(%)	Fase I (P) G(%)	Fase I+II (P+A) G(%)
C	2.00 ml	94±2.00 ^a	-	89±2.52 ^a	-
AEOV-	4.00 µl	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	2.00 µl	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	1.00 µl	66±6.83 ^c	66.00±6.83 ^c	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	0.50 µl	-	-	11±5.74 ^c	11±5.74 ^c
AERO-C	4.00 µl	94±2.58 ^a	94±2.58 ^a	8±1.63 ^b	16±3.65 ^b
	2.00 µl	-	-	43±5.74 ^c	49±6.61 ^c
	1.00 µl	-	-	-	-
	0.50 µl	-	-	-	-
AETV-L	4.00 µl	47±6.19 ^b	47±6.19 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	2.00 µl	92±1.63 ^a	92±1.63 ^a	20±7.30 ^c	22±8.41 ^c
	1.00 µl	-	-	15±3.42 ^c	24±3.65 ^c
	0.50 µl	-	-	14±3.46 ^c	20±3.65 ^c
AETZ-T	4.00 µl	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	2.00 µl	31±1.91 ^c	31±1.91 ^c	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	1.00 µl	99±1.00 ^a	99±1.00 ^a	14±3.46 ^c	14±3.46 ^c
	0.50 µl	-	-	52±7.38 ^d	52±7.38 ^d
HOV-	2.00 ml	46±8.87 ^b	46±8.87 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	1.00 ml	96±0.00 ^a	96±0.00 ^a	1±1.00 ^b	1±1.00 ^b
	0.50 ml	96±2.83 ^a	96±2.83 ^a	95±2.52 ^a	95±2.52 ^a
	0.25 ml	-	-	93±3.42 ^a	93±3.42 ^a
HTV-T	2.00 ml	1±2.00 ^b	4±1.63 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	1.00 ml	46±7.39 ^c	46±7.39 ^c	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	0.50 ml	99±1.00 ^a	99±1.00 ^a	43±6.61 ^c	43±6.61 ^c
	0.25 ml	-	-	91±1.00 ^a	91±1.00 ^a
HTZ-T	2.00 ml	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	1.00 ml	68±5.89 ^c	68±5.89 ^c	0±0.00 ^b	0±0.00 ^b
	0.50 ml	94±2.58 ^a	94±2.58 ^a	92±2.83 ^a	92±2.83 ^a
	0.25 ml	-	-	87±3.79 ^a	87±3.79 ^a

Estos resultados confirman nuestra hipótesis inicial, ya que todos los aceites e hidrolatos estudiados han presentado actividad fitotóxica, en la mayor dosificación analizada, sobre la germinación de las semillas de *Spergula arvensis*, evidenciando así su potencialidad como bioherbicidas en agricultura ecológica, entre ellos solamente quedarían excluidos los aceites esenciales de tomillo, linalol y romero, en el caso de *Rumex obtusifolius*; destacando entre ellos aquellos en los que la germinación se produce en niveles bajos o muy bajos en las dos primeras dosificaciones estudiadas, que no se incrementan mucho más en la siguiente.

4. REFERENCIAS

- Ali IB, Bahri R, Chaouachi M, Boussaid M and Harzallah-Skhiri F (2014). Phenolic content, antioxidant and allelopathic activities of various extracts of *Thymus numidicus* Poir. organs. *Industrial Crops and Products*, 62, 188-195.
- Blázquez MA & Carbó E (2015). Control of *Portulaca oleracea* by boldo and lemon essential oils in different soils. *Industrial Crops and Products*, 515-521.
- Chen F, Peng SL, Chen BM, Ni GY and Liao HX (2013). Allelopathic potential and volatile compounds of *Rosmarinus officinalis* L. against weeds. *Allelopathy Journal*, 32, 57-66.
- Dayan FE, Cantrell CL and Duke SO (2009). Natural products in crop protection. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 17, 4022-4034.
- Guja LK, Merritt DJ and Dixon KW (2010). Buoyancy, salt tolerance and germination of coastal seeds: implications for oceanic hydrochorous dispersal. *Functional Plant Biology*, 37, 1175-1186.
- Kashkooli AB & Saharkhiz MJ (2014). Essential Oil Compositions and Natural Herbicide Activity of Four Denaei Thyme (*Thymus daenensis* Celak) Ecotypes. *Journal of essential oil bearing plants*, 17, 859-874.
- Onaran A, Yilar M, Belguzar S, Bayan Y and Aksit H. (2014). Antifungal and Bioherbicidal Properties of Essential Oils of *Thymus fallax* Fish & Mey., *Origanum vulgare* L. and *Mentha dumetorum* Schult. *Asian Journal of Chemistry*, 26, 5159-5164.
- Santos CA, Cardoso MD, Moreira ML, Silva AC and de Andrade J (2015). Chemical characterisation and allelopathic potential of essential oils from leaves and rhizomes of White ginger. *Ciencia Agronomica*, 46, 555-562.
- Setia N, Batish DR, Singh HP and Kohli RK (2007). Phytotoxicity of volatile oil from *Eucalyptus citriodora* against some weedy species. *Journal of Environmental Biology*, 28, 63-66.
- Sing HP, Batish DR, Kaur S, Vaid S and Kohli RK (2004). Weed suppressing ability of some monoterpenes. *Journal of Plant diseases and protection*, 19, 821-828.
- Torres L, Díaz-Vizcaíno EA and Rigueiro A (2014). Effect of blue gum, silver wattle and common gum cistus extracts on seed germination and seedlings development of *Parietaria judaica* L. *Organic Agriculture. International Symposium*. Pedrol N, Puig CG and Souza-Alonso P, p. 36. Tórculo Comunicación Gráfica S.A., Santiago de Compostela.
- Torres L, Díaz-Vizcaíno EA and Rigueiro A (2016). Efecto de hidrolatos de romero y tomillo sobre la germinación y el desarrollo de plántulas de *Parietaria judaica* L. *XII Congreso SEAE*. Sociedad Española de Agricultura Ecológica/Sociedad Española de Agroecología (SEAE), pp. 200-207. IMAG-Impressions S.L., Valencia.
- Valiño E (2013). *Estudio del potencial bioherbicida del hidrolato de Cistus ladanifer*. Trabajo Fin de Máster. Universidad de Vigo.
- Verdeguer M, Blázquez A and Boira H (2009). Phytotoxic effects of *Lantana cámara*, *Eucalyptus camaldulensis* and *Eriosephalus africanus* essential oils in weeds of Mediterranean summer crops. *Biochemical Systematics and Ecology*, 37, 362-369.
- Verdeguer M, Blázquez A and Boira H (2011). Chemical composition and herbicidal activity of the essential oil from a *Cistus ladanifer* L. population from Spain. *Natural Product Research*, 26, 1602-1609.

Evaluation of bioherbicide potential of oregano, rosemary and thyme on germination of *Rumex obtusifolius* L. and *Spergula arvensis* L.

Summary: Four commercial essential oils and three hydrolates and their chemotypes of oregano, rosemary and thyme have been studied with the objective of exploring their phytotoxic activity on seeds germination of *Rumex obtusifolius* L. and *Spergula arvensis* L., and considering whether they could be used incorporated in control treatments of these weeds, thus contributing to a sustainable agriculture. Bioassays have been carried out on seeds of both species, applying initially decreasing concentrations of each product (first phase), and subsequently water (second phase). Most of the oils and hydrolates inhibit strongly the germination of the seeds at high concentration, maintaining this inhibition only in *Spergula* at the lowest concentrations. After exposure to oil/hydrolate germination recovery is very low or null for all the oils and hydrolates analysed.

Keywords: phytotoxicity, seeds, *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* Loeff. ex L.

Environmental impact and energy demand comparison of vineyard by the life cycle assessment methodology

Priya Devasirvatham^{1,2,✉}, Carles M. Gasol^{1,2}, José Dorado³, César Fernández-Quintanilla³

¹Inèdit Innovació SL, Research Park of the Universitat Autònoma de Barcelona, Campus UAB, 08193, Bellaterra, Catalonia, Spain.

²SosteniPrA (ICTA-IRTA-Inèdit), Institute of Environmental Science and Technology (ICTA), Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Campus UAB, 08193 Bellaterra, Barcelona, Catalonia, Spain.

³Institute of Agricultural Sciences (ICA), CSIC, Serrano 115b, 28006, Madrid, Spain.

✉ pdevasirvatham@email.wm.edu

Summary: This research compared five viticulture management scenarios, ranging from intensive (chemically and mechanically) to low-input, and two organic management methods. It analysed the environmental impacts from each system using Life Cycle Assessment for two years. The main comparison was done using as functional unit one kilogram of grapes; however, a comparison per hectare was also included to more accurately represent how the systems interacted with the environment. The results show that the production and application of mineral fertilizers had a higher environmental impact than any other input or process. In scenarios where mineral fertilizer was not applied, electricity used to pump groundwater for irrigation created the highest impact. Regarding the weed management processes, the application of glyphosate created more impact than any other related process. The intensive management scenarios generated more impact than the organic or low-input scenarios; they also produced a higher yield, with the exception of Scenario Organic 1, which demonstrated an unusually high yield for an organically managed plot.

Keywords: viticulture, LCA, weed management, pesticides, fertilizer.

1. INTRODUCTION

Major enemies of the vines, apart from climatic factors, are diseases, pest insects and invasive weeds. In order to combat them a set of pesticides are being applied according to every specific problem. Recently, studies have been published in regards to the carcinogenic side effects and toxic by-products of such chemicals and the potential harm they could cause to humans and the environment (EPA, 2016; WHO, 2016). In response, wine growers and producers have begun the switch to alternative agricultural methods such as organic and integrated management. Organic farmers use a variety of mechanical procedures and regulated organic and inorganic products to manage these pests. So far, few environmental comparison studies have been conducted on weed management methods (Villanueva- Rey et al., 2014; Rouault et al., 2016). This study seeks to quantify, using Life Cycle Assessment (LCA), the major environmental impacts caused by different vineyard production systems utilized in the region D.O. (Denominación de Origen) Madrid. The main goal of this study is to shed light on the environmental impacts of weed management practices in viticulture in Spain.

2. MATERIAL AND METHODS (ISO, 2006a; ISO, 2006b)

2.1. Functional Units. The main functional unit (FU) was one kg of grapes. A secondary FU, one hectare of land, was also included in the study to better represent how the different systems interacted with their environment.

2.2. System Boundaries. The system under study considered all agricultural activities that took place on the vineyard during the two years of the study including fertilization, pest

management and other field operations. The use, production, repair and maintenance of all agricultural machinery was also included. Excluded from the analysis were the vine nursery stage, vineyard infrastructure, human labour, and any activity that took place upon the grapes leaving the property.

2.3. Management Scenarios. The Chemically Intensive (*CI*) scenario involved the greatest quantity of agrochemicals applied. The Low Input (*LO*) scenario involved a minimal amount of chemical and mechanical inputs. The Mechanically Intensive (*MI*) scenario used some agrochemicals but relied on mechanical operations to manage weeds. The two Organic scenarios (*O1* & *O2*) only used organically regulated chemicals and products. In *O1* the row and inter-row area was tilled whereas in *O2*) was maintained with a natural plant cover. The scenarios are described in greater detail in Table 1.

2.4. Data Acquisition. All primary data was taken from an experimental drip-irrigated vineyard located in Colmenar de Oreja, Madrid. The vineyard is located in the «Denominacion de Origen» of Madrid in the subregion of Arganda. It is located at an altitude of 720 m above sea level. The soil is a mixture of clay and limestone and has a pH range of 7.5-8.5. Average annual rainfall is 300 mm. The vines (var. Tempranillo) are planted 1.2 m apart and in rows 2.4 m wide and 32 m long.

2.5. Direct Emissions. Emissions from fertilizers were calculated from a mixture of sources. Nitrogen emissions were based on IPCC 2006 principles and the following equation:

$$N_2O = 44/28 * (0.01 (N_{tot} + 14/17*NH_3 + 14/46*NO_x) + 0.0075 * 14/62*NO_3)$$
, where N_{tot} is the total nitrogen found in the fertilizer (IPCC, 2006). NO_x and NH_3 emissions from the nitrogen-based mineral fertilizer were calculated using relevant emission factors from the European Environmental Agency Air Pollutant Emission Inventory Guidebook 2016 (EMEP/EEA, 2016b). NO_x emissions from organic, compost-based fertilizer used the same assumptions as the mineral fertilizer. However, NH_3 emissions were calculated using the following equation (EEA, 2013): $kg NH_3N = kg N \cdot ha^{-2} * \%TAN * EF$ spreading

For EF spreading an average value was used because no relevant emission factor for composted poultry manure was available (EEA, 2013). The value for % TAN was derived from a publication on using manure as compost (UMN, c2017).

Previous research indicated that most pesticide emissions are released to the soil. We assumed that 94% of emissions went to the soil and the remaining 6% went to the air (Fantke 2012).

Direct emissions from field operations such as diesel consumption by agricultural machinery were calculated using the Ecoinvent database (2007). Machinery use was calculated with the following equation (Nemecek, 2004): $AMF = W * OT * LT^{-1}$, where AMF corresponds to the amount of machinery used on the field when W is the weight of the machinery, tractor, or equipment used (kg), OT is the time spent for each operation, and LT is the lifetime of the machinery.

2.6. Life Cycle Inventory. Tables 1 and 2 provide an inventory of inputs and outputs for the different management scenarios.

Table 1. Inventory of inputs per hectare for all vineyard management scenarios for the years 2015 and 2016

Inputs	Scenario Year	C1		LO		MI		O1		O2	
		2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016
Products [kg]											
Glyphosate 36% HERBOLIX		13.6	13.6	0.1	0.1	-	-	-	-	-	-
Tebuconazole 25% EW FOLICLIR 1.9		0.6	1.9	-	-	1.9	0.6	-	-	-	-
Trifloxystrobin 50% WG FLINT		-	0.2	-	0.2	-	0.2	-	-	-	-
Micronized Sulfur 99%		-	-	-	-	-	-	120	120	120	120
Mineral Fertilizer (NPK 7-14-28)		-	600	-	-	-	600	-	-	-	-
Organic Fertilizer (Compost 4-3-3)		-	-	-	-	-	-	-	1200	-	-
Diesel		98.3	110.8	29.4	32.8	70.8	84.8	62.2	74.2	28.6	28.6
Mechanical Activities [Frequency: x1 = 1 time, x2 = 2 times etc.]											
Pre-Prize		x1	x1	-	-	x1	x1	x1	x1	-	-
Till		x3	x3	-	-	x3	x3	x3	x3	-	-
Mow Plant Cover		-	-	x1	x2	x2	x2	-	-	x2	x2
Interrow Cultivation		-	-	-	-	x2	x2	-	-	x1	x1
Harvest		x1	x1	-	-	x1	x1	-	-	-	-
Irrigation [kWh]											
Electricity Consumed		450.8	579.6	450.8	579.6	450.8	579.6	450.8	579.6	450.8	579.6
C1 (Chemicals Intensive): Rows and inter-vine areas are tilled. Three chemicals, 5 mechanical activities and mineral fertilizer applied. LO (Low Input): Spontaneous, natural plant cover grows. Herbicide and two fungicides. MI (Mechanically Intensive): The rows alternate between natural plant cover and tilling. Every three years the rows are rotated. 3 mechanical activities, two fungicides and a mineral fertilizer are applied. O1 (Organic 1): The rows and inter-vine areas are tilled. Composted poultry manure fertilizer is applied. O2 (Organic 2): The rows have a natural plant cover and the inter-vine area is tilled. Y1 and Y2 are identical.											

Table 2. Inventory of outputs in kg/ha. Emissions resulting from application of phytosanitary and nutrient management products on the vineyard in all pest and weed management scenarios for the years 2015 and 2016

Outputs	Scenario Year	C1		LO		MI		O1		O2	
		2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016
Glyphosate	To soil (94%)	4.61	4.61	2.30	2.30	-	-	-	-	-	-
	To air (6%)	0.29	0.29	0.15	0.15	-	-	-	-	-	-
Tebuconazole	To soil (94%)	0.45	0.15	0.45	-	0.45	0.15	-	-	-	-
	To air (6%)	0.03	0.01	0.03	-	0.03	0.01	-	-	-	-
Trifloxystrobin	To soil (94%)	-	0.07	-	0.07	-	0.07	-	-	-	-
	To air (6%)	-	0.005	-	0.005	-	0.005	-	-	-	-
Micronized Sulfur	To soil (94%)	-	-	-	-	-	-	110.54	110.54	110.54	110.54
	To air (6%)	-	-	-	-	-	-	7.06	7.06	7.06	7.06
Mineral Fertilizer (NPK 7-14-28)	NH3	-	3.95	-	-	-	3.95	-	-	-	-
	N2O	-	0.06	-	-	-	0.06	-	-	-	-
	NOX	-	2.38	-	-	-	2.38	-	-	-	-
Organic Fertilizer (Composted Poultry Manure 4-3-3)	NH3	-	-	-	-	-	-	-	12.41	-	-
	N2O	-	-	-	-	-	-	-	0.17	-	-
NOX	-	-	-	-	-	-	-	-	2.32	-	-

2.7. Impact Category Selection. The life cycle impact assessment (LCIA) was performed using Recipe H Midpoint for the following impact categories: Climate Change (CC), Ozone Depletion (OD), Terrestrial Acidification (TA), Freshwater Eutrophication (FE), Marine Eutrophication (ME), and Water Depletion (WD). Additionally USEtox method was used to

calculate Human Toxicity, both Cancer (HT-C) and Non-Cancer (HT) and Freshwater Eco-toxicity (FET). CEDA methodology was used to calculate the Energy Demand (ED) of each scenario. Simparo 8.2 was the software utilized to compute the results. (ISO 2006a, ISO 2006b).

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Overall analysis. When analysing the overall impact using an hectare as the Functional Unit (FU), the order of scenarios, from the lowest to the highest, was: *O2*, *LO*, *O1*, *MI*, *CI*. Scenario *O2* performed the best in the categories FE, HT, and HT-C. Scenario *LO* showed the lowest impact for CC, OD, TA, WD, ME and ED while scenario *O1* had the lowest impact on HT, HT-C and FET. The scenario *CI* performed the worst for all impact categories. When the impacts were analysed using one kg of grapes as the FU, the results changed due to the contrasting grape production levels from each scenario (Table 3). In this case the order of scenarios, from the lowest to the highest, was: *O1*, *LO*, *O2*, *MI*, *CI*. *MI* and *CI* were the two most impacting scenarios, with *MI* affecting particularly to CC, TA, ME, WD, and HT and *CI* affecting to FE, HT-C and FET. The scenario *O2* has the highest value for OD and ED. Both scenarios *LO* and *O1* have intermediate and low impact across all impact categories. *LO* shows the lowest values for CC, OD, TA, and ED while *O1* shows the lowest impact for FE, WD and FET. *O2* shows the best results for ME, HT and HT-C.

Table 3. Grape production (tn ha⁻¹ yr⁻¹) for each scenario

Scenario:	CI	LO	MI	O1	O2
2015	12.7	7.7	8.1	10.4	7.1
2016	14.7	12.2	13.5	18.9	8.3

3.2 Analysis per scenario. Figure 1 & 2. Differential contribution to the various environmental impacts in two contrasting scenarios: Chemically Intensive (CI) and Organic with plant cover (O2).

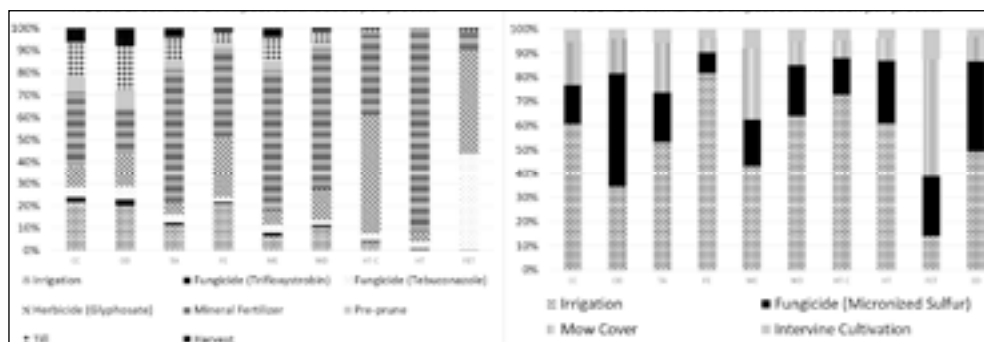


Figure 1. Scenario CI. Impact contribution per process

Figure 2. Scenario O2. Impact contribution per process.

In the Chemically Intensive (*CI*) scenario, mineral fertilizer application was the process with the greatest influence. It was the main contributor to CC(33%), TA(60%), FE(39%), ME(63%), WD(64%) HT-C(54%) and HT(92%). Fertilization, irrigation and soil tillage had similar effect

(~20%) on OD. Irrigation and fertilizing have the highest effect on ED (30 and 24% respectively). The application of the herbicide glyphosate dominates the category HT-C (54%) and shares impact with the fungicide tebuconazole for the category FET (46% and 43% respectively).

In the Low Input (*LO*) scenario, irrigation was the most impacting process, with 37-66% impact in the categories CC, OD, TA, FE, ME, WD and ED. Glyphosate production and application had a strong effect on HT-C (79%) while tebuconazole greatly affected HT (43%) and FET (58%).

In the Mechanically Intensive (*MI*) scenario mineral fertilizer application was the input with the greatest environmental burden. Its impact ranged from 37-95% in all impact categories except for OD, FET and ED which are respectively impacted by irrigation (25%) and tebuconazole application (81%). The ED comes mostly from irrigation (35%) but fertilizer still contributes significantly (27%).

In the Organic 1 (*O1*) scenario the environmental burdens were spread among the varying inputs. Irrigation affected CC (38%), FE (62%), WD (40%), HT-C (52%), HT (46%) and ED (36%). Tillage greatly impacted FET (51%). Spreading of organic fertilizer contributed to TA (64%) and ME (68%). Finally, the application of micronized sulphur was the highest contributor to OD (32%) and a high contributor to ED (27%).

In the Organic 2 (*O2*) scenario, irrigation was the process with the greatest environmental impact. It contributed to CC (61%), TA (53%), FE (82%), ME (43%), WD (64%), HT-C (73%), HT (61%) and ED (49%). The application of micronized sulphur impacted OD (47%) and ED (37%) while mowing the natural plant cover affected FET (48%).

3.3. General conclusions. Applied NPK fertilizers had a greater impact than any other process across all impact categories except for Freshwater Ecotoxicity (FET). Although nitrogen based fertilizers are generally considered necessary, the consequences are the release of GHGs N_2O , NH_3 and NO_x to the air.

The irrigation process was identified as a hot-spot and a high contributor in all the scenarios across all impact categories except for FET. The impact derives from the electricity used to pump water from deep aquifers.

The fungicide tebuconazole and the herbicide glyphosate were two relevant chemical inputs affecting primarily Human Toxicity (HT and HT-C). They were also the main contributor to FET when present.

4. ACKNOWLEDGEMENTS

This research was funded by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (MINECO) under Project AGL2014-52465-C4-1-R. It has been made possible thanks to collaboration with Inèdit Innovació.

5. REFERENCES

- Brentrup F & Kusters J (2000). Methods to estimate potential N emissions related to crop production. Agric. data life cycle assessments. Wedeima, the Hague (Netherlands).
- Chatzisyneon E, Foteinis S and Borthwick AGL (2016). Life cycle assessment of the environmental performance of conventional and organic methods of open field pepper cultivation system. Int. J Life Cycle Assess.

- ISO, 2006a. ISO 14040. Environmental Management – Life Cycle Assessment – Principles and Framework. International Organization for Standardization.
- ISO, 2006b. ISO 14044. Environmental Management – Life Cycle Assessment – Requirements and Guidelines. International Organization for Standardization.
- EEA (2016). Agriculture and climate change. Available at <http://www.eea.europa.eu/signals/signals-2015/articles/agriculture-and-climate-change>. (Last accessed 03.05.17)
- EMEP/EEA (2013). 3.B--Manure management In Air pollutant emission inventory guidebook 2016—technical report no 9/2009. European Environment Agency: Copenhagen.
- EMEP/EEA (2016b). 3.D—Crop production and agricultural In Air pollutant emission inventory guidebook 2016—technical report no 9/2009. European Environment Agency: Copenhagen.
- EPA, Environmental Protection agency (2016). Glyphosate issue paper: Evaluation of carcinogenic potential. EPA's office of pesticide programs.
- Fantke P, Friedrich R, Jolliet O (2012). *Health impact and damage cost assessment of pesticides in Europe*. Environmental International Vol 49:9-17.
- IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) (2006a). In 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Inventories. Vol.4: Agriculture, forestry and other land use, chapter 11: N₂O emissions from managed soils, and CO₂ emissions from lime and urea. Prepared by the National Greenhouse Gas Inventories Programme. In: Eggleston HS, Buendia L, MiwaK, Ngara T, Tanabe K (eds) N₂O Emissions from managed soils and CO₂ emissions from lime and urea application. Published by the Institute for Global Environmental Strategies (IGES), Hayama.
- Nemecek T, HA (2004). *Life Cycle Inventories of Agricultural Production Systems*. 518. *Final Report Ecoinvent 2000 No. 15*. Dübendorf, Suiza: Agroscope FAL Reckenholz and FAT 519 Taenikon, Swiss Centre for Life Cycle Inventories
- Rouault A, Beauchet S, Renaud-Gentie C, Jourjon F (2016). Life cycle assessment of viticultural technical management routes (TMRs): comparison between an organic and an integrated management route. *Journal international des sciences de la vigne et du vin* 50:2:77-89.
- Villanueva-Rey P, Vázquez-Rowe I, Moreira MT, Feijoo G (2014). Comparative life cycle assessment in the wine sector: biodynamic vs. conventional viticulture activities in NW Spain. *Journal of Cleaner Production* 65:330-341.
- WHO, World Health Organization (2016). Pesticide residues in food? Online Q&A. Available at: <http://www.who.int/features/qa/87/en/> Accessed June 18 2017.
- UMN (c2017). Commercial fruit and vegetable production, University of Minnesota Extension. Available at: <http://www.extension.umn.edu/garden/fruit-vegetable/using-manure-and-compost/> Last accessed (03.05.17).

Utilización de análisis de ciclo de vida para comparar los impactos medioambientales y las demandas de energía en un viñedo

Resumen: El estudio compara cinco métodos de gestión de viñedo. Los métodos varían entre intensivo (mecánico y químico), bajo insumo y dos métodos ecológicos. Usando la técnica de Análisis Ciclo de Vida (ACV), los impactos medioambientales de los sistemas han sido evaluados durante dos años. La principal unidad de comparación o unidad funcional es un kilogramo de uva. También se hace la comparación usando una hectárea de terreno para poder analizar cómo repercute la producción en los resultados finales y cuál es el «impacto bruto» al medio de cada sistema. Los resultados muestran que el fertilizante mineral es el insumo con más impacto. En los sistemas donde no aplican fertilizante mineral, la electricidad consumida por la bomba de riego genera el mayor impacto. De todos los procesos utilizados para manejar la mala hierba, la aplicación del herbicida glifosato resultó ser el más impactante. Los manejos intensivos produjeron el rendimiento más alto, pero también el mayor impacto medioambiental. Todo lo anterior con la excepción del sistema Ecológico 1 que ha tenido un rendimiento excepcionalmente alto, lo cual no suele pasar en sistemas de manejo ecológico.

Palabras clave: viticultura, ACV, malas hierbas, fitosanitario, fertilizante.

Las (malas) hierbas como elemento publicitario en el ámbito turístico y comercial

Jordi Recasens¹✉

¹Agrotecnio. ETSEA. Universitat de Lleida. Avda. Rovira Roure 191. 25198-Lleida, [✉jrecasens@hbj.udl.cat](mailto:jrecasens@hbj.udl.cat)

Resumen: Un aspecto poco conocido de las (malas) hierbas es su uso como elemento publicitario en imágenes de catálogos, anuncios o páginas web. En la presente comunicación se aportan diferentes casos donde las (malas) hierbas constituyen un elemento singular en la publicidad. Entre estas especies sobresale la amapola (*Papaver rhoeas*), cuya imagen es utilizada para recrear una gran diversidad de productos, llegando incluso a formar parte de la marca del mismo. La imagen de (malas) hierbas en la publicidad constituye un reflejo de vida, naturaleza y/o color, idea totalmente opuesta a la percepción como agentes nocivos de los sistemas agrícolas.

Palabras clave: anuncio, diseño, logotipo, plantas, márquetin.

1. INTRODUCCIÓN

Las agencias de publicidad suelen utilizar diferentes estrategias a la hora de hacer atractivo el contenido del producto de una empresa. Para ello suelen utilizarse imágenes de distinta índole, especialmente elementos de la naturaleza. Así la presencia de cielos azules, aves en pleno vuelo o animales en actitud cariñosa ayudan en dar resalte a ese objetivo y aportar una visión tierna y próxima al cliente. Cuando se trata de productos de higiene, tanto del hogar como corporal, el uso de imágenes de bosques, prados y especialmente flores, es muy cotidiano, entendiéndose por ello, la relación que existe entre lo sano y limpio con lo natural. Precisamente cuando se trata de productos cuya componente química es importante como detergentes para lavadoras, pastas dentífricas, desodorantes, caramelos etc. se hace especial énfasis en los componentes de origen vegetal aunque éstos sean minoritarios en el producto. Los elementos o paisajes vegetales más utilizados como imágenes publicitarias, suelen ser bosques, prados o detalles de algunas especies aromáticas. Sin embargo, también podemos encontrar elementos publicitarios donde las imágenes utilizadas corresponden a (malas) hierbas, aunque, lógicamente, el mensaje de la publicidad no se refiere a su nocividad como especies de cultivos sino a su cromatismo o como reflejo de proceder de un entorno natural.

Desde hace años, y fruto simplemente de una curiosidad personal, se han ido recogiendo imágenes de tipo publicitario donde las (malas) hierbas son protagonistas. Curiosidad aumentada al constatar que ofrecen una visión y un protagonismo totalmente opuesto y alejado del que se les suele atribuir en un contexto agronómico. Por ello en el título y texto de esta comunicación, se ubica el prefijo «malas» entre paréntesis. Presentamos aquí una selección de las imágenes referidas.

2. CONTEXTO PUBLICITARIO

La colección de imágenes que se ha seleccionado se desglosa, para este análisis, en dos contextos distintos. Por un lado se presentan y comentan aquéllas que tienen una finalidad estrictamente turística, y por otro se muestra una recopilación de imágenes que se destinan para publicar un producto comercial. Las fuentes de donde proceden las imágenes son diversas. Las de tipo tu-

rístico se han obtenido preferentemente de catálogos y páginas web. Las de tipo comercial se han obtenido de catálogos o directamente realizando una fotografía del producto ofrecido a su venta. Debe hacerse constar que esta recopilación no tiene ningún otro objetivo que el de reflejar una realidad publicitaria, y si bien aparece el nombre de diferentes empresas, entidades y localidades no se persigue dar énfasis a ninguna de ellas.

2.1. (Malas) hierbas en la publicidad turística. Para promover los atractivos turísticos de una localidad o región no faltan los elementos vegetales, en especial si se encuentran inmersos en el paisaje. Es obvio que la presencia de malas hierbas en una fotografía que quiere reflejar un área que atesora atractivos turísticos se realiza con fines ajenos a la nocividad de estas especies en los cultivos. Valoramos su presencia por aportar atractivo a esas imágenes, atractivo que suele asociarse con aspectos cromáticos. Por esta razón resulta muy frecuente observar la presencia de la amapola (*Papaver rhoeas*) en las mismas. A decir verdad, debemos comentar que la presencia de colores rojizos no suelen ser frecuentes en el paisaje vegetal. La presencia –o abundancia- de amapolas, constituye una visión realmente singular a pesar de lo cotidiano que puede resultar en nuestras latitudes.

Una de las zonas geográficas donde este elemento está íntimamente arraigado a su imagen turística es la provincia italiana de la Toscana. Las figuras 1 y 2, son un magnífico reflejo de la belleza de la región. Sin las amapolas su atractivo perdería un elemento singular e insustituible. La presencia de amapolas, aparece por ende, en los elementos que sirven como recuerdo de la zona (Fig. 3) e incluso en las acuarelas de las galerías más importantes y visitadas de la Toscana (Fig. 4).



Figura 1. Paisaje de la Toscana.



Figura 2. Castello di Spedaletto, en Pienza



Figura 3. Recuerdo de la Toscana (Italia).

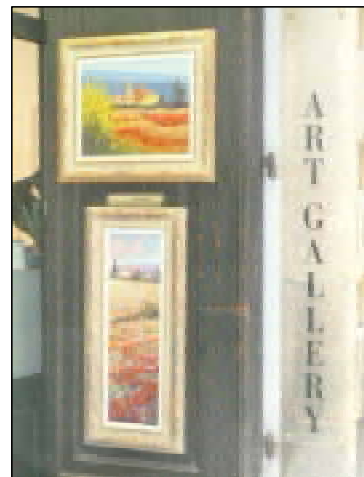


Figura 4. Galería de arte en Siena (Italia)

Otra especie utilizada como elemento cromático en la publicidad turística es el diente de león (*Taraxacum officinale*). Su presencia aporta detalles amarillos sobre los fondos verdes de prados (Figs. 5 y 6) de Setcases (Girona) o de Sort (Lleida).



Figura 5. Setcases (Pirineo de Girona).



Figura 6. Sort (Pirineo de Lleida).

Un tercer ejemplo, lo tenemos en la imagen publicitaria de una web turística de la ciudad de Lleida, donde se observa en primer plano una rabaniza blanca (*Diploxys erucoides*) en flor (Fig. 7).



Figura 7. Página web publicitaria de la ciudad de Lleida.

2.2. (Malas) hierbas en la publicidad comercial. La presencia de especies vegetales como elementos decorativos en catálogos o anuncios es muy recurrente, especialmente cuando se desea resaltar las componentes naturales del producto o de demostrar beneficios medioambientales. Pero esta proyección, no siempre resulta del todo evidente, pues en muchos casos la presencia de (malas) hierbas pretende llamar la atención del observador más que el objeto del producto comercial en sí. Con este fin observamos de nuevo que la amapola (*Papaver rhoeas*) es la especie más protagonista. Así, por ejemplo, podemos observar el catálogo comercial 2007 de las impresoras Epson (Fig. 8), el anuncio de la Compañía Española de Petróleos SA (CEPSA) del año 2009 (Fig. 9) o el anuncio actual de la compañía de seguros Santa Lucía (Fig. 10). En el primer caso suponemos como resalte de una calidad de impresión; en el segundo por afinidad con el color del

logo de la compañía. La frase «porque tu vuelves» debe referirse a la estrategia de fidelización del cliente con la compañía petrolera y no a la persistente presencia de las amapolas en los campos, que seguramente la agencia de publicidad desconoce por completo. Por su parte, la tranquilidad anunciada por la compañía de seguros dista de la que mostraría un agricultor.



Figura 8. Catálogo de Epson.

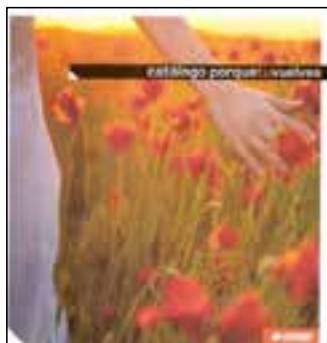


Figura 9. Anuncio de Cepsa.



Figura 10. Seguros Santa Lucía.

También podemos observar la amapola como logo de la cadena francesa de hoteles Ibis. Los números de las habitaciones (Fig. 11), las alfombras de los corredores (Fig. 12) y los complementos de aseo presentes en el baño (Fig. 13) incluyen dibujos de amapolas.



Figura 11. Habitación hotel Ibis.

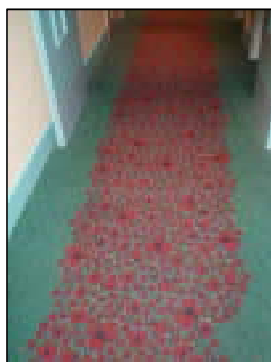


Figura 12. Moqueta.



Figura 13. Elementos de aseo.

Sin lugar a dudas, la amapola es la (mala) hierba más usada en el ámbito publicitario. No existe parangón con ninguna otra especie vegetal, sea o no mala hierba. Su presencia en las botellas de vino y como logo de las bodegas Inés de Monclús del Somontano (Huesca) o de Vinos el Paseante La Charla de Rueda (Fig. 14) debemos relacionarla posiblemente como un elemento vegetal propio del territorio, aunque no sea una especie característica de los viñedos. Lo mismo podemos deducir de la imagen de las latas y botellas de aceite ecológico Mondelia (Montilla, Córdoba) (Fig. 15), donde, bajo la rama de olivo (con pájaro incluido), se representan diferentes

hierbas, entre ellas una amapola, aunque tampoco sea una especie ligada al olivar. Igualmente, la presencia de la amapola en la publicidad de perfumes Kenzo se pretende reflejar naturalidad, si bien la frase «the power of a flower» del anuncio no se corresponde de forma adecuada con las amapolas dada su falta de aroma (Fig. 16). Por su parte la reciente publicidad aparecida en empresas de gas también se relaciona con algunas (malas) hierbas. Gas natural presenta una foto de una comunidad arvensis con las amapolas como protagonistas (Fig. 17) mientras que la Asociación Española del Gas (Sedigas) presenta en la portada de una de sus publicaciones (Fig. 18) una imagen de un *Taraxacum officinale* desprendiendo de su capítulo aquenios con sus vilanos.



Figura 14. Inés de Monclús (Somontano) y La Charla (Rueda).



Figura 15. Aceite Mondelia (Montilla, Córdoba).



Figura 16. Perfumes Kenzo.



Figura 17. Gas Natural.



Figura 18. Sedigas.

Por el contrario, resulta curioso y de fácil comprensión, observar que las malas hierbas no suelen estar presentes en imágenes publicitarias de productos herbicidas, sino que en su lugar suelen utilizarse fotografías de agricultores sonrientes, ufanos y relativamente jóvenes. Es obvio que en este contexto el objetivo publicitario que se persigue no es el mismo que en casos anteriores.

3. (MALAS HIERBAS) EN OTROS CONTEXTOS

Aparte de los dos ámbitos comentados: turístico y comercial, las (malas) hierbas, podemos visualizarlas como algo más que un simple objetivo publicitario. Como elemento decorativo, sue-

len utilizarse gramíneas –especialmente espigas secas- para construir bellos centros, pero resulta más original observar una decoración de un escaparate de zapatos constituido por inflorescencias de *Rumex crispus* y *Daucus carota* (Fig. 19). A su vez, una de las crucíferas más usada como centro ornamental es *Lunaria annua* (Fig. 20) por el tono anacarado de los tabiques de las silicuas una vez la planta seca.



Figura 19. Decoración en tienda de zapatos.



Figura 20. Centro de flores secas de *Lunaria annua*.

Y de manera singular, merece la pena destacar el protagonismo de las amapolas como símbolo recordatorio de la Primera Guerra Mundial. El conflicto bélico y la construcción de trincheras facilitaron la emergencia de miles de amapolas en los campos de batalla. Hoy en día se recuerda cada 11 de noviembre a los fallecidos en esa guerra (Fig. 21).



Figura 21. Imagen relativa a la primera guerra mundial y los campos de amapola.

Weeds in the touristic and commercial publicity

Summary: The use of weeds in commercial catalogues, banner ads and web pages is few known. In the present work a relation of different images where weeds are used as a commercial or touristic complements are presented. The weed most used is poppy (*Papaver rhoeas*), being even a characteristic element of the commercial brand. The presence of weeds in the publicity becomes a reflection of life nature, and/or colour, an idea completely opposite to its noxious role in the agrosystems.

Keywords: ad, design, logotype, commercial brand, plants, marketing.

ÍNDICE DE AUTORES

- Aibar, Joaquín, 21, 177, 195, 287, 319
Alarcón, María Remedios, 213
Alcántara, Cristina, 81, 309
Alcántara, María, 305
Alonso-Prados, José Luis, 299
Alzueta, Ignacio, 131
Amaro, Ignacio, 269, 337, 343
Andrade, Eugénia, 39
Andújar, Dionisio, 159, 201, 213, 375, 401, 413
Apolo-Apolo, Orly Enrique, 437
Arias, Nerea, 207
Armengot, Laura, 125
- Baldivieso, Paola, 125
Baraibar, Barbara, 183
Barić, Klara, 39
Barro, Francisco, 101
Barroso, Judit, 201, 369
Bartels, Dorothea, 325
Bastida, Fernando, 91, 101, 391
Bautista, Inmaculada, 111
Belo, Anabela, 33
Ben Sasson, Sivan, 385
Bengochea-Guevara, José María, 413
Blanco-Moreno, José Manuel, 125
Boejer, Ole M., 263
Bozic, Dragana, 39
Bradley, Kevin, 75
- Cabello, Félix, 213
Caicedo, Ana L., 45, 97
Calha, Isabel M., 39, 75
Calle, Mikel, 401
Campos, David, 159, 201, 213
Cantuña, Karla, 413
Carbonell, Emilio, 107
- Carlesi, Stefano, 39
Carvalho, Teresa, 39
Castilla, Alejandro, 309
Castro, Ana Isabel de, 375, 395, 407, 419, 425
Chamorro, Lourdes, 125
Chantre, Guillermo R., 63
Chueca, María Cristina, 231, 293, 361
Cibriain-Sabalza, Félix, 219
Cirujeda, Alicia, 21, 153, 177, 195, 287, 319
Clemente, Borja, 257
Cobos, Guillermo, 231
Cordero, Fernando, 27, 137, 165, 171
- Davis, Adam S., 75
De Luca, Verónica, 245, 305
Delgado, Javier, 143, 207
Devasirvatham, Priya, 455
Díaz Vizcaíno, Elvira A., 443, 449
Dorado, José, 39, 75, 159, 201, 213, 375, 401, 455
Duarte, María Fátima, 33
- Egea-Cobrero, Valle, 57, 75
Escorial, María Concepción, 27, 231, 293, 361
Estalrich, Enrique, 137, 165, 171
- Fernández-Escalada, Manuel, 275, 331
Fernández-Quintanilla, César, 159, 201, 213, 375, 401, 455
Fernández, José Luis, 27
Forcella, Frank, 75
Forte, Paulo, 33
Fuertes, Santiago, 21, 177, 195, 287
- García Domínguez, Francisco Javier, 257
García García, Julián Alberto, 437
García-Ruiz, Esteban, 231

- Garnica, Irache, 143, 207, 237, 315
Garnica, Joaquín, 143, 315
Garrido, Jesús, 189
Gasol, Carles M., 455
Gil-Monreal, Miriam, 275, 325, 331
Gómez de Barreda, Diego, 245, 305
González-Andújar, José Luis, 57, 75, 91, 101, 107, 117, 391
González-Núñez, Manuel, 231
González, Ignacio, 257
Gourlie, Jennifer A., 369
- Hernández-Plaza, María Eva, 57, 101, 107, 117
Hidalgo, Javier, 225
Hidalgo, Juan Carlos, 225
Hoyos, Verónica, 45, 97
- Izquierdo, Daniel, 245
Izquierdo, Jordi, 27, 39, 101, 117, 183, 251, 391
- Jiménez-Brenes, Francisco M., 395, 407, 419, 425
Jurado Expósito, Monserrat, 419
- Kruk, Betina C., 69, 131
- Lacasta, Carlos, 137, 165, 171
Larelle, Dominique, 257
Leskovsek, Robert, 39
Leyva-Bollero, Ana, 225
Lezáun, Juan Antonio, 27, 143, 207, 219, 237, 315
Lindquist, John L., 75
Llenes, Josep María, 381
Loddo, Donato, 39, 51
López-Buisan, María Teresa, 319
López-Goti, Carmen, 299, 159, 201, 213, 369
López-Granados, Francisca, 375, 395, 407, 419, 425
Loureiro, Iñigo, 231, 293, 361
- Marí, Ana Isabel, 21, 27, 153, 177, 195, 287, 319
Martín, José Manuel, 159, 201, 213
Martínez, Pilar, 391
Mas, M. Teresa, 85
Mas, Neus, 147
Masin, Roberta, 39
Mendoza, Fátima, 269, 337, 343
Menéndez, Julio, 349
Missihoun, Tagnon D., 325
Molero, Lidia, 391
- Montull, José María, 263, 281, 381
Morrison, Jane, 117
- Navarrete, Luis, 107
Nozes, Paula, 33
- Oliveira e Silva, Pedro, 33
Orcaray, Luis, 207
Orgaz, Francisco, 385
Osca, José María, 111
Osuna, María Dolores, 15, 269, 337, 343, 349
- Pallavicini, Yesica, 57, 101
Palmerín, José Antonio, 269, 337
Paramio, José Antonio, 27
Pardo, Gabriel, 21, 153, 177, 195, 287, 319
Pascual, Susana, 231
Patiño-Ropero, María José, 299
Paulino, Ana, 33
Pedraza, Verónica, 309
Peña, José Manuel, 395, 401, 407, 425
Peña, José María, 375
Peña, Juan Francisco, 91
Perea, Francisco, 309
Pérez de Ciriza, José Jesús, 207
Pérez-Fernández, Andrés, 293
Pérez-Mohedano, Daniel, 225
Pericas, Rocío, 257
Peterson, Dean, 39
Pinto-Cruz, Carla, 33
Plaza, Guido, 45, 97
Portugal, João, 33
Prado, Cristina, 21
- Quiles, José María, 269, 337
- Ramôa, Sofia, 33
Rams, Susana, 385
Recasens, Jordi, 15, 63, 147, 183, 189, 395, 413, 461
Rey-Caballero, Jordi, 349, 355
Ribeiro, Ángela, 375, 401, 413
Rigueiro, Antonio, 443, 449
Rodríguez, Sebastián, 69
Roig, Glòria, 381
Romano, Yolanda, 269, 337, 343
Royo-Esnal, Aritz, 15, 27, 51, 63, 183, 189, 355
Royuela, Mercedes, 275, 325, 331
Ruiz de Aldana, María de los Ángeles, 391

- Ruiz, Elias, 131
 Rydahl, Per, 263
- Saavedra, Milagros, 27, 81, 225, 309, 385
 Sagües-Sarasa, Ana, 219
 Saiz, Roberto, 213
 Salas, Marisa, 349, 355
 San Martín, Carolina, 159, 201, 213, 369
 Sánchez-Ramos, Ismael, 231
 Sandín-España, Pilar, 299
 Sanjuan, Neus, 111
 Sans, F. Xavier, 125
 Santín-Montanyá, María Inés, 231, 299
 Santos, Angel, 315
 Satorre, Emilio H., 69
 Scepanovic, Maja, 39
 Simões, Paula, 33
 Soler, Jordi, 251
 Sousa, Carlos, 27, 431
 Sprague, Christy L., 75
- Taberner, Andreu, 263, 281, 381
 Telletxea-Senosiain, Noelia, 237
- Torra, Joel, 15, 27, 63, 183, 189, 349, 355
 Torres-Sánchez, Jorge, 395, 407, 419, 425
 Torres, Lucia, 443, 449
 Torresen, Kirsten B., 51
 Travlos, Ilias, 33
- Urbano, José María, 27, 431, 437
- Valencia, Francisco, 147, 395, 413, 425
 Vargas, Manuel, 27
 Vasconcelos, Teresa, 33
 Vasileiadis, Vasileios, 39
 Vega, Victorino, 225
 Verdú, Antoni M., 85
 Veres, Andrea, 39
 Vilamú, Joan, 251
 Villarroya-Ferruz, Mercedes, 299
 Vrbnicainin, Sava, 39
- Zabalza, Ana, 275, 325, 331
 Zulet-González, Ainhoa, 275, 331