

# XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología



**Valencia, del 5 al 7 de noviembre de 2013**

## **Editores**

**José M<sup>a</sup> Osca Lluch**  
**Diego Gómez de Barreda Ferraz**  
**Vicente Castell Zeising**  
**Nuria Pascual Seva**

**EDITORIAL**  
**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA**





## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología

---

Valencia, del 5 al 7 de noviembre de 2013



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA



CONSELLERIA D'EDUCACIÓ,  
FORMACIÓ I OCUPACIÓ

---

Los contenidos de esta publicación han sido evaluados por los miembros del Comité científico que en él se relacionan mediante el sistema de *per review*

Primera edición, 2013

© Editores

José M<sup>o</sup> Osca Lluch  
Diego Gómez de Barreda Ferraz  
Vicente Castell Zeising  
Nuria Pascual Seva

© de la presente edición: Editorial Universitat Politècnica de València

*Distribución:* Telf. 963 877 012 / <http://www.lalibreria.upv.es> / Ref. 6144\_01\_01\_01

ISBN: 978-84-9048-131-8 (versión impresa)

Queda prohibida la reproducción, la distribución, la comercialización, la transformación y, en general, cualquier otra forma de explotación, por cualquier procedimiento, de la totalidad o de cualquier parte de esta obra sin autorización expresa y por escrito de los autores.

## Sede del Congreso

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y Medio Natural (ETSIAMN), Universitat Politècnica de València en el Camino de Vera

## Comité organizador

|  |     |
|--|-----|
| José M <sup>a</sup> Osca Lluch (Coordinador) | UPV |
| Diego Gómez de Barreda Ferraz                | UPV |
| Vicente Castell Zeising                      | UPV |
| Nuria Pascual Seva                           | UPV |
| Pilar Gargallo Martín                        | UPV |



ETSIAMN (39°29'01 N 0°20'42 O)

## Comité científico

- Judit Barroso (Land Resources and Environmental Sciences Dept. Montana State University. Bozeman EEUU)
- Herminio Boira Tortajada (Instituto Agroforestal del Mediterráneo. Univ. Politècnica de València)
- Alicia Cirujeda Ranzerberger (Sanidad Vegetal. CITA. Zaragoza)
- José Dorado Gómez (Instituto de Ciencias Agrarias. CSIC. Madrid)
- Diego Gómez de Barreda Ferraz (Dpto. Producción Vegetal. Univ. Politècnica de València)
- José Luis González Andújar (Instituto de Ciencias Agrarias. CSIC. Madrid)
- Montserrat Jurado Expósito (Instituto Agricultura Sostenible-IAS/CSIC. Córdoba)
- Iñigo Loureiro Beldarrain (Dpto. Producción Vegetal. INIA. Madrid)
- María Teresa Mas Serra (Dpto. Ingeniería Agroalimentaria y Biotecnología. Univ. Politècnica de Cataluña)
- Julio Menéndez Calle (Universidad de Huelva)
- José M<sup>a</sup> Osca Lluch (Dpto. Producción Vegetal. Univ. Politècnica de València)
- M<sup>a</sup> Dolores Osuna Ruíz (Dpto. Hortofruticultura. Centro de Investigación "Finca La Orden-Valdesequera". Junta de Extremadura. Guadajira-Badajoz)
- José Manuel Peña Barragán (Instituto Agricultura Sostenible-IAS/CSIC. Córdoba)
- Patrick E. McCullough (University of Georgia-EEUU)
- Milagros Saavedra Saavedra (IFAPA. Junta de Andalucía. Córdoba)
- Jordi Recasens Guinjuán (Dpto. Hortofruticultura, Botánica i Jardinería. Universitat de Lleida)
- Aritz Royo Esnal (Dept. Hortofruticultura, Botánica i Jardinería. Universitat de Lleida)
- Andreu Taberner Palou (Unitat de Malherbologia, Unitat Sanitat Vegetal, DAAR. Lleida)
- Joel Torra (Fundació Centre UdL-IRTA. Lleida)
- Carlos Zaragoza Larios (Sanidad Vegetal. CITA. Zaragoza)

## Editores

José M<sup>a</sup> Osca Lluch (Coordinador); Diego Gómez de Barreda Ferraz; Vicente Castell Zeising; Nuria Pascual Seva

## Programa sesiones

Conferencia del Dr. Ricardo Labrada. Malezas de importancia a nivel global.

### SESIÓN-I. Cultivos específicos.

Evaluación de distintas estrategias de manejo de malas hierbas en un cultivo energético de chopo. San Martín, C; Martín, J.M.; Campos, D.; Fernández-Quintanilla, C. y Dorado, J.

Influencia de la presencia de musgo sobre la instalación de malas hierbas en suelos de olivar. S. Ben Sasson, S. Rams, C. Alcántara, M. Saavedra.

La flora arvense en el cultivo de la esparceta (*Onobrychis viciifolia* L.) aumenta la biodiversidad vegetal. Cirujeda, A.; Marí, A.; Murillo, S.; Aibar, J. y Zaragoza, C.

Control de *Sagina procumbens* en viveros de arándano. M. Romero, A. Rodríguez-Tello, G. Pardo, J.M. Urbano.

### SESIÓN-II. Agricultura de precisión.

Puesta a punto de un vehículo aéreo no tripulado (UAV) para detección de malas hierbas en fase temprana: resolución espacial y altura de vuelo. Torres-Sánchez, J; Peña-Barragán, J.M; De Castro-Megías, A.I.; López-Granados, F.

Imágenes multispectrales procedentes de un vehículo aéreo no tripulado (UAV): una innovación tecnológica para la detección de malas hierbas en fase temprana. Peña, J.M.; de Castro, A. I.; Torres-Sánchez, J. y López-Granados, F.

Discriminación suelo-planta con un sensor LIDAR dual. Andújar, D.; Rueda-Ayala, V.; Moreno, H. y Gerhards, R.

### SESIÓN DE POSTERS-I

|  |  |
|--|--|
| Caracterización molecular de <i>Echinochloa</i> spp. en arrozales de Extremadura   | Y. Romano, M. E. Senero, J. González-Blanco, J. A. Palmerín, M. D. Osuna   |
| Efecto sobre <i>Leptochloa</i> de algunos tratamientos herbicidas en el cultivo de arroz   | P. Matallana, A. Finch, M. Valero, J.M. Osca   |
| Efecto de la dosis de rimsulfuron y la densidad de infestación sobre poblaciones de <i>Sorghum halepense</i> en maíz   | J. Barroso, B.D. Maxwell, C. Fernández-Quintanilla, D. Andújar, C. San Martín, J. Dorado   |
| Control mecánico mediante un sistema de ajuste automático basado en mediciones ultrasónicas  | V. Rueda-Ayala, D. Andújar, G. Peteinatos, M. Weis, R. Gerhards.   |
| Una plataforma multisensorial para la detección de malas hierbas   | D. Andújar, M. Weis, G. Peteinatos, V. Rueda-Ayala, R. Gerhards  |
| Diseño de mapas de tratamiento localizado en cultivos de trigo a escala comarcal mediante imágenes remotas   | A. I. de Castro Megías, F. López Granados, M. Jurado Expósito  |
| Influencia de la competencia de <i>Datura ferox</i> y <i>Sorghum halepense</i> en el desarrollo del chopo como cultivo energético para biomasa   | C. San Martín, J.M. Martín, D. Campos, P. Hernaiz, C. Fernández-Quintanilla, J. Dorado   |
| Aprovechamiento energético de la mala hierba marabú ( <i>Dichrostachys cinerea</i> L.) como ayuda a su control mecánico  | M. Fernández, J. Alaejos, R. Tapias, J. Menéndez   |
| El cultivo de la chufa ( <i>Cyperus esculentus</i> L. var. <i>sativus</i> Boeck.) en Valencia  | N. Pascual-Seva, A. San Bautista, S. López Galarza, J.V. Maroto, B. Pascual  |
| Estudio de la flora arvense como posible reservorio natural de agentes implicados en el nuevo problema fitosanitario que afecta a los cultivos de apio y zanahoria en Villena (Alicante) | F. Rodríguez-León, A. Alfaro-Fernández, M.I. Font, J. C. Ferrándiz, S. Sanjuán, G.R. Teresani, E. Bertolini, M. Cambra, M. Verdeguer |

|  |  |
|--|--|
| Influencia de la temperatura de conservación de semillas en posteriores ensayos de germinación. El ejemplo de crucíferas arvenses                  | A. Royo-Esnal, A. Isábal, N. Moix, J. Torra  |
| Control químico de <i>Equisetum</i> en vías de ferrocarril   | F. Lavrador, A. Monteiro, N. Duarte  |
| Producción y distribución de biomasa en <i>Solanum nigrum</i> y <i>Coryza bonariensis</i> en respuesta a la fuente y dosis de nitrógeno            | J.S. Rubio-Asensio, E. Bardisi, C. Lopez-Berenguer, J. García de la Garma-García, N. Fernández-García, E. Olmos. |
| Comparación de dos métodos de extracción de proteínas para la hoja de <i>Echinochloa</i> spp y posterior análisis en electroforesis bidimensional. | J.Frutos, E. Giraldo; A.Díaz, E.Senero, MD. Osuna.   |

Conferencia del Dr. Francesco Vidotto. Weed Management in Italian rice fields.

### SESION-III Control químico-resistencias.

*Cyperus difformis* resistente a penoxulam. Dosis respuesta. Pardo, G.; Hens, R.; Espejo, R.; Paniagua, L. y Urbano, J.M.

Opciones para el control de *Cyperus difformis* resistente a penoxsulam. Urbano, J.M.; Espejo, R.; Hens, R.; Paniagua, L. y Pardo, G.

Comparación de la aplicación foliar y radical de herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos. Royuela, M.; Zulet, A.; Gil-Monreal, M.; Armendáriz, O. y Zabala, A.

Nuevos desafíos para la gestión de resistencias a glifosato. Costa, J.; Novillo C. y Álvarez Saborido, A.

Nuevas opciones de manejo integrado de poblaciones de *Papaver rhoeas* resistentes a herbicidas. Rey-Caballero, J.; Torra, J.; Royo-Esnal, A.; González, I.; Ferrer, R. y Recasens, J.

Conferencia del Dr. Patrick McCullough. Turfgrass Weed Science.

### SESIÓN-IV Cultivos extensivos

Datos preliminares sobre la reducción de la fertilización mineral en sistemas cerealistas de secano bajo diferentes sistemas de laboreo. Navarrete, L.; Sánchez, M.J.; Alarcón, R.; Herranz, J.L. y Sánchez-Girón, V.

Identificación del efecto de la dependencia de densidad, las prácticas agrícolas y las variables climáticas en la dinámica poblacional de las malas hierbas. García de León D., Navarrete L., Lima M. y González-Andújar J.L.

Análisis de la vegetación espontánea en cultivos de otoño-invierno en Alentejo (Portugal). Ramôa, S.; Oliveira e Silva, P.; Vasconcelos, T. y Portugal, J.

Comparación de la riqueza y la composición de especies arvenses entre los diferentes hábitats de los cultivos cerealistas. Pallavicini Y., Bastida F., Pujadas A., Izquierdo J. y González-Andújar J. L.

**SESIÓN DE POSTERS-II (Números P-16 al P-34)**

|  |  |
|--|--|
| Flujo de genes de resistencia a herbicidas vía polen en <i>Lolium rigidum</i>  | I.Loureiro, C. Escorial, C.Chueca  |
| El manejo de barbechos como indicador de la eficiencia de medidas agroambientales en secanos cerealistas. I. Robleño, X. Solé, A. Royo-Esnal, J. Torra, J.A. Conesa y J. Recasens. | El manejo de barbechos como indicador de la eficiencia de medidas agroambientales en secanos cerealistas. I. Robleño, X. Solé, A. Royo-Esnal, J. Torra, J.A. Conesa y J. Recasens. |
| <i>Conyza banariensis</i> resistente a glifosato en huerto de cítricos   | M. Simões, J. Portugal, A. Monteiro e I. M Calha   |
| Evaluación de diferentes tratamientos herbicidas para el control de <i>Conyza</i> spp. y otras dicotiledóneas en olivar  | M. Saavedra, V. Vega, D. Pérez-Mohedano, J.C. Hidalgo, C. Alcántara, J. Hidalgo  |
| Actividad herbicida del aceite esencial de <i>Satureja montana</i> L.  | D.García-Rellán, M. Verdeguer, M. Amparo Blázquez, H.Boira   |
| Composición y actividad herbicida <i>in vitro</i> del aceite esencial de la raíz de <i>Artemisia absinthium</i> L.   | J. A. Llorens, S. García-Plasencia, D. García-Rellán, M. Verdeguer, H. Boira   |
| Potencial herbicida del extracto acuoso de <i>Thymus capitatus</i> (L.) Hoffmanns. et Link   | M. Verdeguer, L. Mascarell, D. García-Rellán, A. Salamone, S. Agnello, H. Boira  |
| Estudio de la toxicidad de un extracto vegetal con acción herbicida mediante una batería de ensayos.   | M. A. Castillo, C. Sabater*, M. J. Ibáñez, D. Gómez de Barreda Ferraz  |
| Evaluación del herbicida prosulfocarb y su mezcla con diflufenican sobre cereales de invierno para el control de <i>Lolium rigidum</i>   | J.M. Osca, D. Gómez de Barreda Ferraz  |
| Respuesta diferencial de la diversidad funcional de las comunidades arvenses a la intensidad del laboreo   | E. Hernández, L. Navarrete, J.L. González-Andújar  |
| La huella en un banco de semillas de un suelo agrícola después de 16 años con laboreo de conservación  | M. I. Santín, E.Zambrana; J.L.Tenorio  |
| Respuesta de 39 poblaciones de <i>Bromus diandrus</i> de Castilla-León a Broadway y Atlantis, dos herbicidas utilizados para su control en trigo                                   | I. Loureiro, C. Escorial, C. Chueca  |
| La flora en los márgenes internos no supone una amenaza para los campos colindantes en zonas cerealistas de Aragón   | A. Cirujeda, A. Marí, S. Murillo, J. Aibar, C. Zaragoza  |
| Influencia del tipo y de la profundidad de suelo en la germinación de las semillas y la emergencia de las plántulas de <i>Digitaria sanguinalis</i> .                              | M.Teresa Mas, Antoni M. Verdú  |
| Factores asociados al anidamiento existente en las comunidades ruderales de márgenes de cultivo en Andalucía   | M.López , A.Pujadas-Salvá, J.L González, F.Bastida, E.Hernández  |
| Viabilidad y emergencia de diferentes especies mesócolas en regresión  | E. Edoa, N. Moix, L. Mateu, A. Baños, M. Julià, A. Royo-Esnal, J. Torra, J. Recasens   |
| Las malas hierbas en el mundo de la cultura  | C. Fernández-Quntaniella   |

**SESIÓN-V Manejo integrado.**

El acolchado con papel controla la emergencia y la reproducción de *Cyperus rotundus* en pimiento. Marí, A.; Cirujeda, A.; Aibar, J. y Zaragoza, C.

Potencial fitotóxico de extractos acuosos de *Santolina chamaecyparissus* L. Verdeguer, M.; Raga, P.; García-Rellán, P. y Boira, H.

Implicaciones de la Directiva de uso sostenible de plaguicidas en el control de las malas hierbas. Discusión en la remolacha azucarera. Ayala, J.; Pérez, A.; Hernández, J.M.; Rodríguez, M. y Omaña, J.M.

Control integrado de *Bromus diandrus*. Segundo año de ensayos. Montull, J.M. y Taberner, A.

Gestión de la vegetación en los ferrocarriles portugueses-Estudio de un caso. Lavrador, F. y Monteiro, A.

**Debate.** Malas hierbas en clima mediterráneo: su manejo con recursos limitados.

**Secretaría Técnica del Congreso**

Dr. Diego Gómez de Barreda Ferraz  
Dra. Nuria Pascual Seva  
Departamento de Producción Vegetal.  
Universitat Politècnica de València.  
Camino de Vera s/n 46022. Valencia.  
Tfno: 963877334/963877330  
Email: 14congresosemh@upv.es

**Actas del Congreso**

Las actas del XIV Congreso de la SEMh se publicarán en un libro editado a través de la Editorial de la Universitat Politècnica de València. El libro contendrá los textos de las ponencias y trabajos presentados, tanto de las comunicaciones orales como los posters. Para garantizar la propiedad intelectual de los contenidos que se publican en las Actas, y que corresponden a los autores de las comunicaciones, se solicitará a los autores de los trabajos documento de transferencia de derechos a la UPV.

**Web del congreso**

<http://14congresosemh.webs.upv.es/>



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Malezas de importancia a nivel global**

Dr. Ricardo Labrada  
ricardolabrada@hotmail.com

**1. INTRODUCCIÓN**

Existen un buen número de especies de plantas que se han convertido en malezas una vez introducidas en nuevos hábitats, a su vez otras han logrado evolucionar debido a determinadas prácticas implantadas en determinados sistemas de cultivos y bien han mantenido su importancia o lo han adquirido.

La prevalencia de unas especies tiende por lo regular a excluir a otras establecidas o de utilidad en el ecosistema. Sin embargo, sucede que las nuevas plantas se establecen con densidades muy superiores a otras plantas en la comunidad, lo cual puede conllevar a daños ecológicos, sociales y económicos.

La presente contribución no pretende abarcar todas las especies de plantas que hoy día afectan la economía de los países, sino de subrayar aquellas que son verdaderos problemas en varias regiones del mundo, cuya introducción o diseminación debe evitarse en aquellos países/regiones donde aún no existen. La relación de especies está sobre todo basada en la experiencia del trabajo de este autor durante su trabajo en la FAO hasta fechas recientes.

**2. PLANTAS INVASORAS**

Las especies invasoras son una verdadera amenaza a la biodiversidad, a la economía, y la salud animal y humana en los países afectados. Erróneamente se piensa que el atributo de invasión es sólo de las plantas exóticas introducidas. Si bien es cierto que los casos de invasión se registran mayormente con plantas introducidas, no menos cierto es que plantas sin ninguna importancia en su lugar de origen en el pasado pueden convertirse en invasoras, lo cual se debe a cambios en el sistema de cultivos o mala utilización de algunas prácticas como suele ser el uso indiscriminado de herbicidas.

Las características principales de una planta invasora, entre otras, son la habilidad de reproducción sea por semillas o por vía vegetativa, rápido crecimiento, alto nivel de dispersión, plasticidad fenotípica y la tolerancia a un amplio rango de condiciones ambientales.

Cualquier especie de planta invasora puede causar la desaparición de otras plantas vulnerables. En ecosistemas naturalmente aislados las altas poblaciones de las invasoras alteran la estructura de las comunidades de plantas y conduce a la pérdida de los servicios del ecosistema. Este fenómeno puede exacerbarse con el cambio climático que se supone comienza a tener lugar en la actualidad. Especies adaptadas a ambientes cálidos pueden igualmente evolucionar y adaptarse a nuevos hábitats.

### 3. PRINCIPALES PLANTAS INVASORAS

#### 3.1 Gramíneas o poáceas

Arroz maleza (*Oryza sativa* L.) El cultivo del arroz es probablemente el más importante para más de la mitad de la población del planeta y su producción sostenible es una necesidad para dar de comer a casi 4 mil millones de habitantes. Las malezas que inciden en el arroz son realmente las primeras limitantes que tiene el cultivo para elevar su producción. En este caso el arroz maleza (conocido en España como arroz salvaje), que no es más que una degeneración del propio arroz cultivable (*Oryza sativa* L.), es una de las especies que más afectan al cultivo en casi todo el hemisferio occidental, así como en Europa, sobre todo en Italia y España, y en aquellos países asiáticos donde la siembra directa ha sido adoptada en las últimas décadas. Se entiende que el arroz malezas se origina de la especie *O. rufipogon*, una perenne asiática Silvestre, que es a su vez progenitora de la anual *O. nivara*, la que a su vez es progenitora del arroz cultivable. Los análisis con marcadores SSR indican que los ecotipos colectados de arroces malezas en EEUU están estrechamente relacionados con el arroz *O. sativa* tipo indica o con el tipo japónica, sin embargo, algunos se les encontró más relacionados con *O. rufipogon* e igualmente con *O. nivara* (Vaughan *et al.* (2001). Los países del Asia más afectados por este problema del arroz maleza son el 40% del área en Tailandia, más de 800 mil ha en la parte meridional de Vietnam, y hasta un 30% del área arrocera de las Filipinas. Malasia ha logrado superar en buena medida el problema con la readopción del trasplante pero mecanizado conjuntamente con otras medidas de control.

*Echinochloa* spp Estas especies continúan siendo de importancia en áreas de arrozales y otros cultivos en muchas partes del mundo. *Echinochloa crus-galli* (L.) P.Beauv. se le puede encontrar actualmente lo mismo en países cálidos como zonas realmente frías como son los alrededores de Moscú. La diseminación de la especie a nuevas áreas ha continuado a través de la introducción de semillas de cultivos contaminadas. Por ejemplo, *E. crus-galli* era inexistente en República Dominicana y actualmente se le puede encontrar en arrozales y otras áreas de cultivo en este país.

*Echinochloa colona* L. Link. es más bien especie de clima cálido, aunque actualmente se le encuentra en áreas con suaves inviernos. Su importancia ha crecido gracias al uso de los herbicidas y la aparición de biotipos resistentes. Actualmente hay biotipos de *E. colona* resistentes a glifosato (Argentina), inhibidores ACCasa, inhibidores ALS, inhibidores fotosistema II, ureas y amidas (<http://www.weedscience.com/summary/home.aspx>).

*Sorghum halepense* (L.) Pers. Esta especie perenne oriunda del Mediterráneo y Medio Oriente no ha dejado de ser un azote en el hemisferio occidental, donde fuera introducida por primera vez a finales del siglo XIX. Se pensó que la especie se reduciría con el uso de los herbicidas inhibidores ACCasa y el glifosato (<http://www.weedscience.com/summary/home.aspx>), pero la realidad es que su importancia ha ido creciendo nuevamente con la aparición de biotipos resistentes a los herbicidas mencionados, lo cual ha agravado su control igualmente en países como Grecia, Israel e Italia.

El complejo Avena son problemas muy comunes en campos de cereales de Europa y Norteamérica, lo que hace más difícil su combate selectivo en los mismos. La resistencia a distintos herbicidas en la actualidad obliga a un manejo integrado que no

puede tan solo depender del control químico. Una situación similar y a veces más complicada se presenta con biotipos resistentes a los herbicidas de *Lolium*, cuya abundante presencia en Australia occidental ha obligado a los agricultores a adoptar la labranza, algo no antes practicado en esa región (Powles, comunicación personal, 2006).

### 3.2 Ciperáceas

*Cyperus rotundus* L. es una especie perenne muy conocida, oriunda de África meridional y Eurasia, que se halla distribuida en buena parte del mundo tropical y subtropical, y también en zonas con inviernos suaves. Holms *et al* (1977) la llegó a catalogar como la peor especie a nivel global. La apreciación de estos autores estaba basada mayormente en la tremenda tolerancia mostrada por esta especie a la casi totalidad de los herbicidas existentes en las décadas de los 50 y los 60. Por su fuerte poder alelopático, la especie es capaz de desplazar a muchas especies de plantas en los espacios que ocupa y se establece. No obstante, *C. rotundus* nunca fue una especie de arrozales inundados hasta fecha reciente cuando se ha encontrado un ecotipo resistente a la inundación en Filipina y que representa un serio problema para la producción arrocería de este país. Fuentes *et al* (2010) han encontrado que los tubérculos del ecotipo de *C. rotundus* resistente a la inundación son más grandes que los del ecotipo de arroz no inundado, normalmente tienden a desarrollarse más en la medida que crece la profundidad del agua, tienen mayor contenido de carbohidratos, y los tallos tienen mayor grosor. Este nuevo ecotipo puede movilizar y usar las reservas de carbohidratos en estado de hipoxia, y mantener una actividad relativamente baja y sostenida de la actividad del alcohol dehidrogenasa (ADH) como una medida de sostenibilidad de la respiración anaeróbica.

### 3.3 Algarrobos (*Prosopis juliflora*, *P. chilensis*)

Una de las batallas que realiza el hombre en la actualidad es la de crear mejores ambientes en áreas áridas y semiáridas, a cuyos efectos se tratan de introducir especies de plantas que sean adaptables a condiciones severas de sequías. Las plantas de mayor uso para este propósito son los algarrobos, como *Prosopis juliflora* Sw. DC., *P. chilensis* (Molina) Stuntz emend. Burkart, que son arbustos perennes pertenecientes a la familia Fabaceae y oriundas del hemisferio occidental. Las raíces de *Prosopis* spp pueden penetrar a gran profundidad del suelo, lo que le posibilita crecer en zonas áridas. A pesar del beneficio que en este caso aportan, no es menos cierto que estas plantas y sus híbridos han logrado invadir otras áreas forestales, de pastos, de algunas plantaciones perennes, y sistemas de irrigación en época no activa de cultivo, al extremo de convertirse en especies indeseables en muchas zonas del África Oriental y Meridional, el Medio Oriente y el Asia Meridional. Las afectaciones van desde el desplazamiento de otras plantas importantes en esas zonas, incluyendo manglares del sur de la India, hasta afectaciones al ganado ovino y caprino, y a la salud humana. La diseminación de estas especies tiene lugar debido a que sus vainas suculentas son ingeridas por los animales, lo que luego fácilmente distribuyen las semillas de estas plantas. El uso de la planta como combustible por las poblaciones rurales provoca rebrotes de grandes masas de la planta que provocan los problemas anteriormente indicados. El área total invadida por estas especies es de más de 6 millones de ha en países como Kenya, Sudan, Yemen e India (Labrada 2006), mientras H. Zimmerman (comunicación personal, 2006) estima que en Sudáfrica el área asciende a 1.8 millones ha.

### 3.4 Asteráceas

La totalidad de las plantas Asteraceae o compuestas provienen del hemisferio occidental y las presentes en Eurasia como en África son todas especies introducidas. De esta familia se reconoce a la anual *Parthenium hysterophorus* L., oriunda de Norte-Centro América y el Caribe, como una especie causante de serios problemas en la agricultura y la salud humana de países donde se ha venido introduciendo en los últimos 50 años (Seier *et al.* 1999). Las plantas de *P. hysterophorus* en Paquistán, India y Sri Lanka tienen un fuerte efecto alergénico en la piel del ser humano y se han reportado diversos casos al efecto. Igualmente compite con eficiencia en una serie de cultivos anuales y perennes, La maleza está bastante diseminada en Australia, y ha sido introducida en el África Oriental y Meridional en años recientes. Esta especie igualmente ya se le encuentra en partes de la China continental. *Ambrosia artemisiifolia* L. es otra especie anual, oriunda de Norte-América, actualmente muy distribuida en Europa, que afecta áreas de cereales, y su abundante polen provoca alergias al ser humano. La especie se le encuentra actualmente en China, país donde se estima que el proceso de establecimiento de la planta se debió a repetidas introducciones de la especie (Li *et al.* 2012).

*Chromolaena odorata* (antes *Eupatorium odoratum*) es una especie perenne, introducida como planta de cobertura en África al sur del Sahara y en Asia sudoriental para su uso en plantaciones de coco, palma aceitera y caucho entre otras. La realidad es que esta especie hasta hoy día continúa siendo un problema serio de invasora. La maleza se propaga con facilidad por vías de fragmentos de sus raíces, tallos o por semillas (King y Robinson, 1997), y se establece bien en distintos suelos, en áreas con buen drenaje y precipitaciones superiores a los 1200 mm. La especie no soporta las inundaciones, la sombra ni la salinidad.

### 3.5 *Solanum elaeagnifolium* Cav.

Al igual que las Asteráceas, la totalidad de las solanáceas provienen del hemisferio occidental. Muchas de estas plantas constituyen alimentos importantes en la dieta humana. No obstante, existen algunas especies con fuerte poder invasor, como es el caso de la perenne *Solanum elaeagnifolium*, que actualmente es un serio problema en algunos países del África septentrional como Marruecos, Argelia y Túnez, así como en algunos del Medio Oriente como Siria y Jordania (OEPP/EPPO 2007). Esta especie es de muy difícil control con medios convencionales, incluido los herbicidas, y afecta un buen número de cultivos perennes y anuales, a la vez que puede ser tóxica para el ganado.

3.6 *Spathodea campanulata* P. Beauv, es un árbol de la familia Bignoniaceae, que fuera introducido en los años 30 del siglo pasado en varias islas del Pacífico, donde se ha convertido en una planta invasora en áreas baldías y bosques naturales. La especie tiene la capacidad de desplazar a otras especies de árboles, y la utilidad de *S. campanulata* es reducida por lo blando de su madera. Esta especie ha sido introducida en las últimas décadas en varios países del sur y del sudeste asiático, así como en el Caribe y América Central. Ya en algunos países como Cuba y República Dominicana se han reportado problemas con esta especie al invadir áreas forestales en montaña (Labrada y Díaz 2009).

### 3.7 Las plantas parásitas

Las plantas parásitas continúan siendo problemas en muchos cultivos productores de alimentos. África subsahariana tal pareciera que ya tiene controlado el problema de las especies *Striga* spp, lo cual no es cierto. La pérdida de producción de sorgo, maíz, mijo por parte de *S. hermontica* y *S. asiática* es considerable, se estima que hasta un 40% de esta producción se pierde anualmente en esa zona del mundo, mientras que *S. gesnerioides* afecta la producción de caupí. Las especies de *Phelipanche* y de *Orobanche*, muy común en países del Mediterráneo, igualmente afectan de forma permanente la producción de varios cultivos. *Orobanche crenata* es una de las grandes limitantes de producción que tienen una serie de leguminosas (Abu-Irmaileh y Labrada 2007), mientras que *Phelipanche ramosa* y *P. aegyptiaca* están entre las principales malezas de cultivos de solanáceas en la región indicada.

### 3.8 Las plantas acuáticas.

La flotante *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms es sin lugar a dudas la principal maleza acuática y una de las principales invasoras en buena parte del mundo tropical y sub-tropical además de zonas templadas de China y Australia. Su distribución tiene un solo culpable, la mano del hombre. Otro tanto se puede decir del helecho acuático flotante *Salvinia molesta* D.Mitch, que llegó a ser introducida por la mano del hombre en Senegal, con fines de alimentación al ganado, y convertirse en un problema en el río del mismo nombre compartido también con Mauritania (Labrada y Fornasari (2002). La lechuguilla acuática *Pistia stratiotes* L., igualmente flotante, está ampliamente diseminada en zonas cálidas. En 2004 la especie apareció en Israel, mientras que la especie se establece bien en corrientes de agua termales de Eslovenia (Sajna 2007). Todas estas especies causan problemas en ríos, embalses, sistemas de irrigación, pesca y plantas hidro-energéticas.

Entre las especies sumergidas, la más importante en la actualidad es *Hydrilla verticillata* L.f. Royle, oriunda del Este Europa y el Asia Meridional, que en EEUU se ha convertido en la principal especie acuática, y que ya afecta otros países vecinos como es el caso de México y de Guatemala. Esta especie requiere menos luz para su crecimiento, es más eficiente que otras plantas en la toma de nutrientes y tiene efectivas formas de reproducción, lo cual puede hacer mediante sus semillas, pero lo más frecuente es que lo haga a partir de fragmentos de sus raíces o de sus tallos (Anon. 2004).

## 4. OTROS PROBLEMAS DE MALEZAS

Existen otras especies de plantas que bien han perdido su importancia anterior, lo cual sucede con el caso de *Cynodon dactylon* (L.) Pers., otrora considerada como la especie principal de malezas en las plantaciones de cítricos del mundo, es hoy bien controlada con distintos herbicidas (Horwitz 1996), sobre todo glifosato. *Rottboellia cochinchinensis* es una poacea anual, de origen asiático, cuyo fruto es una cariósipide que contiene la semilla. Usualmente la planta muestra períodos de latencia. La producción de semillas de la especie es usualmente alta en condiciones de no competencia con otras plantas. Ha sido maleza importante en maíz y caña de azúcar en Centro-América y el Caribe, EE UU meridional, algunos países de SudAmérica, Asia

tropical y África central y occidental, posee los mismos mecanismos del maíz para desactivar las clorotriazinas. En este mundo existen un buen número de herbicidas que pueden ser utilizados para su control, entre ellos pendimetalina ( $1.5 \text{ kg ha}^{-1}$ ) y nicosulfuron ( $35 \text{ g a.i. ha}^{-1}$ ) en maíz (Valverde 2003).

La poacea perenne de origen asiático *Imperata cylindrica* (L.) P. Beauv. ha sido un problema mayormente en áreas de barbecho en África, pero su control actualmente ha sido posible en algunos países del África Occidental con la rotación de estas áreas con la leguminosa *Mucuna pruriens* (L.) DC. var. utilis (Wall. ex Wight) Baker ex Burck (Chicoye 2003). No obstante, en muchas áreas del África subsahariana *I. cylindrica* continúa siendo un problema.

*Commelina benghalensis* L. otrora especie de poca importancia, de origen asiático y africano, es hoy una especie bastante diseminada en el mundo tropical y sub-tropical, muy tolerante de siempre al glifosato.

## 5. SOLUCIÓN A ESTOS PROBLEMAS

Las malezas, sobre todo en áreas de países en desarrollo, son a veces plagas subestimadas. La vida demuestra regularmente que el intercambio de especies de plantas, que se inició con el descubrimiento del hemisferio occidental, continúa y aún quedan muchas especies de plantas por llegar a nuevos hábitats. Por otro lado, confiar en controlar a una maleza con un método sencillo de control no es siempre la mejor vía de resolver el problema. Por lo tanto, dos cosas se imponen:

1. Análisis sistemático de las malezas, o sea plantas aún no introducidas, pero susceptibles de poder llegar a nuevos territorios, conjuntamente con prácticas de post manejo de las plantas que logren rebasar las nuevas fronteras, y aplicar la estrategia más factible al efecto.
2. Practicar métodos integrados de manejo de malezas de manera de reducir sostenidamente los niveles de los bancos de semillas u otros propágulos en suelo.

## 6. REFERENCIAS

- Abu-Irmaileh B.E. y Labrada R. 2007. The problem of *Orobanche* spp in Africa and NearEast. 2007.  
<http://www.fao.org/agriculture/crops/corethemes/theme/biodiversity/weeds/issues/oro/jp/>
- Anon. 2004. Hydrilla problem facts. <http://www.hydrilla-weed-killer.com/hydrilla-problem-facts.html>
- Chicoye D. 2003. Characteristics and management of *Imperata cylindrica* (L.) Raeuschel in smallholder farms in developing countries. In "Weed Management for Developing Countries, Addendum I", editado R. Labrada, FAO PLANT PRODUCTION AND PROTECTION PAPER 120 Add. 1.
- Fuentes R.G., Baltazar A.M., Merca F.E., Ismail A.M., Johnson D.E. 2010. Morphological and physiological responses of lowland purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) to flooding. AoB Plants doi: 10.1093/aobpla/plq010
- Holm LeRoy G., Plucknett, Donald L. (1977). The World's worst weeds: Distribution and biology. Hawaii: University Press of Hawaii. 609 pages.

- Horwitz M. 1996. Bermuda grass (*Cynodon dactylon*), a history of the weed and its control in Israel. *Phytoparasitica* 24(4): 305- 320.
- Labrada R. y Fornasari L. 2002. Management of problematic aquatic weeds in Africa, FAO Efforts and Achievements during the Period 1991 – 2001. FAO, Rome, pages 35.
- Labrada R. y Díaz A. 2009. The invasiveness of the African Tulip Tree, *Spathodea campanulata* Beauv. *Biodiversity* vol. 10, Issue 2-3, pages 79- 82. Special Issue: Invasive Alien Species in a Changing World.
- Labrada R. 2010. Malezas importantes del mundo. PPT en “Curso Internacional de Control Biológico de Malezas”. IMTA, Cuernavaca.
- Li, Xiao-Meng, Liao, Wan-Jin, Wolfe, Lorne M., Zhang, Da-Yong, Ingvarsson Pär K. 2012. No Evolutionary Shift in the Mating System of North American *Ambrosia artemisiifolia* (Asteraceae) Following Its Introduction to China. *PLoS ONE* 7(2):e31935.
- King R.M y Robinson H. 1997. *Chromolaena odorata* [En línea]. <http://www.bangor.ac.uk/~afs101/iwpt/web-sp4.htm>
- OEPP/EPPO 2007. *Solanum elaeagnifolium*. Data sheets on quarantine pests, Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 37, 236– 245
- Sajna Nina, Haler Maja, Kornik S. Sonja & Kaligarić M. 2006. Survival and expansion of *Pistia stratiotes* L. in a thermal stream in Slovenia. **Aquatic Botany** 87 (2007) 75–7
- Seier M.K., Djeddour D, Doraiswamy S, Kumar PS, Kauraw LP and Aneja KR. 1999. The impact of *Parthenium* weed in India and the development of an integrated management strategy based on Australian experiences. pp 58. 10th International Symposium on Biological Control of Weeds, Bozeman, Montana, USA. 4-14 July, (abstract) (A).
- Valverde B.A. 2003. Progress on *Rottboellia cochinchinensis* management. In “Weed Management for Developing Countries, Addendum I”, editado R. Labrada, FAO PLANT PRODUCTION AND PROTECTION PAPER 120 Add. 1.
- Vaughan, L.K., B.V. Ottis, A.M. Prazak-Havey, C.A. Bormans, C.H. Sneller, J.M. Chandler, and W.D. Park. 2001. Is all red rice found in commercial rice really *Oryza sativa*?. *Weed Sci.* 49:468-476.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Evaluación de distintas estrategias de manejo de malas hierbas en un cultivo energético de chopo**

C. San Martín <sup>a</sup>, J.M. Martín, D. Campos, D. Andújar, C. Fernández-Quintanilla, J. Dorado  
Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), Serrano 115B, 28006 Madrid,  
<sup>a</sup>[carolina.smh@ica.csic.es](mailto:carolina.smh@ica.csic.es)

*Resumen:* El presente trabajo analiza los efectos de diferentes sistemas de manejo de las malas hierbas en un cultivo energético de chopo de alta densidad sobre el desarrollo de las malas hierbas y la productividad del cultivo durante el primer período vegetativo. Por un lado, la gestión de las calles basada en herbicidas (oxifluorfen en pre-emergencia + glifosato en post-emergencia) resultó la más efectiva en el control de malas hierbas y, en consecuencia, con mayor producción de biomasa de chopo respecto a la gestión estándar. A pesar del buen control de malas hierbas observado en las cubiertas vegetales, esta estrategia produjo una reducción significativa de la biomasa de chopo. Por otro lado, este estudio ha puesto de manifiesto la dificultad de controlar las malas hierbas en la línea de cultivo, obteniendo resultados aceptables de reducción de biomasa únicamente en el tratamiento con oxifluorfen.

**Palabras clave:** cultivos energéticos, producción biomasa de chopo, control de malas hierbas.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los cultivos energéticos destinados a la producción de biomasa lignocelulósica para su utilización como combustible en instalaciones energéticas, están adquiriendo gran importancia en los últimos años debido a su potencial como fuente de energía renovable. En este sentido, la normativa europea establece un mínimo de cuota de energía de origen renovable en su consumo final bruto de energía para el año 2020, estimándose necesarias 2 millones de hectáreas dedicadas al cultivo de especies leñosas de corta rotación para satisfacer estos objetivos energéticos (European Biomass Association, 2010). En España no somos ajenos a esta política, y así el Plan de Energías Renovables 2005-2010 planteaba que el objetivo del 12,1% de la energía primaria procedente de fuentes renovables se debía sustentar en un 60% en la bioenergía (BioPlat, 2013).

El chopo (*Populus* spp.) es una de las especies más utilizadas como cultivo energético en el sur de Europa debido a su alta producción en plantaciones de alta densidad y corta rotación (Sevine *et al.*, 2009; Sixto *et al.*, 2007). Su viabilidad económica está condicionada por los elevados costes de producción, principalmente los debidos al corte de árboles y su transporte hasta la planta de energía. Son también importantes los costes debidos al establecimiento de la plantación, entre los que se encuentran el laboreo, la plantación en sí y el control efectivo de las malas hierbas. De hecho, las infestaciones de malas hierbas constituyen uno de los principales obstáculos en la producción de chopo para biomasa, especialmente durante el primer año de implantación del cultivo, periodo de máxima sensibilidad a la competencia con la flora arvensis (Buhler *et al.*, 1998).

A pesar de que las malas hierbas son uno de los principales obstáculos para la producción de chopos en plantaciones de corta rotación, apenas existen datos sobre la composición florística, densidad y cobertura de las comunidades de malas hierbas presentes en estos cultivos. Esta información es de gran relevancia para planificar su manejo, especialmente si se

consideran los dos tipos de problemas derivados de la posición de las malas hierbas, según éstas se sitúen en las líneas del cultivo o en las calles entre líneas. Las malas hierbas en la línea de cultivo crean problemas importantes: se ven favorecidas por el agua y los nutrientes suministrados por el sistema de riego, y compiten fuertemente con los árboles. En cambio, las malas hierbas presentes en las calles no se benefician del riego y los nutrientes y, en consecuencia, tienen una ecología completamente diferente, compitiendo ligeramente con el cultivo. Habitualmente, el control de malas hierbas durante el primer año de plantación del chopo está basado en la aplicación en pre-emergencia de oxifluorfen en las líneas del cultivo y un laboreo intensivo en las calles (Sixto *et al.*, 2007). Dicho sistema tiene un coste (económico y energético) relativamente elevado y frecuentemente resulta en un control deficiente de la vegetación arvense.

Con objeto de poder ofrecer a los productores de chopo unas estrategias de gestión más eficaces y con un menor uso de insumos, este trabajo se planteó como objetivo el evaluar métodos alternativos de manejo de las malas hierbas, tanto en la línea del cultivo como en las calles.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se han llevado a cabo durante el año 2012 dos experimentos en la finca “La Poveda” (Arganda del Rey, Madrid), en dos parcelas con cultivo de chopo de primer año y de alta densidad (0,5 m entre plantas; 3 m entre calles). Durante el verano del año anterior a la plantación del chopo se realizó una prospección de las malas hierbas presentes en estas parcelas, observándose que las especies dominantes eran las habituales en campos con rotación maíz-cebada en la zona centro de España (principalmente *Datura ferox* L. y *Chenopodium album* L.).

El primer experimento, realizado en una parcela de 5.000 m<sup>2</sup>, se diseñó en bloques al azar con cuatro repeticiones que incluían las siguientes estrategias de manejo en la calle: *i*) referencia estándar (oxifluorfen en pre-emergencia + laboreo en post-emergencia); *ii*) basado en herbicidas (oxifluorfen en pre-emergencia + glifosato en post-emergencia); y *iii*) basado en cubierta vegetal (cebada). La evaluación de las malas hierbas (densidad y biomasa) se llevó a cabo en junio y octubre, 2 y 6 meses después de la plantación del chopo, utilizando en cada uno de los tratamientos dentro de cada bloque 10 marcos de 1/5 m<sup>2</sup> tanto en la calle como en la línea de cultivo. El análisis de la productividad del chopo consistió en un muestreo no destructivo (altura y diámetro del tronco a 10 cm del suelo) en noviembre, coincidiendo con el final del periodo vegetativo, en el que se midieron 40 árboles en cada tratamiento dentro de cada bloque. Para la estimación de la biomasa seca del chopo se utilizó la ecuación de biomasa propuesta por Sixto *et al.* (2007) para el clon I-214 utilizado en este experimento:

$$W=1,001403(-12,986078 d_{10}^{1,4730930} h^{1,176259})$$

donde  $W$  es el peso seco de la biomasa del pie,  $d_{10}$  el diámetro a 10 cm del suelo y  $h$  la altura del pie.

El segundo experimento, también diseñado en bloques al azar con cuatro repeticiones, se llevó a cabo en una parcela de 1.400 m<sup>2</sup> con las siguientes estrategias de manejo en la línea de cultivo: *i*) glifosato con campana protectora; *ii*) escarda manual; *iii*) glifosato con aplicador de contacto; *iv*) desbrozadora; *v*) quemador; *vi*) cubierta de papel; *vii*) oxifluorfen en pre-emergencia; y *viii*) sin control. En este experimento se realizaron dos muestreos en junio y

septiembre, registrando la densidad y biomasa de malas hierbas en la línea de cultivo así como la biomasa del chopo. Los muestreos se realizaron en tres puntos dentro de cada parcela, que incluían dos pies de chopo para el muestreo de biomasa y las malas hierbas que les rodeaban dentro de un marco de 1,0 m × 0,5 m, situando el lado mayor del marco en sentido paralelo a la línea de chopos.

Para determinar si existen diferencias significativas entre las estrategias de manejo en la calle o en la línea de cultivo se utilizó el Análisis de Varianza de una vía, con la prueba *post hoc* de Scheffe para comparar las medias de biomasa tanto de malas hierbas como de chopo.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de ambos experimentos han de considerarse como preliminares debido a que pertenecen al primer año de un turno de cultivo de 3 años. No obstante, los datos muestran un efecto significativo del sistema de manejo de las malas hierbas en la calle: los chopos resultaron más vigorosos en la estrategia basada en herbicidas, en tanto que la cubierta vegetal produjo una disminución de los parámetros biométricos del chopo. Cuando se utilizaron herbicidas, la biomasa del cada árbol era un 12,3% mayor que en la estrategia

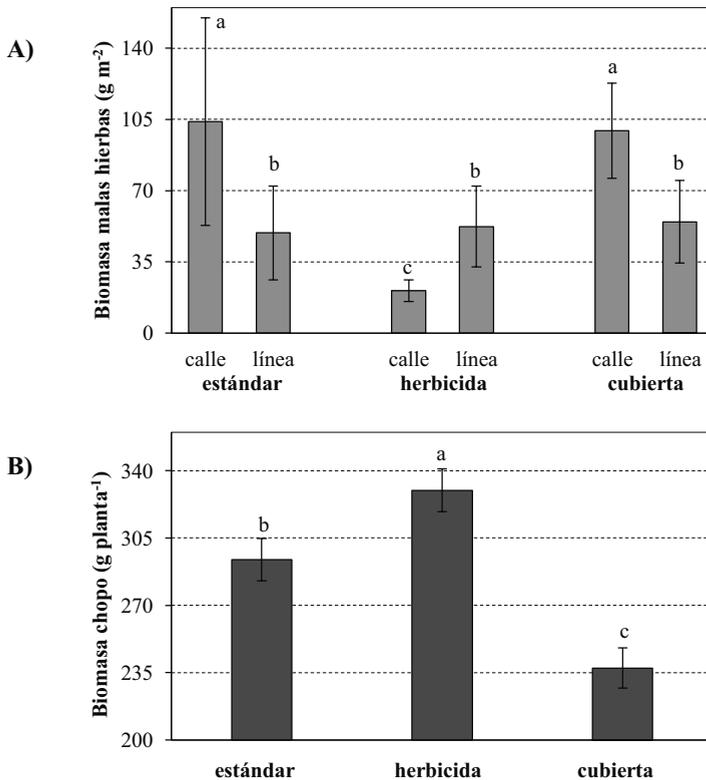


Figura 1. Producción de: A) biomasa de malas hierbas (promedio de los muestreos de junio y octubre), y B) chopo (muestreo de noviembre) con tres sistemas de manejo de las malas hierbas en la calle.

estándar, aparentemente debido a la menor competencia con las malas hierbas, sobre todo en la calle (Figura 1). En el caso de la cubierta vegetal, se observó un descenso de 19,2% en la biomasa de cada árbol respecto a la estrategia estándar, a pesar de que la competencia con las malas hierbas (estimada por la biomasa de malas hierbas) fue similar. La posible explicación de esta reducción del rendimiento del chopo podría encontrarse en la competencia con la propia cubierta vegetal.

El segundo estudio puso de manifiesto la necesidad (y la dificultad) de controlar las mala hierbas en la zona más susceptible de competencia, la línea de cultivo, tal y como pudo observarse en el tratamiento “sin control”, donde la producción de biomasa de chopo fue nula (Figura 2). La mayor producción de biomasa de chopo se obtuvo en el tratamiento con

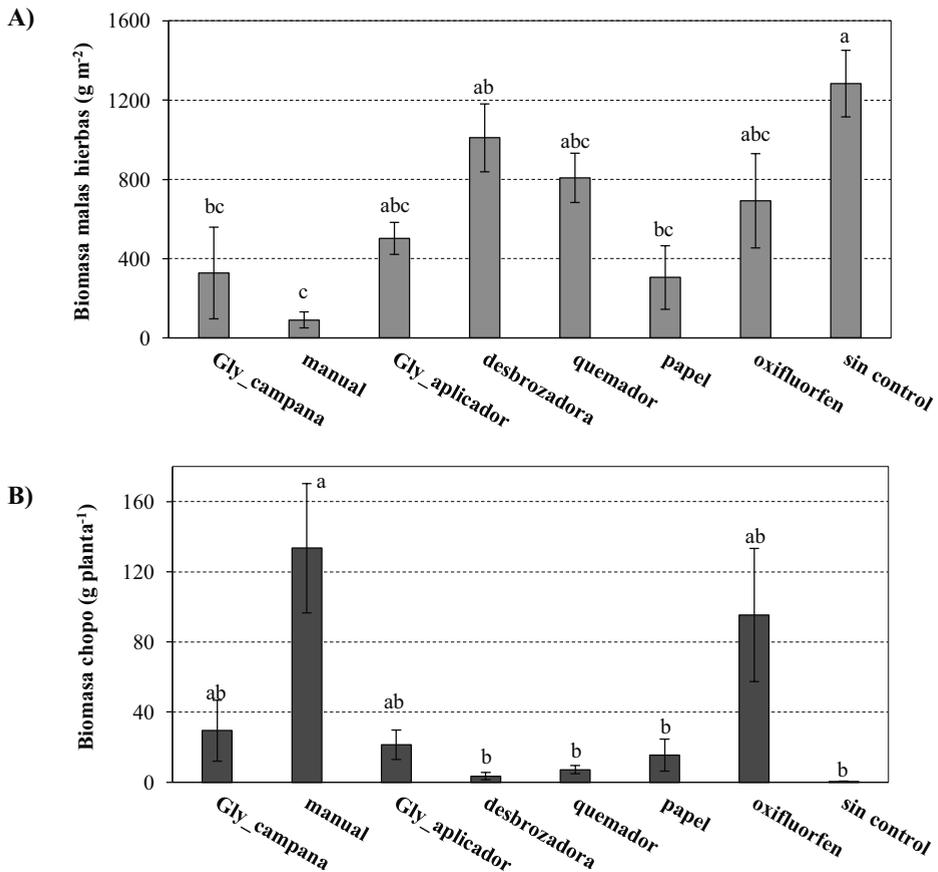


Figura 2. Producción de biomasa de malas hierbas (A) y chopo (B) con diferentes sistemas de manejo de las malas hierbas en la línea de cultivo (muestreo de septiembre).

oxifluorfen, con una reducción del 28,5% respecto al control con escarda manual (*i.e.*, máxima producción potencial). Los dos tratamientos con glifosato produjeron un control aceptable de las malas hierbas, pero resultaron en reducciones de la producción de biomasa de

chopo del 78,0% (glifosato con aplicador de contacto) y 84,1% (glifosato con campana protectora) respecto al control con escarda manual. El resto de estrategias resultaron en disminuciones significativas respecto al control. Las reducciones del 97,4% y 94,6% observadas en el caso de las estrategias que utilizaban la desbrozadora y el quemador, respectivamente, pudieron deberse al nulo efecto residual en el control de malas hierbas, junto al daño causado por estos aperos al cultivo. En cuanto al empleo de una cubierta de papel, estrategia con un buen control de malas hierbas, la reducción del 88,5% en la producción de biomasa del chopo estuvo provocada por la muerte de muchas plantas de chopo, posiblemente por alguna enfermedad radicular.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la CICyT (proyecto AGL2011-25243). Carolina San Martín agradece al Ministerio de Economía y Competitividad el apoyo mediante una beca F.P.I. (Expediente N° BES-2012-055222).

#### 5. REFERENCIAS

- BioPlat (2013). Plataforma Tecnológica Española de Biomasa. <http://www.bioplat.org>
- Buhler DD, Netzer DA, Riemenschneider DE and Hartzler RG (1998). Weed management in short rotation poplar and herbaceous perennial crops grown for biofuel production. *Biomass and Bioenergy*, 14, 385-394.
- European Biomass Association (2010). Supply of biomass for energy in EU27 in 2007 and outlook for 2020. <http://www.aebiom.org/?cat=16>
- Sevine E, Gabarrell X, Martínez C, Pagés-Grau JM, Rieradevall J and Rovira L (2009). Cultivar energía: potencialidades, oportunidades y técnicas agrícolas del chopo como cultivo para la producción de energía renovable. *Tierras*, 164, 46-52.
- Sixto H, Hernández MJ, Barrio M, Carrasco J and Cañellas I (2007). Plantaciones del género *Populus* para la producción de biomasa con fines energéticos: revisión. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales*, 16, 277-294.
- Sixto H, Montoro JL, Cañellas I, Hernández MJ and Barrio-Anta M (2007). Evolución de la producción de biomasa energética en clones de chopo durante el primer período vegetativo. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 23, 245-250.

Summary: *Evaluation of different strategies for weed management in poplar energy crops. This study analyzes the effects of different weed management systems applied during the first growing season on the productivity of a poplar energy crop grown at high density. On the one hand, management strategy of the streets based on the use of herbicides (oxyfluorfen pre-emergence + glyphosate post-emergence) proved to be the most effective and, consequently, increased the production of biomass with respect to the standard management. Despite good weed control observed in the cover crops, this strategy resulted in significant reduction of biomass poplar. Moreover, this study has shown the difficulty of controlling weeds around trees, observing results of biomass reduction only assumable in the strategy with oxyfluorfen.*

Keywords: energy crops poplar biomass production, weed control.



## **Influencia de la presencia de musgo sobre la instalación de malas hierbas en suelos de olivar**

S. Ben Sasson<sup>\*b</sup>, S. Rams<sup>\*\*c</sup>, C. Alcántara\*, M. Saavedra<sup>\*a</sup>

\*IFAPA Alameda del Obispo, Apdo. 3092, 14080-Córdoba

<sup>a</sup> [mariam.saavedra@juntadeandalucia.es](mailto:mariam.saavedra@juntadeandalucia.es)

<sup>b</sup> [sivanvani@gmail.com](mailto:sivanvani@gmail.com)

\*\*Centro de Magisterio “La Inmaculada”, Universidad de Granada, C/ Joaquina Eguaras 114, 18013-Granada <sup>c</sup>[susanarams@eulainmaculada.com](mailto:susanarams@eulainmaculada.com)

*Resumen:* Se ha evaluado la instalación de plantas de 7 especies de malas hierbas (*Brachypodium distachyon*, *Capsella bursa-pastoris*, *Malva parviflora*, *Papaver rhoeas*, *Sagina apetala*, *Sinapis alba* subsp. *mairei* y *Stellaria media*), en macetas mantenidas en ambiente semi-protégido, para suelos desprovistos de vegetación frente a los mismos suelos cubiertos por tapices de musgos diferentes de 3 localidades. El diseño experimental fue factorial (localidad × especie × con/sin musgo) con 4 repeticiones y 100 semillas/ maceta. Se evaluó la emergencia semanalmente y se realizó ANOVA y separación de medias. Los valores medios de emergencia 10 semanas después de la siembra mostraron diferencias significativas entre especies, las cuales se instalaron en mayor proporción y más rápidamente en ausencia de musgo. No hubo diferencias significativas entre localidades. La presencia de musgo en el suelo, mediante la reducción o retraso en la instalación de malas hierbas, se mostró como un método de control no químico en el manejo integrado de las malas hierbas en olivar.

Palabras clave: Musgo, olivar, cubierta vegetal, emergencia, control biológico, control integrado.

### **1. INTRODUCCIÓN**

El olivo es uno de los cultivos mejor adaptados a las condiciones del clima mediterráneo. Su flora arvense en régimen de laboreo tradicional es muy diversa (Saavedra y Pastor, 2002). Pujadas-Salvá (1986) indicó que tanto la presión sobre el control de malas hierbas, como la aplicación de herbicidas o el laboreo muy intensivo, conducen a una reducción en el número de especies presentes. El uso de herbicidas en sistemas de no laboreo ha producido pérdida de riqueza y abundancia de especies, pero también eventos de contaminación de aguas; sin embargo el no laboreo y el uso de herbicidas para el control de malas hierbas ha propiciado la proliferación de briófitos, que en años más húmedos llegan a constituir auténticas praderas. Rams *et al.*, (2011) cuantificaron un 68 % de cobertura media de briófitos en 5 olivares andaluces mostrando además una gran riqueza de estas especies y en localidades con muy diferentes pluviometrías medias. Actualmente en muchos olivares sometidos a tratamientos herbicidas y no laboreo se puede observar a simple vista que la flora dominante son los briófitos.

En otros ambientes más húmedos Brown (1967) puso de manifiesto que los musgos más grandes que forman gruesas capas, reducen el éxito de las plántulas de varias especies; y Miller y Miller (1979) que *Sphagnum* spp. esparcido por el suelo y mezclado con la tierra previno el crecimiento de malezas y *Pleurozium schreberi* (Willd. ex Brid.) Mitt. aumentó la germinación de semillas de coníferas, pero las plántulas apenas sobrevivieron. Esto parece ser el resultado de la escasa altura de las plántulas, lo que hace imposible que puedan competir con musgos más altos por luz, o porque las semillas germinan muy lejos del suelo y son

incapaces de obtener suficiente agua y nutrientes a través de su raíces. Keizer *et al.* (1985) encontraron que mientras mayor es la cubierta de briófitos, menor es la aparición de herbáceas en una pradera calcárea, pero mayor la supervivencia de las mismas. Van Tooren (1990) sugiere que la baja proporción del espectro de luz rojo/rojo lejano bajo la cubierta de briófitos reduce la emergencia y establecimiento de plántulas.

La hipótesis de partida de este trabajo, una vez vistos los resultados en otras condiciones climáticas, fue que los musgos del olivar podrían tener un efecto beneficioso como agente de control biológico de malas hierbas. En base a esta hipótesis el objetivo planteado consistió en determinar la influencia de un tapiz de musgo de olivar frente a un suelo desnudo sobre la emergencia e instalación de malas hierbas.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se eligieron 7 especies de malas hierbas de germinación otoñal, frecuentes en los olivares, de diferentes familias y distinto tamaño de semilla (Tabla 1). Se recolectaron en junio 2012 en la provincia de Córdoba y se conservaron en condiciones de laboratorio en envases de cristal (22 a 28 °C).

Tabla 1. Familia, nombre científico, tamaño y peso de las semillas de las especies utilizadas.

| Familia                | Taxón   | Tamaño de la semilla o propágulo (mm) | Clases de Tamaño        | Peso de 1000 semillas o propágulos (g) |
|------------------------|---|---------------------------------------|-------------------------|--|
| <i>Caryophyllaceae</i> | <i>Sagina apetala</i> Ard.                        | 0.2 × 0.3                             | Muy pequeño             | 0.027                                  |
| <i>Caryophyllaceae</i> | <i>Stellaria media</i> L.                         | 0.9-1.2 × 0.9-1.2                     | Pequeño                 | 0.480                                  |
| <i>Cruciferae</i>      | <i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medicus       | 1.0 × 0.5                             | Pequeño                 | 0.101                                  |
| <i>Cruciferae</i>      | <i>Sinapis alba</i> L. subsp. <i>mairei</i> Maire | 2.0 – 3.5                             | Medio                   | 4.082                                  |
| <i>Gramineae</i>       | <i>Brachypodium distachyon</i> (L.) Beauv.        | 7.5-9.0                               | Grande (Forma alargada) | 4.392                                  |
| <i>Malvaceae</i>       | <i>Malva parviflora</i> L.                        | 2.0-2.5 × 2.0                         | Medio                   | 1.760                                  |
| <i>Papaveraceae</i>    | <i>Papaver rhoeas</i> L.                          | 0.6-0.7 × 0.4-0.5                     | Muy pequeño             | 0.084                                  |

El 6, 14 y 15 de noviembre se extrajeron muestras homogéneas de musgo (10 cm x10 cm y 2 cm de profundidad) y suelo sin musgo, de 3 olivares situados en las localidades de Cabra, Santa Cruz y Alameda del Obispo respectivamente, pertenecientes a la provincia de Córdoba. Las localidades difirieron en altitud y pluviometría media y los suelos presentaron texturas y características diferentes, así como distintos tipos de especies dominantes de musgo. En Cabra la especie dominante fue *Didymodon vinealis* (Brid.) R.H. Zander), en Santa Cruz, *Aloina rigida* (Hedw.) Limpr., acompañada de *Bryum caespiticium* Hedw.) y en Alameda del Obispo (Córdoba) la especie dominante fue *Pseudocrossidium hornschurchianum* (Schultz) R.H. Zander, acompañado de *Bryum caespiticium* Hedw. y *Didymodon luridus* Hornsch. como especies minoritarias.

Los tapices se dispusieron en macetas de 100 cm<sup>2</sup> de superficie en un recinto abierto protegido de la lluvia y con riego por aspersión. Una vez establecidos, el 29 de noviembre, se sembró en cada maceta una especie de mala hierba a razón de 100 semillas por maceta. El

diseño experimental fue factorial (7 especies × 3 localidades × 2 suelos con/sin musgo) con 4 repeticiones. Entre las 3 y 10 semanas después de la siembra se hicieron conteos semanales de emergencia. Las plántulas con cotiledones o hipocótilo y 1 hoja visible se eliminaron en cada conteo. En el caso de *S. apetala*, por su pequeño tamaño y dificultad de ser eliminadas se contaron a partir de las 5 semanas. Se realizó el ANOVA y separación de medias mediante el test Tukey, para los datos transformados  $\sqrt{x/100}$ , usando el programa STATISTIX 9.0.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Todas las especies emergieron excepto *M. parviflora* por lo que esta especie no fue considerada en los análisis estadísticos. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre localidades ni interacciones entre localidad y los demás factores. Los porcentajes medios de emergencia a las 10 semanas se indican en la Figura 1. Se pusieron de manifiesto diferencias significativas entre especies, siendo *B. distachyon* la que emergió en mayor porcentaje (93% en suelo desnudo y 85% en musgo), seguida de *S. apetala*, *S. alba* y *S. media*, y en menor proporción emergieron *P. rhoeas* y *C. bursa-pastoris*. La emergencia fue mayor en suelo desnudo que en suelo con musgo en todas las especies excepto *B. distachyon*. Sin embargo, en esta especie, durante las primeras semanas se observó un retraso en la emergencia en el suelo cubierto de musgo respecto al suelo desnudo, que fue estadísticamente significativo hasta la 7ª semana (Figura 2). También se observó un evidente retraso la primera semana en *S. alba* (datos no mostrados).

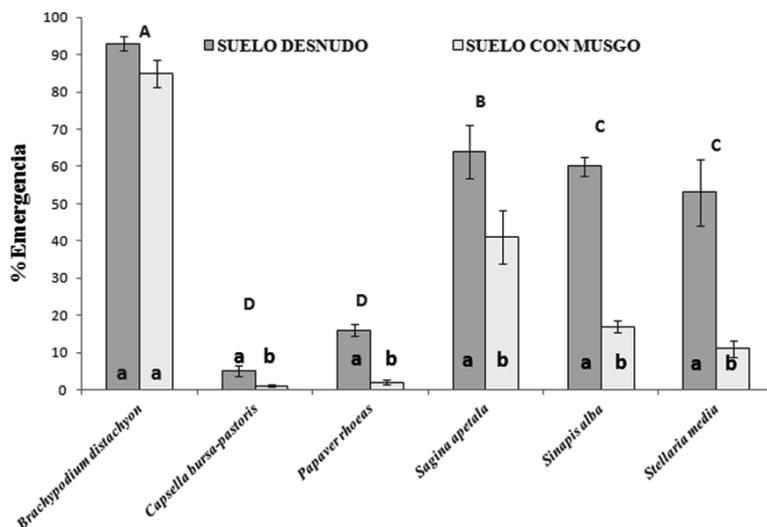


Figura 1. Porcentaje medio de emergencia acumulada 70 días después de la siembra. Las barras verticales representan el error estándar. Diferentes letras mayúsculas indican diferencias entre especies y diferentes letras minúsculas muestran las diferencias entre tipo de cubierta de suelo dentro de cada especie ( $P \leq 0.05$  test Tukey).

La presencia de un tapiz de musgo redujo considerablemente la instalación de malas hierbas en comparación con el suelo desnudo (Tabla 2). El musgo actuó como barrera e influyó en el tiempo que tarda la radícula de la semilla germinada en llegar al suelo y anclarse. Esto afectó claramente a la instalación de la plántula. No se observó ninguna relación con el tamaño de semilla de la especie de mala hierba. Así, las reducciones en los porcentajes de la emergencia sobre musgo respecto a suelo desnudo (Tabla 1) fueron muy

diferentes en plantas de semilla pequeña (88 % *P. rhoeas* y 36 % *S. apetala*), y en plantas de semilla mediana o grande (72% *S. alba* y 9 % *B. distachyon*). La influencia del musgo sobre uno de los parámetros demográficos que determinan el tamaño de las poblaciones de malas hierbas, como es la emergencia de plántulas y la colonización por parte de las poblaciones de especies, hace que podamos considerar a cubierta de musgo como un agente de control de malas hierbas, ya que su presencia favorecería la disminución del banco de semillas a lo largo del tiempo.

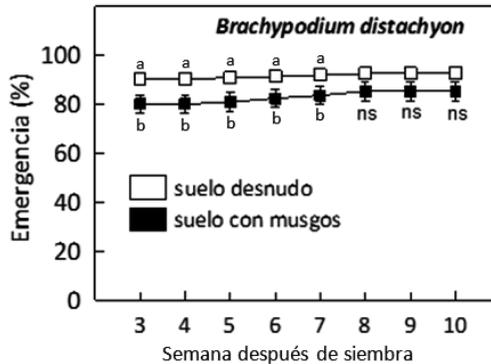


Figura 2. Evolución de la emergencia de *Brachypodium distachyon* en suelo con tapiz de musgo y suelo desnudo. En cada fecha letras diferentes indican diferencias entre tratamientos ( $P \leq 0.05$  test Tukey).

Tabla 1. Porcentaje medio de reducción de las emergencias en suelo con tapiz de musgo respecto a suelo desnudo en cada una de las especies evaluadas.

| Taxón                               | %  |
|-------------------------------------|----|
| <i>B. distachyon</i>                | 9  |
| <i>C. bursa-pastoris</i>            | 80 |
| <i>P. rhoeas</i>                    | 88 |
| <i>S. apetala</i>                   | 36 |
| <i>S. alba</i> subsp. <i>mairei</i> | 72 |
| <i>S. media</i>                     | 79 |

Estos resultados están acordes con la reducción del número de plántulas encontrado en otros ambientes por Brown (1967) y Miller y Miller (1979). Otros autores (Equiua y Usher, 1993) también encontraron un importante retraso en la germinación de plantas sobre camas de musgos. Podemos deducir que al estar más tiempo expuestas al aire cuando están sobre el tapiz de musgo, sin anclar su raíz, les hace más vulnerables a la desecación, pueden perder su capacidad de germinar, secarse, estropearse por la temperatura, el sol o la lluvia, o ser atacados por microorganismos o comidos por insectos o pájaros. Esto puede reducir la población de malas hierbas y al tiempo reducir la necesidad de hacer un tratamiento herbicida contra ellas. En zonas donde no está recomendado usar el método de laboreo para luchar contra las malas hierbas se podría gestionar el manejo de cubierta a base de musgo. Al considerar los resultados obtenidos y los antecedentes conocidos en otras condiciones ambientales, podríamos proponer el uso de musgos como cobertura vegetal, como complemento de las cubiertas vegetales a base de especies vasculares y con una doble

finalidad, proteger el suelo y facilitar el control de malas hierbas. No obstante, su aplicación en condiciones de campo debe ser explorada, así como su viabilidad económica.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Oleícola Internacional por la Beca concedida a S. Ben Sasson. A Andrés Gutiérrez, Trinidad Gutiérrez y M<sup>a</sup> Ángeles Gutiérrez por su asistencia en campo.

#### 5. REFERENCIAS

- Brown RT (1967). Influence of naturally occurring compounds on germination and growth of Jack pine. *Ecology*, 48, 542-546.
- Equihua M & Usher MB (1993). Impact of carpets of the invasive moss *Campylopus introflexus* on *Calluna vulgaris* regeneration. *Journal of Ecology*, 81, 359-365.
- Glime JM (2007). Economic and ethnic uses of bryophytes. In: Flora of North America Editorial Committee, eds. 1993+. *Flora of North America North of Mexico*. 15+ vols. New York & Oxford. Vol. 27, pp. 14-41. (Traducción de Juan Larrián, Departamento de Botánica, Universidad de Concepción, Chile. Agosto de 2010. Edición 24 febrero 2011).
- Keizer PJ, Tooren BF Van & During HJ (1985). Effects of Bryophytes on seedling emergence and establishment of short-lived forbs in chalk grassland. *Journal of Ecology*, 73, 493-504.
- Miller NG & Miller H (1979). Make ye the bryophyte. *Horticulture*, 57(1), 40-47.
- Rams S, Saavedra M, Alcántara C, Cabezas C y Jiménez-Moreno MJ (2011). Primera aproximación al estudio del estrato muscinal en el olivar andaluz. In: *Plantas Invasoras Resistencias a Herbicidas y Detección de Malas Hierbas*. XIII Congreso Nacional de Malherbología. Ed.: Arévalo JR, Fernández S, López F, Recasens J y Sobrino E. 2011. pp. 267-270. La Laguna, Tenerife.
- Saavedra M y Pastor M (2002). *Sistema de Cultivo en Olivar. Manejo de Malas Hierbas y Herbicidas*. Editorial Agrícola Española, S.A. Madrid. 429 pp.
- Tooren BF Van (1990). Effects of a bryophyte layer on the emergence of seedlings of chalk grassland species. *Acta Oecologia*, 11, 155-163.

Summary: Influence of the presence of moss on the installation of weeds in olive groves.

We evaluated the installation of plants of 7 weed species (*Brachypodium distachyon*, *Capsella bursa-pastoris*, *Malva parviflora*, *Papaver rhoeas*, *Sagina apetala*, *Sinapis alba* and *Stellaria media*), in pots kept in semi-protected environment for non-vegetation soil faced to similar soil covered by a mossy crust taken from 3 locations with different moss species. Factorial design (location × species × with / without moss) with 4 repetitions and 100 seeds per pot. Emergence was evaluated once a week and was held on the analysis of variance and mean differences. Emergencies were counted during 10 weeks showed significant differences between species, which were installed more quickly and in greater proportion in the absence of moss. There were no significant differences between locations. The presence of moss in soil of olive orchards, through the reduction or delay in the installation of weeds, displays a non-chemical control method which can be useful in the integrated management of weed.

Keywords: Moss, olive groves, cover crops, weed, emergence, biological control, integrated pest management.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**La flora arvense en el cultivo de la esparceta (*Onobrychis viciifolia* L.) aumenta la biodiversidad vegetal**

A. Cirujeda\*<sup>a</sup>, A. Mari\*, S. Murillo\*\*J. Aibar\*\*\*, C. Zaragoza\*

\* Unidad de Sanidad Vegetal, CITA, Avda. Montañana 930, 50018 Zaragoza,  
<sup>a</sup>acirujeda@aragon.es

\*\* Dep. Agricultura, Ganadería y M. Ambiente, Pza. S. P. Nolasco 7, 50071 Zaragoza

\*\*\* EPS. Universidad de Zaragoza, Ctra. de Cuarte, Km 67, 22071 Huesca

*Resumen:* El objetivo principal de la medida agroambiental “Siembra de esparceta en secano” en Aragón es favorecer el anidamiento y la reproducción de las aves esteparias. No se conoce bien la flora asociada a este cultivo ni la que pueda quedar en el cultivo de cereal cultivado tras esparceta. Se estudió la flora arvense en mayo de 2011 y de 2012 visitando cada año 24 campos situados en Calamocha (Teruel). Se encontró mayor número de especies y mayor índice Shannon de diversidad en las parcelas de esparceta que en las de cereal en ambos años, pero no se observaron problemas de malas hierbas como consecuencia de ello. El análisis multivariante muestra que la flora asociada a los campos de esparceta de tercer año difiere de la de los demás cultivos: cereal en monocultivo, cereal después de esparceta, esparceta en segundo año de establecimiento.

Palabras clave: medidas agroambientales, análisis multivariante.

## 1. INTRODUCCIÓN

En las áreas cerealistas de Aragón se están aplicando medidas agroambientales derivadas del programa de Desarrollo Rural 2007-2013. Una de estas medidas está destinada a proteger la avifauna esteparia de zonas declaradas como ZEPA (Zona de Especial Protección de Aves) o LIC (Lugar de Importancia Comunitaria) y se denomina “Siembra de esparceta en secano” en zonas con regionalización productiva en secano mayor o igual a 2000 kg/ha. Las principales condiciones para acogerse a esta medida son: a) Realizar el cultivo de esparceta durante 5 años en parcelas de secano, b) alzar el cultivo, como muy tarde, cuatro años después de la siembra, procediendo posteriormente a, como mínimo, un año de rotación del mismo, c) realizar una única siega anual entre el 1 de junio y el 30 de agosto, d) desde el 1 de mayo hasta el 1 de junio, no se podrá realizar pastoreo ni ningún otro tipo de aprovechamiento o afección de las superficies comprometidas a favor de la nidificación de aves esteparias. Esta medida trata de combinar el cultivo con el medio ambiente ya que, tradicionalmente, la zona de España con mayor superficie sembrada de esparceta ha sido Teruel y el manejo habitual era de uno a dos cortes y pastoreo del rebrote en otoño-invierno (Delgado *et al.*, 2002). No obstante, no está estudiada la flora arvense que se encuentra en el cultivo de la esparceta y, sobre todo, la flora que permanece después de este cultivo plurianual en el cereal sembrado posteriormente. Por ello, los objetivos de este estudio son 1) describir la flora encontrada en campos de esparceta y cereal y 2) evaluar si la flora arvense encontrada en la esparceta puede ser problemática para los cultivos posteriores.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

En la zona de Teruel el cultivo de la esparceta se suele mantener tres años, ya que las condiciones edafoclimáticas no permiten alargar durante más tiempo el cultivo. Por ello, durante los años 2011 y 2012 se escogieron cada año 6 parcelas de esparceta en su segundo y

6 en su tercer año de implantación, 6 campos de cereal sembrado posteriormente a la esparceta y 6 campos de cereal en monocultivo en la zona de Calamocha (Teruel). Las parcelas se escogieron en gabinete, a partir de las solicitudes de esta ayuda, y las visitas de campo se realizaron en mayo, en plena floración del cultivo para poder identificar el máximo número de especies arvenses. Para ello, tres personas han recorrido las parcelas en zig-zag y se han anotado todas las especies de flora arvense encontradas, finalizando el recorrido cuando no aparecían nuevas especies. Se ha procedido a la identificación de cada especie arvense anotando su cobertura utilizando la escala CEB (Comité d'Essais Biologiques, tomada de Marnotte, 1984) con valores comprendidos entre 1 y 9 correspondiendo al porcentaje de suelo cubierto: <1% (plantas raras), 1-7% (< 1 planta m<sup>-2</sup>), 7-15% (> 1 planta m<sup>-2</sup>), 15-30%, 30-50%, 50-70%, 70-85%, 85-93% y 93-100%. En cada campo también se ha anotado la cobertura total de malas hierbas. También se han obtenido otros datos de cada campo: superficie de la parcela y altitud. Así mismo, se ha calculado el número de especies por campo y el índice de Shannon siguiendo la fórmula  $H' = -\sum p_i \ln p_i$  (Magurran, 1987). Los datos se analizaron mediante análisis multivariante empleando el programa Canoco 4.5. (Ter Braak y Smilauer, 2002).

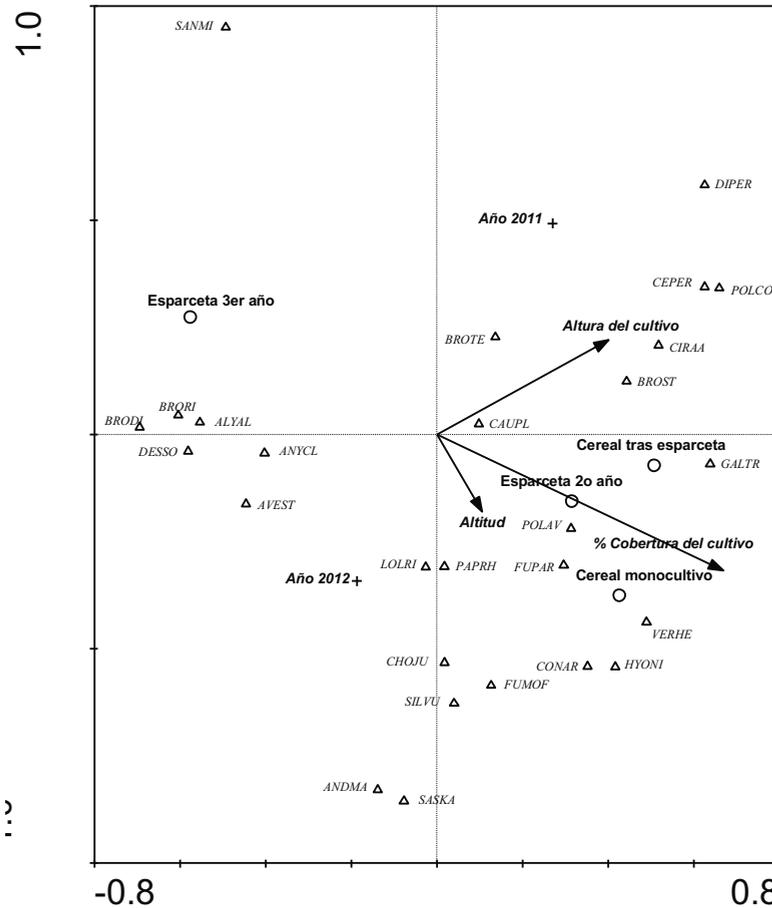
### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. *Número de especies encontradas e índice de Shannon.* Ambos años se ha encontrado un mayor número de especies arvenses en el cultivo de esparceta comparado con el de cereal (Tabla 1). El número de especies en cada cultivo fue estadísticamente similar, independientemente del año de cultivo de la esparceta y de la rotación en el caso del cereal. El índice de diversidad siguió un comportamiento muy similar al número de especies con ligeras diferencias en 2011 (Tabla 1).

3.2. *Tipo de especies más frecuentes y más abundantes.* Las especies más frecuentes en los diferentes cultivos no han coincidido ambos años (Tabla 1). Por ejemplo, *Sanguisorba minor* fue una especie muy frecuente y abundante en los campos de esparceta de tercer año en 2011 pero no en 2012. Generalmente, las especies más frecuentes no han sido las más abundantes exceptuando *Lolium rigidum* en tres ocasiones y *Alyssum alyssoides* en dos ocasiones. Esto significa que las especies más frecuentes no parecen ser muy nocivas para el cultivo al encontrarse en bajas densidades. En general, se han encontrado más especies frecuentes y abundantes en las esparcetas que en el cereal. En líneas generales, pocas especies se encontraron en abundancias medias mayores del 10% mostrando que había una elevada heterogeneidad en las parcelas estudiadas. Las especies que podrían preocupar desde el punto de vista de la abundancia media fueron, en 2011, *Diploaxis erucoides* en esparceta de segundo año y *S. minor* en esparceta de tercer año, aunque en este caso se trata de una planta forrajera igualmente apreciada y su principal inconveniente sería que se reduce la posibilidad de obtener semilla de calidad de esparceta. En el año 2012 abundó *L. rigidum* en parcelas de cereal tras esparceta, esparceta de segundo y de tercer año, así como *Papaver rhoeas* y *Anacyclus clavatus* en esparceta de segundo año y *A. alyssoides* y *Descurainia sofia* en esparceta de tercer año. La sequía del año 2012 posiblemente haya contribuido a que el cultivo de la esparceta se desarrollara de forma más débil y haya habido mayor competencia de las malas hierbas.

3.3. *Análisis canónico de correspondencia (CCA).* Según el análisis canónico de correspondencia (CCA), todos los factores introducidos en el modelo tuvieron un efecto significativo sobre la distribución de las especies estudiadas (según el test de Monte-Carlo) y explicaron el 22,0% de la variación total. El factor más importante fue el tipo de cultivo,

seguido por el año, la altura del cultivo, la altitud y, finalmente, el porcentaje de cobertura del cultivo (Figura 1).



**Figura 1.** Análisis de correspondencia canónica (CCA) en el que se representan las especies con mayor peso. ALYAL: *Alyssum alyssoides*; ANYCL: *Anacyclus clavatus*; ANDMA: *Androsace maxima*; AVEST: *Avena sterilis*; BRODI: *Bromus diandrus*; BRORI: *Bromus rigidus*; BROST: *Bromus sterilis*; BROTE: *Bromus tectorum*; CAUPL: *Caucalis platycapnos*; CEPER: *Cerastium perfoliatum*; CHOJU: *Chondrilla juncea*; CIRAA: *Cirsium arvense*; CONAR: *Convolvulus arvensis*; DESSO: *Descurainia sofia*; DIPER: *Diploaxis erucoides*; FUMOF: *Fumaria officinalis*; FUPAR: *Fumaria parviflora*; GALTR: *Galium tricornutum*; HYONI: *Hyosciamus niger*; LOLRI: *Lolium rigidum*; PAPRH: *Papaver rhoeas*; POLAV: *Polygonum aviculare*; POLCO: *Polygonum convolvulus*; SANMI: *Sanguisorba minor*; SASKA: *Salsola kali*; SILVU: *Silene vulgaris*; VERHE: *Veronica hederifolia*.

El cultivo que destacó en cuanto a la composición de flora fue esparbata en tercer año, quedando alejada del resto de cultivos en el gráfico de ordenación (Figura 1). Esto significa que numerosas especies están relacionadas con este cultivo (*Papaver hybridum*, *Echium plantagineum*, *A. alyssoides*, *S. minor*, *Isatis tinctoria*) pero menos con los otros cultivos. Por ello, las especies típicas de la esparbata no se encuentran en cereal cultivado después de ella,

mostrando que el cultivo de esparceta no aporta de forma importante especies de malas hierbas al cultivo de cereal siguiente. Coincidente con los datos expuestos anteriormente, *L. rigidum* y *P. rhoeas* se situaron en el centro del CCA, mostrando que son bastante indiferentes del tipo de cultivo.

**Tabla 1.** Resultados más relevantes sobre las especies más frecuentes y abundantes en los distintos campos muestreados. Cifras con letras distintas en cada columna difieren significativamente según el test de separación de medias Student-Newman-Keuls ( $P < 0.05$ ).

|                       | Nº medio de especies | Índice de Shannon | Especies más frecuentes (% de campos visitados)   | Especies más abundantes (% cobertura)   |
|-----------------------|----------------------|-------------------|---|---|
| <b>2011</b>           |                      |                   |   |   |
| Cereal monocultivo    | 18,0 b               | 0,77 bc           | <i>Cirsium arvense</i> (100)<br><i>Galium tricornerutum</i> (86)<br><i>Lithospermum arvense</i> (86)  | <i>Cerastium perfoliatum</i> (6,9)<br><i>Lolium rigidum</i> (5,8)<br><i>Polygonum convolvulus</i> (4,3) |
| Cereal tras esparceta | 16,5 b               | 0,60 c            | <i>P. convolvulus</i> (100)<br><i>Bromus tectorum</i> (100)   | <i>P. convolvulus</i> (10,1)<br><i>B. tectorum</i> (6,4)<br><i>B. sterilis</i> (1,9)                    |
| Esparceta 2º año      | 30,5 a               | 1,12 ab           | <i>Papaver rhoeas</i> (100)<br><i>Veronica polita</i> (86)<br><i>Sanguisorba minor</i> (86)<br><i>Alyssum alyssoides</i> (86)<br><i>Anacyclus clavatus</i> (86) | <i>Diploptaxis erucoides</i> (11,1)<br><i>P. convolvulus</i> (10,7)<br><i>G. tricornerutum</i> (7,6)    |
| Esparceta 3er año     | 34,4 a               | 1,27 a            | <i>L. rigidum</i> (100)<br><i>A. alyssoides</i> (86)<br><i>S. minor</i> (86)<br><i>Medicago lupulina</i> (86)<br><i>A. clavatus</i> (86)                        | <i>S. minor</i> (24,3)<br><i>A. alyssoides</i> (5,0)<br><i>Caucalis platycarpus</i> (3,8)               |
| <b>2012</b>           |                      |                   |   |   |
| Cereal monocultivo    | 11,0 b               | 0,63 b            | <i>Convolvulus arvensis</i> (100)<br><i>Chondrilla juncea</i> (100)   | <i>Salsola kali</i> (8,6)<br><i>L. rigidum</i> (5,8)<br><i>C. platycarpus</i> (3,3)                     |
| Cereal tras esparceta | 18,5 b               | 0,93 b            | <i>L. rigidum</i> (83)<br><i>Polygonum aviculare</i> (83)<br><i>Fumaria officinalis</i> (83)  | <i>L. rigidum</i> (11,4)<br><i>P. convolvulus</i> (6,7)<br><i>Papaver rhoeas</i> (5,7)                  |
| Esparceta 2º año      | 35,8 a               | 1,94 a            | <i>L. rigidum</i> (100)<br><i>P. rhoeas</i> (100)   | <i>L. rigidum</i> (20,1)<br><i>P. rhoeas</i> (18,5)<br><i>A. clavatus</i> (13,1)                        |
| Esparceta 3er año     | 30,7 a               | 2,02 a            | <i>A. alyssoides</i> (100)<br><i>D. sofia</i> (100)<br><i>L. rigidum</i> (100)<br><i>B. tectorum</i> (100)<br><i>P. rhoeas</i> (100)                            | <i>A. alyssoides</i> (28,1)<br><i>D. sofia</i> (22,3)<br><i>L. rigidum</i> (14,1)                       |

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este estudio se ha financiado mediante el proyecto AGL2010-22084-C02-02 del Ministerio de Ciencia e Innovación. Agradecemos a los conductores y a Rosario Gurucharri del Dep. de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente su amable disposición y colaboración.

## 5. REFERENCIAS

- ter Braak CJF, Smilauer P (2002). *CANOCO Reference Manual and Software for Canonical Community Ordination (Version 4.5)*. Biometrics, Wageningen University and Research Centre. Wageningen, Netherlands.
- Delgado I, Andrés C, Sin E, Ochoa M J (2002). Estado actual del cultivo de la esparceta (*Onobrychis viciifolia* Scop.). Encuesta realizada a agricultores productores de semilla. *Pastos* 32, 325-247.
- Marnotte P, (1984). Influence des facteurs agroécologiques sur le développement des mauvaises herbes en climat topical humide. *7ème Coll. Int. Ecol. Biol. et Syst. Des mauvaises herbes*. Paris. France. 183-189.
- Magurran A E (1987). *Ecological Diversity and its Measurements*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.

Summary: *The weed flora in sainfoin crop (Onobrychis viciifolia L.) increases plant biodiversity. The main objective of the agri-environmental scheme "Sowing sainfoin in rainfed areas" in Aragón (NE Spain) is to favour nesting and reproduction of steppe birds. Weed flora associated to this crop is not well-known and it is unclear if some species could remain in the cereal after cropping sainfoin. Weed flora was studied in May 2011 and 2012 visiting 24 fields each year in the Calamocha location (Teruel). More species and a higher Shannon diversity index were found for sainfoin compared to cereal both years but no weed problems were detected due to this crop. The multivariate analysis revealed that weed flora associated to sainfoin in the third year of cultivation differed to the rest of crops (cereal in monoculture, cereal after sainfoin and sainfoin in second year).*

Keywords: agri-environmental schemes, multivariate analysis.



## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Control de *Sagina procumbens* en viveros de arándano**M. Romero\*, A. Rodríguez-Tello\*, G. Pardo\*, J.M. Urbano\*<sup>a</sup>\*ETSIA - Universidad de Sevilla, 41013-Sevilla, <sup>a</sup>[urbano@us.es](mailto:urbano@us.es)

*Resumen:* *Sagina procumbens* es una mala hierba problemática en los viveros de arándano de la costa suroeste de España. Además de la falta de herbicidas autorizados, existe carencia de información sobre eficacia y selectividad de posibles candidatos para su inclusión en el registro. El objetivo de este trabajo ha sido conocer la eficacia y selectividad de una serie de herbicidas. Se han realizado ensayos de campo en tres ambientes y con tres momentos o formas de aplicación. El diseño experimental ha sido completamente al azar, con 3 ambientes x 3 momentos x 11 tratamientos x 6 repeticiones. Los resultados muestran unos buenos resultados de eficacia y selectividad de aclonifen, diflufenican y linurón. Los tratamientos con metribuzina, clopiralida y flazasulfurón causaron severos daños al cultivo. Oxifluorfen, pendimetalina y prosulfocarb también presentan riesgo de fitotoxicidad, y oxadiazon no mostró eficacia en el control de *S. procumbens*.

Palabras clave: *Vaccinium corymbosum*, eficacia, selectividad, aclonifen, diflufenican, linurón.

**1. INTRODUCCIÓN**

*Sagina procumbens* L. es una mala hierba de la familia *Caryophyllaceae* que genera serios problemas en los viveros de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.). En ausencia de medidas de control, puede llegar a ocupar el 100% de la superficie de la maceta provocando un debilitamiento y un retraso en el crecimiento de la planta de arándano, lo cual influye en la producción de la misma una vez llevada a campo. Adicionalmente, el trasplante a campo de macetas contaminadas con plantas o semillas de *S. procumbens* provoca una expansión del problema a una superficie mayor, lo que aumenta el coste de control de la infestación.

Sin embargo el manejo de las infestaciones de *S. procumbens* en el vivero no es fácil. La escarda manual es costosa y no evita nuevas emergencias, y no se conocen otros métodos no químicos que sean eficaces contra esta mala hierba. Los dos únicos herbicidas autorizados (glifosato y glufosinato de amonio) no son selectivos ni persistentes. No hay, por lo tanto, herbicidas registrados que permitan controlar este problema de forma eficaz, selectiva y con cierto efecto residual. Al tratarse de un cultivo menor, no existe ni siquiera información sobre posibles productos comerciales que pudieran responder a esta demanda de modo que solo hubiese que ampliar el uso en el registro.

El objetivo de este trabajo ha sido conseguir información acerca de la eficacia, selectividad y persistencia de una serie de formulaciones herbicidas.

**2. MATERIAL Y MÉTODOS**

*2.1. Diseño experimental.* Se ha empleado un diseño completamente al azar, con 11 tratamientos (uno de los cuales es el testigo sin tratar) y 5 repeticiones. La parcela elemental ha sido una maceta de 1 L de volumen con una planta de arándano. Las aplicaciones herbicidas fueron realizadas en tres momentos distintos (Tabla 1) y las plantas fueron cultivadas en tres ambientes (aire libre, túnel de plástico y umbráculo). El número total de

macetas estudiadas ha sido 594 (3 ambientes x 3 momentos de aplicación x 11 tratamientos x 6 repeticiones). Todos los experimentos fueron realizados en las instalaciones de la empresa Atlantic Blue S.L., localizada en Almonte (Huelva), a unos 20 km del oceano Atlántico.

Tabla 1. Momentos de aplicación de los tratamientos herbicidas.

| Momento   | Forma de aplicación   |
|-----------|---|
| Momento A | El herbicida se aplica sobre la pila de sustrato. Posteriormente es incorporado mecánicamente. Después se añaden las semillas de la mala hierba y se vuelve a mezclar. Las macetas son rellenadas con la mezcla de sustrato, herbicida y semillas, y finalmente se trasplanta el esqueje de arándano. |
| Momento B | El herbicida es aplicado sobre macetas recién trasplantadas a las que previamente se le ha añadido la semilla de la mala hierba. No hay incorporación mecánica  |
| Momento C | El herbicida es aplicado sobre macetas con plantas de 1 año que fueron cultivadas al aire libre. Las malas hierbas presentes fueron escardadas de forma manual antes de la aplicación herbicida. No se añade semilla de mala hierba..   |

2.2.- *Material vegetal.* El material de cultivo fueron esquejes y plantas de un cultivar desarrollado en el programa de mejora genética de la empresa Atlantic Blue S.L. El cultivar pertenece al tipo "Southern highbush" de la especie *Vaccinium corimbosum* L. El sustrato de las macetas de los momentos A y B fue inoculado con semillas de *S. procumbens*, recolectadas en la propia explotación. La dosis de inoculación fue de 25 semillas por litro de sustrato. La infestación de las macetas del momento C procedió del banco de semillas generado por la infestación natural del año anterior.

2.3.- *Tratamientos herbicidas.* En la Tabla 2 se presenta la lista de herbicidas empleados, con la dosis de materia activa aplicada. En la Tabla 3 se incluye información sobre las formulaciones comerciales utilizadas. Los criterios para elegir los tratamientos fueron: a) modo de acción (HRAC, 2010), b) disponibilidad y c) actividad preemergente. En todos los casos las aplicaciones fueron realizadas con un equipo experimental de aire comprimido, con una presión de 200 kPa, con boquillas Albuz Ape 110 amarillas y con un volumen de caldo de 300 L ha<sup>-1</sup>. Las pulverizaciones fueron realizadas al aire libre, con una temperatura de 17.5°C y una humedad relativa de 70%.

Tabla 2. Tratamientos herbicidas

| Tratamiento | Herbicida          | Modo de acción<br>(HRAC, 2010) | Dosis (g s a ha <sup>-1</sup> ) |
|-------------|--------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| ACL         | Aclonifen          | F3                             | 1500                            |
| CLO         | Clopiralida        | 0                              | 85                              |
| DIF         | Diflufenican       | F1                             | 150                             |
| FLA         | Flazasulfurón      | B                              | 50                              |
| LIN         | Linurón            | C2                             | 1125                            |
| MET         | Metribuzina        | C1                             | 525                             |
| OXA         | Oxadiazón          | E                              | 3000                            |
| OXI         | Oxifluorfen        | E                              | 615                             |
| PEN         | Pendimetalina      | K1                             | 1650                            |
| PRO         | Prosulfocarb       | N                              | 4000                            |
| CHK         | Testigo sin tratar |                                |                                 |

Tabla 3 Nombres comerciales de los herbicidas utilizados.

| Herbicida     | Concentración               | Formulación | Nombre comercial | Suministrador                  |
|---------------|-----------------------------|-------------|------------------|--------------------------------|
| Aclonifen     | 600 g a.i. L <sup>-1</sup>  | SC          | Challenge        | Bayer Cropscience, S.L.        |
| Clopiralida   | 425 g a.i. L <sup>-1</sup>  | SL          | Lontrel Super    | Dow Agrosciences Iberica, S.A. |
| Diflufenican  | 300 g a.i. L <sup>-1</sup>  | SC          | Mirenal          | Probelt, S.A.                  |
| Flazasulfurón | 250 g a.i. kg <sup>-1</sup> | WG          | Terafit          | Isk Biosciences Europe S.A.    |
| Linurón       | 450 g a.i. L <sup>-1</sup>  | SC          | Alcaudon 45 SC   | Makhteshim Agan España, S.A.   |
| Metribuzina   | 700 g a.i. kg <sup>-1</sup> | WG          | Lexone 70 WG     | Aragonesas Agro, S.A.          |
| Oxadiazón     | 20 g a.i. kg <sup>-1</sup>  | GR          | Ronstar 2G       | Bayer Cropscience, S.L.        |
| Oxifluorfen   | 480 g a.i. L <sup>-1</sup>  | SC          | Goal Supreme     | Dow Agrosciences Iberica, S.A. |
| Pendimetalina | 330 g a.i. L <sup>-1</sup>  | EC          | Bluss            | Makhteshim Agan España, S.A.   |
| Prosulfocarb  | 800 g a.i. L <sup>-1</sup>  | EC          | Auros            | Syngenta Agro, S.A.            |

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.- *Selectividad.* Los mayores problemas de fitotoxicidad en el cultivo se detectaron en las plantas cultivadas bajo túnel, probablemente debido a que era el ambiente con mayor temperatura. De los tres momentos de aplicación, el momento A (aplicación dirigida a la pila del sustrato) fue el que presentó mayores problemas de fitotoxicidad, lo cual es lógico porque se pone el herbicida en contacto con las raíces del cultivo. Las aplicaciones de los momentos B y C también causaron fitotoxicidades (por absorción foliar), siendo mayores en la primera que en la segunda. En la Figura 1 se presentan los resultados de la última evaluación de fitotoxicidad de la situación más desfavorable (ambiente túnel, momento de aplicación A) y se puede observar el elevado efecto fitotóxico de la metribuzina. La metribuzina aplicada en pretrasplante provocó un 100% de mortalidad a los 75 días desde la aplicación, en las condiciones mencionadas para la Figura 1. Además, este tratamiento ocasionó importantes efectos fitotóxicos en todos los momentos y ambientes estudiados. Los tratamientos con flazasulfurón y clopiralida también causaron importantes fitotoxicidades en todas las condiciones. Aunque los efectos adversos fueron menores, los tratamientos con prosulfocarb, oxifluorfen y pendimetalina también presentan riesgo de fitotoxicidad en las condiciones empleadas en este trabajo. Los efectos fitotóxicos del oxifluorfen y la pendimetalina fueron muy variables, por ejemplo no se apreció daño en las plantas cultivadas al aire libre y tratadas con oxifluorfen, ni en las aplicaciones de pretrasplante con pendimetalina.

3.2.- *Eficacia.* Las macetas pertenecientes al momento A fueron las que presentaron mayores problemas de fitotoxicidad y menores diferencias de eficacia. Esto último se explica porque las 25 semillas de mala hierba que fueron añadidas por maceta se distribuyeron en todo el volumen de la misma, por lo que muchas de las cuales no llegaron a emerger. En la Figura 2 se presentan los resultados medios de la última evaluación de las macetas correspondientes a los momentos B y C y permiten observar la falta de eficacia de los tratamientos con clopiralida, oxadiazón y oxifluorfen. La falta de eficacia del oxadiazón en el control de *S. procumbens* coincide con los resultados obtenidos por Atland (2007).

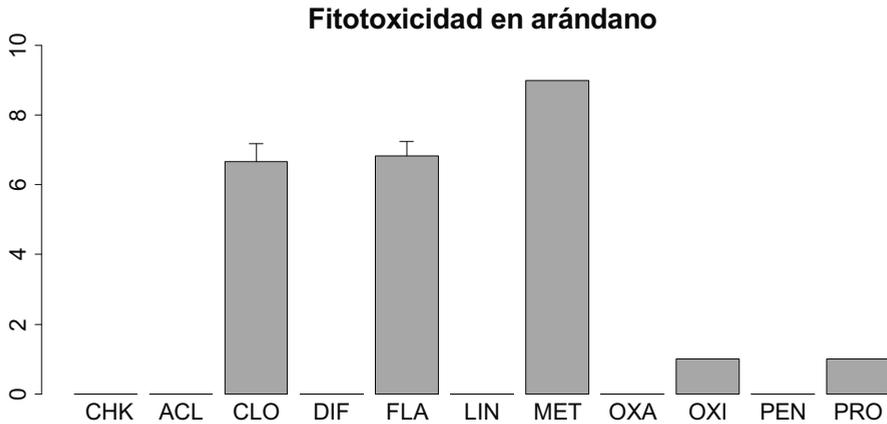


Figura 1. Fitotoxicidad en el cultivo del arándano en función del tratamiento. Fitotoxicidad en eje Y, con escala de 0 (no daño visible) a 9 (planta muerta). Medición realizada a los 98 días después de la aplicación. Ambiente túnel y momento de aplicación A (pulverización de la pila de sustrato antes de plantar). Las barras indican valores medios y las líneas las desviaciones estándar.

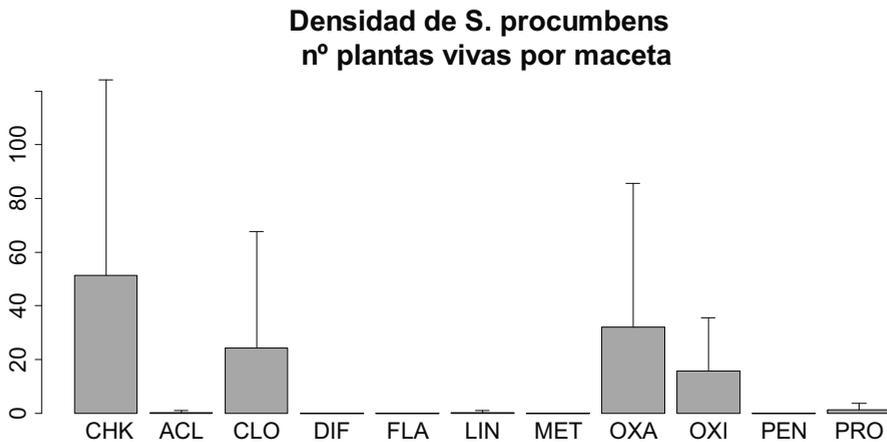


Figura 2. Eficacia del control de *Sagina procumbens* en función del tratamiento. Medición realizada a los 98 días después de la aplicación. Las barras indican valores medios (tres ambientes y dos momentos de aplicación: B y C) y las líneas las desviaciones estándar.

3.3.- *Integración de los resultados de eficacia y selectividad.* Los resultados obtenidos en este trabajo indican que los herbicidas a base de aclonifen, diflufenican o linurón presentan un gran interés en el control de *S. procumbens* en el cultivo del arándano debido a sus buenos resultados de eficacia, persistencia y selectividad. Aunque es cierto que el mercado es limitado al tratarse de un cultivo menor, sería de gran ayuda para los agricultores la inclusión de formulaciones utilizables con estas materias activas en el registro de productos fitosanitarios autorizados en el cultivo del arándano.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la empresa Atlantic Blue S.L. las facilidades prestadas para utilizar sus instalaciones y su material vegetal.

#### 5. REFERENCIAS

- Atland J (2007). Controlling Container Weeds. American Nurseryman, 205 (12): 38-44.  
HRAC (2010). The World of Herbicides According to HRAC classification on mode of action 2010. Página de internet <http://www.hracglobal.com/Portals/5/moaposter.pdf>, visitada el 15 Junio de 2012.

Summary: *Control of Sagina procumbens in blueberry nurseries. Sagina procumbens is a troublesome weed in blueberry nurseries in southwestern coast of Spain. There is lack of commercial herbicides included in the official registry and there is lack of information about efficacy and selectivity of potential candidates for registration. The goal of this study has been to get information about efficacy and selectivity of certain herbicides. Field experiments were established in three environments. Ten herbicides treatments were studied, besides an untreated check. Herbicides were applied in three different moments. The experimental design was completely randomized with 3 environments x 3 moments x 11 treatments x 6 replications. The results show that aclonifen, diflufenican and linuron were both selective and efficient. Metribuzin, clopyralid and flazasulfuron caused very serious injuries in the crop. Oxyfluorfen, pendimethalin and prosulfocarb have also selectivity risks, and oxadiazon was not efficient against S. procumbens.*

Keywords: Vaccinium corymbosum, efficacy, selectivity, aclonifen, diflufenican, linuron.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013**Puesta a punto de un vehículo aéreo no tripulado (UAV) para detección de malas hierbas en fase temprana: resolución espacial y altura de vuelo**

J. Torres-Sánchez<sup>a</sup>, J.M. Peña-Barragán, A.I. de Castro-Megías, F. López-Granados  
Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), Apdo. 4084, 14080-Córdoba,  
<sup>a</sup>[jtortes@ias.csic.es](mailto:jtortes@ias.csic.es)

*Resumen:* La detección de malas hierbas en fase temprana requiere imágenes de muy elevada resolución espacial (píxeles < 5cm). Actualmente, sólo los vehículos aéreos no tripulados (UAV) pueden generar este tipo de imágenes. El objetivo de este trabajo fue la puesta a punto de un UAV con el fin de obtener imágenes de alta resolución espacial que permita una posterior discriminación de plántulas de malas hierbas en girasol y la elaboración de mapas de tratamientos herbicidas en post-emergencia temprana. Se estudiaron las resoluciones espaciales de las imágenes capturadas con una cámara en rango visible y una multiespectral (rango visible e infrarrojo cercano) a tres alturas de vuelo: 30, 60 y 100 m. Se concluye que el UAV utilizado genera imágenes con un intervalo de píxel de 1,14 a 5,42 cm y que las obtenidas con la cámara multiespectral pueden ser correctamente alineadas.

**Palabras clave:** teledetección, multirrotor, plántulas, alineación, multiespectral

## 1. INTRODUCCIÓN

Los vehículos aéreos no tripulados (UAV, por las siglas en inglés de *Unmanned Aerial Vehicle*) se han desarrollado en los últimos años como una plataforma aérea para la adquisición de imágenes con multitud de aplicaciones, algunas de ellas relacionadas con la agricultura de precisión y el control localizado de malas hierbas (Zhang & Kovacs, 2012). Las principales ventajas del empleo de los UAV para alcanzar objetivos agronómicos frente a otras plataformas aéreas utilizadas hasta ahora (e.g., satélites, aviones tripulados) son su menor coste, la facilidad para realizar vuelos justo en el momento deseado, y el menor riesgo que suponen en comparación con los aviones tripulados. En el ámbito de la Malherbología, la diferencia más importante está en la posibilidad de volar a bajas alturas, lo cual hace factible la captura de imágenes de muy alta resolución espacial en las que se pueden detectar y clasificar objetos de pocos centímetros. Ello abre la posibilidad de emplear imágenes procedentes de UAV para la discriminación y cartografía de cultivo y malas hierbas en fase temprana (2-6 hojas verdaderas) con el fin de diseñar mapas de tratamiento localizado en post-emergencia temprana. La mayor dificultad de este objetivo radica en que en ese estado fenológico las plantas de cultivo y malas hierbas son similares en apariencia y espectralmente (López-Granados, 2011) y por ello se requieren imágenes con píxeles menores de 2-5 cm. Actualmente no es posible obtener una resolución espacial tan elevada con los sensores utilizados en satélites y aviones tripulados.

La resolución espectral es igualmente relevante ya que la mayoría de los trabajos sobre detección de malas hierbas incorporan el rango visible (rojo-verde-azul, RGB) e infrarrojo cercano (NIR) (De Castro *et al.*, 2013; López-Granados *et al.*, 2006; Medlin *et al.*, 2000; Peña Barragán *et al.*, 2007). Sin embargo, cuando en un UAV se utilizan cámaras multiespectrales para incorporar las longitudes de onda de la zona del NIR suelen ocurrir problemas de alineamiento. Ello afecta la calidad de las imágenes ya que se generan halos alrededor de los objetos a detectar y ello redundaría en una falta de concordancia entre las líneas de siembra de

las distintas imágenes tomadas. A su vez, si la correspondencia de la hileras del cultivo no es adecuada se disminuye la calidad del mosaicado. Este procedimiento sirve para unir los diferentes fotogramas contiguos capturados de la parcela objeto de estudio para crear una imagen completa de la misma. La calidad de la imagen mosaicada depende de numerosos factores entre los que se incluye la correcta alineación de las imágenes que la conforman.

Por lo anterior, en este estudio se evaluó la resolución espacial y la alineación de las imágenes obtenidas mediante dos cámaras acopladas a un UAV volando a diferentes alturas, con el fin posterior de detectar y obtener mapas de malas hierbas en fase temprana.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo fue realizado en una parcela de 1 ha sembrada de girasol de la finca La Monclova, localizada en el término municipal de La Luisiana, provincia de Sevilla. El girasol se sembró a finales de marzo de 2012 y estaba naturalmente infestado de diferentes especies de malas hierbas dicotiledóneas (*Amaranthus blitoides* S. Watson, *Chenopodium album* L., etc.) y monocotiledóneas (*Phalaris* spp., etc.). El estado fenológico del cultivo y malas hierbas en el momento de la toma de las imágenes era de 4-6 hojas verdaderas.

El UAV empleado fue un multirrotor MD4-1000 (Figura 1a), con capacidad para llevar acoplado un sensor de hasta 1,25 kg y una autonomía de vuelo de 45 minutos (Microdrones, 2012). Este modelo, con capacidad de despegue y aterrizaje vertical, está dotado de un GPS que le permite volar de manera automática siguiendo una ruta previamente programada. El sistema de manejo del UAV incluye una emisora de radiocontrol, una estación base para recepción de datos de telemetría, y un software para diseño de rutas, configuración del vehículo e interpretación de la telemetría. La captura de las imágenes es accionada automáticamente por el UAV según la configuración de vuelo preestablecida. En el momento de cada captura el UAV registra su posición GPS, su altura y la hora.

A bordo del UAV se instalaron por separado dos sensores para sendas evaluaciones, una cámara convencional Olympus PEN E-PM1 y una cámara multiespectral Mini-MCA, con el fin de comprobar la influencia de la altura de vuelo sobre la resolución espacial de las imágenes obtenidas con dichos sensores. La cámara Olympus tiene un sensor de 12 Megapíxeles con unas dimensiones de 4.032×3.024 píxeles, y registra imágenes en color verdadero, compuesto por los canales rojo, verde y azul (RGB, por las siglas en inglés de *Red-Green-Blue*). La cámara Mini-MCA es un sensor multiespectral de unos 700 g de peso, formada por 6 objetivos o sensores CMOS (Figura 1b) con unas dimensiones de 1.280×1.024 píxeles y una resolución de 1,3 Megapíxeles. Cada uno de los objetivos lleva acoplado un filtro para captar información en un rango de 10 nm en torno a seis longitudes de onda, de manera que se obtienen datos espectrales en las siguientes bandas: azul (450 nm), verde (530 nm), rojo (670 y 700 nm), rojo límite (740 nm) y NIR (780 nm). Las imágenes obtenidas con la cámara RGB pueden ser utilizadas directamente tras su descarga en el software proporcionado por la compañía fabricante de la misma. Sin embargo, las imágenes tomadas por la cámara multiespectral necesitan un proceso previo de alineamiento para hacer que coincidan las capturas de cada una de ellas debido a la diferente posición relativa de los seis sensores que la integran.

En la parcela de girasol estudiada se dispuso un blanco de referencia (Spectralon formado por sulfato de bario) para calibrar espectralmente las imágenes. El UAV fue programado para realizar distintos vuelos sobre la parcela con cada uno de los sensores a 30, 60 y 100 m de

altura. Las imágenes de la cámara multispectral fueron alineadas utilizando el software *Tetracam PixelWrench 2 (PW2)*, suministrado por la empresa fabricante de la cámara. A través de este software se analizaron varias opciones para evaluar la calidad de la alineación: a) superposición de las capas, b) uso del archivo de alineación proporcionado con la cámara, y c) uso de este archivo junto con la opción “FOV *optical calculator*” que calcula parámetros adicionales para la alineación de imágenes tomadas a objetos cercanos. Dicha evaluación se realizó a través de perfiles espectrales. En cada una de las imágenes se trazó una línea y se representaron en un gráfico (perfil espectral) los valores espectrales de cada uno de los puntos de dicha línea para cada uno de los seis canales de la imagen.

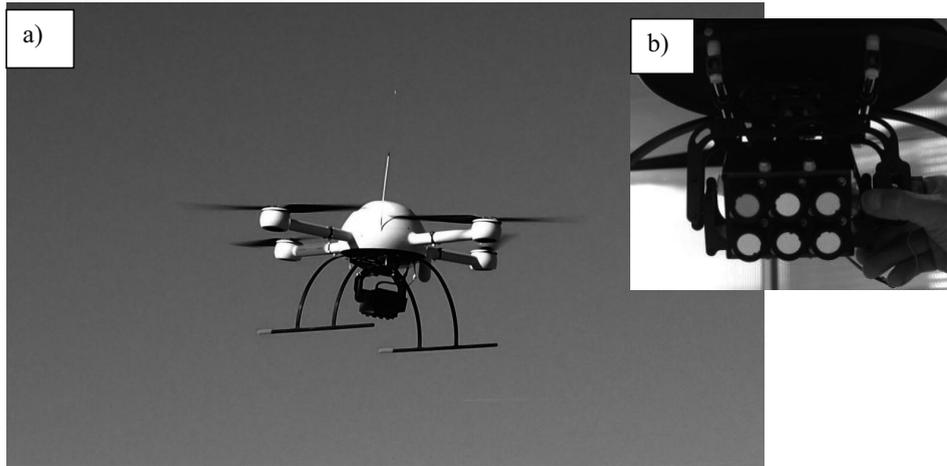


Figura 1. a) UAV MD4-1000 en vuelo con la cámara multispectral acoplada en su parte central; b) detalle de la cámara multispectral Mini-MCA con 6 canales.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La resolución espacial se vio afectada por la altura de vuelo y el sensor utilizado (Tabla 1). Salvo en el caso de la cámara multispectral a 100 m, en los demás vuelos se obtiene una resolución espacial con la que sería posible distinguir plántulas de malas hierbas. La altura de vuelo y el sensor empleado también influyeron sobre el área cubierta por cada imagen y sobre el tiempo de vuelo necesario para sobrevolar toda la parcela. Las imágenes obtenidas con la cámara multispectral fueron las que abarcaron menor área y por tanto fueron necesarias más imágenes para cubrir la parcela de estudio, de ahí que la utilización de este sensor requeriría más vuelos en caso de trabajar en zonas más extensas.

Tabla 1. Tamaño de píxel según el sensor utilizado y la altura de vuelo.

| Altura de vuelo | Sensor     |                      |
|-----------------|------------|----------------------|
|                 | Cámara RGB | Cámara multispectral |
| 30 m            | 1,14 cm    | 1,62 cm              |
| 60 m            | 2,28 cm    | 3,25 cm              |
| 100 m           | 3,81 cm    | 5,42 cm              |

Entre las opciones estudiadas, los mejores resultados se obtuvieron con la alineación de las imágenes multispectrales utilizando el “FOV *optical calculator*”. En la figura 2 se aprecia cómo con este método de alineación los valores digitales de cada banda coinciden en los perfiles espectrales trazados. Labiberte *et al.* (2011), utilizando la misma cámara y software que se emplea en este trabajo, no obtuvieron buenos resultados y decidieron desarrollar un algoritmo propio para la alineación de las imágenes. Probablemente esto se debió a que no emplearon “FOV *optical calculator*”, ya que la utilización de este parámetro (Figura 2C) junto con el archivo de alineación proporcionado por la cámara produce una mejora sustancial con respecto a los resultados obtenidos empleando tan sólo el archivo de alineación de la cámara (Figura 2B). La coincidencia espacial de las distintas bandas de la imagen es un factor importante en el posterior mosaicado u otro tipo de análisis que se realice de las mismas, ya que cuando la imagen no está correctamente alineada se producen problemas de concordancia entre las hileras de siembra y se generan halos en torno a los objetos, lo cual dificulta la correcta identificación y clasificación de los elementos a analizar (hileras de plantas de cultivo y de malas hierbas en nuestro estudio).

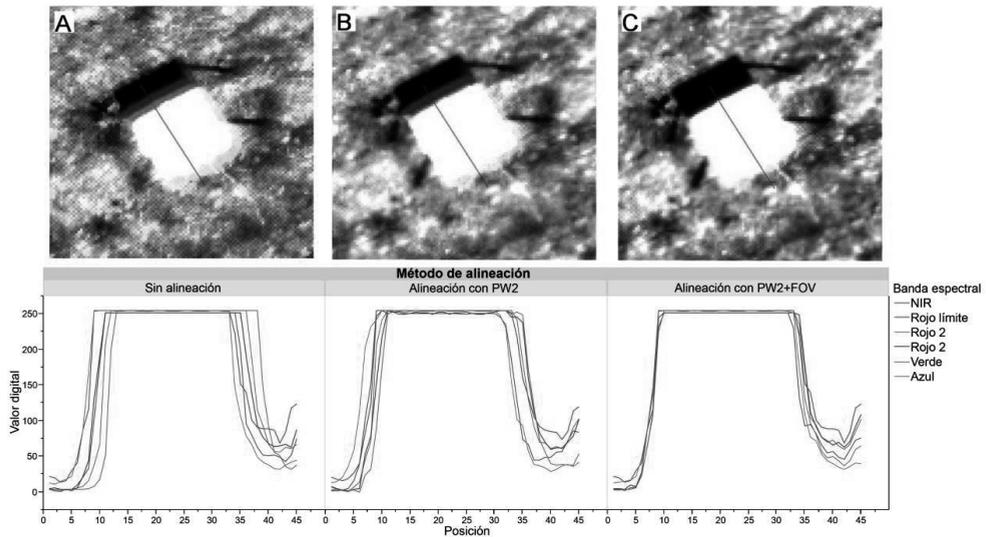


Figura 2. Imagen capturada por la cámara multispectral y comparativa de los perfiles espectrales obtenidos con los distintos métodos de alineación: A) imagen no alineada; B) alineación usando sólo el software Tetracam PixelWrench 2 (PW2); C) alineación usando PW2 junto a la opción FOV *optical calculator*.

Del presente trabajo se concluye que el UAV utilizado es capaz de tomar imágenes con la suficiente resolución espacial para la detección de malas hierbas en fase temprana. Asimismo, las imágenes de la cámara multispectral empleada pueden ser correctamente alineadas, lo que por un lado elimina los halos y por otro posibilita la continuidad de las hileras de siembra. Ello es determinante ya que permite la utilización de información en la zona del espectro que abarca el NIR para la posterior identificación y clasificación de las hileras de cultivo y de malas hierbas en estado fenológico temprano.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por el proyecto TOAS (Programa Marie Curie, ref.: FP7-PEOPLE-2011-CIG-293991, 7º Programa Marco de la UE) y el proyecto AGL2011-30442-CO2-01 (Ministerio de Economía y Competitividad, Fondos FEDER). La investigación de Jorge Torres-Sánchez, Ana Isabel de Castro-Mejías y José Manuel Peña-Barragán fue financiada por los programas FPI, JAE-Pre-CSIC y JAE-Doc-CSIC, respectivamente. Los autores agradecen al Duque del Infantado y al Marqués de Armunia el desarrollo del trabajo de campo en su finca La Monclova.

#### 5. REFERENCIAS

- 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*, DOI: 10.1007/s11119-013-9304-y.
- Microdrones (2012). [http://microdrones.com/products/md4-1000/md4-1000\\_Flyer\\_english\\_web.pdf](http://microdrones.com/products/md4-1000/md4-1000_Flyer_english_web.pdf). Web visitada el 08/04/2013
- Laliberte AS, Goforth MA, Steele CM and Rango A (2011). Multispectral remote sensing from unmanned aircraft: image processing workflows and applications for rangeland environments. *Remote Sensing*, 3, 2529-2551.
- 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.
- López-Granados F (2011). Weed detection for site-specific weed management: mapping and real-time approaches. *Weed Research*, 51, 1-11.
- Medlin CR, Shaw DR, Gerard PD and LaMastus FE (2000). Using remote sensing to detect weed infestations in *Glycine max*. *Weed Science*, 48, 393-398.
- 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.
- Zhang C & Kovacs J (2012). The application of small unmanned aerial systems for precision agriculture: a review. *Precision Agriculture*, 13, 693-712.

Summary: Tuning-up of an Unmanned Aerial Vehicle (UAV) for early season weed detection: spatial resolution and flight height. The aim of this work was to tune-up an Unmanned Aerial Vehicle (UAV) to detect weeds in early season. We studied the influence of flight height on the spatial resolution of the imagery acquired with a commercial scale camera (RGB) and a multispectral camera (RGB + Near infrared). We also tested different methods for improving the quality of alignment of the images obtained with the multispectral camera. The results showed that the UAV is able of acquiring imagery with ultra-high spatial resolution (pixel size < 5 cm), and also showed that the multispectral camera images can be properly aligned to detect crop-rows and weeds in early season.

Keywords: remote sensing, multirotor, seedlings, alignment, multispectral



## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Imágenes multiespectrales procedentes de un vehículo aéreo no tripulado (UAV): Una innovación tecnológica para la detección de malas hierbas en fase temprana**

J.M. Peña-Barragán<sup>a</sup>, A.I. de Castro-Mejías, J. Torres-Sánchez, F. López-Granados  
Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC), Apdo. 4084, 14080-Córdoba, <sup>a</sup>[jmpena@ias.csic.es](mailto:jmpena@ias.csic.es)

*Resumen:* Se presenta una innovación tecnológica consistente en la adquisición de imágenes multiespectrales de muy alta resolución espacial con un vehículo aéreo no tripulado (UAV) y el análisis automático de dichas imágenes mediante técnicas basadas en objetos, con el objetivo de detectar malas hierbas y cuantificar su porcentaje de infestación en una parcela de maíz en su fase temprana de desarrollo. El método desarrollado discriminó con elevada eficiencia (>90%) entre las zonas libres de malas hierbas y las zonas infestadas, así como tres categorías de cobertura de infestación: 1) Baja (<5%), 2) Moderada (5-20%) y 3) Alta (>20%). A partir de las imágenes adquiridas se pueden generar mapas georreferenciados de malas hierbas en época temprana, justo en el momento más adecuado para la aplicación de medidas de control localizado de malas hierbas en post-emergencia.

**Palabras clave:** teledetección, análisis de imágenes basado en objetos, plántula, mapas de malas hierbas

## 1. INTRODUCCIÓN

Para realizar un tratamiento localizado de malas hierbas es necesario conocer la posición y densidad de las malas hierbas existentes en la parcela de cultivo, de manera que se aplique el herbicida o la medida de control sólo en las zonas infestadas de la parcela, variando el tipo y la dosis según la especie o grupo de malas hierbas presentes y su densidad (Srinivasan, 2006). Con técnicas de teledetección se pueden obtener mapas de distribución de malas hierbas a partir del análisis de imágenes remotas georreferenciadas (de Castro *et al.*, 2012). El momento más adecuado para generar estos mapas es cuando sea aconsejable la aplicación del herbicida u otra medida de control, que suele corresponder al inicio del desarrollo del cultivo (López-Granados, 2011). Sin embargo, la detección de malas hierbas en estado de plántula es compleja debido principalmente a su pequeño tamaño y a su similitud espectral con las plantas del cultivo en dicho estado fenológico. Recientemente se han desarrollado los vehículos aéreos no tripulados (UAVs, por las siglas en inglés de *Unmanned Aerial Vehicle*) que pueden volar a muy baja altura (<100 m) y, por tanto, permiten la captura de imágenes remotas de muy alta resolución espacial (1-5 cm/píxel) que no son posibles con las plataformas aéreas o de satélite convencionales. Además, los UAVs pueden ser manejados autónomamente por el usuario, lo que añade una total flexibilidad para tomar las imágenes en el momento óptimo de aplicación de medidas de control (Torres-Sánchez *et al.*, 2013).

Con el objetivo de generar mapas de malas hierbas en época temprana, en este trabajo se presenta la tecnología utilizada para obtener las imágenes remotas de muy alta resolución espacial y con información en el espectro infrarrojo para aumentar la discriminación de la vegetación, así como un método completamente automático de análisis de dichas imágenes mediante técnicas basadas en objetos (OBIA, por las siglas en inglés de *Object-based image analysis*). Estas técnicas se han potenciado recientemente por ser más precisas que las basadas sólo en píxeles (Blaschke, 2010), ya que tienen la ventaja de incorporar en los algoritmos de clasificación, además de la información espectral, la posición de las malas hierbas con

respecto a las líneas de cultivo y otros parámetros adicionales como la forma y tamaño de las plantas o parámetros de textura de los objetos presentes en la imagen.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. *Zona de estudio.* El estudio se llevó a cabo en imágenes tomadas en mayo de 2011 en una parcela de maíz situada en Arganda del Rey (Madrid), infestada naturalmente de varias especies de malas hierbas de hoja ancha (*Amaranthus blitoides*, *Xanthium strumarium*) y de hoja estrecha (*Sorghum halepense*). El estado fenológico del cultivo y las malas hierbas era de 4-6 hojas verdaderas (Figura 1).



Figura 1. Vista general de la parcela de maíz estudiada y detalle de algunas malas hierbas (en primer plano, *S. halepense*) presentes en época temprana de desarrollo.

2.2. *Equipo utilizado para la adquisición de las imágenes.* Las imágenes remotas se adquirieron con una cámara multispectral, modelo mini-MCA, dotada de seis canales (en visible e infrarrojo cercano) con una resolución de 1,3 megapíxeles. Las imágenes se adquirieron con un UAV de despegue y aterrizaje vertical, modelo quadrotor md4-1000, a 30 metros de altura. A esta altura de vuelo y con la cámara utilizada, las imágenes tenían una resolución espacial de 2 cm/píxel (Figura 2).

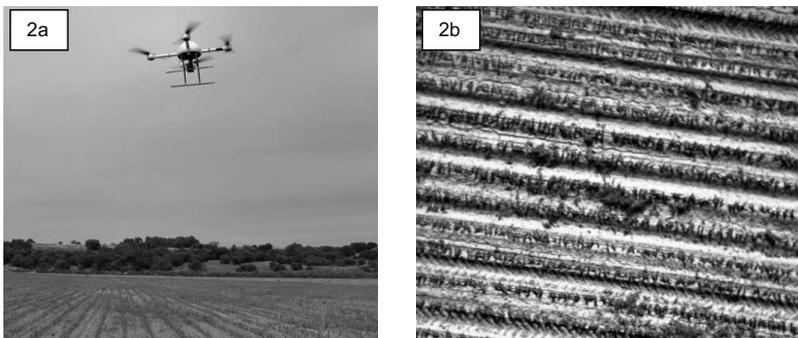


Figura 2. 2a) Vehículo aéreo no tripulado y cámara multispectral usados para la captura de las imágenes. 2b) Detalle de la imagen remota formada por las bandas verde, rojo e infrarrojo cercano sobre la parcela de maíz estudiada. Se pueden observar las líneas de cultivo y la presencia de malas hierbas entre las líneas.

2.3. *Procedimiento de análisis de imágenes.* El análisis de las imágenes y el algoritmo de clasificación se llevó a cabo con el programa eCognition developer. El método desarrollado es completamente automático y consta de las siguientes fases (Figura 3): 1) Alineación de cada banda espectral e importación de las imágenes al programa de análisis; 2) Segmentación de la imagen en objetos formados por vegetación (cultivo y mala hierba) y suelo desnudo; 3) Discriminación de los objetos de vegetación mediante umbrales del índice de vegetación NDVI (*Normalized Difference Vegetation Index*, por sus siglas en inglés); 4) Cálculo de la orientación de las líneas de cultivo a partir de la dirección principal media de todos los objetos presentes en la imagen; 5) Clasificación de las líneas de cultivo mediante los objetos de vegetación de forma alargada que siguen la orientación del cultivo; 6) Discriminación de malas hierbas, cultivo y suelo desnudo en base a la información espectral, morfológica y de posición con respecto a las líneas de cultivo; 7) Segmentación de la imagen formando un estructura de malla adaptada a las dimensiones de la maquinaria de tratamiento (p.ej., separación de boquillas de aplicación de herbicida); 8) Generación de un mapa de cobertura de malas hierbas basado en la superficie infestada en cada unidad de malla; y 9) Exportación de resultados en formatos de imagen y de tabla para su posterior análisis e integración en la maquinaria de tratamiento.

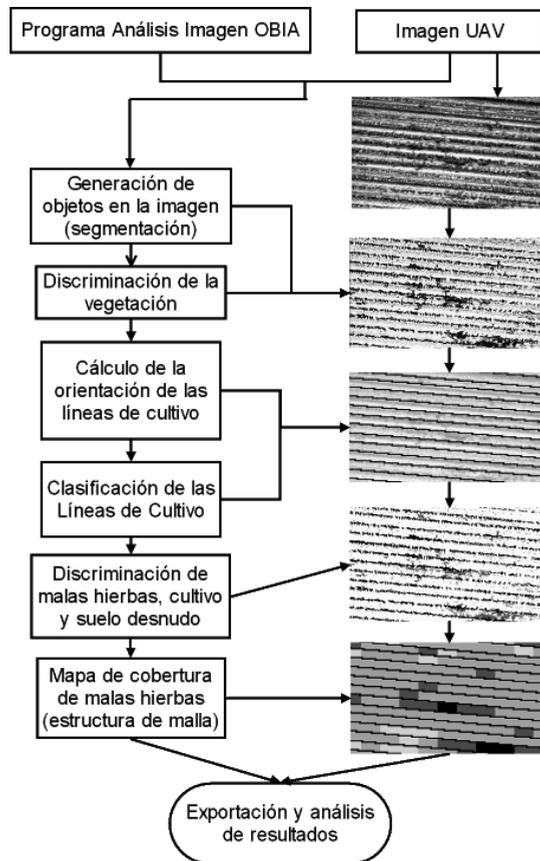


Figura 3. Esquema del proceso de clasificación de las imágenes remotas de UAV para generar mapas de cobertura de malas hierbas.

2.4. *Evaluación de resultados.* El algoritmo de análisis de imagen se evaluó comparando los resultados de las clasificaciones obtenidas (porcentaje de infestación de malas hierbas) con una serie de datos verdad-terreno adquiridos el mismo día en que se tomaron las imágenes remotas. El muestreo consistió en distribuir regularmente por toda la parcela una serie de marcos de aluminio blanco de 1m × 1m, que fueron georeferenciados con GPS para su posterior localización en las imágenes y en donde se determinó la infestación de malas hierbas.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El procedimiento desarrollado clasificó el 100% de las líneas de cultivo presentes y, seguidamente, dividió la imagen en una malla de 1 metro de longitud y una anchura correspondiente a la separación entre líneas de cultivo, en donde se determinó automáticamente las zonas sin presencia de malas hierbas y las zonas infestadas en tres categorías: 1) Baja (<5%), 2) Moderada (5-20%) y 3) Alta (>20%). El número de categorías consideradas y los umbrales indicados son totalmente configurables por el usuario y adaptables a los requerimientos de la maquinaria o sistema de tratamiento que se utilice para el control de las malas hierbas. La exactitud del método de clasificación y la superficie ocupada por cada categoría de cobertura de infestación se indican en la Tabla 1.

Tabla 1. Exactitud de clasificación y superficie ocupada para cada categoría de cobertura de malas hierbas considerada.

| Cobertura de mala hierba | Exactitud de la clasificación | Superficie ocupada |
|--------------------------|-------------------------------|--------------------|
| Sin mala hierba          | 98 %                          | 23 %               |
| Baja (< 5%)              | 89 %                          | 47 %               |
| Moderada (5-20%)         | 84 %                          | 23 %               |
| Alta (> 20%)             | 89 %                          | 7 %                |

Asimismo, este procedimiento genera información alfanumérica y tabulada de la parcela completa, y calcula las coordenadas y porcentaje de infestación de cada unidad de la malla, que es muy útil para la toma de decisiones para el manejo localizado de las malas hierbas en el contexto de la agricultura de precisión. Por tanto, del presente trabajo se puede concluir que mediante el análisis de las imágenes de muy alta resolución espacial obtenidas con un UAV se pueden generar mapas georeferenciados de cobertura de malas hierbas en época temprana, justo en el momento más adecuado para la aplicación de medidas de control localizado de malas hierbas en el cultivo de maíz.

### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por el proyecto TOAS (Programa Marie Curie, ref.: FP7-PEOPLE-2011-CIG-293991, 7º Programa Marco de la UE), el proyecto RHEA (ref.: NMP-CP-IP-245986-2, 7º Programa Marco de la UE) y el proyecto AGL2011-30442-CO2-01 (Ministerio de Economía y Competitividad, MINECO, Fondos FEDER). La investigación de José Manuel Peña-Barragán, Ana Isabel de Castro-Mejías y Jorge Torres-Sánchez fue financiada por los programas JAE-Doc y JAE-Pre del CSIC y el programa de Formación de Personal Investigador (FPI) del MINECO, respectivamente. Los autores agradecen al Dr. José Dorado, del Instituto de Ciencias Agrarias de CSIC, por facilitar el acceso a la parcela de estudio.

## 5. REFERENCIAS

- Blaschke T (2010). Object based image analysis for remote sensing. *ISPRS Journal of Photogrammetry and Remote Sensing*, 65, 2-16.
- De Castro AI, Jurado-Expósito M, Peña-Barragán JM and López-Granados F (2012). Airborne multi-spectral imagery for mapping cruciferous weeds in cereal and legume crops. *Precision Agriculture*, 13, 302-321.
- López-Granados F (2011). Weed detection for site-specific weed management: mapping and real-time approaches. *Weed Research*, 51, 1-11.
- Srinivasan A (2006). Precision Agriculture: An Overview. In: Handbook of Precision Agriculture: Principles and Applications (ed. A Srinivasan), pp. 3-18. Food Products Press. The Haworth Press. New York.
- Torres-Sánchez 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.

Summary: *Multispectral images captured by an unmanned aerial vehicle (UAV): A technological innovation for weed mapping in early-season.* This article shows the advances in remote sensing technology, consisting in the use of multispectral images captured with an unmanned aerial vehicle and their classification by using object-based image analysis techniques, with the ultimate objective of mapping weed infestation levels in a maize field in early season. We developed an automatic procedure for image analysis, which reported high efficiency (>90%) for discriminating weed-free and weed-infested zones, as well as three levels of weed infestation: 1) Low (<5%), 2) Moderate (5-20%) and 3) High (>20%). The automatic procedure generated a georeferenced weed map of the field in early season, just the best moment for the application of herbicide or other control measures in the context of site-specific weed management.

Keywords: remote sensing, Object-based image analysis, weed seedling, weed map.



## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Discriminación suelo-planta con un sensor LiDAR dual**

D. Andújar\*<sup>a</sup>, V. Rueda-Ayala\*, H. Moreno\*, A. Escolà\*\*, J.R. Rosell-Polo\*\*, J. Dorado\*\*\*, C. Fernández-Quintanilla\*\*\*, C. Valero\*\*\*\*, R. Gerhards\*

\*University of Hohenheim, Institute of Phytomedicine, Section Weed Science (360b), Otto-Sander-Straße 5, 70593 Stuttgart, Germany, <sup>a</sup> Andujar@uni-hohenheim.de

\*\*Universitat de Lleida, Lleida, Av. Rovira Roure, 191, 25198, Lleida España

\*\*\*Instituto de Ciencias Agrarias, CSIC, Serrano 115 bis, 28006, Madrid, España

\*\*\*\*ETSI Agrónomos, UPM, Avda. Complutense 3,28040, Madrid, España

*Resumen:* En este artículo se describe un sistema de detección de malas hierbas y cultivo basado en un doble índice que combina distancias y valores de reflexión. Se evaluó la capacidad y precisión del sistema para discriminar malas hierbas, suelo desnudo y plantas de cultivo en un campo de maíz mediante un sistema LiDAR (Light Detection And Ranging). El sensor recogió datos con un ancho de barrido de 1,5 metros orientado hacia el suelo, creando un plano vertical que detecta la presencia de vegetación. Las mediciones con el LiDAR se validaron mediante la adquisición de imágenes digitales del área de estudio que permiten generar un plano de alturas reales de cada zona medida con el sensor. La viabilidad del sistema se evaluó mediante un análisis de regresión, comparando las alturas reales y los valores de altura medidos con el sensor, resultando una alta correlación con  $R^2 = 0,75$ . Seguidamente, mediante análisis de regresión logística entre la presencia/ausencia de malas hierbas se discriminó la vegetación del suelo desnudo con una precisión de hasta un 95%.

Palabras clave: Laser, altura de plantas, reflexión.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas de detección cercana de malas hierbas en la agricultura de precisión se basa fundamentalmente en el reconocimiento de formas y texturas a través de cámaras (Weis *et al.*, 2008), sin embargo, otros sistemas basados en métodos basados en información espectral así como sensores no ópticos pueden realizar esta tarea cubriendo diferentes necesidades que actualmente no contemplan los sistemas ópticos. Las ventajas fundamentales que se presentan son su robustez, fácil procesamiento de la señal, así como un relativamente bajo coste de adquisición y operación. Dentro de estos sistemas de discriminación pueden citarse los sensores de ultrasonidos. Zaman *et al.* (2011) desarrolló un pulverizador con capacidad para detectar malas hierbas en tiempo real y pulverizar en la misma operación en cultivos de arándanos. El sistema constaba de líneas de pulverización independientes activadas por diferentes sensores de ultrasonidos localizados por delante del pulverizador. Andújar *et al.* (2011) obtuvo resultados similares utilizando estos sensores en cultivos de maíz, consiguiendo discriminar monocotiledóneas y dicotiledóneas en una sola operación en el espacio entre líneas de cultivos de maíz. Otros sistemas similares, como la utilización de sensores optoelectrónicos pudieron discriminar las zonas de vegetación de las de suelo desnudo en campos de maíz, pudiéndose utilizar estos sistemas para una aplicación selectiva de herbicidas (aplicar / no aplicar). Si bien estos sistemas presentan una desventaja con respecto a las cámaras, como es su menor capacidad de discriminación, esto no supone un problema bajo determinadas circunstancias, tales como barbechos, plantaciones de árboles o cultivos en línea donde cualquier planta fuera de la línea de cultivo puede ser considerada

como mala hierba. La mayor desventaja de los sistemas basados en sensores reside en su pequeño campo de visión que obliga a la utilización de un alto número de sensores para cubrir una zona representativa dentro del campo. Sin embargo, presentan el inconveniente de un gran ángulo de divergencia cuando se utiliza un gran cono de detección, lo que limita la resolución y precisión de las medidas tomadas. Para solucionar este problema pueden proponerse soluciones alternativas como sistemas de medición láser basados en la tecnología LiDAR (Light Detection And Ranging). Este tipo de sensores permiten determinar la distancia desde un emisor láser a un objeto o superficie utilizando un haz de luz. La tecnología LiDAR ha sido ampliamente estudiada para la caracterización geométrica de plantaciones de árboles y obtención de parámetros biofísicos (Rosell & Sanz, 2012). Comparados con los sistemas ultrasónicos, el sistema LiDAR aumenta el campo de visión y disminuye el ángulo de divergencia del láser, además de proporcionar un mayor número de lecturas por segundo que permite reconstruir planos en 2D (x,y) y 3D (x,y,z) (Pallejà *et al.* 2010; Rosell-Polo *et al.*, 2009). Complementariamente, estos sistemas pueden adquirir información adicional en otras regiones del espectro que mejoraría la detección de malas hierbas.

El uso de la tecnología LiDAR se ha explorado tanto en detección aérea como en sistemas terrestres (Dworak *et al.*, 2011). En el presente trabajo nos centraremos en la detección cercana, que permite una mayor precisión en las lecturas, facilidad en la toma de datos y un sistema relativamente económico en cuanto a costes de adquisición se refiere. Estos sensores han sido utilizados para caracterizar la superficie foliar de plantaciones de cítricos (Tumbo *et al.*, 2002) así como árboles frutales y viñedos (Sanz *et al.*, 2013). Andújar *et al.* (2013) demostró que era posible discriminar grupos de malas hierbas en el espacio entre calles de maíz utilizando un sensor LiDAR. En el estudio que se aborda, se amplía el experimento de discriminación de malas hierbas, y para ello se ha creado un sistema de detección de malas hierbas y cultivo basado en un doble índice que combina distancias y valores de reflexión. Los objetivos de este trabajo fueron: (1) evaluar la precisión y fiabilidad de sensores LiDAR para discriminar malas hierbas y maíz, y (2) analizar las posibilidades de la combinación de altura de plantas y reflectividad para discriminar las zonas cubiertas de vegetación de aquellas con suelo desnudo.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

La toma de datos se realizó utilizando un láser LMS-111 (SICK AG, Alemania) con una precisión de  $\pm 30$  mm por cada impacto del haz de luz y una desviación estándar de 12 mm. La fuente de luz es un haz de luz infrarrojo con una longitud de onda de 905 nm. La distancia entre el LiDAR y las plantas a detectar se estimó mediante el principio del tiempo de vuelo, es decir, midiendo el tiempo que tarda un pulso de luz desde que es emitido hasta que es recibido nuevamente por el sensor. Los valores de reflectividad medidos por el sensor dependen, básicamente, del material contra el que ha impactado, de la distancia al objeto y del ángulo de incidencia.

Para la toma de muestras se configuró el sensor a una resolución angular de  $0,25^\circ$  y una frecuencia de muestreo de 25 Hz (una medida cada 40 milisegundos), para conseguir una distancia entre medidas en un mismo barrido de 2,5 a 5 mm, dependiendo de la distancia entre el emisor y la planta a detectar. El posicionamiento del sensor sobre un trípode a 60cm de altura permitía recoger un barrido de 1,5 metros de anchura equivalente a dos espacios entre líneas de maíz, creando un plano en 2D perpendicular a las líneas de maíz (Figura 1). El eje vertical del láser se orientó hacia el suelo creando un plano vertical que detectaba la presencia

de vegetación, es decir, un plano con sus alturas y valores de reflexión. Los datos se obtuvieron de forma estática durante 10 s en cada una de las muestras tomadas, de esta forma para cada muestra se almacenaban 250 lecturas de la misma área de muestreo. Los datos del sensor se transferían a través de un puerto ethernet hacia un ordenador en el cual estaba instalado el software SOPAS (SICK Open Portal for Applications and Systems Engineering Tool) que era usado para el control del sensor y almacenamiento de los valores de distancia y reflectividad. Con estos valores se construyeron dos perfiles con los valores de la intersección de puntos entre el láser y la vegetación o suelo, así como un segundo perfil con los valores de reflectividad para cada punto.

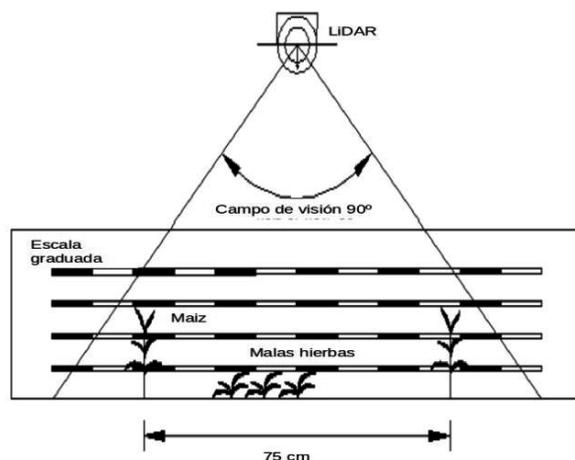


Figura 1. Representación esquemática del proceso de muestreo con el láser SICK.

Las mediciones se realizaron en 16 diferentes ubicaciones en un campo de maíz en estado de crecimiento BBCH 12-14, con varias densidades de *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv., *Lamium purpureum* L., *Galium aparine* L., y *Veronica persica* Poir. Las muestras se seleccionaron en busca de una distribución con diferentes densidades de malas hierbas con el fin de tener mediciones representativas. Inmediatamente después de las mediciones con el sensor LiDAR (distancias y valores de reflexión) se tomaron imágenes digitales RGB (Red, Green, Blue) del área evaluada con el fin de crear un plano de alturas reales comparable a los valores obtenidos con el sensor (Andújar *et al.*, 2013).

El procesamiento de los datos se realizó en una aplicación desarrollada en Matlab 2010 capaz de crear el plano de alturas con los valores asociados de reflexión transformado los valores de coordenadas polares a planas. Estos datos se transfirieron a Autocad 2010 donde se superpusieron los planos creados con los valores reales de alturas obtenidos de las imágenes digitales. De esta forma se obtenían tres planos solapados con los valores de altura real, altura medida con LiDAR y reflexión. Cada uno de los planos se dividió en centímetros obteniendo un dato puntual para cada corte obtener una base de datos con suficientes valores.

Para analizar la viabilidad del sistema se realizó un análisis de regresión para el análisis de relación entre alturas reales y medidas con el sensor. Seguidamente, la precisión del sistema se validó mediante un análisis de regresión logística entre la presencia/ausencia de malas hierbas, tomando como datos las distancias y valores de reflexión.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el total de muestras recogidas se observó un patrón similar de alturas entre especies monocotiledóneas y dicotiledóneas con la altura mayor del cultivo. El análisis de regresión lineal mostró que las medidas tomadas por el sensor son un método fiable de medición de distancias o alturas, con un coeficiente  $R^2=0,75$  para la altura medida con LiDAR con respecto al valor de altura real medido sobre las imágenes capturadas en el área de muestreo. Sin embargo, la reflectividad tomada con el sensor láser no presentó una buena correlación con las alturas reales, es decir, los valores de reflexión no reflejaron un patrón claro.

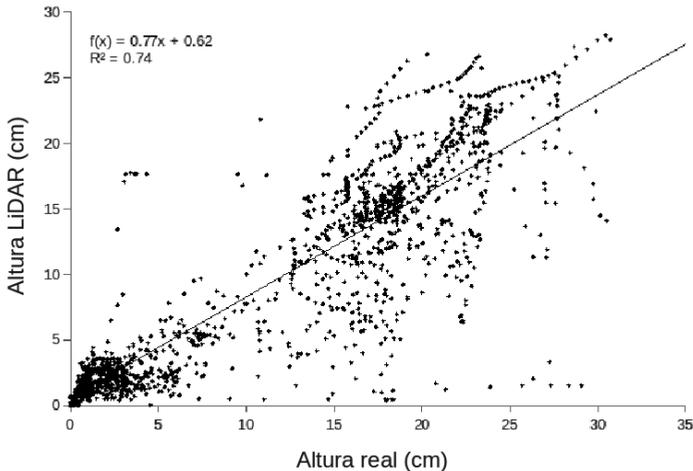


Figura 2. Regresión entre las alturas reales de plantas medidas utilizando imágenes digitales y valores de altura obtenidos con el sensor LiDAR para todos los valores analizados.

El análisis de regresión logística mostró una buena capacidad de discriminación de las mediciones laser para predecir la presencia/ausencia de vegetación en las muestras analizadas. Los valores de reflectividad se usaron como covariable en el análisis, mejorando las predicciones del modelo. De un total de más de 1.500 unidades muestrales, los valores predichos mostraron un porcentaje de acierto del 95,3% para los casos de presencia de vegetación y un 82,2% para la presencia de suelo (o ausencia de vegetación), con una predicción global del modelo del 92,7% (Tabla 1).

Tabla 1. Resultado de la clasificación del modelo de regresión logística para la clasificación de suelo y vegetación utilizando los valores de altura de planta y valores de reflexión obtenidos por técnica de medición LiDAR.

| Observado  | Categoría (Predicción) |            |
|------------|------------------------|------------|
|            | Suelo                  | Vegetación |
| Suelo      | 82,2%                  | 17,8%      |
| Vegetación | 4,7%                   | 95,3%      |

### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Fundación Alfonso Martín Escudero.

## 5. REFERENCIAS

- Andújar D, Escolà A, Dorado J and Fernández-Quintanilla C (2011). Weed discrimination using ultrasonic sensors. *Weed Research*, 51, 543–547.
- Andújar D, Escolà A, Rosell-Polo J, Fernández-Quintanilla C and Dorado J (2013). Potential of a terrestrial LiDAR-based system to characterize weed vegetation in maize crops. *Computers and Electronics in Agriculture*, 92, 11–15.
- Dworak V, Selbeck J and Ehlert D (2011). Ranging sensors for vehicle-based measurement of crop stand and orchard parameters: A review. *Transactions of the ASABE* 54(4), 1497–1510.
- Pallejà T, Tresánchez M, Teixido M, Sanz R, Rosell J and Palacín J (2010). Sensitivity of tree volume measurement to trajectory errors from a terrestrial LiDAR scanner. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(11), 1420–1427.
- Rosell-Polo JR, Sanz R, Llorens J, Arnó J, Escolà A, Ribes-Dasi M, Masip J, Camp F, Gràcia F, Solanelles F, Pallejà F, Val L., Planas S, Gil E and Palacín J (2009). A tractor-mounted scanning LiDAR for the non-destructive measurement of vegetative volume and surface area of tree-row plantations: A comparison with conventional destructive measurements. *Biosystems Engineering*, 102(2), 128–134.
- Rosell J & Sanz R (2012). A review of methods and applications of the geometric characterization of tree crops in agricultural activities. *Computers and Electronics in Agriculture*, 81, 124–141.
- Sanz R, Rosell JR, Llorens J, Gil E and Planas S (2013). Relationship between tree row LIDAR-volume and leaf area density for fruit orchards and vineyards obtained with a LIDAR 3D Dynamic Measurement System. *Agricultural and Forest Meteorology*, 171, 153–162.
- Tumbo SD, Salyani M, Whitney JD, Wheaton TA and Miller WM (2002). Investigation of laser and ultrasonic ranging sensors for measurements of citrus canopy volume. *Applied Engineering in Agriculture*, 18(3), 367–372.
- Weis M, Gutjahr C, Rueda-Ayala V, Gerhards R, Ritter C and Schölderle F (2008). Precision farming for weed management: techniques. *Gesunde Pflanzen*, 60(4), 171–181.
- Zaman QU, Esau TJ, Schumann AW, Percival DC, Chang YK, Read SM and Farooque AA (2011). Development of prototype automated variable rate sprayer for real-time spot-application of agrochemicals in wild blueberry fields. *Computers and Electronics in Agriculture*, 76 (2), 175–182.

Summary: *A dual system for plant-soil discrimination. This study describes a new approach for discriminating weed-crop from soil surface using distance and reflection values using a LiDAR (Light Detection And Ranging) system. Field measurements were conducted in a maize field infested with various types of weeds. The sensor was positioned in a tripod creating a profile of 1.5 m wide containing heights and reflection values. Digital images were taken in order to obtain an actual height profile comparable with the LiDAR measurements. A regression analysis was carried out between the actual heights and measured heights obtaining a high relationship between LiDAR measured distance (LiDAR heights) and actual height with a value of  $R^2 = 0.75$ . Following, a binary logistic regression was used to predict the presence or absence of vegetation. The results permitted the discrimination of vegetation and bare soil with accuracy up to 95%.*

Keywords: Laser, plant height, reflection.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

## Caracterización molecular de *Echinochloa* spp. en arrozales de Extremadura

Y. Romano\*, M. E. Senero\*, J. González-Blanco\* J. A. Palmerín\*\*, M. D. Osuna\*<sup>a</sup>

\*Departamento de Hortofruticultura, Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera (Junta de Extremadura), Ctra. A-V Km 372, 06187-Badajoz,

<sup>a</sup>mariadolores.osuna@juntaextremadura.net\*\*Servicio de Sanidad Vegetal (Junta de Extremadura), Ctra. Don Benito-Miajadas Km 2,5, 06400-Don Benito

**Resumen:** Se han usado cuatro tipos de marcadores moleculares (RAPD, ISSR, SSR y AFLP) para distinguir los genotipos y poder diferenciar las especies del género *Echinochloa* encontradas en el cultivo de arroz de Extremadura. Los resultados fueron similares con todos los tipos de marcadores utilizados, con un coeficiente de correlación mayor de 0,77. Se dividieron las poblaciones de nuestro estudio en dos grupos principales. El grupo 1 estuvo compuesto por *E. crus-galli* y *E. hispidula* y el grupo 2 por *E. oryzicola* y *E. oryzoides*. Se puede concluir, que estos cuatro tipos de marcadores moleculares son fiables para este tipo de estudio en el género *Echinochloa*. Actualmente, se está combinando este trabajo con marcadores PCR-RFLP para hacer una distinción más rápida y eficaz.

**Palabras clave:** especies, marcadores, RAPD, ISSR, SSR y AFLP.

## 1. INTRODUCCIÓN

La biología molecular ha desempeñado un papel cada vez más importante en los trabajos agronómicos, permitiendo nuevas posibilidades en los estudios taxonómicos de especies que no están bien clasificadas. El género *Echinochloa* pertenece a la familia de las Gramíneas y no existe un acuerdo sobre su clasificación taxonómica debido a su alta variabilidad en caracteres morfológicos. En el área mediterránea se lleva a cabo la clasificación principalmente de acuerdo con las claves taxonómicas de Pignatti (1982) y Carretero (1981). La correcta identificación del género *Echinochloa* es agronómica y económicamente importante, ya que todas las especies de este género son malas hierbas agresivas y difíciles de controlar, y provocan grandes pérdidas en el rendimiento de cultivos como el arroz (López-Martínez, 1999). Por otra parte, la diferente susceptibilidad entre las diferentes especies del género *Echinochloa* a los herbicidas establece la necesidad de obtener métodos adecuados para caracterizar este género (Carretero, 1989; López-Martínez et al., 1999). Un ejemplo de esta diferencia de susceptibilidad la encontramos en el trabajo realizado por Damalas *et al.* (2008), que demostró que *E. oryzoides* y *E. phillopogon* eran menos susceptibles a propanil, cihalofop, clefoxidim y bispiribac-sodio que *E. crus-galli*. En este sentido, los marcadores moleculares son particularmente útiles para la identificación de la diversidad genética de las especies de plantas y para relacionar los distintos genotipos (Jasieniuk & Maxwell, 2001). El objetivo de este trabajo es el uso de cuatro tipos de marcadores moleculares (RAPD, ISSR, SSR y AFLP) para distinguir los distintos genotipos y poder diferenciar las especies del género *Echinochloa* encontradas en el cultivo de arroz de Extremadura.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

**2.1. Material Vegetal:** fueron recolectadas 213 poblaciones de *Echinochloa* en distintos campos de cultivos de la región arrocera de Extremadura durante las campañas 2009 y 2010. Se realizaron sobre aquellas parcelas para las que se sospechó una disminución en la eficacia

de un determinado herbicida (profoxidim, penoxsulam, cihalofop, etc.). No obstante, en el presente trabajo solo se incluye el estudio de 39 de estas poblaciones, por ser representativas de esta región.

2.2. *Análisis con RAPD.* Fueron seleccionados para el estudio genético 8 cebadores aleatorios del kit OP-A (Qiagen Operon Technologies) (Tabla 1). Se emplearon 10 ng de ADN genómico para 18,3 µl de reacción: 1 µl de primer, 1,6 µl de dNTPs, 2 µl de 10x PCR buffer Tris-HCl-MgCl<sub>2</sub> y 0,5 µl de Taq polimerasa. El programa de amplificación fue descrito por Cooke & Duncan (1997).

2.3. *Análisis con ISSR.* Fueron seleccionados para el estudio 8 cebadores ISSR del kit UBC#9 obtenido por la British Columbia University (Tabla 1). Se emplearon 10 ng de ADN genómico total para 25 µl de reacción: 1 µl de primer, 2,5 µl de 10x PCR buffer Tris-HCl, 2,5 µl de MgCl<sub>2</sub>, 2 µl de dNTPs y 1 µl de Taq polimerasa. El programa de amplificación fue descrito por Cooke & Duncan (1997).

2.4. *Análisis con SSR.* Fueron seleccionados para el estudio 5 cebadores SSR (Tabla 1), previamente desarrollados por Danquah et al. (2002). Se emplearon 10 ng de ADN genómico total para 7,5 µl de reacción que contenía: 0,3 µl del primer F, 0,3 µl del primer R, 1,2 µl de dNTPs, 1 µl de 10x PCR buffer Tris-HCl, 0,6 µl de MgCl<sub>2</sub> y 1 µl de Taq polimerasa.

2.5. *Análisis con AFLP.* Fueron seleccionados para el estudio 6 parejas de cebadores AFLP (Tabla 1). Se realizó una doble digestión del ADN genómico con enzimas de restricción EcoRI y MseI. Se emplearon 5 µL de ADN genómico total para 12,5 µl de reacción: 2,5 µl de 5x PCR buffer Tris-HCl-MgCl<sub>2</sub> y 1 µl de EcoRI/MseI enzyme mix. A continuación se liga el adaptador a los fragmentos de restricción. Después se pre-amplifica con dos cebadores que contienen un nucleótido selectivo. Para ello se emplearon 2,5 µl de la dilución 1:10 de la mezcla de ligación para 25,5 µl de reacción: 20 µl de AFLP primer mix, 2,5 µl 5x PCR buffer Tris-HCl-MgCl<sub>2</sub> y 0,5 µl de Taq polimerasa. Para la amplificación selectiva se emplearon 2 µl de la dilución 1:40 de pre-amplificación para 11 µl de reacción: 6 µl de Taq polimerasa Working mix, 2 µl de MseI primer que contenía los dNTPs, 0,5 µl de IRDye 700 Labeled EcoRI primer A y 0,5 µl de IRDye 800 Labeled EcoRI primer A. Los programas de amplificación empleados fueron descritos por el Kit (LICOR).

Para los RAPD e ISSR se utilizó electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con Gel Red 10.000X (Biotium) y visualizados con luz UV. Para los SSR y AFLP se utilizó electroforesis en gel de acrilamida al 6%, utilizando el secuenciador automático LICOR 4300.

2.6. *Análisis de datos.* Se realizó un Análisis de Componentes Principales y un Análisis de Agrupamiento con el programa IBM Spss 19, usando el método UPGMA. Se realizó un test de correlación entre los valores de similitud genética obtenidos con los distintos marcadores con el programa NTSYS-PC 2.21.

Tabla 1. Primers seleccionados, sus secuencias y niveles de polimorfismos.

| Primer       | Secuencia (5'-3')                                | Nº bandas | B. polimórficas | % polimorf. |
|--------------|--|-----------|-----------------|-------------|
| <i>RAPD</i>  |  |           |                 |             |
| Opa-02       | TGCCGAGCTG                                       | 15        | 13              | 86,7        |
| Opa-03       | AGTCAGCCAC                                       | 10        | 9               | 90          |
| Opa-04       | ATTCGGGCTG                                       | 11        | 10              | 90,9        |
| Opa-09       | GGGTAACGCC                                       | 6         | 5               | 83,3        |
| Opa-10       | GTGATCGCAG                                       | 13        | 11              | 84,6        |
| Opa-11       | CAATCGCCGT                                       | 1         | 1               | 100         |
| Opa-12       | TCGGCGATAG                                       | 2         | 2               | 100         |
| Opa-13       | CAGCACCCAC                                       | 12        | 10              | 83,3        |
| <i>Total</i> |  | 70        | 61              | 89,8        |
| <i>ISSR</i>  |  |           |                 |             |
| 808          | AGAGAGAGAGAGAGAGC                                | 11        | 7               | 63,6        |
| 889          | DBDACACACACACACAC                                | 11        | 11              | 100         |
| 890          | VHVGTGTGTGTGTGTGT                                | 10        | 9               | 90          |
| 864          | ATGATGATGATGATGATG                               | 7         | 6               | 85,7        |
| 836          | AGAGAGAGAGAGAGAGYA                               | 5         | 3               | 60          |
| 827          | ACACACACACACACACG                                | 13        | 12              | 92,3        |
| 880          | GGAGAGGAGAGGAGA                                  | 8         | 7               | 87,5        |
| 851          | GTGTGTGTGTGTGTGTGYG                              | 5         | 5               | 100         |
| <i>Total</i> |  | 70        | 60              | 84,9        |
| <i>SSR</i>   |  |           |                 |             |
| EC1          | F:ATTACTGGTCAGACGGAAAC<br>R:GCAGTTATCTCCGTGGGCAC | 2         | 2               | 100         |
| EC2          | F:GGCTCCAAACAAGGCAATTC<br>R:TTCAGGGAATTTAGTACAAG | 2         | 2               | 100         |
| EC3          | F:GAAAGGAAATGGGTTGGCTG<br>R:CTTCGCACCATGATCTTCTC | 3         | 3               | 100         |
| EC4          | F:AGTAGAAGGCTGCAAGAAGG<br>R:TCTCAGCCCACTTTGTATAG | 6         | 5               | 83,3        |
| EC5          | F:CAGAGCCTTCAATCATGGTG<br>R:TGCTTCAAGTTCTAGGAGAC | 3         | 2               | 66,7        |
| <i>Total</i> |  | 16        | 14              | 90          |
| <i>AFLP</i>  |  |           |                 |             |
| E35-M49      | E-ACA M-CAG                                      | 24        | 21              | 87,5        |
| E32-M48      | E-AAC M-CAC                                      | 17        | 17              | 100         |
| E38-M61      | E-ACT M-CTG                                      | 15        | 15              | 100         |
| E36-M50      | E-ACC M-CAT                                      | 35        | 35              | 100         |
| E37-M59      | E-ACG M-CTA                                      | 18        | 18              | 100         |
| <i>Total</i> |  | 109       | 106             | 97,5        |

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. *Análisis con RAPD.* Se encontraron 70 bandas, de las cuales 61 eran polimórficas (Tabla 1). En los dos análisis realizados se identificaron dos grupos separados, que denominamos grupo 1 y grupo 2. Los tres primeros componentes recogieron un 63,32 % de la variabilidad.

3.2. *Análisis con ISSR.* Se encontraron 70 bandas, de las cuales 60 eran polimórficas (Tabla 1). En los dos análisis realizados se identificaron dos grupos separados, grupo 1 y grupo 2. Los tres primeros componentes recogieron un 63,51 % de la variabilidad.

3.3. *Análisis con SSR.* Se encontraron 16 bandas, de las cuales 14 eran polimórficas (Tabla 1). En los dos análisis realizados se identificaron dos grupos separados, grupo 1 y grupo 2. Los tres primeros componentes recogieron un 90,23 % de la variabilidad.

3.4. *Análisis con AFLP.* Se encontraron 109 bandas, de las cuales 106 eran polimórficas (Tabla 1). En los dos análisis realizados se identificaron dos grupos separados, grupo 1 y grupo 2 (Figura 1). Los tres primeros componentes recogieron un 82,63 % de la variabilidad.

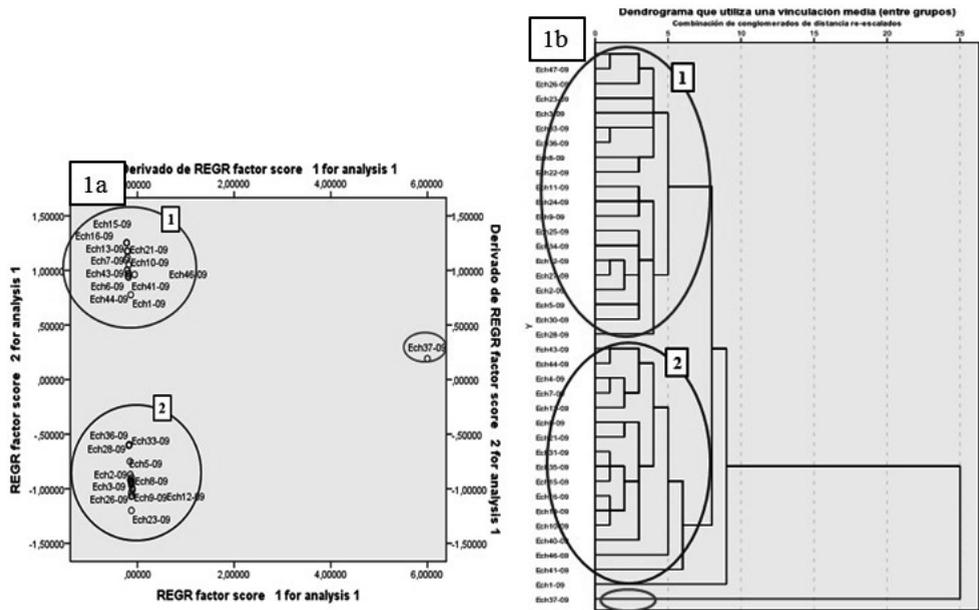


Figura 1. Leyenda. 1a) Diagrama de los dos componentes principales basados en análisis de AFLP. 1b) Dendrograma UGMA obtenido con los análisis de AFLP.

3.5. *Análisis de correlación.* Se realizaron test de correlación entre los distintos marcadores moleculares utilizados. Encontramos resultados similares, con un coeficiente de correlación (R) siempre superior a 0,7 (Tabla 2).

Tabla 2. Coeficientes de correlación obtenidos entre los marcadores moleculares.

| Pareja    | R       |
|-----------|---------|
| ISSR/RAPD | 0,88209 |
| RAPD/AFLP | 0,91712 |
| RAPD/SSR  | 0,78053 |
| ISSR/AFLP | 0,94897 |
| ISSR/SSR  | 0,77725 |
| AFLP/SSR  | 0,83144 |

Como ya se ha comentado, se formaron dos grupos de poblaciones con los cuatro tipos de marcadores moleculares, y estos grupos están formado por las mismas poblaciones de *Echinochloa* spp. En todos los casos la población Ech 37 09 apareció aislada. El grupo 1 y el

grupo 2 se subdividieron a su vez en 2 subgrupos. El grupo 1A estaba formado por las siguientes poblaciones de *Echinochloa* recolectadas: Ech 1 09, Ech 4 09, Ech 7 09, Ech 14 09, Ech 17 09, Ech 18 09, Ech 35 09, Ech 40 09, Ech 41 09, Ech 43 09, Ech 44 09 y Ech 46 09. Todas estas poblaciones tenían características morfológicas comunes (datos no mostrados) y se demostró que son *Echinochloa crus-galli*. El grupo 1B estaba compuesto por las siguientes *Echinochloa* recolectadas: Ech 6 09, Ech 10 09, Ech 16 09, Ech 19 09, Ech 21 09 y Ech 31 09. Todas estas poblaciones tenían características morfológicas comunes y se demostró que son *Echinochloa hispidula*. El grupo 2A estaba compuesto de las siguientes *Echinochloa* recolectadas: Ech 20 09, Ech 22 09, Ech 26 09, Ech 28 09, Ech 30 09 y Ech 33 09. Todas estas poblaciones tenían características morfológicas comunes y se demostró que son *Echinochloa oryzicola*. El grupo 2B estaba compuesto de las siguientes *Echinochloa* recolectadas: Ech 2 09, Ech 5 09, Ech 8 09, Ech 11 09, Ech 12 09, Ech 23 09, Ech 25 09, Ech 27 09, Ech 34 09 y Ech 36 09. Todas estas poblaciones tenían características morfológicas comunes y se demostró que son *Echinochloa oryzoides*. La Ech 37 09 se demostró que es *Echinochloa colomum*. Se está combinando este estudio con marcadores PCR-RFLP para hacer una distinción más rápida y eficaz.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos IB10079 (Junta de Extremadura) y AGL2011-27714 (Ministerio de Ciencia e Innovación), y por ayuda del grupo GR10130 (Junta de Extremadura).

#### 5. REFERENCIAS

- Carretero JL (1981). El género *Echinochloa* Beauv. en el suroeste de Europa. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 38 (1), 91-108.
- Cooke, DEL & Duncan JM (1997). Phylogenetic analysis of *Phytophthora* species based on the ITS1 and ITS2 sequences of ribosomal DNA. *Mycological Research*, 101, 667-677.
- Damalas CA, Dhima KV and Eleftherohorinos IG (2008). Morphological and physiological variation among species of the Genus *Echinochloa* in Northern Greece. *Weed Science*, 48, 416-423.
- Danquah EY, Johnson DE, Riches C, Arnold GM and Karp A. (2002). Genetic diversity in *Echinochloa* spp. collected from different geographic origins and within rice fields in Côte d'Ivoire. *Weed Research*, 42, 394-405.
- Jasieniuk M & Maxwell BD (2001). Plant diversity: new insights from molecular biology and genomics technologies. *Weed Science*, 49, 257-265.
- López-Martínez N, Pujadas A, Finch, RP, Marshall G and De Prado R (1999). Molecular markers indicate intraspecific variation in the control of *Echinochloa* spp. with quinclorac. *Weed Science*, 47, 310-315.
- Pignatti S (1982). *Flora d'Italia. Vol. III*, pp 23-24, Edagricole, Bologna.

Summary: *Molecular characterization of Echinochloa spp. in rice fields from Extremadura. Four types of molecular markers (RAPD, ISSR, SSR and AFLP) were used to distinguish genotypes and species of the genus Echinochloa found in rice fields from Extremadura. Similar findings exist for all types of markers, with a correlation coefficient greater than 0.77. Ours populations were divided into two main groups, together with previous morphological studies carried out, we can conclude that, group 1 was composed of E. crus-galli and E. hispidula and group 2 of E. oryzicola and E. oryzoides. In conclusion, these four types of*

*molecular markers are reliable for this type of study in the genus Echinochloa. Currently, this study is being combined with PCR-RFLP to distinguish more quickly and efficiently.*

Keywords: species, markers, RAPD, ISSR, SSR and AFLP.

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Efecto sobre *Leptochloa* de algunos tratamientos herbicidas en el cultivo de arroz.**

P. Matallana, A. Finch, M. Valero, J.M. Osca\*<sup>a</sup>

\*Departamento de Producción Vegetal, Universitat Politècnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022-Valencia, <sup>a</sup>[josca@prv.upv.es](mailto:josca@prv.upv.es)

*Resumen:* En los últimos años ha aumentado la frecuencia de campos de arroz en la zona valenciana, en los que aparecen plantas del género *Leptochloa*, que en algunas ocasiones llegan a constituir un problema importante para el cultivo. Ello es debido a que el manejo de las malas hierbas del arrozal valenciano está orientado principalmente al control de *Echinochloa* spp. por métodos químicos mediante herbicidas y en muchas ocasiones *Leptochloa* no es susceptible a los tratamientos realizados contra *Echinochloa*. En este trabajo se presentan los resultados de diferentes ensayos a nivel de laboratorio con herbicidas autorizados en el cultivo de arroz y su efecto sobre dos subespecies de *Leptochloa fusca*: *L.f. ssp uninervia* y *L.f. ssp fascicularis*.

Palabras clave: Malas hierbas, control químico.

## 1. INTRODUCCIÓN

En los campos de arroz aparecen plantas espontáneas que pueden interferir con el normal desarrollo del cultivo, son las plantas arvenses o ‘malas hierbas’ del arroz. Al igual que la planta de arroz, presentan la particularidad, de estar adaptadas a medios inundados o saturados de agua.

En la zona arroceras valenciana, los problemas más importantes son similares a los que se dan en otras zonas arroceras, tanto españolas como de otros países. Las malas hierbas más importantes pertenecen a la misma familia que el arroz (Poáceas o Gramíneas), como las del género *Echinochloa* (cerreig, mill, colas) y el arroz rojo o salvaje y algunas ciperáceas (juncia, tinya, punxó). En la última década han ido apareciendo nuevos problemas, posiblemente introducidos con semilla de otras zonas arroceras, como los ocasionados por *Heteranthera reniformis* y *H.limosa* y *Leptochloa* spp. (cerreig americá, cola americana, hierba gitana), de la que están presentes *L. fusca* subsp. *uninervia* [sinónimos *Leptochloa uninervia* (Presl) Hicht. & Case = *Diplachne uninervia* (Presl) Parodi] (en adelante LEFUN) y *L.fusca* subsp. *fascicularis* [= *Diplachne fascicularis* (L.) Beaux] (en adelante LEFFA).

Las variedades de arroz cultivadas en esta zona arroceras son mayoritariamente de tipo japónica y la lucha contra las malas hierbas va orientada principalmente al control de *Echinochloa*. Debido al tipo de variedades cultivadas y a las particularidades del arrozal valenciano (parcelas pequeñas, dificultad en el manejo del agua), algunos herbicidas utilizados en la lucha contra *Echinochloa* y otras malas hierbas del arroz, en otras zonas arroceras españolas, no son emplean en esta zona. Ello es debido a los mayores riesgos de fitotoxicidad sobre el cultivo. Sin embargo es bien conocido que *Leptochloa* es sensible a alguno de estos productos como el profoxidim.

Es muy frecuente encontrar en la zona valenciana parcelas en donde aparecen plantas de *Leptochloa* que no son sensibles a los tratamientos herbicidas realizados. Ello es debido a la

utilización por parte de los agricultores de tratamientos herbicidas contra *Echinochloa* a los que *Leptochloa* no es susceptible.

El objetivo de este trabajo es evaluar la sensibilidad de plantas de *Leptochloa* de los dos tipos que aparecen en esta zona arrocerá, a diferentes tratamientos herbicidas, comparando tratamientos utilizados en la zona con tratamientos alternativos.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Los distintos ensayos realizados tuvieron lugar en la primavera y principios de verano de los años 2011 y 2012.

2.1. *Herbicidas utilizados.* En 2011 (ensayo 1) se compararon tratamientos antiechinochloa de poastemergencia usuales en la zona (cihalofop butil, penoxsulam, propanil), con profoxidim, producto no utilizado en los arrozales valencianos. En 2012 (ensayo 2) se comparó la eficacia de dos herbicidas aplicados en preemergencia (oxadiazon y clomazona) y dos herbicidas aplicados en postemergencia (penoxsulam y profoxidim). También se estudió el efecto sobre el arroz y *Leptochloa* de la clomazona si se aplica en preemergencia mediante un ensayo de dosis-respuesta (ensayo3). En todos los tratamientos con cihalofop butil y profoxidim se añadieron los mojantes indicados los fabricantes (Codacide y Dash respectivamente) a las dosis recomendadas.

2.2. *Material vegetal.* Para la realización de los ensayos se utilizaron semillas de LEFFUN y LEFFA recolectadas en campañas anteriores de la zona arrocerá valenciana. En el ensayo de dosis respuesta se utilizó arroz de la variedad ‘montsianell’.

2.3. *Siembra.* Para la realización de los ensayos se sembraron semillas de ambas subespecies en macetas de plástico, utilizando como sustrato tierra de franco arenosa, previamente tamizada a través de malla de 2 mm de diámetro, excepto en el ensayo de dosis-respuesta, en que se utilizó sustrato comercial (Sustrato universal Blumenerde de Gramasol). En los ensayos de preemergencia, se realizaron los tratamientos herbicidas al día siguiente de la siembra. En los tratamientos de postemergencia se trataron las plantas al alcanzar estadio fenológico BBCH12, entre 3-4 semanas tras la siembra.

2.4. *Diseño de los ensayos.* En los ensayos de comparación de los diferentes herbicidas el diseño de los ensayos fue en bloques completos al azar con 4 repeticiones, estando constituida cada repetición por 10 macetas de cada una de las 2 subespecies. Las variables registradas fueron altura y peso de las plantas. Para evaluar la sensibilidad del arroz y *Leptochloa* a clomazona aplicado en preemergencia, se realizó un ensayo de dosis respuesta siguiendo la directriz OCDE 208, a las concentraciones de 0, 40, 120, 360, 1080 2160 g x ha<sup>-1</sup> de ingrediente activo. El diseño de este ensayo fue en bloques completos al azar con cuatro repeticiones, y 10 semillas de arroz por repetición.

2.5. *Maquinaria utilizada.* Todos los tratamientos se realizaron con mochila a motor Whale Best LS-937, con boquilla de abanico, calibrándose la máquina antes de los tratamientos a un volumen de caldo de 300 L x ha<sup>-1</sup>.

2.6. *Análisis de resultados.* Las variables analizadas fueron el peso fresco y altura de las plantas al mes del tratamiento. En el ensayo dosis-respuesta estas variables se midieron a los

21 días del 50 % de emergencia de las plantas. El análisis de los resultados se realizó con Statgraphics centurión XVI, realizándose análisis de la varianza. Se utilizó el test de Tukey para la agrupación de grupos homogéneos. En el ensayo dosis-respuesta se realizó análisis de regresión de los parámetros estudiados. Todos los test estadísticos se han contrastado con un nivel de significación del 5%

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*Ensayo 1.* Los tratamientos con proflorfenidol y la mezcla cihalofop-butil+penoxsulam son los que mejores resultados dieron en el control de LEFUN (Tabla 1), siendo el resto de los tratamientos ineficaces en el control de esta maleza. En el caso de LEFFA hay que añadir a estos dos tratamientos el cihalofop-butil, que fue igualmente eficaz, aunque en este caso la mezcla cihalofop butil+penoxulam redujo menos el desarrollo de las plantas. Estos datos confirman el buen control de *Leptochloa* mediante proflorfenidol, herbicida que no se utiliza en la zona debido al tipo de parcelas (pequeñas) y variedades cultivadas (japónica). También se observa la falta de eficacia del penoxsulam sobre *Leptochloa* cuando se aplica sólo y el buen control que ejerce sobre ella la mezcla de cihalofop butil+penoxsulam que utilizan algunos productores de la zona.

Tabla 1. Efecto de diferentes tratamientos herbicidas del arroz sobre el peso y altura de plantas de *Leptochloa fusca* ssp *uninervis* (LEFUN) y *L.fusca* ssp. *fascicularis* (LEFFA)

| Herbicida  | Dosis<br>(L x ha <sup>-1</sup> ) | Peso (g) |        | Altura (cm) |       |
|--|----------------------------------|----------|--------|-------------|-------|
|  |                                  | LEFUN    | LEFFA  | LEFUN       | LEFFA |
| Proflorfenidol 20%                               | 0,75                             | 1,02a    | 2,32a  | 24,9a       | 0a    |
| cihalofop butil<br>(20%) + penoxsulam<br>(2,04%) | 1,5 + 2                          | 2,18 a   | 5,64a  | 29,0ab      | 50,7b |
| cihalofop butil<br>(20%)                         | 1,5                              | 6,78b    | 3,60a  | 30,1b       | 3,0a  |
| propanil 48%                                     | 6                                | 7,97bc   | 20,51b | 46,6dc      | 91,7c |
| Penoxsulam (2,04%)                               | 2                                | 8,35bcd  | 22,13b | 43,2c       | 87,2c |
| Testigo sin tratar                               | -                                | 7,75bc   | 20,37b | 43,4c       | 86,0c |

Letras iguales en la misma columna indican diferencias no significativas

*Ensayo 2.* El análisis previo de los resultados no mostró diferencias significativas entre las dos subespecies de *Leptochloa* frente a los diferentes tratamientos, por lo que se analizaron las dos subespecies en conjunto. En los tratamientos de preemergencia el control de *Leptochloa* fue muy bueno (Tabla 2) con los dos herbicidas aplicados de esta manera, clomazona y oxadiazón. En postemergencia hubo un buen control de *Leptochloa* con proflorfenidol, mientras que penoxsulam no la controló, tal y como ocurrió en el ensayo 1.

Estos resultados están en la línea de los resultados obtenidos en otras zonas arroceras, en donde se describe a *Leptochloa* como sensible a proflorfenidol y medianamente sensible a oxadiazón y clomazona (Grupo de trabajo de los problemas fitosanitarios del arroz, 2007; Gobierno de Aragón, 2012). Se debe destacar que el buen control obtenido con clomazona ha sido en aplicación de preemergencia, mientras que el producto está autorizado para tratamientos de postemergencia.

Tabla 2. Efecto de diferentes tratamientos herbicidas del arroz sobre el peso seco y altura de plantas de *Leptochloa* sp.

| Herbicida  | Momento de aplicación | Dosis (L x ha <sup>-1</sup> ) | Peso (g) | Altura (cm)      |
|------------|-----------------------|-------------------------------|----------|------------------|
| clomazona  | Preemergencia         | 1                             | 0a       | 0a               |
| oxadiazon  | Preemergencia         | 2                             | 0a       | 0a               |
| profoxidim | Postemergencia        | 0,75                          | 1,03b    | 0,4 <sup>a</sup> |
| penoxsulam | Postemergencia        | 2                             | 1,42bc   | 31,7b            |
| Testigo    | Sin tratar            | -                             | 1,61c    | 34,0b            |

Letras iguales en la misma columna indican diferencias no significativas

*Ensayo 3.* El ensayo de dosis respuesta ha puesto de manifiesto la sensibilidad del arroz a la clomazona y la muy alta sensibilidad de *Leptochloa* cuando se aplica en preemergencia (Tabla 3), habiéndose obtenido en el caso del arroz unos valores de ER50 de 1,70 y 1,71 L x ha<sup>-1</sup> para el peso y altura respectivamente. No se muestran resultados de LEFFA, ya que durante el ensayo tuvo una germinación muy escalonada que obligó a desechar los resultados de esta subespecie.

Tabla 3. Efecto de diferentes dosis de clomazona sobre el peso, altura y plantas desarrolladas de arroz y *L.fusca* ssp *uninervia* a las 3 semanas del 50% de emergencia de los testigos no tratados (T0).

| Tratamiento | Dosis (g x ha <sup>-1</sup> ) | Arroz (Montsianell) |             | LEFFUN   |             |
|-------------|-------------------------------|---------------------|-------------|----------|-------------|
|             |                               | Peso (g)            | Altura (cm) | Peso (g) | Altura (cm) |
| To          | 0                             | 10,33a              | 27,75a      | 13,78 a  | 68,5 a      |
| T1          | 40                            | 10,17a              | 27,63a      | 1,84 b   | 17,8 b      |
| T2          | 120                           | 8,67ab              | 28,75a      | 0 b      | 0 b         |
| T3          | 360                           | 5,69b               | 26,63a      | 0 b      | 0 b         |
| T4          | 1080                          | 0,50c               | 17,67b      | 0 b      | 0 b         |
| T5          | 2160                          | 0c                  | 0c          | 0 b      | 0 b         |

Letras iguales en la misma columna indican diferencias no significativas

Los resultados obtenidos con estos ensayos confirman la alta susceptibilidad al profoxidim de los dos tipos de *Leptochloa* que aparecen en la zona valenciana, por lo que es un herbicida que debería tenerse en cuenta en parcelas con problemas de *Leptochloa*, si se cultivan variedades de arroz más tolerantes a este herbicida. También se confirma la falta de susceptibilidad de *Leptochloa* a penoxsulam, herbicida muy utilizados en la zona en los últimos años en la lucha contra *Echinochloa* sp. Sin embargo sí es susceptible a cihalofop butil, ampliamente utilizado hasta la introducción del penoxsulam. La mezcla de ambos herbicidas utilizada por algunos productores proporciona un buen control de *Leptochloa*.

Los tratamientos de preemergencia con oxadiazón y clomazona han proporcionado un control muy bueno de *Leptochloa* en las condiciones estudiadas. Estos tratamientos podrían ser una buena herramienta en parcelas con problemas, aunque con las debidas precauciones. El arroz es susceptible al oxadiazón, por lo que se debe aplicar con suficiente antelación y dejar que el agua lave la tierra antes de sembrar. En el caso de la clomazona, la aplicación en preemergencia puede ser interesante para el control de *Leptochloa* si se ajusta la dosis a niveles no fitotóxicos para el arroz, teniendo en cuenta las posibles diferencias de sensibilidad entre las variedades de arroz cultivadas.

#### 4. REFERENCIAS

Gobierno de Aragón. Departamento de Agricultura y Medio Ambiente (2012). *Boletín Fitosanitario de Avisos e Informaciones n° 9 mayo-junio 2012*. Centro de Protección Vegetal, Zaragoza.

Grupo de trabajo de los problemas fitosanitarios del arroz (2007). Informe de la XXII reunión anual del Grupo de Trabajo de los problemas fitosanitarios del arroz. *Reuniones anuales de los Grupos de Trabajo Fitosanitarios 2007*, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Madrid.

OECD (2006). Test No. 208: Terrestrial Plant Test: Seedling Emergence and Seedling Growth Test, *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals*, Section 2, OECD Publishing.

Summary: *Effect on Leptochloa of some herbicide treatments in rice crop*. In recent years, Leptochloa plants are more frequent in the Valencian paddy fields, which in some cases are a major problem for cultivation. This is because the weed management in paddy fields is focused to control Echinochloa spp. by chemical methods. Frequently Leptochloa plants are not susceptible to the treatments carried out against Echinochloa. In this paper we present the results of different laboratory tests with rice herbicides and its effect on two subspecies of Leptochloa fusca: Lf ssp uninervia and L. F. ssp fascicularis.

Keywords: Weeds, chemical control.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013**Efecto de la dosis de rimsulfuron y la densidad de infestación sobre poblaciones de *Sorghum halepense* en maíz**

J. Barroso\*<sup>a</sup>, B.D. Maxwell\*, C. Fernández-Quintanilla\*\*, D. Andújar\*\*, C. San Martín\*\*, J. Dorado\*\*

\* Montana State University, 59717 Bozeman, MT (USA),

<sup>a</sup> [judit.barroso@montana.edu](mailto:judit.barroso@montana.edu)

\*\* Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), Serrano 115B, 28006 Madrid

*Resumen:* De cara a estimar el efecto a corto y largo plazo del manejo localizado con dosis variables de herbicida, se evaluaron los principales procesos demográficos de *Sorghum halepense* (“cañota”) en relación a su densidad y a la aplicación de un herbicida específico. Se ensayaron varias dosis de rimsulfuron (desde 0 hasta la dosis recomendada en la etiqueta del producto) y varias densidades de cañota (desde 0 hasta 100 plantas m<sup>-2</sup>). En este estudio no se observaron eficacias mayores del herbicida en densidades bajas de infestación de cañota. Estos resultados sugieren que se debería aplicar la misma dosis de rimsulfuron independientemente de la densidad de cañota. El mayor porcentaje de control se obtuvo con la dosis recomendada en la etiqueta del producto, aunque dicha dosis no garantizó una disminución de la densidad de infestación en el siguiente año, cuando la densidad de cañota procedente del año anterior fue menor de 30 plantas m<sup>-2</sup>.

Palabras clave: cañota, densidad de mala hierba, dosis variable de herbicida, porcentaje de control.

## 1. INTRODUCCIÓN

El *Sorghum halepense* L. (cañota) es una mala hierba perenne muy problemática en maíz debido fundamentalmente a su alta capacidad competitiva. Su gran vigor vegetativo y su alta capacidad reproductiva, tanto por semillas como por rizomas, le confieren dicha característica. El control de cañota en monocultivo de maíz se basa fundamentalmente en el empleo de herbicidas de post-emergencia (nicosulfuron, foramsulfuron, rimsulfuron). Estos productos aplicados a las dosis recomendadas han demostrado realizar un control adecuado de esta especie (Damalas & Eleftherohorinos, 2001; Baghestani *et al.*, 2007).

Desde un punto de vista tanto económico como medioambiental, una forma adecuada de reducir el uso de estos productos consistiría en la aplicación localizada sobre los rodales de esta mala hierba, la cual ha demostrado estar distribuida espacialmente de forma agregada (Andújar *et al.*, 2011). Otra alternativa sería reducir la cantidad de herbicida a aplicar mediante el uso de dosis variables. El empleo de dosis variable (Lutman & Miller, 2007), consiste en aplicar las dosis altas para controlar rodales con alta densidad, mientras que las dosis reducidas se utilizan para controlar zonas del campo con baja densidad de malas hierbas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta de diferentes densidades de cañota a diferentes dosis de rimsulfuron. Específicamente, se evaluó el efecto del herbicida sobre diferentes parámetros de esta especie (índice de supervivencia, producción de semillas,

producción de biomasa y producción de yemas de rizoma) y sobre la infestación de esta especie en la siguiente campaña. Asimismo, también se evaluó el efecto conjunto de la dosis de herbicida y la densidad de cañota sobre el rendimiento del maíz.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó durante 2009 y 2010 en la finca experimental La Poveda (Arganda del Rey, Madrid). En ambos años el experimento se estableció en dos zonas libres de cañota. El diseño experimental fue un split-plot con 3 repeticiones, donde cada bloque (13,5 m × 2,5 m) incluía los siguientes tratamientos distribuidos al azar: i) factor principal, dosis de rimsulfuron (Titus®, DuPont Ibérica S.L., 250 g kg<sup>-1</sup>) = 0X, 0,25X, 0,5X, y 1X (la dosis completa X = 12,5 g ha<sup>-1</sup>); ii) factor secundario, densidad de cañota = 0, 5, 20, 50, y 100 plantas m<sup>-2</sup>. Las parcelas experimentales de 2,5 m de largo en dirección a las líneas de cultivo y 1.5 m de ancho perpendicular a las líneas de cultivo, incluían 3 líneas de maíz.

El establecimiento y manejo del cultivo de maíz se realizó de acuerdo a las prácticas habituales de la zona. La siembra se realizó con una densidad de 80.000 plantas ha<sup>-1</sup> y una separación entre líneas de 0,75 m a principios de abril. Coincidiendo con la siembra del maíz, se sembraron las diferentes densidades de cañota utilizando fragmentos de rizoma que contenían dos nudos por fragmento. El herbicida rimsulfuron se aplicó cuando el cultivo tenía 5 hojas en el primer año y 3-4 hojas en el segundo año, usando un pulverizador de 3 m de ancho con boquillas de chorro plano Hardi ISO F 02 amarilla (caudal = 200 L ha<sup>-1</sup>; presión = 2 bar; velocidad = 4 km h<sup>-1</sup>) a mediados de mayo. El resto de malas hierbas en la zona del ensayo se eliminó mediante escardas manuales periódicas.

La densidad de cañota se evaluó en cuatro momentos, unos días antes de la aplicación del herbicida, 3 semanas después de la aplicación de herbicida (3SDH), en el momento de la cosecha y en la primavera siguiente en los dos años que se repitió el ensayo, usando marcos de 1 m × 0,5 m en las parcelas de alta infestación (50 y 100 plantas m<sup>-2</sup>), o bien todo el espacio interlínea de maíz (0,75 m × 2,5 m) en las parcelas de moderada infestación (20 plantas m<sup>-2</sup>) y el área de toda la parcela (1,5 m × 2,5 m) en aquellas de baja infestación (5 plantas m<sup>-2</sup>). En el momento de la cosecha, además de la supervivencia de las plantas también se estimó la biomasa y la producción de semillas. El rendimiento del maíz se determinó mediante la recolección manual de la línea central de cultivo de cada parcela y la producción de rizomas se estimó mediante su extracción cavando el suelo en 0,5 m × 0,5 m a una profundidad de 0,3 m.

El efecto de las diferentes dosis de herbicida sobre diferentes procesos demográficos de cañota, así como sobre la infestación en la siguiente campaña, se analizó mediante regresiones no lineales con el software R (R v. 2.11, 2010), en concreto con funciones asintóticas del tipo  $Y = Y_m * e^{-f \text{Density}}$ , donde  $Y_m$  es el valor máximo de la variable dependiente (Lindquist *et al.*, 1995). Cuando la variable dependiente fue significativa con el efecto del herbicida, el parámetro ' $Y_m$ ' se sustituyó por una curva dosis-respuesta similar a la descrita por Streibig *et al.* (1993). La relación entre el rendimiento de maíz y la densidad de cañota se exploró con una función hiperbólica  $Y = Y_{\max} (1 - c \text{Densidad} / (1 + c \text{Densidad} / a))$  (Cousens, 1985), sustituyendo el parámetro 'a' por una curva dosis-respuesta.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. *Procesos demográficos de la cañota.* El índice de supervivencia 3SDH y en la cosecha fueron diferentes dependiendo del año, siendo mayores en 2009 que en 2010. El índice de supervivencia 3SDH disminuyó con el aumento de la dosis de rimsulfuron, pero no con la densidad de cañota en ambos años. Sin embargo, al final del ciclo, la supervivencia de cañota resultó ser dependiente de la densidad en ambos años y con el herbicida en 2010. Con la dosis de rimsulfuron recomendada, el índice de supervivencia al final del ciclo varió desde 0,47 a 0,39 con una densidad de 5 y 100 plantas  $m^{-2}$ , respectivamente, y con dosis 0 de herbicida varió desde 1,18 hasta 0,98 para 5 y 100 plantas  $m^{-2}$ , respectivamente (Fig. 1a). Contrariamente a lo observado para otras especies de malas hierbas y herbicidas (Pannacci & Covarelli, 2009; Liebman *et al.*, 2008), el efecto del rimsulfuron fue ligeramente mayor sobre altas densidades de cañota. Este hecho se pudo deber a la competencia intra-específica de esta especie, que unida al efecto del herbicida, podría haber causado una peor recuperación de las plantas de cañota cuando éstas se desarrollan en alta densidad respecto a cuando lo hacen en baja densidad.

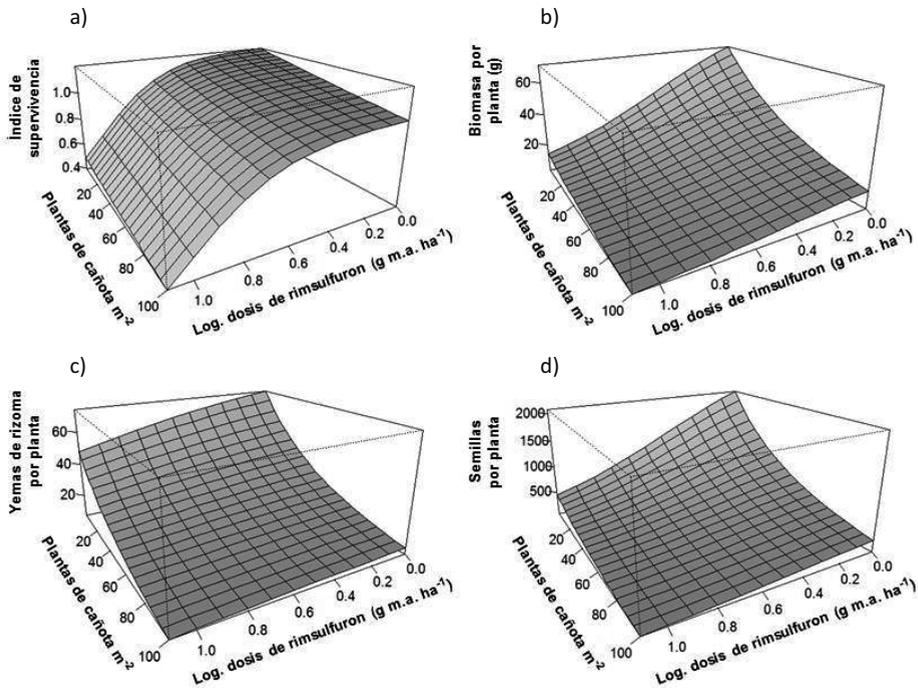


Figura 1. Efecto de la dosis de rimsulfuron y de la densidad de cañota sobre: **a)** el índice de supervivencia de la especie, **b)** la biomasa por planta, **c)** el número de yemas de rizoma por planta y **d)** el número de semillas por planta.

El número de semillas por planta, yemas de rizoma por planta y biomasa por planta no fueron diferentes con el año pero sí con la dosis de rimsulfuron y la densidad de cañota, decreciendo cuando la dosis de rimsulfuron y la densidad de cañota aumentaban (Fig. 1b, 1c y 1d). El número

de semillas por planta y la biomasa por planta fueron los dos procesos demográficos más afectados por la dosis de rimsulfuron, mientras que la supervivencia final de la planta y el número de yemas de rizoma por planta mostraron menores efectos al tratamiento con rimsulfuron. El número de semillas por planta se redujo un 37,8%, 61,2% y 78,6% con dosis 0,25, 0,5 y 1X, respectivamente. Sin embargo, de acuerdo a nuestras estimaciones, hubiera sido necesario el doble de la dosis completa para reducir a la mitad la cantidad de yemas de rizoma por planta. Si bien el rimsulfuron parece tener un efecto mayor sobre el número de semillas que sobre el número de yemas de rizoma, la densidad de planta influyó de forma similar en ambos procesos, al igual que en el desarrollo de biomasa, observándose una rápida disminución en la producción de semillas, rizomas y biomasa según aumentaba la densidad de esta mala hierba (Fig. 1b, 1c, 1d). El número de yemas por planta, sin dosis de herbicida, disminuyó desde 73 para una densidad de 5 plantas  $m^{-2}$  hasta 10 para una densidad de 100 plantas  $m^{-2}$  (Fig. 1c).

Un tratamiento herbicida se considera efectivo no sólo cuando es capaz de prevenir pérdidas de rendimiento importantes, sino cuando además ayuda a disminuir la infestación en los años siguientes. En nuestra evaluación de la infestación de cañota realizada durante la campaña siguiente, cuyos resultados no fueron diferentes en ambos años, observamos una mayor tasa de crecimiento poblacional ( $\lambda$ = relación entre la densidad de cañota en un año y la densidad de cañota en el año anterior) cuando en la campaña anterior se reducía la dosis de rimsulfuron aplicada y, también, cuando disminuía la densidad de cañota, siendo el efecto de la densidad más marcado que el del herbicida (Fig. 2a). Por ejemplo, la tasa de crecimiento poblacional fue un 95% superior en las parcelas experimentales con densidad previa de 5 plantas  $m^{-2}$  respecto a las parcelas con una densidad previa de 100 plantas  $m^{-2}$ . En cambio, la tasa de crecimiento poblacional sólo fue un 75% superior en las parcelas con dosis cero de rimsulfuron respecto a las parcelas donde se aplicó la dosis completa de herbicida. Considerando la interacción entre las dos variables, observamos que la dosis completa de herbicida logró disminuir la densidad de infestación ( $\lambda < 1$ ) en la siguiente campaña cuando la infestación de cañota procedente del primer año fue mayor de 30 plantas  $m^{-2}$ .

**3.2. Rendimiento de maíz.** La dosis completa de rimsulfuron fue la única que incrementó de forma significativa el rendimiento de maíz con respecto a las parcelas sin tratamiento herbicida. Sin embargo, aunque ésta dosis aumentó el rendimiento un 145% de media con respecto a las parcelas sin tratamiento herbicida, no pudo evitar pérdidas medias de rendimiento de 6,5% con respecto al control donde el maíz crecía libre de cañota (Fig. 2b). Las pérdidas medias de rendimiento con dosis 0,5 y 0,25 fueron de 17,3% y 24,8%, respectivamente. La densidad de cañota, al igual que la dosis de rimsulfuron también tuvo un efecto muy importante en el rendimiento. En las parcelas sin tratar, densidades de 100 plantas  $m^{-2}$  produjeron una disminución del rendimiento de un 48%. Las dosis reducidas de rimsulfuron produjeron menor control de cañota y no evitaron una disminución inaceptable del rendimiento de maíz.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Esta investigación se realizó gracias a la financiación concedida a Judit Barroso con un contrato JAEDoc (CSIC) y una beca Fulbright (Gobierno de España) y gracias al proyecto AGL 2008-04670-C03 (CICYT).

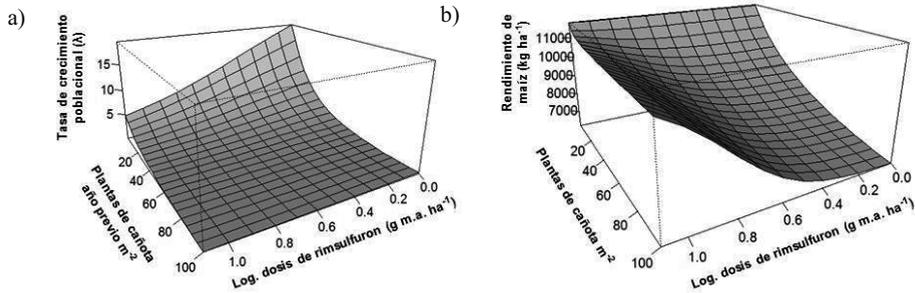


Figura 2. Efecto de la dosis de rimsulfuron y de la densidad de cañola sobre a) la tasa de crecimiento poblacional y b) el rendimiento de maíz.

## 5. REFERENCIAS

- Andújar D, Ruiz D, Ribeiro A, Fernández-Quintanilla C and Dorado J (2011). Spatial distribution patterns of johnsongrass (*Sorghum halepense*) in corn fields in Spain. *Weed Science*, 59, 82-89.
- Baghestani MA, Zand E, Soufizadeh S, Eskandari A, PouAzar R, Veysi M and Nassirzadeh N (2007). Efficacy evaluation of some dual purpose herbicides to control weeds in maize (*Zea mays* L.). *Crop Protection*, 26, 936-942.
- Cousens R (1985). A simple model relating yield loss to weed density. *Annals of Applied Biology*, 107, 239-252.
- Damalas CA & Eleftherohorinos IG (2001). Dicamba and Atrazine antagonism on sulfonylureas herbicides used for Johnsongrass (*Sorghum halepense*) control in corn (*Zea mays*). *Weed Technology*, 15, 62-67.
- Liebman M, Gibson LR, Sundberg DN, Heggenstaller AH, Westerman PR, Chase CA, Hartzler RG, Menalled FD, Davis AS, and Dixon PM (2008). Agronomic and economic performance characteristics of conventional and low-external-input cropping systems in the central corn belt. *Agronomy Journal*, 100, 600-610.
- Lindquist JL, Maxwell BD, Buhler DD and Gunsolus JL (1995). Modeling the population dynamics and economics of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) control in corn (*Zea mays*)-soybean (*Glycine max*) rotation. *Weed Science*, 43, 269-275.
- Lutman PJW & Miller PCH (2007). Spatially variable herbicide application technology; opportunities for herbicide minimization and protection of beneficial weeds. *Research Review* No. 62, ([http://www.hgca.com/document.aspx?fn=load&media\\_id=3469&publicationId=3824](http://www.hgca.com/document.aspx?fn=load&media_id=3469&publicationId=3824)).
- Pannacci E & Covarelli G (2009). Efficacy of mesotrione used at reduced doses for post-emergence weed control in maize (*Zea mays* L.). *Crop Protection*, 28, 57-61.
- R Development Core Team (2005). R: A language and environment for statistical computing, reference index version 2.2.1. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Streibig JC, Rudemo M and Jensen JE (1993). Dose-response curves and statistical models. In JC Streibig and P Kudsk, eds. *Herbicide Bioassay*. pp 29-55. CRC Press, Boca Raton.

Summary: *Effect of rimsulfuron dose and infestation density on Sorghum halepense populations in maize.* In order to assess the potential short and long-term effects of site-specific management with variable herbicide rate, the major demographic processes of S. halepense were quantified in relation to its density and a specific herbicide for this weed. In this study, various doses of rimsulfuron (0 to the recommended dose by the product label) were applied to different densities of S. halepense (0 to 100 plants m<sup>-2</sup>). In this study, higher herbicide efficacy was not observed at low densities, suggesting that the same rimsulfuron dose should be applied regardless of the S. halepense density. The highest percentage of control was obtained with the full rimsulfuron dose. However, it did not guarantee a decrease of the infestation in the following season in the field areas where the initial S. halepense density was lower than 30 plants m<sup>-2</sup>.

Keywords: Johnsongrass, weed density, variable herbicide dose, percentage of control.

**Control mecánico mediante un sistema de ajuste automático basado en mediciones ultrasónicas**

V. Rueda-Ayala\*, D. Andújar\*, G. Peteinatos\*, M. Weis\*, R. Gerhards\*.

\*University of Hohenheim, Institute of Phytomedicine, Section Weed Science (360b), Otto-Sander-Straße 5, 70593 Stuttgart, Alemania, Victor.Rueda.Ayala@uni-hohenheim.de

***Resumen:** Este trabajo muestra un nuevo sistema de control de malezas que combina ultrasonidos para medidas de altura con un sistema de ajuste de la intensidad de cultivo. En general, una intensidad constante se aplica a todo el terreno, lo que puede producir variaciones en el control e indeseables daños al cultivo. La intensidad incrementa al reducir el ángulo de las púas en relación perpendicular con la superficie del suelo. La decisión sobre la intensidad adecuada se basa en el estado de desarrollo del cultivo, la densidad de malezas y las características de densidad del suelo. Este sistema autónomo pretende identificar malezas en tiempo real y aplicar el correspondiente tratamiento en una misma operación, mejorando la eficiencia de control y reduciendo los daños al cultivo y el consumo de combustible.*

***Palabras clave:** lógica difusa, identificación de malas hierbas, intensidad de cultivo, control en sitio específico.*

## **1. INTRODUCCIÓN**

La grada de púas flexibles se usa a menudo en cereales y leguminosas para controlar efectivamente malas hierbas dicotiledóneas y en menor grado las monocotiledóneas (Rasmussen et al., 2010). Este método no es selectivo y generalmente es menos eficaz que los herbicidas (Rueda-Ayala, 2012). En la práctica, la grada de púas se usa con una intensidad constante sobre todo el campo. El desarrollo del cultivo, la infestación de malas hierbas o una superficie dura o ligera del suelo, afectan la eficacia de la grada de púas, provocando daños al cultivo o un control irregular (Søgaard, 1998; Rueda-Ayala, 2012). La variabilidad estas condiciones deben ser tomadas en cuenta para decidir la intensidad de cultivo acorde con los requerimientos del área a cultivarse.

En los últimos 15 años, se ha intentado hacer un ajuste automatizado de la intensidad de la grada de púas (Søgaard, 1999; Rueda-Ayala, 2012). Para esto se tomaron en cuenta variaciones descritas anteriormente. El estudio aquí propuesto se basa en un sistema difuso de inferencia (SDI) previamente elaborado, que usa variables lingüísticas de las condiciones medidas en el complejo suelo-planta para controlar automáticamente la intensidad de cultivo de la grada de púas (Rueda-Ayala, 2012). La lógica difusa permite implementar razonamiento humano en la tecnología computacional, a través de una interface entre espacios simbólicos y numéricos (Zadeh, 1965).

Andújar et al. (2011), demostró la posibilidad de identificar diferentes densidades de maleza con sensores de ultrasonido. En este estudio, sensores de ultrasonido fueron montados en el apero, para medir densidades de maleza en-línea y así, ajustar la intensidad de tratamiento en tiempo real. Los objetivos de esta investigación son: (i) insertar dentro del SDI diferentes

densidades de malas hierbas medidas con el ultrasonido como nuevo input del sistema desarrollado anteriormente y (ii) poner a prueba el sistema con datos de previos experimentos y un experimento de campo en trigo (*Triticum aestivum* L.).

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Para cumplir con los objetivos, se modificó el método basado en toma de decisiones, previamente elaborado para un prototipo de ajuste automático de intensidad (Rueda-Ayala, 2012).

### 2.1. Sensores utilizados

El sensor electrónico Tedeo-Huntleigh's model 615 S-type (Tedeo-Huntleigh GmbH, Germany), se usó para medir la resistencia o fuerza de tiro del suelo. Esta fuerza es la resistencia que el suelo opone para ser cultivado con la grada. Un sistema difuso de inferencia (SDI) permitió controlar el apero para forzar un ángulo adecuado de las púas y aplicar un tratamiento adecuado a la variabilidad medida en el campo. Los actuadores responden al SDI cambiando el ángulo de las púas en tiempo real para cultivar el suelo más agresivamente a mayor densidad de malas hierbas y fuerza de tiro de suelo o viceversa a menores densidades.

En este estudio se usó un sensor de ultrasonido Pepperl+Fuchs UC2000-30GM-IUR2-V15, que apuntaba directa y verticalmente hacia el suelo (Andújar et al., 2012). El sensor emite un sonido en una dirección única y basado en el principio físico del tiempo de vuelo, se calcula una distancia de acuerdo a la ecuación (1)

$$d(m) = 7.0275 v + 29.658 \quad (1)$$

donde  $d$  es la distancia estimada relacionada con la biomasa ( $m$ ), que tiene una tendencia lineal con  $v$ , la cual, es la señal salida del sensor que varía de 0 a 10 V. La onda sonora vuela en el aire y retorna al receptor, después de impactar un objeto en un intervalo de tiempo. El sensor almacena el intervalo de tiempo y lo transforma en voltaje, de acuerdo a la velocidad del sonido. Este voltaje es digitalizado para entrar en el sistema, basado en resultados del ultrasonido sobre la densidad de macollos y el índice de área foliar (LAI), puede ser estimado y correlacionado con la biomasa.

### 2.2. Sistema difuso de inferencia para control de intensidad del apero

El sistema constó de variables de entrada, un sistema de decisión y una variable de salida: intensidad. Tres variables lingüísticas de entrada: cobertura de cultivo y malas hierbas, densidad de malas hierbas y fuerza de tiro del suelo, se usaron como se describe a continuación. Estos conceptos entran en un proceso de difuminación para generar juegos difusos con un grado de pertenencia continuo, a través de funciones de membresía (Sivanandam et al., 2007). Se definieron funciones de membresía para las variables cobertura de cultivo y malas hierbas ( $I_{LC}$ ), densidad de malas hierbas ( $I_{WD}$ ) y fuerza de tiro del suelo ( $I_{SD}$ ) (Tabla 1). En este estudio, el juego de membresía de densidad de malas hierbas fue construido con datos que representaron biomasa de maleza, medidos con el ultrasonido (Andújar et al., 2012). Por tanto, con los datos del ultrasonido se establecieron las funciones de membresía de  $I_{WD}$  (Figura 1). La intensidad de cultivo de la grada constituyó la salida del sistema, cuyas funciones de membresía son las mismas establecidas previamente en Rueda-Ayala (2012): ninguna, ligera, media, fuerte y muy fuerte.

Todos los juegos de membresía  $I_{LC}$ ,  $I_{WD}$ , y  $I_{SD}$  fueron difuminados en un grado de adaptaciones lingüísticas y combinados mediante reglas simples para inferir la intensidad de cultivo. Estas reglas tiene una estructura condicional donde una ‘proposición antecedente’ SI produce una ‘proposición consecuente’ ENTONCES. Treinta y seis reglas se formularon para controlar la intensidad, usando relaciones Boolean (no mostradas, detalladas en Rueda-Ayala, 2012). Para constatar la precisión de inferencia de intensidad del SDI, se contrastaron datos experimentales descritos en Rueda-Ayala (2012), con datos del ultrasonido que determinaron la densidad de malas hierbas. Esto fue factible porque existían datos de biomasa (cultivo y malas hierbas) que pudieron ser correlacionados con los voltajes emitidos por el ultrasonido (Andújar et al., 2012). Las intensidades resultantes se introdujeron en el software libre de sistema de información geográfica OpenJUMP –OpenJUMP Pirol Edition [GNU Public License], para elaborar planes de aplicación.

### 3. RESULTADOS

Asumiendo que las densidades de maleza pueden ser bastante bien identificadas por los ultrasonidos, fue posible modificar el SDI para control de la intensidad de cultivo de una grada de púas. En la Tabla 2 se presentan los datos de cobertura vegetal del cultivo, densidades de maleza y resistencia del suelo medidos antes de cultivar el suelo con la grada. La cobertura vegetal se mantuvo en un promedio de 12%, lo que indica que el cultivo se había desarrollado uniformemente en todo el campo. La fuerza de tiro del suelo fue también similar en todo el campo, con un promedio de 94 Newton, lo que indica que el suelo no presentaba una alta resistencia a ser cultivado. La variable más heterogénea fue densidad de malas hierbas, fluctuando entre un mínimo de 16 y un máximo de 50 plantas por  $m^2$ , aún dentro de una cuadrícula de 6 x 6 m. Esto conllevaría a establecer que la densidad de malas hierbas es la variable más influyente para tomar decisiones sobre la intensidad de cultivo. Debido a que las reglas cambiaron solamente en la forma de la variable, las intensidades inferidas por el SDI en Rueda-Ayala (2012) fueron las mismas para el presente estudio. Sin embargo, las intensidades en este estudio fueron diseñadas para corresponder la variabilidad del complejo suelo-planta, pero principalmente tomando en cuenta la densidad de malas hierbas. Con esto se esperaría un menor impacto en el cultivo y mayor control de mala hierba.

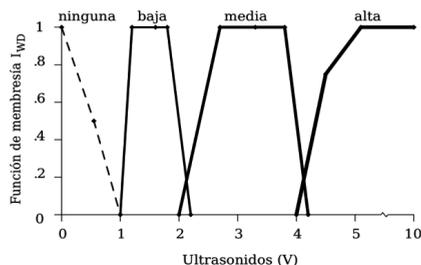


Figura 1: Funciones de membresía de la variable densidad de maleza  $I_{WD}$ , establecida en datos de biomasa medidos con el sensor de ultrasonido (V).

Tabla 1: Rangos de cobertura de cultivo y malas hierbas, densidad de malas hierbas y fuerza de tiro del suelo usados para establecer funciones de membresía de las variables de entrada correspondientes ( $I_{LC}$ ,  $I_{WD}$  y  $I_{SD}$ ) para el sistema difuso de inferencia de la intensidad de cultivo, basado en Rueda-Ayala (2012). Los datos del sensor de ultrasonido fueron incluidos basados en Andújar et al. (2012).

| Función de membresía | Variables de entrada |                            |          |          |
|----------------------|----------------------|----------------------------|----------|----------|
|                      | $I_{LC}$             | $I_{WD}$                   | $I_{SD}$ |          |
|                      | (%)                  | (plantas m <sup>-2</sup> ) | (V)      | (Newton) |
| Ninguna              | –                    | 0–15                       | ≤1       | –        |
| baja                 | 0–10                 | 16–42                      | 1.1–2.2  | 0–18     |
| media                | 7–22                 | 40–63                      | 2–4.2    | 8–28     |
| alta                 | >20                  | >60                        | >4       | > 30     |

Tabla 2: Valores de cobertura de cultivo y malas hierbas ( $I_{LC}$ ), densidad de malas hierbas ( $I_{WD}$ ) y fuerza de tiro del suelo ( $I_{SD}$ ) antes del tratamiento para la simulación de intensidad ( $O_{HI}$ ) con el sensor ultrasónico comparado con intensidades constantes.

| Subplot<br>6×6m en 80m<br>plot | Evaluación antes del tratamiento |              |  | ultrasonido | Intensidad de tratamiento |            |
|--------------------------------|----------------------------------|--------------|--|-------------|---------------------------|------------|
|                                | $I_{LC}$ (%)                     | $I_{SD}$ (N) | $I_{WD}$<br>(plantas m <sup>-2</sup> ) | (V)         | $O_{HI}$                  | Aplicado   |
| 1                              | 13.27                            | 99.36        | 24                                     | 1.5         | Fuerte                    | Muy fuerte |
| 2                              | 11.34                            | 91.64        | 16                                     | 0.86        | Ligera                    | Muy fuerte |
| 3                              | 12.81                            | 94.63        | 16                                     | 0.86        | Ligera                    | Muy fuerte |
| 4                              | 10.69                            | 95.27        | 26                                     | 1.66        | Media                     | Muy fuerte |
| 5                              | 9.94                             | 99.88        | 21                                     | 1.26        | Media                     | Media      |
| 6                              | 12.92                            | 96.22        | 27                                     | 1.74        | Media                     | Media      |
| 7                              | 13.01                            | 97.12        | 40                                     | 2.78        | Muy fuerte                | Fuerte     |
| 8                              | 14.51                            | 92.96        | 28                                     | 1.82        | Media                     | Media      |
| 9                              | 13.34                            | 88.05        | 50                                     | 3.58        | Muy fuerte                | Media      |
| 10                             | 12.82                            | 90.65        | 17                                     | 0.94        | Ligera                    | Media      |
| 11                             | 12.33                            | 91.33        | 17                                     | 0.94        | Ligera                    | Media      |
| 12                             | 9.76                             | 93.30        | 28                                     | 1.82        | Fuerte                    | Media      |

#### 4. DISCUSIÓN

Los avances tecnológicos, i.e. sensores ópticos y análisis de imágenes para identificar malas hierbas en el campo (Weis, 2010), han mostrado resultados prometedores en sistemas para reconocimiento en línea y que pueden ser incluidos en sistemas de control mecánico de malas hierbas para manejo localizado. De este modo, el prototipo para control de malas hierbas con la grada de púas está basado en análisis de imágenes diferenciales, pero aún en un modo desconectado (Rueda-Ayala, 2012). Para lograr un sistema en tiempo real y en línea, se añadieron sensores de ultrasonidos, los cuales toman medidas de voltaje que pudieron ser enviadas directamente a ser computadas y así el actuador pueda cambiar el ángulo de las púas, de acuerdo

a las necesidades del campo, reduciendo así también los costos y el tiempo de computación. Aunque, los sensores de ultrasonido no pueden distinguir entre especies de malas hierbas, esto es irrelevante para el sistema propuesto, ya que el control de malas hierbas con la grada de púas se aplica a todo el campo (cultivo y malas hierbas). Por esto, los sensores de ultrasonido son una alternativa viable y de bajo costo, para obtener un sistema automático en línea de control mecánico de malas hierbas.

## 5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Fundación Alfonso Martín Escudero.

## 6. REFERENCIAS

- Andújar, D., A. Escolà, J. Dorado and C. Fernández-Quintanilla. 2011. Weed discrimination using ultrasonic sensors. *Weed Research* 51(6), 543–547.
- Andújar, D., Weis, M. and Gerhards, R. 2012. An ultrasonic system for weed detection in cereal crops. *Sensors*, 12, 17343-17357
- Cirujeda, A., B. Melander, K. Rasmussen and I. A. Rasmussen. 2003. Relationship between speed, soil movement into the cereal row and intra-row weed control efficacy by weed harrowing. *Weed Research* 43(4),285–296.
- Rasmussen, J., H. Mathiasen and B. M. Bibby. 2010. Timing of post-emergence weed harrowing. *Weed Research* 50(5), 436–446.
- Rueda-Ayala, V. P. 2012. Development of an automated sensor based system for weed harrowing in cereals. Ph.D. thesis, Institute for Phytomedicine, Department of Weed Science, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.
- Sivanandam, S., S. Sumathi and S. Deepa. 2007. Introduction to Fuzzy Logic using MATLAB. Springer Berlin Heidelberg, 1-441 pp.
- Søgaard, H. T. 1998. Automatic Control of a Finger Weeder with Respect to the Harrowing Intensity at Varying Soil Structures. *Journal of Agricultural Engineering Research* 70(2),157–163.
- Weis, M. 2010. An image analysis and classification system for automatic weed species identification in different crops for precision weed management. Ph.D. thesis, Institute for Phytomedicine, Department of Weed Science, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.
- Zadeh, L. 1965. Fuzzy sets. *Information and Control* 8(3):338 – 353.

**Summary:** *Automatic adjustment of a flexible tine harrow using ultrasonic sensors.* This study introduces a new weed harrowing system that combines ultrasonic sensors for weed density identification and a decision method for automatic adjustment of the harrowing intensity. The greatest challenge for weed control with the flexible tine harrow is to achieve a high degree of weed control without damaging the crop. Generally, the intensity is kept constant across the whole field, which may result in uneven weed control and crop damage. The proposed harrowing system changes the tine angle to generate a progressively more aggressive treatment. The decision system is based on assessments of the crop growth stage, weed density and soil draught force. This system attempts weed density identification in real-time, in order to apply a harrowing treatment in one operation. This system is proposed as a low budget technology to improve weed control efficiency and to reduce crop damage and fuel consumption.

**Keywords:** fuzzy logic, weed identification, harrowing intensity, site-specific weed control.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

## Una plataforma multisensorial para la detección de malas hierbas

D. Andújar\*<sup>a</sup>, M. Weis\*, G. Peteinatos\*, V. Rueda-Ayala\*, R. Gerhards\*

\*University of Hohenheim, Institute of Phytomedicine, Section Weed Science (360b), Otto-Sander-Straße 5, 70593 Stuttgart, Alemania, <sup>a</sup>[Andujar@uni-hohenheim.de](mailto:Andujar@uni-hohenheim.de)

*Resumen:* En este trabajo se presentan los últimos sistemas desarrollados en la Universidad de Hohenheim. Estos sensores fueron evaluados en el último workshop de la EWRS en el grupo de trabajo de Site Specific Weed Management, en Copenhague. Dos campos sembrados con cebada y girasol fueron tratados con herbicida a diferentes dosis para inducir varios efectos a detectar por los sensores. Durante la experimentación se utilizaron los siguientes sensores: LiDAR, espectrómetro, ultrasonidos, Weedseeker y GPS. El objetivo planteado de conseguir una plataforma única para medidas simultáneas con diferentes sensores. En segundo lugar, la fusión de los múltiples sensores permitió la estimación del estado de las plantas tras la aplicación de herbicida. Así, la combinación de sensores mejoró los procesos de detección y permitirá alcanzar niveles que con detección en solitario no serían posibles.

**Palabras clave:** LiDAR, espectrómetro, ultrasonidos, Weedseeker.

### 1. INTRODUCCIÓN

Desde la aparición de las primeras resistencias a herbicidas, la reducción de la cantidad de materias activas aplicadas se ha convertido en un reto para el manejo localizado de malas hierbas. El uso de técnicas de manejo localizado ha permitido una drástica reducción del uso de herbicidas, mejorando la seguridad alimentaria y manteniendo la calidad de las producciones. Diferentes tipos de sensores, tanto comerciales como experimentales, han sido propuestos en las últimas décadas para estimar el estado sanitario de las plantas y la actividad de las malas hierbas como factor clave para muchos campos de la agronomía, entre ellos el estudio de las malas hierbas. La utilización de estos sensores son la base del manejo localizado de malas hierbas, ya que permiten almacenar la información espacial sobre las variaciones que ocurren dentro de los campos de cultivo. Esta información puede ser tratada en forma de mapas o bien procesada on-line para la aplicación diferenciada de herbicidas o actuaciones de control mecánico con diferente intensidad de tratamiento. La toma de decisiones para las labores de control de malas hierbas necesita de la integración de la información presente en el campo y de unas reglas para la actuación, como por ejemplo, umbrales de densidad de malas hierbas y la cantidad de herbicidas en la mezcla a aplicar. Adicionalmente, la variabilidad dentro de los campos puede ser evaluada con sensores que serán el paso previo a la toma de decisiones. Sin embargo, cada sensor tiene una diferente forma de tomar y enviar la información, además de tener puntos fuertes y débiles, de este modo la combinación de diferentes sensores mejoraría el manejo de la variabilidad espacial presente en los cultivos. Este proceso es conocido como fusión sensorial. La fusión de sensores o datos provenientes de éstos ha sido discutida en diferentes escenarios como las propiedades edáficas (Adamchuk *et al*, 2011), o la fusión de algoritmos (Khaleghi *et al*, 2013). La fusión puede tener lugar a diferentes niveles, desde el propio sensor hasta el proceso de toma de decisiones. En este trabajo se presentan los últimos sistemas desarrollados en la Universidad de Hohenheim. Para ello, se incluye una combinación de diferentes sensores, desde sistemas ópticos hasta sensores económicos con baja resolución y sencillos

principios de funcionamiento. Se aplicarán dos conceptos diferentes, en primer lugar una fusión a nivel de software con múltiples sensores on-line, y en segundo lugar una fusión en post-proceso. El objetivo final se basa en la mejora del proceso de identificación de las características de la vegetación analizada.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. Diseño experimental

La toma de datos se realizó en dos campos sembrados con cebada (*Hordeum vulgare* L.) y girasol (*Helianthus annuus* L.) en la finca experimental Højbakkegård, Taastrup, Dinamarca (55° 40' N, 12° 18' E) en 2012. El experimento se basaba en un diseño Split plot con cinco densidades de siembra (Cebada: 0, 75, 150, 300 y 450 semillas m<sup>-2</sup>; girasol: 0, 20, 40, 80 y 120 semillas m<sup>-2</sup>) como subplots. Los plots y subplots estaban separados por bandas sin tratar. Los cultivos fueron tratados con un pulverizador logarítmico capaz de variar la dosis de herbicida aplicada. La aplicación de herbicidas se realizó el 18 de mayo con los cultivos en estado de crecimiento BBCH 20 (Hess *et al.*, 1997), utilizando glifosato (Glifosato 260, 4320 g ia ha<sup>-1</sup>), tribenuron (Express ST, 200 g tribenuron-methyl ia ha<sup>-1</sup>), diquat (Re-glone, 2000 g ia ha<sup>-1</sup>) y clomazona (Command, 432 g ia ha<sup>-1</sup>). El efecto de los herbicidas sobre el cultivo se analizó con los diferentes sensores objeto de estudio.

### 2.2. Plataforma de toma de datos

Todas las medidas se llevaron a cabo el mismo día y bajo las mismas condiciones de iluminación con objeto de buscar una comparación y una posible fusión sensorial. Durante la experimentación se utilizaron los siguientes sensores: LiDAR, espectrómetro, ultrasonidos, Weedseeker y GPS. El sistema LiDAR permite determinar la distancia desde un emisor láser a un objeto, para ello un rayo láser es dirigido por un espejo rotatorio en forma circular, determinando en este caso la altura de las plantas. Las distancias entre el láser y la cobertura vegetal son calculadas por la medición del tiempo de propagación del haz de luz. Para la toma de datos se utilizó un sensor LiDAR (LMS111, SICK AG, Alemania) que emitía pulsos de luz infrarroja (905nm) a una frecuencia de 50Hz, con un campo de visión máximo de 270°. Los datos de salida del sensor se basaron en un doble índice que combinaba alturas y valores de reflectividad.

El espectrómetro utilizado (HandySpec Field, Tec5, Alemania) dio valores discretos de medidas de reflexión para las longitudes de onda entre 360 y 1000 nm con un intervalo de 10 nm. Este sistema consta de dos sensores, uno capaz de medir la luz ambiental, tomada como referencia y otro que mide la reflexión de los objetos medidos. Se tomaron medidas discretas en cada uno de los subplots y en base a estos espectros se calcularon diferentes índices tales como NDVI (Normalized Difference Vegetation Index, en español, Índice de vegetación normalizada) o SAVI (Soil Adjusted Vegetation Index).

El sensor ultrasónico utilizado fue un equipo industrial Pepperl + Fuchs UC2000-30GM-IUR2-V1 (Mannheim, Alemania) que permitió escanear de manera continua la altura de las plantas, estimando su altura por el método de tiempo de vuelo, es decir, conocida la velocidad de transmisión del sonido, se determina el tiempo entre generación y recepción de la onda. El sensor se orientó hacia el suelo midiendo la distancia entre éste y el cultivo y malas hierbas por la diferencia de tiempo entre generación de la onda y su recepción. La frecuencia del transductor era aproximadamente de 180 kHz con una resolución de 0.48mm con un ángulo

de divergencia de 14°, localizado a 0.6 m de altura en la parte delantera del sensor. La relación de conversión entre el voltaje enviado por el sensor “ $v$ ” (variable entre 0 y 10 V) y la distancia “ $d$ ”(m) se obtuvo de la ecuación:  $d=0.066v+0.35$ .

Por otra parte se utilizó un sensor comercial, Weedseeker (Trimble Agriculture, Sunnyvale, CA, USA), que consta de iluminación activa y está dedicado especialmente al control de malas hierbas. Este equipo es capaz de discriminar las zonas con cobertura vegetal de aquellas con suelo desnudo debido a la diferencia de reflexión en el rojo e infrarrojo cercano. Para ello dispone de una fuente activa de luz infrarroja en una banda de  $0.34 \text{ m} \times 0.02 \text{ m}$  perpendicular a la dirección de desplazamiento. La calibración del sensor se realiza en un área desprovista de vegetación y fue calibrado para obtener un valor positivo con una cobertura superior al 15%. La detección de plantas suponía una salida de 5V, mientras que en las zonas con una cobertura inferior la salida era de 0V, obteniéndose un mapa binario en base a la detección de vegetación en el área evaluada.

Todas estas mediciones fueron almacenadas con valores asociados a coordenadas GPS tomadas con un equipo RTK (AgGPS542 Base/Rover combination, Trimble, Sunnyvale, CA, US) instalado en el tractor que portaba todos los sensores descritos.

### 2.3. Análisis de datos y fusión

La captura de datos se realizó a través de Robot Operating System (ROS) capaz de soportar el desarrollo de sistemas multi-sensores ya que posee las herramientas adecuadas de comunicación de componentes individuales. Puesto que la agricultura de precisión tiene características similares a la arquitectura de los robots integrando: navegación, sensores, sistemas de toma decisiones y análisis de los componentes, así como control, ROS proporciona una gran ventaja a la hora de integrar diferentes sensores en un único sistema.

La salida enviada por el sensor ultrasónico, así como por el Weedseeker se midieron y convirtieron a valores digitales a través de una tarjeta de adquisición de datos Labjack U12 (LabJack Corporation, Lakewood, CO, USA). A través de ROS se leyeron los valores digitales provenientes de la tarjeta de adquisición de datos pasando como mensajes al sistema. Cada uno de estos mensajes se almacenaron con un valor de tiempo asociado para todos los sensores.

En la etapa de postprocesado se añadieron las coordenadas UTM a cada uno de los valores tomados con los diferentes sensores, y se creó de una base de datos con componente espacial común para todos los sensores. Adicionalmente se incorporó al fichero el tipo de cultivo, densidad de cultivo, herbicida utilizado y dosis aplicada. De esta forma se obtuvo un fichero adecuado para el análisis de fusión sensorial.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La combinación del NDVI y alturas puede llevar a las siguientes afirmaciones: En primer lugar que el NDVI, relacionado con la biomasa y actividad fotosintética, está relacionado con la altura de planta, así como que aquellas aéreas más deprimidas o con menos actividad son correspondientes con zonas de suelo desnudo o baja altura de plantas. Este efecto se explica de modo que las plantas al incrementar su altura aumentan su actividad fotosintética, ya que el mayor estado de crecimiento favorece la absorción de luz. La combinación de NDVI medido con el espectrómetro y la altura medida con el LiDAR se muestra en la Figura 1. Así puede

observarse que aquellas áreas más deprimidas o con menor altura de planta muestran valores más elevados en el NDVI. Esta relación permite que a través de uno de los índices se pueda estimar el otro, o bien, aumentar las posibilidades de éxito en la toma de decisiones al utilizar información adicional proveniente de otro sensor.



Figura 1. Mapa correspondiente al índice NDVI y a la altura media de plantas medida con espectrómetro y LiDAR.

La combinación de las diferentes características puede verse en detalle en la Figura 2. El índice espectral SAVI se representa en relación con la dosis de herbicida presentando el efecto de curva dosis-respuesta típico para el glifosato, mientras que en las otras materias activas no se aprecia efecto en la lectura obtenida por el sensor.

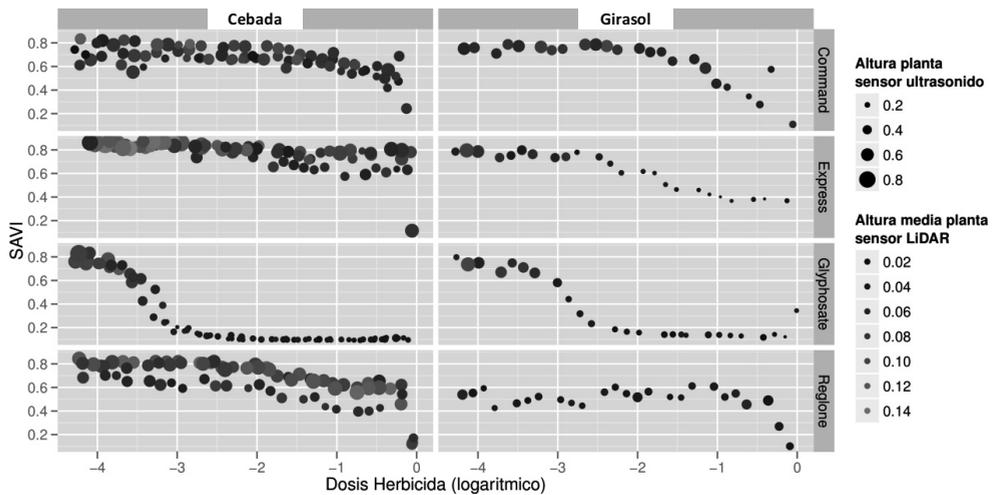


Figura 2. Efecto dosis respuesta en el índice SAVI. La altura de la planta medida con ultrasonidos se muestra en tamaño creciente de punto, un punto de mayor tamaño supone una mayor altura. De la misma forma, la altura de planta dada por el sensor LiDAR se muestra en degradación de color, con colores más claros para mayor altura de planta.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto ha sido financiado por la Fundación Alfonso Martín Escudero

#### 5. REFERENCIAS

- Adamchuk, V. I., Rossel, R. A. V., Sudduth, K. A. and Lammers, P. S. (2011). Sensor Fusion - Foundation and Applications. Sensor Fusion for Precision Agriculture, pp. 27–40. Intech, Rijeka, Croatia
- Hess, M., Barralis, G., Bleiholder, H., Buhr, L., Eggers, T., Hack, H. and Stauss, R. (1997). Use of the extended BBCH scale - general for the descriptions of the growth stages of monoand dicotyledonous weed species, *Weed Research* 37(6), 433–441.
- Khaleghi, B., Khamis, A., Karray, F. O. and Razavi, S. N. (2013). Multisensor data fusion: A review of the state-of-the-art. *Information Fusion*, 14(1), 28–44.

Summary: *The following approach presents the last developments carried out in the University of Hohenheim (Alemania). The sensors were tested during the last EWRS workshop of the working group Site Specific Weed Management in Copenhagen. This study combined four different sensors in a field trial with spring barley and sunflower. The field was treated with different doses of herbicides, inducing stress effect to be tested with the sensors. The following commercial sensors were used: LiDAR, spectrometer, ultrasonic device, and a commercial opto-electronic device (Weedseeker). A common platform was used for the measurements. Plant height was measured from the ultrasonic and LiDAR sensors and spectral indices were calculated from the spectrometer and the optoelectronic device. The platform allowed to take simultaneous measurements and the fusion of readings from multiple sensors permitted to improve the detection process.*

Keywords: LiDAR, spectrometer, ultrasonic, Weedseeker



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

## Diseño de mapas de tratamiento localizado en cultivos de trigo a escala comarcal mediante imágenes remotas

A. I. de Castro Megías\*<sup>a</sup>, F. López Granados\*, M. Jurado Expósito\*

\*Instituto de Agricultura Sostenible, IAS-CSIC, Apdo 4084, 14080-Córdoba,  
<sup>a</sup>[anadecastro@ias.csic.es](mailto:anadecastro@ias.csic.es)

*Resumen:* Se describen los estudios llevados a cabo para diseñar mapas de tratamiento localizado de malas hierbas crucíferas a escala comarcal en fase avanzada del cultivo, utilizando imágenes del satélite QuickBird. La metodología propuesta conlleva una segmentación de la escena completa para identificar y seleccionar todos los campos de trigo presentes, que posteriormente serán analizados y clasificados. Se utilizaron dos métodos de clasificación supervisada (índices de vegetación y máxima probabilidad). Finalmente, mediante el software SARI<sup>®</sup> se diseñaron los mapas de tratamiento localizado que permiten ajustar la dosis de herbicida en función de la localización y densidad de malas hierbas. Los resultados muestran que la elaboración de mapas de tratamiento localizado permitiría reducir la cantidad de herbicida en post-emergencia, con ahorros en torno al 61,31% para las zonas que no requieren tratamiento.

**Palabras clave:** crucíferas, índices de vegetación, máxima probabilidad, segmentación, SARI<sup>®</sup>, satélite QuickBird.

### 1. INTRODUCCIÓN

La elaboración de los mapas de tratamiento para el manejo localizado de malas hierbas ha sido un objetivo que se ha llevado a cabo mediante métodos de muestreo discretos, así como con técnicas de teledetección utilizando imágenes aéreas e incluso, imágenes de satélite (López-Granados *et al.*, 2006; Castillejo-González, 2010). La mayoría de los estudios se han realizando a escala parcela, es decir, en campos individuales, con superficies generalmente por debajo de 30 ha y varios autores han sugerido la necesidad de desarrollar mapas de tratamiento herbicida a mayor escala, como p. ej. a escala comarcal. Ello implicaría un mayor número de campos, permitiría una gestión integral de mayor superficie agrícola y abaratamiento de los costes, ofreciendo soluciones reales a los agricultores (López-Granados, 2011).

Las malas hierbas crucíferas, principalmente *Diploaxis* spp. (generalmente *D. virgata* Cav. DC. y *D. muralis* L. DC.) y *Sinapis* spp. (generalmente *S. arvensis* L. y *S. alba* L.) infestan con frecuencia los cultivos de invierno, son especies muy competitivas que producen elevadas pérdidas en cultivos como trigo (Beres *et al.*, 2010), persistiendo los rodales en años posteriores e infestando cualquiera de los cultivos incluidos en la rotación. Las graves infestaciones de crucíferas son generalmente debidas a que los herbicidas utilizados en pre-siembra y pre-emergencia no realizan un adecuado control estas malas hierbas. En post-emergencia, existen en el mercado herbicidas para cereales, aunque no para leguminosas, teniendo que recurrir en estos cultivos a la escarda o eliminación manual. En trabajos anteriores (De Castro *et al.*, 2011) se ha constatado la posibilidad de discriminar y mapear rodales de malas hierbas crucíferas (*Sinapis* spp. y *Diploaxis* spp.) en fase tardía del cultivo de trigo utilizando imágenes de alta resolución espacial provenientes del satélite QuickBird. Como continuación de dichos estudios, en esta comunicación se presentan los estudios desarrollados tanto a escala parcela como a escala comarcal, para el diseño de mapas de

tratamientos localizado en cultivos de trigo en condiciones de post-emergencia para ser utilizados en la misma campaña y/o de pre-emergencia en sucesivos años.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. *Área de estudio y toma de la imagen de satélite.* El estudio se llevó a cabo en primavera, en un área de unos 105 km<sup>2</sup> de la zona de la campiña de Córdoba, con predominio de campos de trigo con alta infestación natural de malas hierbas crucíferas (*Diplotaxis* spp. y *Sinapis* spp). Se adquirió una imagen multiespectral (Azul, A: 450-520 nm; Verde, V: 520-600 nm; Rojo, R: 630-690; NIR: 760-900 nm) del satélite QuickBird (Figura 1a) con una resolución espacial de 2,4 m. La zona de estudio fue muestreada para determinar los principales usos de suelo presentes en la escena y en el momento de la toma de la imagen. Durante los muestreos se georreferenciaron con DGPS puntos de entrenamiento y datos verdad-terreno de rodales de crucíferas y de zonas de cultivo libres de infestación, necesarios para los procesos de análisis de la imagen y validación de las clasificaciones. En ese momento, el trigo mostraba el color verde típico de la etapa de crecimiento vegetativo y las crucíferas un intenso color amarillo correspondiente a la etapa de floración.

2.2. *Pre-procesamiento: Segmentación de la imagen de satélite.* Como paso previo a la clasificación, la escena completa de la imagen QuickBird fue segmentada para identificar los campos de trigo presentes en la misma y eliminar el resto de los usos( olivar, cultivos herbáceos, suelo urbano y carreteras). Se utilizó el algoritmo de *Segmentación Multirresolución* (software Definiens Developer) basado en regiones de crecimiento con agrupación ascendente, que no precisan conocimiento previo por parte del usuario de las regiones presentes en la imagen, de forma que ésta se segmenta en regiones homogéneas de acuerdo con diversos parámetros, como escala, color, forma, suavidad y compacidad, definidos por el operador. Como resultado de este proceso se obtuvo una nueva imagen (Figura 1b), denominada *QuickBird-segmentada*, en la que se puede observar la distribución de las diferentes parcelas. A continuación, los diferentes usos de suelo presentes en esta imagen fueron identificados en función de los valores de NDVI (índice de vegetación normalizado [ $NDVI = (NIR-R)/(NIR+R)$ ]), seleccionándose únicamente los campos de trigo por un proceso de eliminación de los otros usos de suelo. La exactitud de este proceso se midió comparando la coincidencia entre los resultados del proceso de extracción y los campos de trigo reales muestreados junto con la información del catastro. Este procedimiento generó una nueva imagen denominada *QuickBird-trigo* (Figura 1b), que recoge la distribución espacial de todos los campos de trigo presentes en la escena. Esta nueva imagen delimitó un total de 263 campos de trigo, que representan una superficie total de 2.656 ha (aproximadamente 26,6 km<sup>2</sup>, es decir, un 26% del área total capturada en la imagen QuickBird) sobre la que se realizó el análisis a escala comarcal. Para el estudio a escala parcela, se seleccionaron y extrajeron de la imagen QuickBird-trigo 6 campos infestados de forma natural por crucíferas, con superficies comprendidas entre 3 y 52 ha.

2.3. *Diseño de mapas de tratamiento localizado.* Se evaluaron dos métodos de clasificación supervisada: *Índices de Vegetación* y *Máxima Probabilidad*. Cada uno de estos métodos fue evaluado a través de la Matriz de Confusión, calculando los estadísticos de validación: fiabilidad global del mapa (FG) y precisión del usuario (PU) para cada uno de los campos de trigo seleccionados y para el conjunto de la imagen. En cada caso se seleccionó el mejor método de clasificación para elaborar el mapa de infestación. El software ENVI 4.6 se utilizó para procesar y analizar la imagen, así como para crear los mapas clasificados.

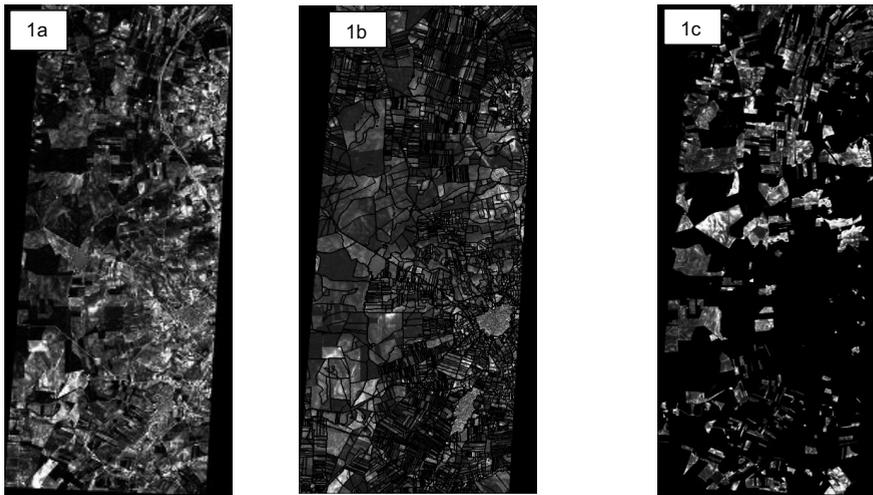


Figura 1. a) Imagen QuickBird original; b) Imagen QuickBird segmentada y c) Imagen QuickBird – trigo, formada sólo por campos de trigo.

Estos mapas de clasificación (mapas de infestación) por sí solos no permiten diseñar estrategias de manejo, ya que requieren un proceso posterior para la elaboración de mapas de tratamiento localizado que permitan ajustar la aplicación del herbicida. En este trabajo, los mapas se diseñaron en función de la localización y densidad de las malas hierbas, de la unidad de tratamiento (entendida como el tamaño de la zona a tratar), del tamaño y características propias de la maquinaria y del grado de persistencia de la especie. Se utilizó el software SARI<sup>®</sup> (*Sectioning and Assessment of Remote Images*) (Gómez-Candón *et al.*, 2012), que está concebido para el manejo de imágenes remotas en aplicaciones de agricultura de precisión y permite crear mapas de tratamiento localizado de malas hierbas. SARI<sup>®</sup> divide la imagen en una malla rectangular, donde cada cuadrícula es una unidad de tratamiento, cuya dosis será fijada en función de la densidad de mala hierba dentro de la misma. El tamaño de la cuadrícula se estableció en 6 x 6 píxeles, aprox. 15 x 15 m, correspondientes al tamaño de la maquinaria de tratamiento existente en la zona donde se ha llevado a cabo el estudio. Cada una de las cuadrículas fue clasificada en función del porcentaje de píxeles infestados, estableciéndose tres niveles: 1) baja infestación (< 25 % píxeles infestados, correspondiente a zonas que no requieren tratamiento herbicida); 2) infestación media (25–50 % píxeles infestados, correspondiente a zonas a tratar con dosis reducida) y 3) alta infestación (> 50% píxeles infestados, correspondiente a zonas a tratar con dosis normal).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron que los rodales de crucíferas fueron eficientemente discriminados tanto a escala parcela, es decir en cada campo individual, como a escala comarcal, considerando la imagen de satélite completa. Los clasificadores más precisos fueron el índice Azul/Verde y el algoritmo de Máxima Probabilidad, tanto en campos individuales como en la imagen completa (Tabla 1). A escala comarcal, los resultados de las clasificaciones fueron ligeramente inferiores, atribuyéndose ese leve descenso a la alta variabilidad espectral de los diferentes campos de trigo repartidos por toda la imagen. De estos 263 campos, 184 estaban infestados por malas hierbas crucíferas.

Tabla 1. Estadísticos de clasificación y superficie ocupada por el cultivo de trigo y las malas hierbas crucíferas según métodos de clasificación en toda la imagen QuickBird-trigo (QB, escala comarcal) y en algunos campos individuales (escala parcela).

| Localización | Usos       | IV <sup>1</sup> | Separación de clases |                 |                   | Máxima Probabilidad |                 |       |
|--------------|------------|-----------------|----------------------|-----------------|-------------------|---------------------|-----------------|-------|
|              |            |                 | FG <sup>2</sup>      | PU <sup>3</sup> | Área <sup>4</sup> | FG <sup>2</sup>     | PU <sup>3</sup> | Área  |
| QB-trigo     | Crucíferas | A/V             | <b>89,45</b>         | 77,85           | 33,96             | <b>91,30</b>        | 84,81           | 38,69 |
|              | Trigo      |                 |                      | 92,62           | 57,63             |                     | 94,89           | 57,40 |
| Fernán Núñez | Crucíferas | A/V             | 92,98                | 82,11           | 23,03             | 95,68               | 84,81           | 29,91 |
|              | Trigo      |                 |                      | 95,29           | 66,56             |                     | 98,88           | 66,19 |
| La Hazuela   | Crucíferas | A/V             | 97,85                | 98,06           | 91,38             | 97,36               | 99,06           | 87,42 |
|              | Trigo      |                 |                      | 91,67           | 4,36              |                     | 71,43           | 12,37 |
| Los Molinos  | Crucíferas | R               | 93,33                | 75,00           | 7,58              | 93,33               | 75,00           | 5,30  |
|              | Trigo      |                 |                      | 94,37           | 68,94             |                     | 94,19           | 78,79 |
| Montalbán    | Crucíferas | V               | 94,54                | 91,97           | 36,73             | 95,56               | 87,63           | 40,95 |
|              | Trigo      |                 |                      | 95,15           | 58,32             |                     | 97,89           | 54,49 |

<sup>1</sup>Bandas e Índices de Vegetación: A, banda Azul; V, banda Verde; R, banda Roja; NIR, banda Infrarrojo-cercano; RVI = NIR / R; <sup>2</sup>FG: Fiabilidad Global del mapa (%); <sup>3</sup>PU: precisión del usuario.

<sup>4</sup>Área: % de superficie ocupada por trigo y rodales de crucíferas.

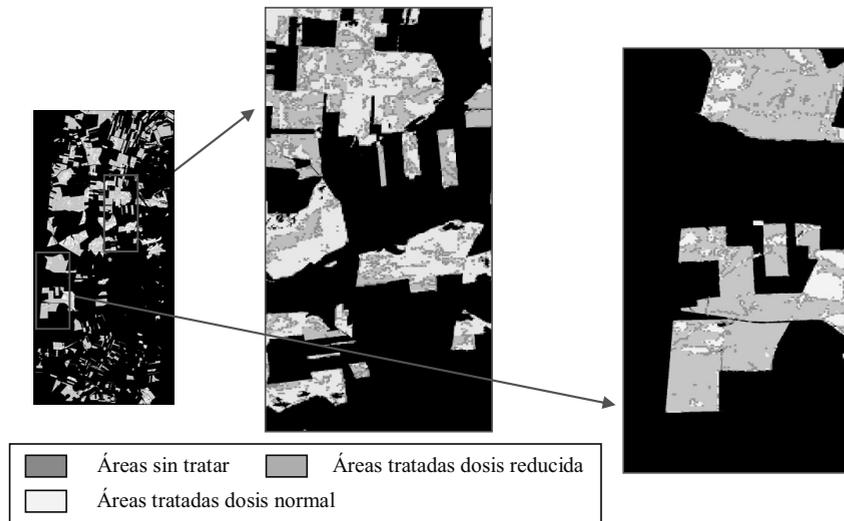


Figura 2. Detalle de mapas de tratamiento localizado en varias zonas de la imagen QuickBird-trigo.

En la Figura 2 se muestran detalles del mapa de tratamiento diseñado a escala comarcal a partir del mapa de infestación elaborado con el método de clasificación Máxima Probabilidad. Según los resultados obtenidos, un 61,31% (es decir: 1.628,96 ha) de la superficie total de los campos de trigo se clasificó como zona sin necesidad de tratamiento y, aunque un 39% (1.027,84 ha) del área total clasificada presentaba rodales de malas hierbas crucíferas, sólo el 26% de esta superficie (681,87 ha) debía ser tratada con dosis normales de herbicida, mientras que un 13% de la misma (345,97 ha) sería tratada a dosis reducidas por estar moderadamente infestada.

Los resultados muestran que la elaboración de mapas de tratamiento localizado con imágenes de satélite QuickBird en fase tardía del cultivo, tanto a escala parcela como a escala comarcal, permite extraer rápidamente información espacial de extensas superficies agrarias y diseñar diferentes estrategias de control de malas hierbas crucíferas consiguiendo reducir la cantidad de herbicida aplicado en la post-emergencia.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido parcialmente financiada por MICINN (AGL-2008-04670-CO3-03), MINECO (AGL-2011-30442-CO2-01) y fondos FEDER. El CSIC financió la beca JAEPre-doc de A.I. de Castro, dentro del programa “Junta para la Ampliación de Estudios”.

#### 5. REFERENCIAS

- Beres BL, Clayton GW, Harker KN, Stevenson FC, Blackshaw RE and Graft RJ (2010). A sustainable management package to improve winter wheat production and competition with weeds. *Agronomy Journal*, 102, 649-657.
- Castillejo-González IL (2010). Evaluación de métodos basados en píxeles y objetos para la clasificación de usos de suelo con imágenes de satélite QuickBird, para el seguimiento de medidas agroambientales y la optimización del uso de herbicidas con agricultura de precisión. Tesis Doctoral, Universidad de Córdoba, 198 pp.
- De Castro AI, Jurado-Expósito M, Peña-Barragán JM, García Torres L and López-Granados F (2009). Clasificación de *Diploaxis virgata* y *Sinapis arvensis* en trigo, habas y guisantes mediante imágenes aéreas. Proceedings of the XII Congresso SEMh/ XIX, XIX Congresso ALAM, II Congresso IBCM. Ed. by de Sousa, Calha IM, Moreira I. Rodrigues L. Portugal J. and Vasconcelos T, pp. 579-582. Lisboa, Portugal.
- Gómez-Candón D, López-Granados F, Caballero-Novella JJ, García-Ferrer A, Peña-Barragán, Jurado-Expósito M and García-Torres L (2012). Sectioning remote imagery for characterization of *Avena sterilis* infestation. Part A: weed abundance. *Precision Agriculture*, 13, 322-336.
- López-Granados F (2011). Weed detection for site-specific weed management: mapping and real time approaches. *Weed Research*, 51, 1-11.
- 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.

Summary: *Site-specific treatment maps in winter wheat crops at broad-scale using remote images. This research explores the use of multi-spectral high-spatial resolution QuickBird imagery to detect cruciferous weed patches in winter wheat fields and to develop in-season site-specific cruciferous treatment maps at broad-scale. The results show that there is a great*

*potential for reducing herbicide use through in-season cruciferous weed patch site-specific control at broad-scale.*

**Keywords:** cruciferous weeds, vegetation indices, maximum likelihood classifier, image segmentation, SARI®, QuickBird satellite.

## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Influencia de la competencia de *Datura ferox* y *Sorghum halepense* en el desarrollo del chopo como cultivo energético para biomasa**

C. San Martín <sup>a</sup>, J.M. Martín, D. Campos, P. Hernaiz, C. Fernández-Quintanilla, J. Dorado  
Instituto de Ciencias Agrarias (CSIC), Serrano 115B, 28006-Madrid,  
<sup>a</sup>[carolina.smh@ica.csic.es](mailto:carolina.smh@ica.csic.es)

*Resumen:* Se han llevado a cabo dos experimentos paralelos con *Datura ferox* y *Sorghum halepense* para evaluar la competencia entre estas malas hierbas de difícil control y un cultivo energético de chopo durante su primer periodo vegetativo. Los resultados han puesto de manifiesto la necesidad de controlar *D. ferox* antes del segundo mes tras la plantación, momento a partir del cual se produjo una reducción significativa e irreversible de la biomasa del chopo. En esta fecha, 8 plántulas de *D. ferox* en 1 m de línea de cultivo redujeron un 25% el rendimiento del chopo. En cuanto a *S. halepense*, datos preliminares del primer año de estudio han evidenciado el alto grado de competencia entre esta mala hierba y el cultivo, con una reducción media del rendimiento del 54,3% en las plantas situadas junto a los rodales de *S. halepense*.

**Palabras clave:** cultivos energéticos para biomasa, competencia, malas hierbas difícil control.

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la producción de energía a partir de cultivos dedicados a tal fin se plantea como una alternativa válida a los combustibles fósiles. Esta directriz se recoge en el Plan de Fomento de las Energías Renovables en España, el cual pretende diversificar las fuentes de energía y reducir las emisiones de CO<sub>2</sub> (BioPlat, 2013). Una de las especies más utilizadas para la obtención de energía es el chopo (*Populus* spp.) en rotaciones cortas y con alta densidad de planta, debido fundamentalmente al buen conocimiento del cultivo, su comportamiento y la existencia de amplias zonas en España adecuadas para su cultivo (Sixto *et al.*, 2007). No obstante, según estos autores existe aún la necesidad de mejorar las técnicas de cultivo para optimizar la producción sostenible de biomasa, especialmente el manejo de las malas hierbas. El control de malas hierbas en las etapas iniciales de los cultivos energéticos de chopo es esencial para evitar la competencia por la luz y el espacio, y así obtener un rendimiento óptimo o, incluso, permitir la supervivencia de la plantación (Buhler *et al.*, 1998). Otto *et al.* (2010) subrayan la importancia de un manejo intensivo de las malas hierbas durante el primer año del cultivo, haciendo hincapié en la necesidad de utilizar herbicidas para este fin. El problema es la escasa disponibilidad de herbicidas autorizados en cultivo de chopo. La estrategia de manejo utilizada de forma habitual se reduce al uso de una única materia activa, el oxifluorfen, aplicado en pre-emergencia buscando su efecto residual (Sixto *et al.*, 2007). Otro problema derivado del control químico sucede cuando el herbicida no elimina el 100% de los individuos, situación frecuente en malas hierbas de difícil control.

Existen pocos estudios que hayan abordado los efectos de la competencia con malas hierbas sobre el crecimiento del chopo para biomasa. Kabba *et al.* (2007), en un experimento llevado a cabo en macetas, observaron que la competencia con *Taraxacum officinale* Weber. y *Elytrigia repens* (L.) Desv. ex Nevski. por los nutrientes del suelo produjo una disminución significativa del crecimiento de las plantas de chopo. Existen también referencias sobre la gran sensibilidad del chopo a la competencia de malas hierbas durante su primer año después de la plantación, con descensos significativos tanto en el rendimiento de biomasa (Otto *et al.*,

2010) como en los indicadores dendrométricos del chopo, por ejemplo la altura de las plantas, el diámetro basal y la longitud de las ramas (Marino & Gross, 1998).

El objetivo de este estudio consistió en valorar la pérdida de rendimiento del cultivo de chopo durante el primer periodo vegetativo como consecuencia de la competencia de dos especies de difícil control: una anual, *Datura ferox* L., y otra perenne, *Sorghum halepense* (L.) Pers.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó durante 2012 en la finca experimental La Poveda (Arganda del Rey, Madrid), en dos parcelas con cultivo de chopo de alta densidad (0,5 m entre plantas; 3 m entre calles). El primer experimento, llevado a cabo en una parcela de 1.500 m<sup>2</sup> con una elevada infestación natural de *D. ferox*, consistió en 5 líneas de cultivo de 100 m de longitud subdivididas en secciones de 10 m de longitud. De este modo, en cada fecha de muestreo se tomaron 50 muestras coincidiendo con las 50 secciones en que se dividió la parcela experimental. Los puntos muestrales incluyeron 2 plantas de chopo en las 3 primeras fechas de muestreo (21 mayo; 11 junio; 16 julio) y 4 plantas de chopo en la fecha final (4 septiembre). Para estudiar la competencia entre *D. ferox* y chopo, se realizaron varias escardas manuales en la línea de cultivo en las que se eliminaron las restantes especies arvenses, dejando únicamente los individuos de *D. ferox* en los 25 cm laterales a la línea de cultivo. El control de malas hierbas en la calle se realizó con labores de cultivador, respetando los 25 cm laterales junto a la línea de cultivo. Los muestreos fueron destructivos, registrándose la densidad de plantas de *D. ferox*, así como la biomasa y altura tanto del chopo como de la mala hierba.

El segundo experimento se llevó a cabo en una parcela de 1.584 m<sup>2</sup> (8 líneas de cultivo de 66 m de longitud), con un diseño en bloques al azar con cuatro repeticiones. El control de las malas hierbas diferentes a *S. halepense* se llevó a cabo mediante un tratamiento herbicida con oxifluorfen tras la plantación de las estaquillas de chopo (23 abril). Además, cuando fue necesario, se realizaron labores con cultivador para mantener las calles libres de malas hierbas. En calles alternas dentro de cada bloque se implantaron 4 rodales de *S. halepense* de 2 m × 2 m, centrados en la calle (separados 0,5 m de la línea de cultivo). La evaluación de la mala hierba consistió en registrar la densidad de plantas y la biomasa de *S. halepense*, según una malla de 0,5 m × 0,5 m que dividía el rodal en 16 cuadrados. En este experimento se realizó un único muestreo no destructivo del chopo (altura) al final del primer periodo vegetativo (7 noviembre), con la intención de continuar el estudio en los próximos años. Este muestreo diferenciaba los chopos situados junto a los rodales de *S. halepense* (10 plantas= 5 en cada lado del rodal) y los chopos que no tenían influencia de esta mala hierba, separados un mínimo de 2 m desde los rodales (20 plantas= 5 cercanas a cada esquina, en ambos lados del rodal). Para la estimación de la biomasa seca del chopo se utilizó la relación con la altura de planta obtenida en el experimento anterior:

$$y = 0,00007x^3 - 0,0073x^2 + 0,3428x - 2,5097 \quad (R^2 = 0,894)$$

donde  $y$  es el peso seco de la biomasa del pie y  $x$  la altura del pie.

El análisis estadístico de los datos del experimento de competencia con *D. ferox* incluyó el estudio de los coeficientes de correlación entre la densidad de mala hierba y la biomasa de chopo en las cuatro fechas de muestreo, con el fin de evaluar el periodo más sensible de

competencia. Por otro lado, para determinar si existe una influencia significativa debida al rodal de *S. halepense* se utilizó el Análisis de Varianza de una vía, con la prueba *post hoc* de Scheffé para comparar las medias de altura y biomasa estimada de chopo junto al rodal y separadas del rodal.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados han puesto de manifiesto un efecto significativo de la fecha de muestreo sobre el grado de competencia entre *D. ferox* y chopo. Así, durante el primer mes después de la plantación no se observó una relación significativa entre la densidad de plantas de *D. ferox* y la biomasa del chopo. A partir del segundo mes después de la plantación, todos los muestreos mostraron una relación significativa y negativa entre la densidad de *D. ferox* y el rendimiento de chopo (Tabla 1). Estos resultados están en la línea de los reportados por Otto *et al.* (2010), quienes indicaban que el periodo crítico de control de malas hierbas durante el primer año de cultivo de chopo para biomasa, en base a unas pérdidas de rendimiento del 5%, se encuentra entre 30 y 84 días después de la plantación.

Tabla 1. Coeficientes de correlación (significación entre paréntesis) entre la densidad de *D. ferox* (nº plantas m<sup>-1</sup> de línea de cultivo) y la biomasa de chopo (kg materia seca de 2 chopos m<sup>-1</sup> de línea de cultivo), en 4 fechas de muestreo.

| Fecha muestreo | Coefficiente de correlación |
|----------------|-----------------------------|
| 21 mayo        | -0,236 (0,099)              |
| 11 junio       | -0,537 (<0,001)             |
| 16 julio       | -0,682 (<0,001)             |
| 4 septiembre   | -0,599 (<0,001)             |

El ajuste de los datos obtenidos en este experimento a una función exponencial permitió calcular la reducción de la biomasa de chopo en función del número de plantas de *D. ferox*. Por ejemplo, en la segunda fecha de muestreo se produjo una reducción del 25% de la biomasa de chopo con 8 plantas de *D. ferox* en 1 metro de línea de cultivo. La misma reducción (25%) se observó con sólo 2 plantas de *D. ferox* en la tercera o cuarta fecha de muestreo (Figura 1). Consecuentemente, podemos concluir que el control de esta mala hierba debe realizarse lo antes posible, preferiblemente antes del segundo mes tras la plantación, para evitar daños irreversibles.

En relación al experimento de *S. halepense*, los resultados han de tomarse como preliminares por tratarse de datos recogidos durante el primer año durante el cual no se llegó a producir la invasión de la mala hierba en la línea de cultivo. No obstante, sí se observó un mayor vigor de las plantas de *S. halepense* próximas a la línea de cultivo, donde se sitúan los góteros de riego, en comparación con el centro de la calle. A pesar de que la parte aérea de *S. halepense* no ocupaba la línea de cultivo, se produjo una competencia significativa entre la mala hierba y el chopo, registrándose menor altura del cultivo en la zona próxima a los rodales de *S. halepense*, independientemente de la posición respecto al rodal (Figura 2).

Igualmente, la biomasa estimada de chopo, resultó ser significativamente inferior ( $F=12,822$ ;  $P<0,001$ ) en la zona próxima al rodal de *S. halepense*, con una reducción media del rendimiento del 54,3%. Evidentemente debemos esperar a obtener los datos del segundo año para confirmar el alto grado de competencia de esta especie con el cultivo de chopo para biomasa. En este sentido, es importante realizar el seguimiento de la dispersión espacial de los

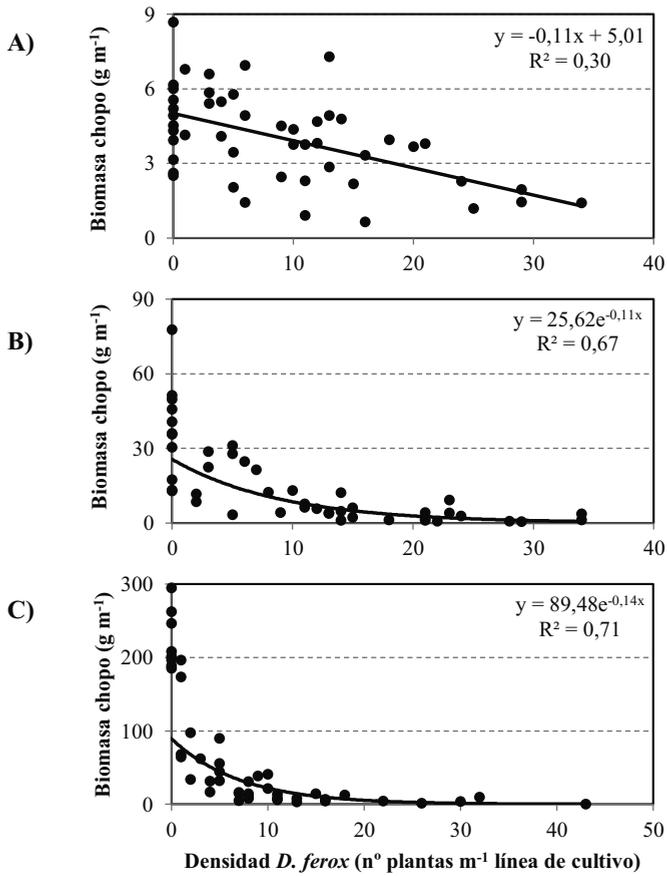


Figura 1. Relación entre la densidad de *D. ferox* y la biomasa del chopo en tres fechas de muestreo diferentes: A) 11 de junio, B) 16 de julio, y C) 4 de septiembre.

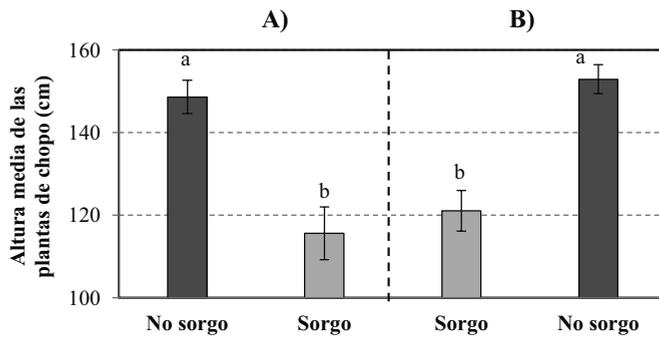


Figura 2. Altura de las plantas de chopo en zonas junto al rodal (Sorgo) y en zonas separadas más de 1 m del rodal de *S. halepense* (No sorgo). Se distingue la posición de la línea de cultivo en la calle: A) lado izquierdo, y B) lado derecho.

rodales de *S. halepense* en el tiempo, la cual es esperable se produzca en la zona de influencia de los goteros de riego junto a la líneas de cultivo, con lo que el efecto de la competencia debería incluso ser mayor.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la CICYT (proyecto AGL2011-25243). Carolina San Martín agradece al Ministerio de Economía y Competitividad el apoyo mediante una beca F.P.I. (Expediente N° BES-2012-055222).

#### 5. REFERENCIAS

- BioPlat (2013). Plataforma Tecnológica Española de Biomasa. <http://www.bioplat.org>
- Buhler DD, Netzer DA, Riemenschneider DE and Hartzler RG (1998). Weed management in short rotation poplar and herbaceous perennial crops grown for biofuel production. *Biomass and Bioenergy*, 14, 385-394.
- Kabba BS, Knight JD and van Rees KCJ (2007). Quantity and quality of harvestable biomass from *Populus* short rotation coppice for solid fuel use – a review of the physiological basis and management influences. *Biomass and Bioenergy*, 24, 411-427.
- Marino PC & Gross KL (1998). Competitive effects of conspecific and herbaceous (weeds) plants on growth and branch architecture of *Populus* × *euramericana* cv. Eugenei. *Canadian Journal of Forest Research*, 28, 359-367.
- Otto S, Loddo D and Zanin G (2010). Weed-poplar competition dynamics and yield loss in Italian short-rotation forestry. *Weed Research*, 50, 153-162.
- Sixto H, Hernández MJ, Barrio M, Carrasco J and Cañellas I (2007). Plantaciones del género *Populus* para la producción de biomasa con fines energéticos: revisión. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 16, 277-294.

Summary: Influence of the competition of *Datura ferox* and *Sorghum halepense* in the development of poplar as energy crop for biomass. Two parallel experiments with *Datura ferox* and *Sorghum halepense* were performed to assess the competence between these difficult to control weeds and a poplar energy crop during the first growing season. The results have revealed the need to control *D. ferox* before the second month after planting, moment in which there was a significant and irreversible reduction of poplar biomass. On this date, eight seedlings of *D. ferox* in 1 m crop line reduced by 25% the poplar yield. Regarding *S. halepense*, preliminary data from the first year of study have demonstrated the high degree of competition between this weed and crop, with an average reduction of 54.3% in crop yield in the area of influence of the patch.

Keywords: energy crops for biomass, competition, difficult to control weeds.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Aprovechamiento energético de la mala hierba marabú (*Dichrostachys cinerea* L.) como ayuda a su control mecánico**

M. Fernández <sup>a</sup>, J. Alaejos, R. Tapias, J. Menéndez

Universidad de Huelva, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Campus de La Rábida, 21071-Huelva <sup>a</sup> [manuel.fernandez@dcaf.uhu.es](mailto:manuel.fernandez@dcaf.uhu.es)

*Resumen:* El marabú, arbusto leñoso introducido en Cuba, se ha convertido en una planta invasora de difícil control. En un ensayo de campo en Huelva, la biomasa aérea supuso el  $61 \pm 3$  % de la biomasa seca total, la relación parte aérea/raíz fue  $1,55 \pm 0,17$  y la relación de peso foliar  $0,20 \pm 0,04 \text{ kg}_{\text{hojas}} \text{ kg}_{\text{planta}}^{-1}$ , presentando un consumo de agua alto en épocas calurosas,  $2,5\text{-}6,2 \text{ kg}_{\text{H}_2\text{O}} \text{ m}^{-2} \text{ día}^{-1}$ . El frío invernal ( $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ ) y la sequedad del aire ( $<20\%$  HR) comprometieron su supervivencia y crecimiento. Su alta densidad de madera (cercano a  $1,0 \text{ kg dm}^{-3}$ ) y su alto poder calórico ( $4583 \text{ kcal kg}^{-1}$ ) posibilitan el aprovechamiento energético, lo que podría estimular las cortas de matorral como método de control mecánico. Sería necesario un mayor conocimiento de la repercusión sobre el suelo del aprovechamiento, para garantizar la sostenibilidad del sistema.

**Palabras clave:** poder calorífico, biomasa, parámetros alométricos, planta invasora, manejo sostenible.

## 1. INTRODUCCIÓN

El marabú (*Dichrostachys cinerea* L. Wight & Arn.) es un arbusto leñoso que suele alcanzar 5-7 m de altura, del que se conocen hasta nueve subespecies. Hojas bipinnadas de 8 a 12 cm de largo, inflorescencias de 4-5 cm, con flores masculinas rosadas y hermafroditas amarillas. El fruto es una legumbre de 3-5 cm de longitud con 6-10 semillas por legumbre. Sus troncos, de corteza gris, son bastantes tortuosos, con numerosas ramificaciones gruesas y finas, muy espinosas que suelen formar entramados impenetrables. La subespecie africana fue introducida en Cuba hace más de 150 años y desde entonces se ha convertido en una planta invasora de difícil control en tierras de cultivo, pastizales y bosques naturales. En Cuba se halla presente, actualmente, en 1,2 Mha, lo que supone el 11% del territorio cubano y el 20% de las tierras arables (Abreu *et al.*, 2012; Travieso & Kaltschmitt, 2012). Su facilidad de propagación por semillas y por brotes de raíz, su carácter heliófilo, su amplitud ecológica, la dureza de su madera y la presencia de espinas hacen su control tan trabajoso y costoso que muy a menudo las tierras invadidas son abandonadas por los productores (Méndez & Ramos, 2004; Wakeling & Bond, 2007). No obstante, la alta densidad de su madera (en ocasiones sobrepasando  $1,0 \text{ kg m}^{-3}$ ), su alto poder calórico (en torno a  $4.600 \text{ kcal kg}^{-1}$ ) y su alto contenido de volátiles en la combustión (79%) hacen posible el aprovechamiento energético de su biomasa leñosa (Travieso & Kaltschmitt, 2012), lo que podría estimular las cortas de matorral como método de control mecánico de la plaga.

Puesto que el marabú tiene un uso potencial como fuente de biomasa, se estima conveniente conocer las características de la biomasa: rendimiento en biomasa en función del turno de corta, vigor del rebrote tras la corta, distribución de la biomasa en los distintos órganos del vegetal (hojas, tallos finos, tallos gruesos, raíces), cantidad de nutrientes minerales extraídos durante las cosechas, poder calorífico y calidad como fertilizante de las cenizas resultantes de la combustión en calderas. Asimismo, las sucesivas cosechas realizadas hasta el momento en que se produzca el completo control de la mala hierba, podrían alterar

desfavorablemente las propiedades de fertilidad del suelo y el crecimiento de los rebrotes, comprometiendo el uso y aprovechamiento posterior del ecosistema. Por todo ello, los objetivos que se plantean en este estudio con marabú son analizar: 1) el crecimiento en biomasa tras el primer año de cultivo, 2) la distribución de la biomasa en los distintos órganos del vegetal, y 3) las propiedades calorimétricas, densidad y contenido en cenizas.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

En este trabajo se presentan los resultados del primer año de ensayo en parcela de campo. La parcela se localizó en el campo de prácticas de La Rábida (Palos de la Frontera, Huelva; UTM, X: 685016, Y: 4119147, 10 msnm), sobre terreno llano y con una superficie aproximada de 0,5 ha. Presenta un clima mediterráneo de inviernos suaves, influencia atlántica y marcada sequía estival. Con temperatura y precipitación medias anuales de 16,2 °C y 564 mm. El suelo es permeable, de textura franco-arenosa, 1,16% MO, pH=6,0, libre de caliza activa, con la capa freática próxima a los 2 m y estuvo cultivada con leguminosas leñosas durante los ocho años anteriores. El año hidrológico 2010-11 resultó un 28% superior a la media, mientras que el 2011-12 fue un 39% inferior. La temperatura mínima absoluta registrada durante el estudio rondó -5,0 °C durante la segunda semana de febrero de 2012. Las temperaturas y precipitaciones registradas durante el período estudiado se muestran en la figura 1.

El diseño experimental consistió en bloques completos aleatorizados. Para un estudio comparativo, el marabú compartió parcela con otras especies leñosas de los géneros *Populus*, *Eucalyptus*, *Casuarina*, *Paulownia*, *Salix* y *Leucaena*, utilizadas habitualmente con fines energéticos, con el fin de comparar rendimientos. La parcela elemental consistió en tres filas paralelas de 5 plantas cada una, con 2 m de separación entre filas y 1 m entre plantas de una misma fila. Se pusieron 4 bloques por especie y una parcela elemental por bloque. La plantación se realizó en mayo de 2011, con plantas de vivero (12 cm de altura) producidas a partir de semillas. No se fertilizó pero sí se aplicó riego de apoyo, que supuso el aporte de 250 y 350 mm en el primer y segundo año, respectivamente, aplicados entre los meses de junio y septiembre. En dichas plantas se llevó un seguimiento bimensual (desde mayo-11 hasta diciembre-12) del crecimiento en diámetro y altura, de la supervivencia y estado fitosanitario, así como del estado fenológico de las plantas. De la cosecha realizada al final de este estudio se guardó material vegetal para analizar el poder energético, contenido en cenizas y densidad de la madera. El material leñoso (tallos) se dividió en clases diamétricas de 20 mm para ser analizado por separado.

Asimismo, en abril de 2012, se plantaron 4 plantas en sendos contenedores de 100 L de capacidad, rellenos con sustrato de turba:perlita (2:1 volumen) al que se añadió 1 kg m<sup>-3</sup> de Nitrofoska azul 12-12-17 + 2Mg (®BASF), se regaron según necesidad y crecieron en condiciones de vivero cerca de la parcela de plantación. En estas plantas se midió: consumo de agua diario en distintas épocas del año (mediante pesadas consecutivas del conjunto contenedor-planta, cubriendo la boca del contenedor con un plástico blanco para evitar pérdidas por evaporación), distribución de biomasa en parte aérea y raíz tras cosecharlas al final del ensayo (diciembre de 2012).

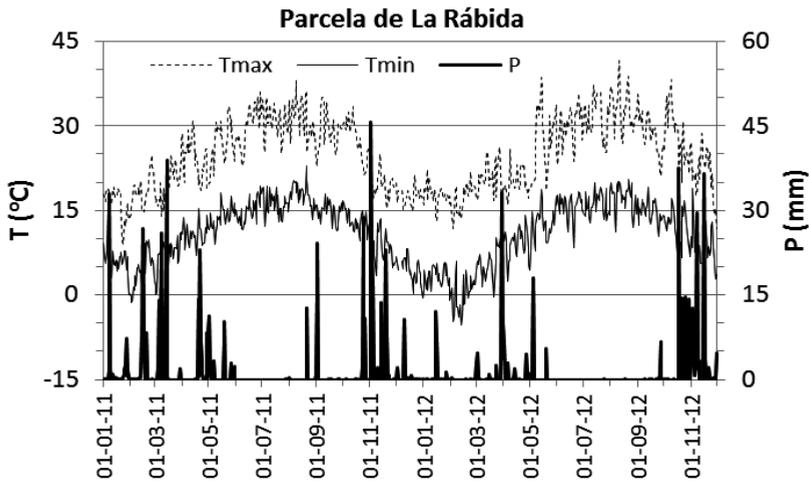


Figura 1: Evolución temporal de las temperaturas máximas y mínimas (T, °C) y de la precipitación (P, mm) diarias en la parcela de ensayo y durante el período de estudio (01-enero-2011 a 30-noviembre-2012).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las condiciones de crecimiento de la parcela ensayada en Huelva, la altura máxima alcanzada por las plantas fue de 1,60 m, con un diámetro de 2 cm. El escaso crecimiento obtenido puede ser explicado por el seguimiento periódico del estado de las plantas, que desveló que tanto el frío invernal como la sequedad del aire estival comprometían la supervivencia y el crecimiento. Temperaturas del aire de  $-3^{\circ}\text{C}$  afectaron a casi el 50% de las hojas, mientras que temperaturas de  $-5^{\circ}\text{C}$  (alcanzada en febrero de 2012) afectó a la totalidad de las hojas y la mayor parte de las ramas de diámetro inferior a 8 mm. Por otra parte, también se observó que durante los días más secos del verano, cuando la humedad relativa del aire descendía de 30%, el 30-40 % de las hojas mostraba síntomas de deshidratación con necrosis en los bordes de los folíolos. Dicha necrosis se extendía al resto de la hoja, que se secaba completamente y se desprendía, afectando a algo más del 70% de las hojas, cuando la humedad relativa bajaba de 20%. Especialmente cruentos fueron los días en que coincidía una humedad relativa por debajo de 20% con temperaturas por encima de  $34^{\circ}\text{C}$  (4 días en 2011 y 12 días en 2012). Estos resultados coinciden con lo estipulado en la bibliografía sobre la intolerancia a las heladas, pero no tanto con la tolerancia a la sequía (ISSG, 2013; Travieso & Kaltschmitt, 2012). Si bien es posible que esta especie pueda colonizar y sobrevivir en lugares con precipitación anual de 200-400 mm, la proporción de hojas y la productividad disminuirán considerablemente, prefiriendo zonas de clima más húmedo. Esta es una línea de conocimiento en la que se debería profundizar, pues la información existente es muy escasa. El consumo de agua en las épocas más calurosas (julio-septiembre) osciló entre 2,5 y 6,2  $\text{kg}_{\text{H}_2\text{O}} \text{m}^{-2} \text{día}^{-1}$ , un valor alto, similar a casuarinas y leucaenas y superior a eucaliptos, chopos y paulownias, de ahí su posible vulnerabilidad al déficit en la presión de vapor del aire. Sin embargo, en otras épocas, otoñales y primaverales, su consumo fue más moderado ( $0,8\text{-}3,2 \text{ kg}_{\text{H}_2\text{O}} \text{m}^{-2} \text{día}^{-1}$ ).

Para las plantas obtenidas, en la cosecha de diciembre de 2012, la biomasa aérea (hojas más tallos) supuso el  $61\pm 3\%$  de la biomasa seca total, la relación parte aérea/raíz en peso seco fue de  $1,55\pm 0,17$  y la relación de peso foliar fue  $0,20\pm 0,04 \text{ kg}_{\text{hojas}}/\text{kg}_{\text{planta}}$ , coincidente

este último parámetro, con lo obtenido por otros autores (Pedraza *et al.*, 2008). El análisis del material obtenido ha confirmado su utilidad como fuente energética, por su alto poder calorífico (Abreu *et al.*, 2012; Travieso & Kaltschmitt, 2012), aunque el contenido en cenizas puede resultar un poco alto para ser usado en calderas domésticas o de tamaño reducido (tabla 1).

Tabla 1: Poder calorífico, contenido en cenizas y densidad del material leñoso de *Dichrostachys cinerea* (media  $\pm$  ET). PCS: poder calorífico superior; PCI: poder calorífica inferior. Nivel de significación (*p*): \*\*<0,01, \*<0,05. Tamaño muestral (*n*) = 2 para PCS, PCI y cenizas; 3 para Densidad.

|                                     | PCS<br>(kcal kg <sup>-1</sup> ) | PCI<br>(kcal kg <sup>-1</sup> ) | Cenizas<br>(%)  | Densidad<br>(kg dm <sup>-3</sup> ) |
|-------------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------|------------------------------------|
| Tallos finos (<20 mm diámetro)      | 4486 $\pm$ 9                    | 4205 $\pm$ 9                    | 3,60 $\pm$ 0.19 | 0,78 $\pm$ 0,01                    |
| Tallos gruesos (>20 mm diámetro)    | 4583 $\pm$ 8                    | 4302 $\pm$ 8                    | 3,12 $\pm$ 0.14 | 0,84 $\pm$ 0.01                    |
| Nivel de significación ( <i>p</i> ) | **                              | **                              | *               | *                                  |

A modo comparativo, para el material leñoso procedente de tallos gruesos (>20 mm de diámetro) se presentan valores medios de algunas de las especies vegetales con las que compartió parcela de estudio (tabla 2). No se presenta análisis estadístico porque, hasta el momento de redacción de este documento, solo se dispone del dato de un único lote o muestra por especie (constituido por la mezcla conjunta y homogenizada de varias plantas de esa especie). En dicha tabla se puede observar que, por ejemplo, las diferencias entre el Marabú y las demás especies en el poder calorífico calorífico superior (PCS) son menores del 2,5% si lo referimos a peso seco (kcal kg<sup>-1</sup>). Sin embargo, si consideramos el poder calorífico en base a unidad de volumen (kcal dm<sup>-3</sup>), las diferencias entre especies se incrementan, favorablemente para el Marabú, resultando este último superior a las demás entre un 29% (respecto a *Casuarina*) y un 202% (respecto a *Paulownia*). Este mayor valor del poder energético por unidad de volumen resulta beneficioso a la hora del transportar la materia prima, por reducir proporcionalmente los costes de transporte.

Tabla 2: poder calorífico superior, contenido en cenizas y densidad del material leñoso (tallos de 25-50 mm diámetro) de especies vegetales cultivadas a la vez y en la misma parcela que *Dichrostachys cinerea*. (\*) Valor relativo del cociente entre el valor medio de kcal dm<sup>-3</sup> del material leñoso grueso del Marabú (3849,7) y el valor medio de las otras especies ensayadas.

|                                 | PCS<br>(kcal kg <sup>-1</sup> ) | Cenizas<br>(%) | Densidad<br>(kg dm <sup>-3</sup> ) | PCS * Densidad<br>(kcal dm <sup>-3</sup> ) | (*)  |
|---------------------------------|---------------------------------|----------------|------------------------------------|--|------|
| <i>Populus x I-214</i>          | 4654                            | 2,84           | 0,36                               | 1675,4                                     | 2,30 |
| <i>Eucalyptus x urograndis</i>  | 4639                            | 3,53           | 0,54                               | 2505,1                                     | 1,54 |
| <i>Casuarina cunninghamiana</i> | 4589                            | 4,30           | 0,65                               | 2982,9                                     | 1,29 |
| <i>Salix purpurea</i>           | 4700                            | 2,06           | 0,60                               | 2820,0                                     | 1,37 |
| <i>Leucaena diversifolia</i>    | 4598                            | 4,20           | 0,43                               | 1977,1                                     | 1,95 |
| <i>Paulownia fortunei</i>       | 4720                            | 0,87           | 0,27                               | 1274,4                                     | 3,02 |

La continuación del estudio durante el segundo año y los análisis químicos más detallados sobre composición mineral, nos aportarán nueva información sobre producción de biomasa y las características energéticas y químicas antes señaladas. Datos estos de gran utilidad para el aprovechamiento de la biomasa, a la vez que se avanza en el control de esta mala hierba invasora, sin degradar más el ecosistema en el que se ha establecido.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este estudio se enmarca dentro del proyecto titulado “Desarrollo de métodos de control y aprovechamiento de la plaga marabú como futuras estrategias sostenibles de erradicación en la zona Trinidad-Valle de los Ingenios (Patrimonio de la Humanidad-UNESCO)” (ref. 11-CAP2-1423), financiado por la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo, del Ministerio de Asuntos Exteriores (España).

#### 5. REFERENCIAS

- Abreu Naranjo R, Conesa RA, Foppa Pedretti E and Romero Romero O (2012). Kinetic analysis: Simultaneous modelling of pyrolysis and combustion processes of *Dichrostachys cinerea*. *Biomass and bioenergy*, 36, 170-175.
- ISSG - Invasive Species Specialist Group (2013). Global Invasive Species Database. *Dichrostachys cinerea*. <http://www.issg.org/database/species/ecology.asp?si=161> (consultado el 30 de abril de 2013).
- Méndez IE & Ramos A (2004). El marabú: ¿plaga o recurso natural? *Energía y tú*, 27, 11-17.
- Pedraza Olivera RM, González Pérez CE, León González M, Estévez Alfayate JA and Martínez Sáez SJ (2008). Indicadores fenológicos y valor nutritivo in vitro del marabú, *Dichrostachys cinerea*, durante la época seca. *Zootecnia Tropical*, 26, 219-222.
- Travieso Pedroso D & Kaltschmitt M (2012). *Dichrostachys cinerea* as a possible energy crop—facts and figures. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2, 41-51.
- Wakeling JL & Bond WJ (2007). Disturbance and the frequency of root suckering in an invasive savanna shrub, *Dichrostachys cinerea*. *African Journal of Range & Forage Science*, 24, 73-76.

Summary: *Energy use of Marabou weed (Dichrostachys cinerea L.) as an aid to mechanical control.* The Marabou weed, a woody shrub introduced in Cuba, has become an invasive species difficult to control. In a field trial in Huelva, the aboveground biomass accounted for  $61 \pm 3\%$  of the total dry biomass, the shoot/root ratio was  $1.55 \pm 0.17$ , the leaf weight ratio  $0.20 \pm 0.04 \text{ kg}_{\text{leaves}} \text{ kg}_{\text{plant}}^{-1}$ , and it showed a high water consumption on hot days,  $2.5\text{-}6.2 \text{ kg}_{\text{H}_2\text{O}} \text{ m}^{-2} \text{ day}^{-1}$ . Low winter temperatures ( $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ ) and dry air ( $<20\% \text{ MC}$ ) affected their survival and growth. Its high wood density (close to  $1.0 \text{ g/cm}^3$ ) and high heat value ( $4583 \text{ kcal kg}^{-1}$ ) allow its energy use, which could encourage the bushwood harvesting as mechanical control. However, it would be necessary a better understanding of the impact on the soil of the bushwood harvesting, to guarantee the sustainability of the agro-forestry systems.

Keywords: heat value, biomass, plant allometry, invasive plant species, sustainable management.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

## El cultivo de la chufa (*Cyperus esculentus* L. var. *sativus* Boeck.) en Valencia

N. Pascual-Seva<sup>a</sup>, A. San Bautista, S. López Galarza, J.V. Maroto, B. Pascual  
 Departamento de Producción Vegetal  
 Universitat Politècnica de València  
 Camí de Vera, s/n 46022-Valencia, <sup>a</sup> [nupasse@prv.upv.es](mailto:nupasse@prv.upv.es)

*Resumen:* *Cyperus esculentus* L. está considerada como una de las principales malas hierbas a nivel mundial, sin embargo, la variedad botánica *sativus*, conocida como chufa, es un cultivo hortícola de gran importancia en l'Horta Nord de Valencia. En la actualidad se cultiva a pequeña escala en Egipto, Níger, Nigeria, Burkina Faso, Ghana, Mali, Senegal, Costa de Marfil y Turquía, además de como ya se ha indicado, en la zona de l'Horta Nord de Valencia, donde se dedican alrededor de 400 ha a este cultivo, concentradas en 16 términos municipales. El principal aprovechamiento del cultivo es la obtención de horchata a partir de los tubérculos.

**Palabras clave:** Tubérculo, horchata, cultivo hortícola, mala hierba.

### 1. INTRODUCCIÓN

*Cyperus esculentus* está considerada como una de las principales malas hierbas a nivel mundial; concretamente Holm et al. (1977) la clasificaron en la decimosexta posición (siendo *Cyperus rotundus* la que ocupa el primer lugar de esta clasificación). Es una mala hierba importante en al menos 21 cultivos y en más de 30 países de todo el mundo (Holm et al., 1977). Puede resultar sorprendente la falta de citas anteriores al siglo XX como mala hierba; así, Teofrasto (371-287 a. C.), Plinio el Viejo (23-79 d. C.) y Columela (a comienzos de la era cristiana) no mencionaron a *Cyperus esculentus* como mala hierba [parece que Dioscórides (40 – 90 d. C.) reconoció circunstancialmente a *Cyperus rotundus* como mala hierba], aunque ellos conocieron la especie como planta cultivada y describieron otras plantas como malas hierbas, probablemente debido a que las ciperáceas no causaban serios problemas en el sur de Europa y en Asia Menor (Negbi, 1992). Las características morfológicas, químicas y organolépticas de estos tubérculos son distintas a las del material vegetal cultivado.

En 1854 la U.S. Patent Office importó tubérculos de chufa cultivada para su cultivo en el sudeste de EEUU, pudiendo haber sido también una fuente de tubérculos de la mala hierba (Defelice, 2002). La mala hierba se expandió por el norte y el oeste en todo EEUU continental y Hawái, México y este de Canadá (Holm et al., 1977; Defelice, 2002). En el *Manual of the Botany of the Northern United States*, no apareció citada en la quinta edición (1867), pero sí en la sexta (1889), en la que se indica que estaba ampliamente expandida, por lo que en opinión de Defelice (2002), parece dudoso que la planta fuera introducida y se expandiera tanto en tan solo 22 años, más bien parece que en aquellos años estaría probablemente presente en estado natural y ocasionalmente como mala hierba, pero por alguna razón no llamó la atención de botánicos y taxónomos. En Canadá, las primeras citas de sus infestaciones son de 1930, pero no llegó a ser importantes hasta 1950 (Mulligan y Junkings, 1976).

Más recientemente también se ha expandido como mala hierba en el noroeste de Europa; parece ser que sus tubérculos fueron introducidos, en la década de los setenta del siglo XX, como contaminantes de una importación de cormos de gladiolo, procedentes de EEUU (Pascual-Seva, 2011).

Actualmente está considerada como una mala hierba importante en Angola, Canadá, Kenia, Madagascar, Mozambique, Perú, Sudáfrica, Tanzania, EEUU y Zimbabwe; es la principal mala hierba en Australia, India, México y Suazilandia; es una mala hierba común en Argentina, Irán y Portugal, y está presente como mala hierba en Francia, Holanda, Alemania y la mayor parte de las zonas tropicales y subtropicales de Asia, África Central y Sudamérica (Pascual-Seva, 2011). En España su presencia es importante en zonas húmedas, resultando preocupante como mala hierba en los cultivos de regadío o de secano húmedo en las regiones septentrionales, habiéndose realizado estudios fisiológicos y de control en Galicia (Pascual-Seva, 2011).

La chufa (*Cyperus esculentus* L. var. *sativus* Boeck.) ya era conocida en Egipto en el cuarto milenio a. C., habiendo sido probablemente introducida en Europa durante la Edad Media por los árabes. A pequeña escala se cultiva en Egipto, Níger, Nigeria, Burkina Faso, Ghana, Mali, Senegal y Costa de Marfil. También se cultiva a pequeña escala en Turquía, pero su producción no ha sido evaluada comercialmente. Además de los países citados, se ha señalado el interés por su cultivo, fundamentalmente para su utilización en tecnología de los alimentos y en la producción de biodiesel, en Brasil, Camerún, Hungría, República de Corea, Polonia y EEUU (Pascual-Seva, 2011). Recientemente se ha extendido su cultivo en China y Brasil (Pasek, comunicación personal).

Dado el carácter especial de este cultivo hortícola típico de *L'Horta Nord* de València, lugar de celebración del 14 Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, se ha considerado oportuno la presentación de una breve descripción del mismo. En la actualidad, se dedican alrededor de 400 ha a este cultivo, concentradas en 16 términos municipales, obteniéndose un rendimiento medio en torno a 19 t·ha<sup>-1</sup>. El principal aprovechamiento del cultivo es la obtención de los tubérculos para la elaboración de la horchata. Anualmente se producen cerca de 46·10<sup>6</sup> L de horchata, representando un valor de mercado de 32·10<sup>6</sup> € (INE, 2012). Además, en los últimos años está proliferando la aparición de nuevos productos a base de tubérculos de chufa, como chocolate, bebidas alcohólicas como cerveza, ginebra y licores, así como diversos productos para el cuidado personal, y sobre todo aceites de alta calidad culinaria.

## 2. EL CULTIVO

En *L'Horta Nord* de València es tradicional que el cultivo de la chufa alterne con otros cultivos hortícolas, como patata, cebolla temprana, zanahoria, coles, sandía, alcachofa, etc., dado que la repetición provoca un descenso del rendimiento (Pascual, 1981).

El clima de la comarca es suave, con temperaturas medias de 13 a 25 °C y elevada humedad relativa, con valores medios de 65 a 70%. Con relativa frecuencia ocurren intensas lluvias otoñales, concretamente en octubre y noviembre, que de existir pueden retrasar la recolección de los tubérculos. Los vientos fuertes que en ocasiones acompañan a las tormentas estivales, pueden provocar el encamado precoz de las plantas.

Los suelos, profundos y fértiles, se formaron a partir de los aluviones del Turia. En el pasado fue frecuente el aporte de arena de playa a los campos de cultivo, por lo que los suelos de la zona suelen ser de textura arenosa, arenosa-franca o franco-arenosa, en los que la planta crece y se desarrolla adecuadamente. Debido al tamizado a que son sometidos los suelos en la recolección de los tubérculos, los terrenos están desprovistos de piedras, lo que facilita la

recolección y el lavado de los tubérculos. El pH es básico y el contenido en materia orgánica es muy variable, oscilando normalmente entre 1.0 y 2.5%. Tras retirar el cultivo precedente en la rotación, el agricultor realiza un aporte de materia orgánica (del orden de 24 t·ha<sup>-1</sup> de gallinaza fermentada), y abono mineral (en su caso), así como el herbicida, incorporándose a continuación con la fresadora.

En cuanto al material vegetal autóctono, tal y como refleja el reglamento de la Consejo Regulador de la Denominación de Origen Chufa de Valencia (CRDO, CAPA, 2010), existen varias formas de tubérculos, entre las que predominan las alargadas y las redondeadas, conocidas tradicionalmente como “Llargueta” y “Ametlla”, respectivamente. El equipo de investigación realizó unos estudios de selección y tipificación agronómica del material vegetal (Castell Zeising, 1996). Recientemente se han obtenido los Títulos de Obtención Vegetal de las variedades ALBORAIA y BONREPOS (MAGRAMA, 2012).

La fecha de plantación depende fundamentalmente de la fecha de la recolección del cultivo precedente. Antigamente se realizaba durante el mes de junio, posteriormente se adelantó a mayo, y en la actualidad suele realizarse durante la primera quincena de abril. El adelanto de la plantación a marzo no se ha consolidado, puesto que la brotación de las yemas de los tubérculos necesita de temperaturas relativamente elevadas (se requiere una temperatura mínima en el suelo de 12 °C, aumentando el porcentaje de tubérculos brotados con el incremento de la temperatura hasta 30 °C; Pascual et al., 1997). La plantación suele realizarse con el suelo en tempero, utilizándose una “sembradora de platos” que realiza los caballones, distanciados a 60 cm, y deposita los tubérculos (aproximadamente 120 kg·ha<sup>-1</sup>) a una profundidad de 7-8 cm y distanciados a unos 8-10 cm.

La chufa es exigente en riegos, siendo éstos de gravedad por surcos. El primer riego suele realizarse cuando la planta alcanza una altura de 15-20 cm, lo que suele producirse transcurridos unos 25-30 días desde la plantación. Una frecuencia de riegos típica consiste en regar con una frecuencia quincenal hasta principios-mediados de junio y a partir de septiembre, reduciéndose hasta unos 10 días desde mediados de junio hasta finales de agosto; en general, el número total de riegos necesarios al año oscila entre 10 y 15, dependiendo de la climatología del año.

Es un cultivo exigente en nutrientes; Pascual et al., (1997) evaluaron las extracciones en 240-35-300 kg de N-P-K ha<sup>-1</sup>, por lo que en la actualidad suele realizarse un aporte de materia orgánica antes de la plantación y de un abono mineral [generalmente un abono complejo (mayoritariamente 15-15-15), en cantidades que oscilan de 500 a 1000 kg·ha<sup>-1</sup>]. Dependiendo de la evolución del cultivo, es frecuente realizar en verano un aporte de N y K, en forma de NO<sub>3</sub>K (de 120 a 300 kg·ha<sup>-1</sup>), incorporando el abono al agua de riego.

Durante las primeras fases del cultivo, la chufa compite mal con las malas hierbas típicas de la zona, fundamentalmente *Portulaca oleracea*, *Amaranthus retroflexus*, *Echinochloa crus-galli* y *E. colinum*, por lo que suele aportarse un herbicida, como la trifluralina en las labores preparatorias, o el linurón en preemergencia del cultivo (Pascual et al., 1997). Después del primer riego, una vez establecidas las plantas de chufa, se suele dar un pase con un apero conocido como “*entauladora*”, que rompe la costra, rehace los caballones, y en su caso arranca las malas hierbas. A partir del verano, las plantas adultas cubren totalmente el terreno y resultan sofocantes para las malas hierbas; no obstante, en ocasiones aparecen malas hierbas, en cuyo caso se aporta un herbicida (como el oxifluorfen), mediante su incorporación al agua de riego.

Aunque no suelen presentarse graves problemas fitosanitarios, los principales enemigos de la planta son los denominados “barrenadores” de la chufa, que son lepidópteros tortricídeos, que producen galerías en el interior de los brotes, provocando la muerte de los mismos. En España se han identificado dos especies causantes del daño, *Bactra lanceolana* y *B. furfurana*. Para su prevención suelen realizarse tratamientos con clorpirifos o metilclorpirifos.

En algunas ocasiones se ha constatado la presencia de tubérculos con un aspecto negruzco característico, que ha sido denominada podredumbre negra o “enquitranat” (alquitranado) y ha sido asociada al hongo *Rosellinia necatrix* (García-Jiménez et al., 1997). En los primeros años del siglo XXI se ha observado en determinadas parcelas y en la fase inicial del cultivo, la presencia de una decoloración de la mitad superior de las hojas, y que a los pocos días evoluciona a necrosis. De las plantas afectadas, se ha aislado un hongo ascomiceto que no ha sido identificado todavía; esta enfermedad se ha denominado “necrosis foliar” (Montaño, 2008). Las plantas afectadas producen tubérculos rojizos que son portadores y transmisores de la enfermedad. Se han obtenido resultados prometedores tratando los tubérculos, de forma combinada, con termoterapia y con fungicidas como carbendazima o procloraz. No obstante, la mejor medida es la selección rigurosa de los tubérculos para la plantación, desechando los tubérculos procedentes de parcelas afectadas. Recientemente se ha detectado la enfermedad conocida como “mancha negra” (distinta la podredumbre negra) que provoca el ennegrecimiento de la piel de los tubérculos y consecuentemente su depreciación comercial; esta enfermedad está causada probablemente por un hongo que está tratándose de identificar en la actualidad.

La recolección de los tubérculos de chufa suele realizarse entre mediados de noviembre y mediados de diciembre, dependiendo de la incidencia de las lluvias. El sistema aéreo de las plantas debe ser eliminado previamente a la recogida de los tubérculos, para lo cual, a partir de noviembre, cuando las hojas están secas, se procede a su incineración de forma controlada. La máquina utilizada en la recolección de los tubérculos es una recogedora cribadora, arrastrada por un tractor y acoplada a la toma de fuerza del mismo, de fabricación artesanal (Pascual et al., 1997). Tras la recolección se procede al lavado de los tubérculos en lavaderos industriales, eliminándose al mismo tiempo las piedras y cualquier residuo. Habitualmente los tubérculos son pesados tras el lavado, obteniéndose en la actualidad unos rendimientos medios de  $18,650 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , llegando a obtener hasta  $24,000 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . La venta de los tubérculos suele realizarse tras el lavado, pero también puede realizarse tras el proceso de secado, en el que se produce una pérdida de peso del orden del 45% (Pascual et al., 1997; CRDO, comunicación personal).

La orden 17/2010 (CAPA, 2010) aprobó el reglamento de la Denominación de Origen Protegida y su consejo regulador, estableciendo las contenidos mínimas de los tubérculos de chufa en: 11% en azúcares, 23% en grasa, 6.5% en proteínas y 25% en almidón. Mediante los procesos de molido, maceración y prensado de los tubérculos, se elabora la horchata, la cual está regulada por la orden 96/4700 (CAMA, 1996), en la que se establecen los contenidos mínimos de la horchata de chufa de Valencia natural: grasas, almidón y azúcares es respectivamente, 2.5%, 2.2% y 12° Brix.

### 3. REFERENCIAS

CAMA (Conselleria de Agricultura y Medio Ambiente) (1996). Orden de 22 de mayo de 1996, de la Conselleria de Agricultura y Medio Ambiente, que establece el Registro de

- Elaboradores y Expendedores de Horchata de Chufa de Valencia, y encomienda su apertura y gestión al Consejo Regulador de la Denominación de Origen Chufa de Valencia. *Diari Oficial de la Generalitat Valenciana*. Num. 2767/11.06.1996:6427-6431.
- CAPA (Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación) (2010). Orden 17/2010, de la Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación, por la que se aprueba el texto del reglamento de la Denominación de Origen Protegida Chufa de Valencia y su consejo regulador. *Diari Oficial de la Comunitat Valenciana*. Num. 6273/24.05.2010:21055-21069.
- Castell Zeising V (1996). *Determinación y tipificación agronómica de clones de chufa (Cyperus esculentus L.) cultivados en l'Horta Nord de Valencia*. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- Defelice MS (2002). Yellow nutsedge *Cyperus esculentus* L.-Snack food of the gods. *Weed Technology*, 16:901-907.
- García-Jiméne, J, Busto J, Armengol J, Martínez-Ferrer G, Sales, R, and García-Morató M (1997). La podredumbre negra o “alquitranat”; un grave problema de la chufa en Valencia. *Agrícola Vergel*, 183, 144-148.
- Holm LG, Plucknett DL, Pancho JV and Herberger JP (1977). *The world's worst weeds: distribution and biology*. The University Press of Hawaii, Honolulu, Hawaii, USA.
- INE (Instituto Nacional de Estadística) (2012). *Encuesta de productos industriales 2007*. Madrid. 6 mayo 2013 <[http://www.ine.es/inebmenu/mnu\\_agricultura.htm](http://www.ine.es/inebmenu/mnu_agricultura.htm)>.
- MAGRAMA (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) (2012). Orden AAA/1403/2012, de 18 de junio, por la que se dispone la concesión de títulos de obtención vegetal en el Registro de Variedades Protegidas. *Boletín Oficial del Estado*. Núm 154/28.06.2012:46064-46065.
- Montaño NJ (2008). *Etiología, epidemiología y control de la necrosis foliar de la chufa (Cyperus esculentus L.)*. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- Mulligan GA & Junkins BE (1976). The biology of Canadian weeds. 17 *Cyperus esculentus* L. *Canadian Journal of Plant Science*, 56, 339-350.
- Negbi M (1992). A sweetmeat plant, a perfume plant and their weedy relatives: a chapter in the history of *Cyperus esculentus* L. and *C. rotundus* L. *Economic Botany*, 46:64-71.
- Pascual B (1981). *Estudio para la mejora de las técnicas de fertilización y cultivo de la chufa (Cyperus esculentus L.) en la provincia de Valencia*. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia.
- Pascual B, Maroto JV, López-Galarza S, Alagarda J and Castell Zeising V (1997). *El cultivo de la chufa. Estudios realizados*. Generalitat Valenciana, Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación, Valencia.
- Pascual-Seva N (2011). *Estudios agronómicos sobre el cultivo de la chufa (Cyperus esculentus L. var. sativus Boeck.): estrategias de riego, tipos de plantación, absorción de nutrientes y análisis fitoquímico*. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València, Valencia.

Summary: *Chufa cultivation (Cyperus esculentus L. var. sativus Boeck.) in Valencia. Cyperus esculentus is one of the principal weeds around the world, Nevertheless, its botanical variety sativus, known as chufa or tigernut, is an important vegetable crop in the region of l'Horta Nord in Valencia. Nowadays, it is also cultivated in Egypt, Niger, Nigeria, Burkina Faso, Ghana, Mali, Senegal, Costa de Marfil y Turkey, as well as, in the previously cited región of l'Horta Nord in Valencia, where around 400 hectares are cultivated, concentrated in 16 municipalities, to obtain chufa tubers for producing horchata.*

**Keywords:** *Tubers, horchata, vegetable crop, weed.*



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Estudio de la flora arvense como posible reservorio natural de agentes implicados en el nuevo problema fitosanitario que afecta a los cultivos de apio y zanahoria en Villena (Alicante)**

F. Rodríguez-León<sup>\*a</sup>, A. Alfaro-Fernández<sup>\*</sup>, M.I. Font<sup>\*</sup>, J. C. Ferrándiz<sup>\*\*</sup>, S. Sanjuán<sup>\*\*</sup>, G.R. Teresani<sup>\*\*\*</sup>, E. Bertolini<sup>\*\*\*</sup>, M. Cambra<sup>\*\*\*</sup>, M. Verdeguer<sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, 46022-Valencia, <sup>a</sup>[paco.rodriiguezleon@gmail.com](mailto:paco.rodriiguezleon@gmail.com)

<sup>\*\*</sup>Agrícola Villena Coop. V., Crta. Del Puerto s/n, 03400-Villena (Alicante).

<sup>\*\*\*</sup>Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Ctra. Moncada a Náquera km 5, 46113-Moncada, Valencia

*Resumen:* En primavera de 2008 apareció una nueva patología en cultivos de apio (*Apium graveolens*) y zanahoria (*Daucus carota*) de la empresa Agrícola Villena Coop. V de Villena (Alicante). que provocó importantes pérdidas en ambos cultivos. Con el fin de identificar posibles reservorios naturales de los agentes implicados en su desarrollo, se tomaron muestras de las especias arvenses presentes en campos de apio y zanahoria y sus alrededores y se realizaron análisis moleculares para la detección de fitoplasmas, *Spiroplasma citri* y "*Candidatus Liberibacter solanacearum*". Se procesaron 135 muestras de flora arvense, algunas presentaban alteraciones en su desarrollo, pero la gran mayoría eran asintomáticas. Se identificaron 58 especies pertenecientes a 23 familias. De los tres agentes fitopatógenos analizados, únicamente se detectaron fitoplasmas en *Setaria adhaerens* y *Amaranthus blitoides*.

**Palabras clave:** *Daucus carota*; *Apium graveolens*; arvenses; cicadélidos; psílidos; fitoplasma; *Spiroplasma citri*; "*Candidatus Liberibacter solanacearum*".

## 1. INTRODUCCIÓN

Desde 2008, un nuevo problema fitosanitario que afecta a los cultivos de apio y zanahoria en Villena (Alicante) se viene repitiendo campaña tras campaña en mayor o menor medida. Según los antecedentes, las sintomatologías anómalas observadas podrían estar causadas por virus, fitoplasmas, *Spiroplasma citri* y "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" (Font *et al.*, 1999; Villaescusa, 2010; Cebrián *et al.*, 2010; Alfaro-Fernández *et al.*, 2012a y b). Como posibles vectores de dichos patógenos se detectó la presencia de hemípteros de las familias *Cicadellidae* y *Aphididae* y de la superfamilia *Psylloidea* en las parcelas afectadas (Villaescusa, 2010; Villaescusa *et al.*, 2011). Dado el carácter polífago de los posibles vectores asociados al problema y a que no existen estudios previos sobre las especies arvenses que podrían estar actuando como reservorio de dichos patógenos en las zonas afectadas, se planteó como objetivo del presente trabajo el estudio de la flora arvense como posible reservorio natural de los patógenos implicados en el nuevo problema fitosanitario que afecta a los cultivos de zanahoria y apio en Villena (Alicante).

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se procedió a la realización de inventarios (unidad 100 m<sup>2</sup>) y toma de muestras de la flora arvense en 4 parcelas y sus alrededores, en tres fechas (12/04/12, 08/05/12 y

03/07/12), muestreando un total de 135 plantas. La cobertura de cada especie se estimó usando los índices de abundancia-dominancia de Braun-Blanquet (Braun-Blanquet, 1979). Las especies muestreadas fueron herborizadas e identificadas, utilizando diversas claves de clasificación Botánica. Las muestras recogidas, tras la extracción previa del ADN, fueron analizadas mediante nested-PCR a fitoplasmas y PCR convencional a *S. citri* y *Ca. L. solanacearum*. Para confirmar la identidad de los fitoplasmas detectados mediante nested-PCR, los productos de PCR obtenidos fueron purificados y secuenciados. Posteriormente, las secuencias obtenidas se compararon con las depositadas en la base de datos del NCBI (*National Center for Biotechnology Information*, [www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) mediante un análisis BLAST.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. *Inventario e identificación de la flora arvense.* De las 135 muestras de arvenses tomadas en las parcelas de apio y zanahoria y sus alrededores se identificaron un total de 58 especies pertenecientes a 23 familias (algunas muestras eran diferentes ejemplares de la misma especie) y se cuantificó su cobertura (Tabla 1).

Tabla 1. Inventarios de las arvenses identificadas en las cuatro parcelas muestreadas. La cobertura de las mismas se indica mediante los índices de abundancia-dominancia de Braun-Blanquet.

|  | 4.12<br>P1 | 5.12<br>P1 | 5.12<br>P2 | 7.12<br>P1 | 7.12<br>P2 | 7.12<br>P3 | 7.12<br>P4 |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>PTERIDOFITAS</b>                              |            |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Equisetaceae</b>                      |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Equisetum ramosissimum</i> Desf.              |            |            |            |            |            | 2-3        |            |
| <b>MONOCOTILEDÓNEAS</b>                          |            |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Amaryllidaceae</b>                    |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Allium ampeloprasum</i> L.                    |            |            |            |            |            |            | +          |
| <b>Familia Asparagaceae</b>                      |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Muscari neglectum</i> Guss. ex Ten.           | +          |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Cyperaceae</b>                        |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Cyperus rotundus</i> L.                       |            | 1-2        | 1          | 2          | 1          | 1          | 1          |
| <b>Familia Poaceae</b>                           |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Bromus madritensis</i> L.                     | +          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Hordeum marinum</i> Huds.                     | 2          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Oryzopsis miliacea</i> (L.) Asch. & Schweinf. |            | +          |            |            |            |            |            |
| <i>Phragmites communis</i> Trin.                 |            |            | 2          |            | 2          |            |            |
| <i>Setaria adhaerens</i> (Forssk.) Chiov.        |            |            |            | 1          |            |            |            |
| <i>Setaria verticillata</i> (L.) P. Beauv.       |            |            |            | 2          |            | 2-3        |            |
| <b>Familia Xanthorrhoeaceae</b>                  |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Asphodelus aestivus</i> Brot.                 |            | +          |            | 2          |            | 2-3        |            |
| <b>DICOTILEDÓNEAS</b>                            |            |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Amaranthaceae</b>                     |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Amaranthus blitoides</i> S.Watson.            |            | 1          | 2          | 2          |            | 1-2        | 1-2        |
| <i>Amaranthus retroflexus</i> L.                 |            | 2          |            | 2-3        |            | 2          | 2          |
| <b>Familia Apiaceae</b>                          |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Daucus carota</i> L.                          |            |            |            | +          |            |            |            |
| <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.                  |            |            |            |            |            |            | 1          |
| <b>Familia Boraginaceae</b>                      |            |            |            |            |            |            |            |

|  | 4.12<br>P1 | 5.12<br>P1 | 5.12<br>P2 | 7.12<br>P1 | 7.12<br>P2 | 7.12<br>P3 | 7.12<br>P4 |
|--|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>Echium italicum</i> L.                  |            |            |            | +          |            |            |            |
| <b>Familia Brassicaceae</b>                |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik. | +          | 1          |            |            |            |            |            |
| <i>Cardaria draba</i> (L.) Desv.           | 1          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Diplotaxis erucooides</i> (L.) DC       | 2          | 2          | 2          |            |            |            |            |
| <i>Eruca vesicaria</i> (L.) Cav.           | +          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Sisymbrella aspera</i> (L.) Spach       | 1          | 2          | 2          |            |            |            |            |
| <i>Sisymbrium irio</i> L.                  | 1          | 2-3        | 2          |            |            |            |            |
| <b>Familia Chenopodiaceae</b>              |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Bassia scoparia</i> (L.) A.J.Scott      |            | 1-2        | 2-3        |            |            |            | 1          |
| <i>Beta vulgaris</i> L.                    |            | 1          |            |            |            |            |            |
| <i>Chenopodium album</i> L.                |            | 2          |            |            |            |            |            |
| <i>Chenopodium opulifolium</i> Schrad.     |            | 1          |            |            |            |            |            |
| <i>Salsola vermiculata</i> L.              | 3-4        | 3-4        |            | 3-4        |            |            |            |
| <b>Familia Compositae</b>                  |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Anacyclus clavatus</i> (Desf.) Pers.    | 1          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Andryala integrifolia</i> L.            |            | +          |            |            |            |            |            |
| <i>Carduus tenuiflorus</i> Curtis          |            | 1          |            |            |            |            |            |
| <i>Centaurea aspera</i> L.                 |            |            |            |            |            |            | +          |
| <i>Chrysanthemum coronarium</i> L.         | +          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Conyza bonariensis</i> (L.) Cronq.      |            |            |            |            |            | 2-3        |            |
| <i>Eryngium campestre</i> L.               |            |            |            |            |            |            | 1-2        |
| <i>Podospermum laciniatum</i> (L.) DC.     | +          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Scolymus hispanicus</i> L.              |            |            |            |            |            |            | 2          |
| <i>Senecio vulgaris</i> L.                 | 1          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Sonchus oleraceus</i> L.                | 1          |            |            | 1          |            |            | 2          |
| <i>Sonchus tenerrimus</i> L.               | +          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Taraxacum dens-leonis</i> Desf.         | +          |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Convolvulaceae</b>              |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Convolvulus arvensis</i> L.             |            |            |            |            | 2          |            |            |
| <b>Familia Euphorbiaceae</b>               |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Euphorbia serrata</i> L.                | +          |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Geraniaceae</b>                 |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Erodium botrys</i> (Cav.) Bertol.       | 1          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Erodium ciconium</i> (L.) L'Hér.        | 2          |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Lamiaceae</b>                   |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Lamium amplexicaule</i> L.              | 1          | 1-2        | 1-2        |            |            |            |            |
| <i>Salvia verbenaca</i> L.                 | +          |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Leguminosae</b>                 |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Medicago minima</i> (L.) L.             |            | 1-2        |            |            |            |            |            |
| <i>Medicago sativa</i> L.                  |            |            |            |            |            |            | +          |
| <b>Familia Malvaceae</b>                   |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Malva neglecta</i> Wallr.               |            |            | 2          | 1          |            | 2          |            |
| <b>Familia Papaveraceae</b>                |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Fumaria officinalis</i> L.              | 1          | 1-2        | 1-2        |            |            |            |            |
| <i>Fumaria parviflora</i> Lam.             | +          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Hypecoum imberbe</i> Sm.                | +          |            |            |            |            |            |            |
| <i>Papaver hybridum</i> L.                 | +          | +          |            |            |            |            |            |
| <i>Papaver rhoeas</i> L.                   | 1          |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Portulacaceae</b>               |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Portulaca oleracea</i> L.               |            | 1-2        |            |            |            |            |            |

|                              | 4.12<br>P1 | 5.12<br>P1 | 5.12<br>P2 | 7.12<br>P1 | 7.12<br>P2 | 7.12<br>P3 | 7.12<br>P4 |
|------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>Familia Ranunculaceae</b> |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Adonis aestivalis</i> L.  | +          |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Resedaceae</b>    |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Reseda alba</i> L.        | +          |            |            |            |            |            |            |
| <b>Familia Urticaceae</b>    |            |            |            |            |            |            |            |
| <i>Urtica urens</i> L.       | 2          | 2-3        | 2          |            |            |            |            |

Cobertura += pocos individuos, muy baja; 1= <5%; 2= 5-25%; 3=25-50%; 4=50-75%

En términos de cobertura total las especies de la familia *Brassicaceae* fueron las dominantes en los primeros inventarios (realizados a principios de abril y mayo).

Es destacable el caso de *Salsola vermiculata*, especie que cubría prácticamente la totalidad de la superficie de una de las parcelas anexas a la parcela muestreada P1, ya que al tratarse de una especie perenne podría ser reservorio de vectores polifagos potencialmente transmisores de los agentes estudiados. Una especie del mismo género, *S. kali*, ha sido descrita como reservorio de *Circulifer tenellus*, uno de los principales vectores de *S. citri* (Bové *et al.*, 1988).

3.2. *Detección de los patógenos estudiados en la flora arvense muestreada.* En las 135 muestras de flora arvense analizadas no se detectó ningún positivo a *Ca. L. solanacearum* ni a *S. citri*. Sin embargo, al analizar las muestras mediante nested-PCR con cebadores universales F2n/R2 de fitoplasmas se obtuvieron 21 positivos (Figura 1).

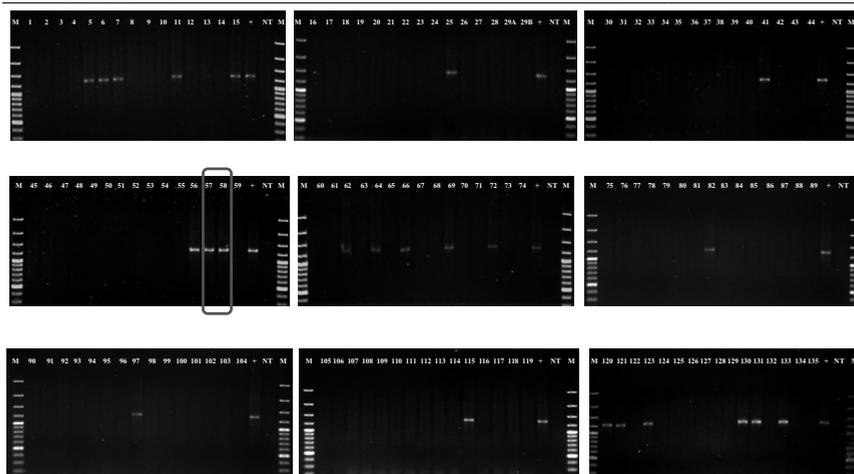


Figura 1. Electroforesis en gel de agarosa de los fragmentos amplificados en la nested-PCR con cebadores universales F2n/R2 de fitoplasmas. En el recuadro se indican las muestras identificadas como fitoplasma.

Los fragmentos amplificados fueron secuenciados e identificados. Únicamente en dos de las muestras positivas se identificaron fitoplasmas. Con las secuencias se comprobó que el resto de amplificaciones obtenidas correspondían a bacterias no fitopatógenas, pertenecientes principalmente al género *Bacillus*, algunas de ellas descritas en muestras vegetales o presentes en la piel humana. De todas las arvenses

identificadas solo dos especies *Setaria adhaerens* y *Amaranthus blitoides* se registraron como hospedantes de fitoplasmas fitopatógenos. Esta última se encontraba en todas las parcelas, con una abundancia por encima de la media.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Actividades financiadas por el proyecto INIA (RTA2011000142-C03-00).

#### 5. REFERENCIAS

- Alfaro-Fernández A, Cebrián C, Villaescusa, F J, Hermoso de Mendoza A, Ferrándiz JC, Sanjuán S and Font MI (2012a). First report of “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” in carrot in mainland Spain. *Plant Disease*, 96, 582.
- Alfaro-Fernández A, Cebrián C, Villaescusa FJ and Font MI (2012b). “*Candidatus Liberibacter solanacearum*” associated with *Bactericera trigonica* affected carrots in the Canary Islands. *Plant Disease*, 96, 581.
- Bové JM, Fos A, Lallemand J, Raie A, Ali Y and Ahmed N (1988). Epidemiology of *Spiroplasma citri* in the old world. *Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Organization of Citrus Virology Conference (IOCV'86)*, Riverside, USA, pp,295-299.
- Braun-Blanquet J. (1979). *Fitosociología. Bases para el estudio de las comunidades vegetales*. H. Blume Ediciones, Madrid (España).
- Cebrián MC, Villaescusa FJ, Alfaro-Fernández A, Hermoso De Mendoza A, Córdoba-Sellés MC, Jordá C, Ferrándiz JC, Sanjuán S and Font MI (2010). First report of *Spiroplasma citri* in carrot in Europe. *Plant Disease*, 94, 1264.
- Font I, Abad P, Albiñana M, Espino AI, Dally EL, Davis RE and Jordá C (1999). Amarilleos y enrojecimientos en zanahoria: una enfermedad a diagnóstico. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas* 25, 405-415.
- Villaescusa F (2010). Avances en el estudio de los agentes implicados en el desarrollo de amarilleos, enrojecimientos y deformaciones en cultivos de apio, zanahoria y chirivía en el Sureste español, y clasificación de sus vectores (cicadelidos, psílidos y áfidos). Trabajo Final de Carrera. ETSIA. 75 pp.
- Villaescusa F, Sanjuan MC, Cebrián A, Alfaro-Fernández A, Font MI, Ferrándiz JC, Hermoso de Mendoza A (2011). Prospección de posibles vectores (Hemiptera: Cicadellidae, Aphididae y Psylloidea) de patógenos en apio y zanahoria. *Boletín de Sanidad Vegetal-Plagas*, 37, 163-171.

Summary: *Study of weeds as potential natural reservoir of pathogens associated to the new disease affecting celery and carrot crops in Villena (Alicante). In spring 2008 a new disease was observed in celery (*Apium graveolens*) and carrot (*Daucus carota*) crops in Villena Agricultural Company Coop. V de Villena (Alicante) causing significant losses in both crops. In order to identify potential natural reservoirs of the agents involved in its development, samples of weeds present in celery and carrot fields and surroundings were classified and subjected to molecular analyzes to detect phytoplasmas, *Spiroplasma citri* and “*Candidatus Liberibacter solanacearum*”. A total of 135 samples were processed, some showed alterations in their development, but the majority were asymptomatic. 58 species were identified belonging to 23 families. Of the three plant pathogens analyzed, only phytoplasmas were detected in *Setaria adhaerens* and *Amaranthus blitoides*.*

Keywords: *Daucus carota; Apium graveolens; weeds; leafhoppers; psyllids; Phytoplasma; Spiroplasma citri; “Candidatus Liberibacter solanacearum”.*



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Influencia de la temperatura de conservación de semillas en posteriores ensayos de germinación. El ejemplo de crucíferas arvenses**

A. Royo-Esnaola<sup>a</sup>, A. Isábal<sup>\*\*</sup>, N. Moix<sup>\*</sup>, J. Torra<sup>\*\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Malherbología y Ecología Vegetal. Dpto HBJ. Agrotecnio, Universitat de Lleida, Avda. Rovira-Roure 191, 25198, Lleida. <sup>a</sup>[aritz.royo@udl.cat](mailto:aritz.royo@udl.cat)

<sup>\*\*</sup> Dpto de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente del Gobierno de Aragón. S.P. Zaragoza, O.C. Zaragoza, Plaza San Pedro Nolasco, 7, 50071, Zaragoza

<sup>\*\*\*</sup>Fundación UdL-IRTA, Agrotecnio, Avda. Rovira-Roure 191, 25198, Lleida

*Resumen:* En el presente trabajo se comparan dos temperaturas de conservación de semillas de cuatro especies de crucíferas, con objeto de conocer cuál de ellas es la más apropiada para almacenarlas desde la recolección hasta la siembra. Las semillas de *Camelina microcarpa*, *Conringia orientalis*, *Neslia paniculata* y *Thlaspi arvense* se conservaron a 4° y 25°C durante 2-4 meses. Posteriormente se pusieron a germinar en cámaras de germinación a temperaturas de entre 5° y 23°C, a intervalos de 3°C. Los resultados indican que la conservación de las semillas en una temperatura que se puede considerar cálida (25°C), son más apropiadas que las tan extendidas temperaturas frías (4°C). Asimismo, todas las especies presentaron mayores porcentajes de germinación a temperaturas frescas (5°-11°C), algo esperable puesto que las cuatro son arvenses de cereales de invierno.

*Palabras clave:* *Camelina microcarpa*, *Conringia orientalis*, *Neslia paniculata*, *Thlaspi arvense*, temperatura, cámaras de germinación.

## 1. INTRODUCCIÓN

Una de las cuestiones que se debe afrontar a la hora de estudiar la germinación y la emergencia de las malas hierbas es cómo conservar sus semillas desde la recolección hasta la siembra. Las condiciones de conservación de las semillas pueden condicionar los resultados de una investigación debido a una “inadecuada” conservación.

Las condiciones de conservación puede afectar a los niveles de dormición y, por lo tanto, a los porcentajes de germinación y emergencia. La dormición primaria, aquella con la que han sido producidas las semillas, puede romperse, como en *Lithospermum arvense* (Chantre *et al.*, 2009) o ser transformada en dormición secundaria, como en *Brassica napus* (Gulden *et al.*, 2004). Existe también la dormición condicionada, estado de transición entre los estados de dormición y no dormición. Por ello las condiciones de conservación de las semillas es un tema crucial para el éxito de los experimentos. Baskin & Baskin (1998) recomiendan conservar las semillas en las condiciones más similares posibles a las que tendrían en el campo, es decir, reproducir las condiciones ambientales de las semillas en la naturaleza. Hazebroek & Metzger (1990a) en cambio conservan las semillas a 5°C.

En el presente trabajo estudiamos la germinación en cámara de semillas de cuatro especies de crucíferas (*Thlaspi arvense*, *Camelina microcarpa*, *Neslia paniculata* y *Conringia orientalis*) conservadas e seco, durante 2 y 4 meses desde el momento de recolección, a dos temperaturas: constante de 4°C y en condiciones de laboratorio, de unos 25°C, con el objeto de saber cuál de las dos condiciones de conservación es la que puede resultar más óptima para futuros estudios.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Las semillas de *Thlaspi arvense*, *Camelina microcarpa*, *Neslia paniculata* y *Conringia orientalis* fueron recolectadas entre finales de Junio y principios de Julio de 2012, en campos de cereal de los municipios de Mezquita de Jarque (40°42'25''N-0°51'50''W), Fuentes Calientes (40°41'42''N-0°59'11''W) y Camarillas (40°38'39''N-0°48'35''W), en la provincia de Teruel. Las semillas, recogidas de frutos maduros, se limpiaron el día siguiente a la recolección. 700 semillas de cada especie fueron conservadas inmediatamente a una temperatura de 4°C. El resto de semillas, se guardaron a temperatura de laboratorio (25 ± 2°C). Con tal de evitar la humedad, todas las semillas se guardaron en botes de vidrio junto con una bolsa de papel de filtro rellena de Silica Gel 2,5-6 mm con indicador PA-ACS.

Antes de las pruebas de germinación, se realizó el test de tetrazolio con 25 semillas de cada especie y tras 48 horas se verificó el porcentaje de viabilidad de las semillas, que resultó ser superior al 90% en todos los casos.

El cuatro de Septiembre de 2012, dos meses después de la cosecha, 300 semillas de cada especie y condición de conservación (4°C y 25°C), se sembraron en 12 placas de Petri (25 semillas/placa), previamente preparadas con un medio de agar, y selladas después con parafilm. Las semillas se colocaron en cámaras de germinación a temperatura constante de 8°C, 14°C y 20°C, en oscuridad completa; se dispuso de cuatro placas de Petri por temperatura de germinación. Se escogió colocar las semillas en oscuridad porque en resultados de una prueba preliminar se comprobó que hubo más germinaciones que alternando oscuridad/luz. A los 21 días se hicieron los recuentos de semillas germinadas.

El 6 de Noviembre de 2012, cuatro meses después de la recolección, el test se repitió de la misma manera (25 semillas/placa; cuatro placas de Petri/temperatura de germinación), pero con cuatro temperaturas diferentes de germinación, 5°C, 11°C, 17°C y 23°C, con un total de 400 semillas por especie.

Los resultados se analizaron, para cada especie, con una ANOVA de dos factores (SPSS 15.0), en la que los factores fueron la temperatura de conservación y la temperatura de germinación. Cuando hubo interacciones entre los dos factores, se pasó a analizar los datos con una ANOVA de un factor. En aquellos casos en los que los datos no superaron las condiciones de normalidad y homoscedasticidad, se procedió a comparar los resultados mediante estadística no paramétrica (Kruskall-Wallis).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una primera visión global (Figura 1) indica que la conservación de estas especies en condiciones de laboratorio (barras grises) permite un porcentaje de germinación significativamente mayor en casi todas las temperaturas estudiadas. Las diferencias más grandes entre medias se observan para *T. arvense* y *C. microcarpa*, las que tuvieron un porcentaje de germinación mayor. A temperaturas constantes de 5° a 14°C, el porcentaje de germinación que presentaron fue significativamente mayor que aquél obtenido para semillas conservadas a 4°C. En el caso de *N. paniculata*, los efectos de las condiciones de conservación de las semillas sólo se observaron en semillas que germinaron entre 5° y 11°C, siendo mayor en las semillas que se guardaron a 25°C. La germinación a 14° y 23°C en *N. paniculata* y a todas las temperaturas en *C. orientalis* fueron muy bajas (4% y 0%) y, aparentemente, no existen diferencias significativas

Por otro lado se observa que los porcentajes de germinación registrados a temperaturas bajas, entre 5° y 11°C en *T. arvense* y *N. paniculata* y entre 5 y 8°C en *C. microcarpa*, son significativamente mayores que los observados a temperaturas más altas (resultados estadísticos no presentados). Los resultados obtenidos en *C. orientalis* son demasiado bajos para poder evaluarlos aunque el mayor porcentaje ha tenido lugar también a 5°C (4%) en semillas conservadas a 25°C.

No es extraño observar una mayor germinación a temperaturas más bajas puesto que las cuatro especies son anuales de invierno y su emergencia en campo se inicia en otoño. Por otro lado, cabe pensar que, precisamente porque son anuales de invierno, la conservación de sus semillas a una temperatura más próxima a aquéllas estivales que tienen lugar en el campo favorece su germinación, mientras que la temperatura fría ha podido inducir dormición en una parte importante de sus semillas, como lo hace cuando están imbibidas y conservadas a 6°C (Hazebroek & Metzger, 1990b). Por lo tanto, tal como indican Baskin & Baskin (1998), la conservación de las semillas en condiciones más similares a las de su propio hábitat serían las más adecuadas, y en el caso concreto de estas cuatro crucíferas, a la hora de experimentar con ellas, es preferible conservar sus semillas a una temperatura de unos 25°C que a temperaturas frías de 4-5°C.

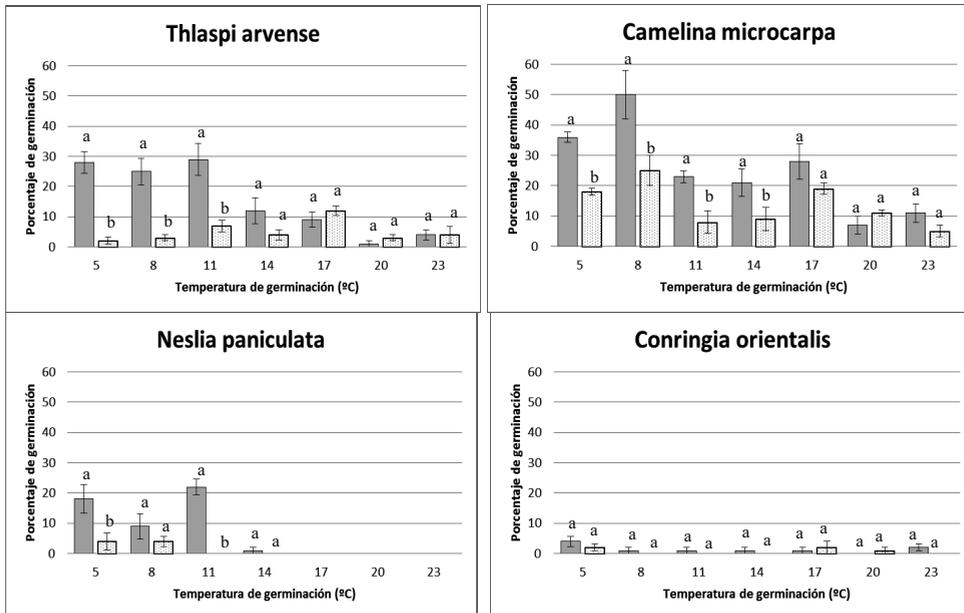


Figura 1: porcentajes de germinación y errores estándares de las cuatro especies de crucíferas, puestas a germinar a temperaturas constantes de 5°, 8°, 11°, 14°, 17°, 20° y 23°C, después de estar conservadas entre dos (8°, 14° y 20°C) y cuatro meses (5°, 11°, 17° y 23°C) en condiciones de laboratorio aproximadamente a 25°C (barras grises) y a 4°C (barras con trama). Las diferentes letras indican diferencias significativas entre las condiciones de conservación para cada temperatura de germinación.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer su colaboración a Laia Mateu, Ana Baños y a Eva Edo, por la ayuda prestada durante el experimento, así como a Jordi Recasens, por el interés y

comentarios realizados respecto a este trabajo. Este estudio ha sido financiado por el proyecto AGL2010-22084-C02-01 del Plan Nacional I+D+i del Ministerio de Educación y Ciencia de España

## 5. REFERENCIAS

- Baskin JM & Baskin CC (1989). Role of temperature in regulating timing of germination in soil seed reserves of *Thlaspi arvense* L. *Weed Research*, 29, 317-326.
- Baskin JM & Baskin CC (1998). *Seeds*. 666 pp. Academic Press. San Diego, California.
- Chantre GR, Batlla D, Sabbatini M & Orioli G (2009). Germination parameterization and development of an after-ripening thermal-time model for primary dormancy release of *Lithospermum arvense* seeds. *Annals of Botany*, 103, 1291-1301.
- Gulden RH, Thomas AG & Shirtliffe AJ (2004). Secondary dormancy, temperature, and burial depth regulate seedbank dynamics in canola. *Weed Science*, 52, 382-388.
- Hazebroek JP & Metzger JD (1990a). Thermoinductive regulation of gibberellin metabolism in *Thlaspi arvense* L. I. Metabolism of [2H]-ent-kaurenoic acid and [14C]gibberellin A12-aldehyde. *Plant Physiology*, 94, 157-165.
- Hazebroek JP & Metzger JD (1990b). Environmental control of seed germination in *Thlaspi arvense* (Cruciferae). *American Journal of Botany*, 77, 945-953.

Summary: Influence of seed storage conditions in forthcoming experiments. The example of arable Brassicaceae. Two temperatures to conserve four Brassicaceae arable weed seeds are compared with the aim to know which one is the most appropriate to store them from collection to sowing. Seeds of *Camelina microcarpa*, *Conringia orientalis*, *Neslia paniculata* and *Thlaspi arvense* were stored at 4° and 25°C for 2-4 months, and then put to germinate in germination chambers between 5° and 23°C, at 3°C intervals. Results show that storage at somehow warm temperatures (25°C) is more appropriate than more widely recommended cool temperatures (4°C). On the other hand, all the species showed higher percentages of germination at cool temperatures (5°-11°C). These results were in accordance with the environmental conditions of these species required to germinate in winter cereal fields

Keywords: *Camelina microcarpa*, *Conringia orientalis*, *Neslia paniculata*, *Thlaspi arvense*, temperature, growing chambers.

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Chemical control of *Equisetum* in railway lines**

F. Lavrador\*<sup>a</sup>, A. Monteiro\*\* , N. Duarte\*\*\*

\*Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Quinta do Marquês, Avenida da República, Oeiras, 2784-505 Oeiras. <sup>a</sup> filipe.lavrador@gmail.com

\*\*Centro de Botânica Aplicada à Agricultura, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal  
anamonteiro@isa.utl.pt

\*\*\* Belchim Crop Protection Portugal, Rua da oliveira, 37 - 2º  
3080-074 Figueira da Foz, Portugal - nuno.duarte@belchim.com

*Resumen: Control químico de Equisetum en vías de ferrocarril. El género Equisetum es uno de los más nocivos en vías de ferrocarril y resulta ser una de las malas hierbas más estudiadas en sistemas de ferrocarril, por todo el mundo. Las plantas de este género son muy difíciles de controlar a través de los métodos más frecuentes de control de malas hierbas en ferrocarriles. Se ha efectuado un ensayo de campo en la línea de ferrocarril del Oeste, Portugal, implantado a 7 de junio de 2011, con dos formulaciones de herbicidas a tres diferentes dosis: flazasulfuron (Katana ®) y triclopir + aminopirialid (Pharaoh ®). La dosis más elevada de flazasulfuron (400 g a.m. ha<sup>-1</sup>) ha demostrado una eficacia de 80%, no estadísticamente diferente de las dosis intermedia y más elevada de triclopir + aminopirialid. Palabras clave: cola de caballo; ferrocarril; flora; malas hierbas; manejo; herbicidas; Portugal.*

## 1. INTRODUCTION

The genus *Equisetum* comprises the most important weeds on railway systems all over the world. In Portugal, the species *Equisetum ramosissimum* Desf. and *Equisetum telmateia* Ehrh. are very abundant in various sites of railroad profile e.g. track, verge, side-walk and bank. This situation leads to great problems in weed management, mainly because *Equisetum* spp. is difficult to control by the majority of weed management techniques. Repeated glyphosate applications in railways increased the weed infestation do probably to the low efficacy of the herbicide and to the decrease of interspecies plant competition, namely light (Hartzler, 2009; Lavrador, 2011).

Mechanical methods vary in efficacy due to the depth of the rhizome system of the weed. Tillage may actually increase the problem by spreading rhizome pieces throughout the area.

There are no known biological agents useful in its control and it responds to herbicides in a very inconsistent manner. A number of ALS inhibitor type herbicides give control (Torstensson & Börjesson, 2004; James & Rahman, 2010) however the relevant ALS compounds are not approved in Portugal. Dichlobenil is cleared for use in non-crop areas and specifies horsetail on its label. The label states to apply it in the late fall or early spring. Triclopyr is reported to have activity on scouring rush *E. hyemale* (Wheater, 2008; James & Rahman, 2010).

The aim of the trials reported here was to evaluate some glyphosate alternative herbicides for the control of *Equisetum ramosissimum* and *E. telmateia* in the railroad profile since

recent portuguese railway manager inquires and railway vegetation surveys pointed to that the necessity.

Herbicides efficacy was evaluated one, two, three and six months after application. Three months after application efficacies of 400 g m.a. ha<sup>-1</sup> flazasulfuron, and 668+72 and 1002+108 g a.m. ha<sup>-1</sup> triclopyr+aminopyralid were not significantly different. Visual interpretation also suggests that flazasulfuron showed higher efficacy against *E. ramosissimum* than to *E. telmateia*.

## 2. MATERIAL AND METHODS

The field trial was conducted at Oeste railway line, in Western between Cela railway halt and Valado railway station (PK 128) nearby the coast town of Nazaré, Portugal, with good visibility and minimizing drift. All plots were infested by high densities, in average 50 plants m<sup>-2</sup>, of weed species, *E. ramosissimum* and *Equisetum telmateia*.

The trial of three completed randomised blocks were laid out along the railway profile, from track to bank. Individual plots were 7.15 wide by 2.8 m long.

The treatments (Table 1) were applied with a pressurised sprayer with a boom with three 8001 Teejet flat-fan nozzles, delivering a volume rate that lightly wetted the foliage (about 330 litres/ha) at 200 kPa, on 7 June 2011 when the average air temperature was 17.2°C, and air humidity varied between 67 - 78% and it was sunny with no wind (SNIRH, 2011).

Stand reduction was measured as number of plants per m<sup>-2</sup>, area replicated three times by plot (which is nine replicates per treatment) 1, 2 and 3 months after treatment. Data were submitted to analysis of variance by the program STATIX 9. Means of number of plants were separated using Fisher's Protected LSD test at the 5% level of significance.

Table 1. Herbicide treatments used in the field trial.

| Nr | Treatment                                | Product name   | Rate<br>(g a.m. ha <sup>-1</sup> ) | Adjuvant | Rate<br>(L. ha <sup>-1</sup> ) |
|----|--|----------------|------------------------------------|----------|--------------------------------|
| 1  | Untreated (control)                      | -              | -                                  | -        | -                              |
| 2  | flazasulfuron                            | Katana, 25% WG | 100                                | Li700    | 0.76                           |
| 3  | flazasulfuron                            | Katana, 25% WG | 200                                | Li700    | 0.76                           |
| 3  | flazasulfuron                            | Katana, 25% WG | 400                                | Li700    | 0.76                           |
| 5  | triclopyr-butotyl+aminopyralid-potassium | Pharaoh        | 334 + 36                           | Li700    | 0.76                           |
| 6  | triclopyr-butotyl+aminopyralid-potassium | Pharaoh        | 668 + 72                           | Li700    | 0.76                           |
| 7  | triclopyr-butotyl+aminopyralid-potassium | Pharaoh        | 1002 + 108                         | Li700    | 0.76                           |

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

Table 2 summarizes the evolution of the efficacy in the six treatments, 1, 2 and 3 months after herbicides application against *E. ramosissimum* and *E. telmateia*.

The rate of 400 g a.m. ha<sup>-1</sup> of flazasulfuron showed significant higher efficacies just after the first month. Three months after the treatments flazasulfuron efficacies were satisfactory and not significantly different from the two higher rates of triclopyr-butotyl + aminopyralid-potassium. Great efficacy variability between replicates was observed.

The chemical control assay against *Equisetum* allows the conclusion that 400 g a.m. ha<sup>-1</sup> flazasulfuron, 688+72 and 1002+108 g a.m. ha<sup>-1</sup> triclopyr + aminopyralid efficacies were not significantly different three months after application.

The treatments were applied in summer which is recommended as the best time to obtain translocation and activity against the root system due to the significant rhizome growth at this time (Marshall, 1986). The results were similar to that reported, by several authors (Ryan 1976, Torstensson & Börjesson 2004; James & Rahman, 2010). Regarding the results of James & Rahman (2010) we believe that in that non-crop field situation where *Equisetum* is well established and has an extensive root system, effective control with herbicides is very difficult and involve many repeated applications.

Table 2 Efficacy of flazasulfuron and triclopyr-butotyl + aminopyralid-potassium against *Equisetum ramosissimum* Desf. and *Equisetum telmateia* Ehrh.

| Active ingredients (g a.i. L <sup>-1</sup> ) | Rate<br>(g a.m.<br>ha <sup>-1</sup> ) | Efficacy (% of control) |         |        |
|--|---------------------------------------|-------------------------|---------|--------|
|  |                                       | 1maa                    | 2maa    | 3maa   |
| flazasulfuron                                | 100                                   | 3.8b                    | 38.0c   | 64.2bc |
| flazasulfuron                                | 200                                   | 20.4ab                  | 53.7abc | 65.9bc |
| flazasulfuron                                | 400                                   | 25.0a                   | 80.5a   | 87.6a  |
| triclopyr-butotyl + aminopyralid-potassium   | 334 + 36                              | 6.5b                    | 49.6bc  | 51.3c  |
| triclopyr-butotyl + aminopyralid-potassium   | 668 + 72                              | 4.4b                    | 53.2abc | 70.7ab |
| triclopyr-butotyl + aminopyralid-potassium   | 1002 + 108                            | 20.8ab                  | 70.3ab  | 79.4ab |

m.a.a. months after treatment; Different letters by columns indicate significant differences by LSD test at the 5% level of probability.

#### 4. ACKNOWLEDGEMENTS

We wish to thank to REFER EPE and Belchim Crop Protection Portugal, for technical support.

#### 5. REFERENCES

- Hartzler B. (2009) *Equisetum: Biology and Management*. <http://www.weeds.iastate.edu/mgmt/2009/equisetum.pdf> Accessed: 28 April 2013.
- James TK & Rahman A (2010). Chemical control of field horsetail (*Equisetum arvense*). *New Zealand Plant Protection*, 63, 102-107
- Lavrador FAC (2011). Vegetação Infestante da Linha Ferroviária do Oeste. Controlo Químico de *Equisetum*. *Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agronómica*. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

- Marshall G (1986). Growth and development of field horsetail (*Equisetum arvense* L.). *Weed Science*, 34, 271-275.
- Ryan GF (1976). Chemical control of field horsetail. *Weed Science*, 24, 401-404.
- SNIRH. Serviço Nacional de Informação de Recursos Hídricos. Dados da estação meteorológica de Cela. <http://www.snirh.pt>. Accessed: 29 July 2011.
- Torstensson L & Börjesson E (2004). Use of imazapyr against *Equisetum arvense* on Swedish railway tracks. *Pest Management Science*, 60, 565-569.
- Wheater J (2008). Horsetail control - the ultimate challenge: Can you hack it?. *International Turfgrass Bulletin*, 241, 30-31.

Summary: *Chemical control of Equisetum in railway lines. In Portugal, the species Equisetum ramosissimum and Equisetum telmateia are very abundant in various sites of railroad profile e.g. track, verge, side-walk and bank. In Spring of 2011, a field experiment was carried out on Oeste railway line, in Western Portugal (PK 128), with flazasulfuron and triclopyr+aminopyralid to control Equisetum spp. The assayed rates were: 100, 200 and 400 g a.m. ha<sup>-1</sup> of flazasulfuron and 334+36, 668+72, 1002+108 g a.m. ha<sup>-1</sup> triclopyr+aminopyralid. All plots included all railroad profile, from track to bank, and were infested by high densities of both plant species. Herbicides efficacy was evaluated one, two, three and after application. Three months after application, the efficacy of the highest rates of flazasulfuron (400 g a.m. ha<sup>-1</sup>), and triclopyr+aminopyralid (1002+108 g a.m. ha<sup>-1</sup>) were ca. 80 and 70 %. Visual interpretation also suggests that flazasulfuron showed higher efficacy against E. ramosissimum than to E. telmateia.*

Key words: Railway; flora; weeds; management; herbicides; horsetail; Portugal.

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Producción y distribución de biomasa en *Solanum nigrum* y *Conyza bonariensis* en respuesta a la fuente y dosis de nitrógeno**

J.S. Rubio-Asensio<sup>a</sup>, E. Bardisi, C. Lopez-Berenguer, J. García de la Garma-García, N. Fernández-García, E. Olmos.

Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, 30100-Murcia,  
<sup>a</sup>[jsrubio@cebas.csic.es](mailto:jsrubio@cebas.csic.es)

*Resumen:* La producción de biomasa y su distribución son estudiadas en *Solanum nigrum* y *Conyza bonariensis* en respuesta a la fuente y dosis de nitrógeno (N) en un experimento en hidroponía. Tanto la fuente como la dosis de N empleada afectaron la producción y distribución de biomasa entre la parte aérea y la raíz. El incremento de biomasa fue mayor al aumentar la dosis de  $\text{NO}_3^-$  que de  $\text{NH}_4^+$ . El empleo de amino ácidos como fuente de N redujo la biomasa de estas malas hierbas comparado con el empleo de  $\text{NO}_3^-$ . De estos resultados podemos avanzar que en un escenario de agricultura convencional, y con el uso masivo de  $\text{NO}_3^-$  como fertilizante, la competencia por agua y nutrientes de estas malas hierbas será mayor en perjuicio de los cultivos.

**Palabras clave:** Nitrógeno, *Solanum nigrum*, *Conyza bonariensis*, competencia

## 1. INTRODUCCIÓN

*Solanum nigrum* (SN) y *Conyza bonariensis* (CB) son dos especies de malas hierbas de amplia distribución que destacan por su competencia con los cultivos y la dificultad de controlarlas. En climas mediterráneos y en los meses estivales, SN y CB predominan sobre otras malas hierbas y la competencia por agua y nutrientes es muy elevada. Como norma general, las plantas varían en sus preferencias por la fuente de nitrógeno (N), y un cambio de  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NH}_4^+$ , o de agricultura convencional a ecológica, podría afectar a las relaciones entre las distintas especies de malas hierbas y el cultivo, si éste y las malas hierbas difieren en sus preferencias por la fuente de N (Ponce & Salas 1999, Efthimiadou *et al.*, 2012). Por otro lado, aunque es bien sabido que SN y CB son más abundantes en sistemas de cultivo con altas concentraciones de N (Croster & Masiunas 1998), existe poca información sobre el efecto de la dosis de N en la distribución de biomasa entre parte aérea vs raíz. Además, la eficiencia con que una especie de mala hierba puede competir con un cultivo por agua y por N podría estar determinada en gran medida por la distribución de biomasa aérea y raíz, y por su capacidad para modificar esta distribución (Cambui *et al.*, 2011). Para desarrollar estrategias de control de dichas malas hierbas es necesario evaluar cómo la fertilización con N afecta su desarrollo. Por tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la fuente ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_4^+$ ) y dosis (2 mM, 0.2 mM) de N en la producción de biomasa y su distribución entre la parte aérea vs raíz de SN y CB. Además, en un escenario con fertilización (2 mM de N) se compararon fuentes de N sintéticas a base  $\text{NO}_3^-$  o  $\text{NH}_4^+$  con una fuente de N alternativa que consistió en amino ácidos (AA) procedentes de restos vegetales.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron semillas de *SN* y *CB* recolectadas en un campo de cultivo de cítricos, en Alhama de Murcia, Murcia, España. Un total de 50 semillas de cada especie se germinaron en arena humedecida con solución nutritiva (Epstein & Bloom 2005) rebajada 1/5 y en oscuridad a 25°C durante 5 y 10 días, respectivamente. En el caso de *CB*, tras el periodo en oscuridad, se mantuvieron otros 16 días en arena y expuestas a luz ( $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) hasta que alcanzaron un tamaño adecuado para ser trasladadas a cultivo hidropónico. A los 5 y 26 días después de la siembra de *SN* y *CB*, las plántulas se trasladaron a solución nutritiva completa modificada según los tratamientos. Estos consistieron en 2 mM  $\text{NO}_3^-$ , 0.2 mM  $\text{NO}_3^-$ , 2 mM  $\text{NH}_4^+$ , 0.2 mM  $\text{NH}_4^+$  y 2 mM de AA y se realizaron cambiando la dosis de  $\text{KNO}_3$  o  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y ajustando el K con  $\text{K}_2\text{SO}_4$ . Los AA se obtuvieron de un preparado comercial (Pureco Aa) que contenía un 7% en AA libres procedentes de restos vegetales. A continuación, las plantas se instalaron en cámara de crecimiento controlado con un ciclo de luz de 16 horas e intensidad de  $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , y temperaturas de 28/20°C día/noche y humedad relativa de 50/80% día/noche. Las plantas de *SN* y *CB* fueron recolectadas a las 40 y 94 días después de su siembra, respectivamente, tras mantenerse en los tratamientos arriba descritos durante 35 días en el caso de *SN* y 68 días en el caso de *CB*. Para los cálculos de biomasa, se recolectaron las partes aérea y radicular de cada especie, se desecaron en estufa 72 horas a 60°C y posteriormente se pesaron. Las diferencias entre tratamientos se estudiaron mediante un análisis de varianza usando el software estadístico SPSS.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto de la fuente de nitrógeno en la biomasa total, es decir parte aérea y raíz de las plantas de *SN* dependió de la dosis utilizada (Fig. 1 y 2; Tabla 1). A dosis altas (2 mM) las plantas fertilizadas con  $\text{NO}_3^-$  aumentaron las partes aérea y radicular al final del experimento con respecto a las plantas fertilizadas con  $\text{NH}_4^+$ , mientras que a dosis bajas (0.2 mM) no hubo diferencias significativas en dicha biomasa entre las plantas fertilizadas con  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NH}_4^+$ . La proporción parte aérea vs raíz fue mayor en las plantas con 2 mM de  $\text{NH}_4^+$ , seguido de las plantas con 2 mM  $\text{NO}_3^-$ , y los valores mas bajos e iguales entre sí fueron para las plantas fertilizadas con 0.2 mM de  $\text{NO}_3^-$  o  $\text{NH}_4^+$ .

En plantas de *CB*, la biomasa total y la biomasa de la parte aérea fueron mayores usando  $\text{NO}_3^-$  como fuente de N independientemente de la dosis utilizada (Fig. 1 y 2; Tabla 1). Así mismo, las plantas con dosis alta (2 mM) presentaron más biomasa aérea para cualquier fuente de N. En el caso de la raíz, las plantas con  $\text{NO}_3^-$  acumularon más biomasa radicular, pero la dosis de N no afectó a su crecimiento. En cuanto a la proporción parte aérea vs raíz, fue mayor en las plantas con dosis alta independientemente de la fuente de N.

Cuando se compararon las distintas fuentes de N con dosis alta [2 mM  $\text{NO}_3^-$ , 2 mM  $\text{NH}_4^+$  y 2 mM AA] se observó que tanto en *SN* como en *CB*, las plantas con  $\text{NO}_3^-$  tienen la mayor producción de biomasa y que entre 2 mM  $\text{NH}_4^+$  y 2 mM AA no hay diferencias, excepto en la biomasa de raíz de *SN* que fue mayor con AA, reduciendo con ello la proporción parte aérea vs raíz (Fig. 1 y Fig 2; Tabla 1).

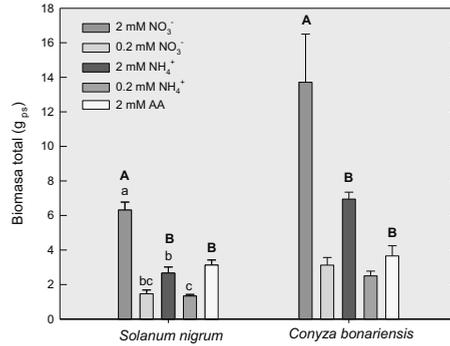


Fig. 1. Efecto de los tratamientos; i) fuente ( $\text{NO}_3^-$  vs.  $\text{NH}_4^+$ ) y dosis (2 mM vs 0.2 mM) de N, y ii) fuente alternativa de N (2 mM  $\text{NO}_3^-$ , 2 mM  $\text{NH}_4^+$ , 2 mM AA) en la biomasa total de *SN* y *CB* al final del experimento (40 y 94 días después de la siembra en *SN* y *CB*, respectivamente). Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos (en minúscula se corresponden con el primer experimento, y en mayúscula y negrita con el segundo).

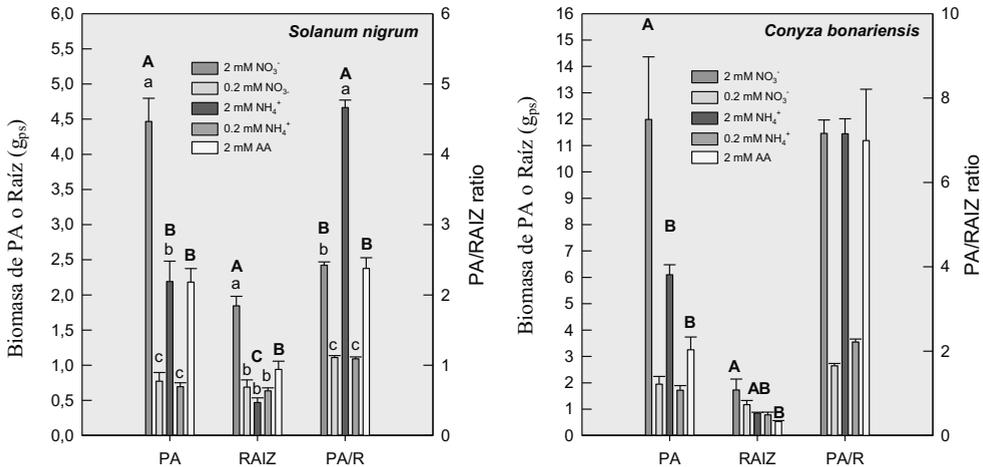


Fig. 2. Efecto de los tratamientos; i) fuente ( $\text{NO}_3^-$  vs.  $\text{NH}_4^+$ ) y dosis (2 mM vs 0.2 mM) de N, y ii) fuente alternativa de N (2 mM  $\text{NO}_3^-$ , 2 mM  $\text{NH}_4^+$ , 2 mM AA) en la biomasa de parte aérea (PA) y raíz (R) y el ratio parte aérea/raíz de *SN* y *CB* al final del experimento (40 y 94 días después de la siembra en *SN* y *CB*, respectivamente). Letras diferentes sobre las barras indican diferencias significativas entre tratamientos (en minúscula se corresponden con el primer experimento y en mayúscula y negrita con el segundo).

Los resultados muestran que tanto la fuente como la dosis de N tienen un efecto relevante en la producción y distribución de biomasa en *SN* y *CB*, lo cual podría tener consecuencias en la competencia por recursos con los cultivos y en la abundancia de estas malas hierbas. Estudios en comunidades de malas hierbas (*Schizachyrium scoparium*, *Cyperus* spp., *Setaria viridis*, y *Panicum capillare*) revelan la importancia de la fuente y dosis de N en el grado de competencia entre ellas, y destacan el papel que esta competencia podría tener en la composición de la comunidad de dichas malas hierbas (Wilson & Tilman 1993). Estudios que comparan la respuesta a la fertilización con N de varias especies de malas hierbas en

diferentes cultivos muestran que, en general, el crecimiento de la mala hierba es mayor que el del cultivo. Así se ha constatado en *Solanum ptycanthum* comparado con guisante (Croster & Masiunas 1998) o en *Abutilon theophrasti* comparado con maíz (Barker *et al.*, 2006), sugiriéndose en estos trabajos la conveniencia de utilizar suelos con niveles bajos de N o de fertilizar con dosis bajas de N. Nuestros resultados indican que la fuente de N, además de la dosis, tiene un efecto significativo en la producción y distribución de biomasa, por tanto el grado de competencia entre la mala hierba y cultivo podría estar también determinado por la fuente de N predominante en el suelo.

Tabla 1. Análisis en la producción y distribución de biomasa de los factores principales; fuente ( $\text{NO}_3^-$  vs  $\text{NH}_4^+$ ) y dosis (2 mM vs 0.2 mM) de N y su interacción (F x D), y análisis de varianza para los tratamientos con 2 mM de N; 2 mM  $\text{NO}_3^-$ , 2 mM  $\text{NH}_4^+$  y 2 mM de N en forma de amino ácidos (AA). PA = parte aérea, R = raíz.

|                           | Biomasa total | PA/ R | Biomasa PA | Biomasa Raíz |
|---------------------------|---------------|-------|------------|--------------|
| <i>Solanum nigrum</i>     |               |       |            |              |
| Fuente                    | ***           | ***   | ***        | ***          |
| Dosis                     | ***           | ***   | ***        | ***          |
| F x D                     | ***           | ***   | ***        | ***          |
| 2 mM N                    | ***           | ***   | ***        | ***          |
| <i>Conyza bonariensis</i> |               |       |            |              |
| Fuente                    | *             | Ns    | *          | *            |
| Dosis                     | ***           | ***   | ***        | Ns           |
| F x D                     | Ns            | Ns    | Ns         | Ns           |
| 2 mM N                    | **            | Ns    | **         | Ns           |

\*, \*\* y \*\*\* indican diferencias significativas al 0.05, 0.01 y 0.001 nivel de probabilidad, respectivamente; Ns indica que no hay diferencias significativas.

En este sentido, sugerimos que el aumento del crecimiento (en términos de producción de biomasa) de plantas de *SN* y *CB* sería mayoritario en cultivos donde la fertilización es a base de  $\text{NO}_3^-$ , es decir, en cultivos gestionados de forma tradicional. Ello redundaría en una competencia elevada entre dichas malas hierbas y el cultivo, con el consiguiente perjuicio para éste. Por el contrario, cuando la fertilización es a base de  $\text{NH}_4^+$  o en cultivos ecológicos que dependen del uso de compuestos de N orgánico, como los amino ácidos, el aumento de la dosis de N implicaría una competencia menor entre estas malas hierbas con el cultivo, lo cual conlleva una situación más beneficiosa para éste. Así, en *SN*, pero no en *CB*, se ha constatado su alta afinidad por  $\text{NO}_3^-$  en estudios de competencia por  $\text{NO}_3^-$  con tomate y pimiento (Ponce & Salas 1999). Por otro lado, el hecho de que las dos especies de malas hierbas estudiadas redujeran drásticamente la proporción parte aérea vs raíz con dosis bajas de  $\text{NO}_3^-$  o  $\text{NH}_4^+$ , indica su alto grado de adaptabilidad a la limitación de N, y por tanto, las haría altamente competitivas en un escenario donde la fertilización es escasa o nula.

De nuestro estudio podemos avanzar que la fertilización con N, donde la fuente y la dosis son variables importantes en distintas formas de técnicas agrícolas (de conservación, tradicional, ecológica, entre otras), podría tener gran importancia en la competencia de las malas hierbas con los cultivos, y por tanto, en la implantación de estrategias de control. Destacamos el hecho de que si en un cultivo que necesita fertilización se utilizan  $\text{NH}_4^+$  o AA, se reduce de manera considerable la biomasa aérea y por tanto la altura de ambas malas hierbas. Ello ayudaría tanto a su control de forma mecánica, ya que no se entrelazarían las partes aéreas de la mala hierba y el cultivo facilitando su corte, como a su control de forma química, puesto que los herbicidas serían más eficaces. Todo esto en aquellos cultivos que la aplicación de

$\text{NH}_4^+$  o AA, bien de forma puntual o permanente, no suponga un perjuicio en su rendimiento. Por otro lado, consideramos que no utilizar  $\text{NO}_3^-$  como fertilizante, como es el caso de la agricultura ecológica, reduciría también la biomasa de malas hierbas, y ello sería un factor a tener en cuenta en la toma de decisiones sobre qué tipo de agricultura practicar.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

A esta investigación ha contribuido la financiación recibida por el contrato “Juan de la Cierva” a JSRA y el proyecto AGL2012-33690 a EO del Ministerio de Economía y Competitividad. Agradecemos también a Andrés Rubio Alcón por el suministro de las semillas.

#### 5. REFERENCIAS

- Barker DC, Knezevic SZ, Martin AR, Walters DT and Lindquist JL (2006). Effect of nitrogen addition on the comparative productivity of corn and velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). *Weed Science*, 54, 354-363.
- Cambui CA, Svennerstam H, Gruffman L, Nordin A, Ganeteg U and Nasholm T (2011). Patterns of plant biomass partitioning depend on nitrogen source. *PLoS One*, 6, e19211.
- Croster MP & Masiunas JB (1998). The effect of weed-free period and nitrogen on eastern black nightshade competition with English pea. *Hortscience*, 33, 88-91.
- Efthimiadou A, Froud-Williams RJ, Eleftherohorinos I, Karkanis A and Bilalis DJ (2012). Effects of organic and inorganic amendments on weed management in sweet maize. *International Journal of Plant Production*, 6, 291-307.
- Epstein E & Bloom AJ (2005). *Mineral Nutrition of Plants: Principles and perspectives* 2edition. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Ponce RG & Salas ML (1999). Differential utilization of nitrates by solanaceous species, crops (tomato and pepper) and weeds (black nightshade and thorn apple). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 74, 254-258.
- Wilson SD & Tilman D (1993). Plant competition and resource availability in response to disturbance and fertilization. *Ecology*, 74, 599-611.

Summary: *Biomass production and partitioning in Solanum nigrum and Conyza bonariensis in response to nitrogen source and dose. Biomass production and partitioning are studied in Solanum nigrum and Conyza bonariensis weeds in response to nitrogen form and dose in a hydroponics experiment. Both form and dose of nitrogen (N) affected biomass production and partitioning between shoot and root. Total biomass was higher by increasing  $\text{NO}_3^-$  dose than by increasing  $\text{NH}_4^+$  dose. The use of amino acids as N source reduced total weed biomass when compared with  $\text{NO}_3^-$  fertilizer. In view of the results, the competition between weeds and crops would increase under conventional agriculture that uses  $\text{NO}_3^-$  as fertilizer. Low supply of  $\text{NO}_3^-$  or  $\text{NH}_4^+$  decreased the shoot to root ratio. It could make these weeds highly adapted to low N environments and therefore highly competitive even under low N inputs.*

Keywords: Nitrogen fertilization, *Solanum nigrum*, *Conyza bonariensis*, Competition.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

### **Comparación de dos métodos de extracción de proteínas para la hoja de *Echinochloa* spp y posterior análisis en electroforesis bidimensional.**

A. Díaz\*, J. Frutos\*, E. Giraldo\*, E. Senero\*\*, M.D. Osuna\*\*\*<sup>a</sup>

\* Departamento de Vegetales. Laboratorio de Proteómica. Instituto Tecnológico Agroalimentario (INTAEX) (Gobierno de Extremadura), Avda. Adolfo Suárez, s/n., 06071-Badajoz\*\*Departamento de Hortofruticultura, Centro de Investigación Finca La Orden-Valdesequera (Gobierno de Extremadura), Ctra. A-V Km 372, 06187- Guadajira (Badajoz), <sup>a</sup>mariadolores.osuna@juntaextremadura.net

*Resumen:* Estudios publicados han demostrado como la aplicación de las técnicas de proteómica pueden ayudar en Malherbología para entender los mecanismos implicados en la resistencia de malas hierbas a herbicidas. Se está realizando un proyecto para estudiar diferencias entre biotipos resistentes y sensibles a herbicidas de *Echinochloa* spp. Como primer paso, se realizó un estudio para comparar dos protocolos de extracción de proteínas para análisis proteómico 2-DE utilizando tejido foliar de *Echinochloa* spp.: fenol y TCA-acetona, con el fin de determinar su eficacia en la focalización, reproducibilidad, resolución, intensidad de spots y únicos detectados. En base a los resultados obtenidos en este trabajo, se puede concluir que el método de fenol proporciona geles de mejor calidad en términos de resolución y separación de proteínas.

*Palabras clave:* proteómica, resistente, *Echinochloa*.

## **1. INTRODUCCIÓN**

La proteómica ha sido ampliamente utilizada en plantas, especialmente en cultivos importantes desde el punto de vista agronómico y en malas hierbas para intentar identificar mecanismos de tolerancia y resistencia a los herbicidas (Zhang & Riechers, 2008). El paso más importante en cualquier estudio de proteómica es la extracción y preparación de las muestras. En este sentido, el análisis proteómico de tejidos vegetales suele ser más problemático que el de otros organismos. Ello es debido a que además de tener concentraciones relativamente bajas de proteínas, los tejidos vegetales son a menudo ricos en proteasas y en materiales que interfieren con la separación de proteínas y su análisis, incluyendo la pared celular, lípidos, compuestos fenólicos y una amplia variedad de metabolitos secundarios (Saravanan & Rose, 2004).

En este trabajo se han estudiado dos métodos de extracción de proteínas en *Echinochloa* spp., como primer paso para optimizar el estudio posterior de aplicación de técnicas de proteómica para detectar el mecanismo de resistencia en poblaciones resistentes a herbicidas. Para ello se han comparado las cantidad de proteína extraída, la calidad de la separación por electroforesis 2-DE obtenida, así como la naturaleza de las proteínas obtenidas en cada uno de los protocolos de extracción utilizados.

## **2. MATERIAL Y MÉTODOS**

Se ha utilizado material vegetal proveniente de poblaciones de *Echinochloa* en distintos campos de cultivos de la región arrocera de Extremadura durante las campañas 2009 y 2010. En el invernadero se crecieron las plantas, de las que se recogieron hojas, hasta el estadio de 3-4 hojas, se transportó al laboratorio de proteómica se lavaron con agua destilada y secaron

con papel de filtro, después se pulverizaron mediante un mortero con nitrógeno líquido y se almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su extracción. Para optimizar los diferentes protocolos de extracción, previamente se probaron diferentes cantidades de tejido de plantas (0,5; 1; 1,5; 4 y 5 gramos).

Se planteó una aproximación proteómica de *Echinochloa* spp. para tener una visión global del proteoma de dicha planta. Para ello se optimizaron dos métodos distintos de extracción de proteínas: fenol y tricloroacético (TCA)/acetona para determinar su eficacia en la focalización, reproducibilidad, resolución e intensidad de spots. Se realizó una electroforesis bidimensional (2-D) de acuerdo con métodos desarrollados con éxito. Los geles se tiñeron con azul Coomassie G-250 y con nitrato de plata compatible con espectrometría de masas. El último paso consistió en la digitalización y análisis de imágenes de geles bidimensionales.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un método ideal sería aquel altamente reproducible, que representara el mayor número de proteínas, mientras reduce el contenido de contaminantes y minimiza los artefactos proteicos resultado de la degradación y modificación proteica (Maldonado *et al.*, 2008). Se eligieron estos dos métodos basándonos en el estudio realizado anteriormente por Sheoran *et al.* (2009) en el cual se concluía que eran los más apropiados para el análisis proteómico en plantas.

Se realizó el análisis de las muestras mediante 2-DE a un pH de entre 3 y 11 y una masa molecular de 10 y 200 Kda, con 3 réplicas de cada protocolo.

La concentración total de proteínas extraídas varió en función del método utilizado. Para la extracción, con el método de TCA/Acetona se obtiene mayor rendimiento proteico ( $0,334\pm 0,068$  mg/g) frente al del fenol ( $0,265\pm 0,009$ mg/g). Esto puede ser debido a una sobrestimación debido a la presencia de impurezas y pequeños péptidos que se eliminan en otros métodos. Ocurre de igual manera en la cantidad de pellet que en protocolo de TCA/Acetona quedan más residuos que en el de fenol.

En el protocolo de fenol se resolvieron 164 spots y de TCA/Acetona 151, de los cuales 142 son reproducibles y de éstos reproducibles, 58 son comunes en ambos protocolos y muestran de éstos muestran diferencias significativas 39 (Tabla1 y Figura 1).

Se utilizó la misma concentración de proteína en la realización de ambos protocolos y se separaron mediante 2-DE bajo las mismas condiciones. Los geles representativos teñidos mediante se muestran en la figura 1. En ambos protocolos se observa que están bien resueltos y se obtiene un patrón parecido sin embargo existen diferencias cuantitativas y cualitativas. La glicosilación puede contribuir en las diferencias observadas en los patrones proteicos de 2-DE, afectando a la solubilidad de la proteína bajo diferentes condiciones de extracción (Saravanan y Rose, 2004).

El número de spots en los geles 2-DE, su resolución y reproducibilidad depende también del tipo de tejido, es por ello se puede concluir que basándonos en los resultados encontrados en este trabajo, en hojas de *Echinochloa* spp, el protocolo de fenol resulta en geles de mejor calidad en términos de resolución y separación de proteínas. El siguiente paso en esta investigación es utilizar este método de extracción en plantas resistentes y sensibles tratadas con herbicida, y utilizar la técnica de la proteómica como método de identificación de proteínas que se expresen diferencialmente y que puedan contribuir a un mejor conocimiento del modo de acción de dicho herbicida.

Tabla 1. Características asociadas al protocolo de extracción proteica

|             | Pellet<br>(mg/g±SD) | Rendimiento<br>(mg/gmuestra±SD) | Spots/Gel | Spots diferenciales |         | Comunes<br>Dif. Sig. | Spots<br>Reproducibles |
|-------------|---------------------|---------------------------------|-----------|---------------------|---------|----------------------|------------------------|
|             |                     |                                 |           | Únicos              | Comunes |                      |                        |
| Fenol       | 76,56±23,17         | 0,27±0,01                       | 164       | 58                  | 58      | 39                   | 142                    |
| TCA/Acetona | 116,5±20,06         | 0,33±0,07                       | 151       | 26                  |         |                      |                        |

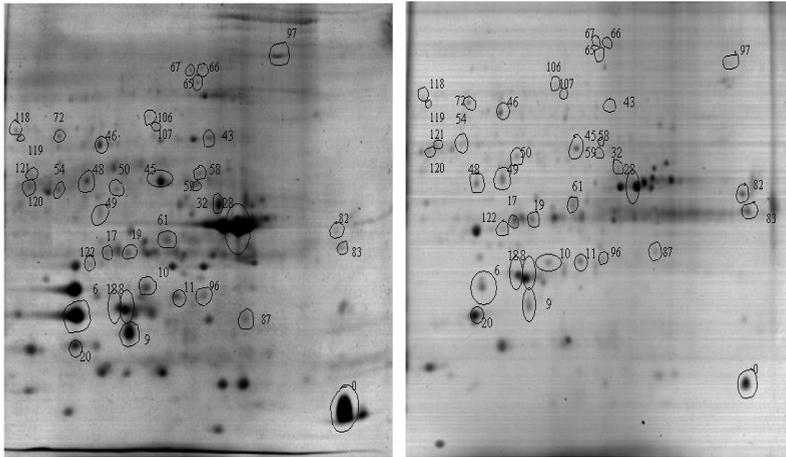


Figura1. Estudio comparativo de extracción proteica basada en fenol 1a) y TCA-Acetona 1b), teñidos con coomassie Blue G-250, en los que se muestran los spots comunes en ambos protocolos con diferencias significativas.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos IB10079 (Junta de Extremadura) y AGL2011-27714 (Ministerio de Ciencia e Innovación), y por ayuda del grupo GR10130 (Junta de Extremadura).

#### 5. REFERENCIAS

- Maldonado A.M., S. Echevarría-Zomeño, S. Jean-Baptiste, M. Hernández, J.V Jorrín –Novo (2008). Evaluation of three different protocols of protein extraction for *Arabidopsis thaliana* leaf proteome analysis by two-dimensional electrophoresis. *Journal of Proteomics* 71, pp. 461-472
- Saravanan R.S., J.K.C.Rose. (2004) A critical evaluation of sample extraction techniques for enhanced proteomic analysis of recalcitrant plant tissues, *Proteomics* 4, pp.2522-2532.
- Sheoran I.S, A.R.S.Ross, D.J.H.Olson, V.K. Sawhney (2009) Compatibility of plant protein extraction methods with mass spectrometry for proteome analysis. *Plant Sci.* 176, pp. 99-104

Summary: *Comparison of two protein extraction methods for Echinochloa spp. leaf and subsequent two-dimensional electrophoresis analysis.* Previous studies have shown that the application of proteomics techniques can help to understand the mechanisms involved in weed resistance to herbicides. The main objective of this work was to study differences between resistant and sensitive biotypes of *Echinochloa* spp. As a first step, we conducted a study to compare two protocols of protein extraction for 2-DE proteomic analysis using *Echinochloa* leaf tissue : phenol and TCA-acetone, in order to determine their efficacy in targeting, reproducibility, resolution, intensity and unique spots detected. Based on the results obtained in this study, it can conclude that the method of phenol provides better quality gels in terms of resolution and protein separation.

Keywords: proteomic analysis, resistant, *Echinochloa*

---

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013**Weed management in Italian rice fields**

Francesco Vidotto, Aldo Ferrero

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari. Università di Torino  
Via Leonardo da Vinci, 44 – 10095 Grugliasco (TO)**1. WEEDS OF ITALIAN RICE FIELDS**

Historical information on weeds in rice in Italy dates back to 1800's, when Giovanni Biroli (1807) reported, as biggest weed problems, the sedges *Cyperus longus* and *Scirpus mucronatus* and the barnyardgrasses, particularly *Echinochloa crus-galli*. At the beginning of the 1900s, Jacometti (1912) highlighted listed 133 species, remaining constant until the middle of the 1950s, when the diffusion of new techniques of rice cultivation began. In particular, the shift from transplanting to direct seeding, the abandonment of hand weeding, and the introduction of short-stature rice varieties resulted in the worsening of weed infestations. The first widespread use of herbicides was specifically aimed at controlling *Alismataceae* species and sedges. The tradeoff was increased dominance of grasses, especially *Echinochloa*. Nowadays, the Italian rice field ecosystem is notably complex and includes species which compete with rice in the paddy fields and also those present in other areas, such as levees, ditches, canals, and paths.

Based on the practices adopted for their control, the major weed species in Italian rice fields can be grouped as follows: (1) *Echinochloa* spp.; (2) various weedy rice biotypes; (3) *Heteranthera* species; (4) Alismataceae, Cyperaceae (sedges) and Butomaceae species ; (5) weeds of the drill-seeded fields; and (6) other weeds of minor importance that are normally not subjected to specific interventions.

**1.1. *Echinochloa* spp.**

The genus *Echinochloa* accounts for several of the most important weed species in many crops and are major weeds in European rice fields (Vidotto et al. 2007). Variability of phenological and ecological traits, such as plant size, tillering ability, seed dimension and germination behavior, even within the same species, is widely documented (Barret and Wilson 1983). Species identification in the field is difficult. The main species are *E. crus-galli* (L.) P. Beauv., *E. crus-pavonis*(Kunth) Schult., *E. oryzoides* (Ard.) Fritsch, *E. Erecta* (Pollacci) Pign., and *E. Phyllopon* auct. non Stapf.

The chemical control of this species is was largely based on the past on the use of propanil. As the use of herbicide is no longer authorized in the current EU legislation, management of *Echinochloa* spp. depends nowadays on herbicides such as clomazone, cyhalofop, profoxydim, azimsulfuron, bispyribac-sodium, and penoxsulam. Cyhalofop is a graminicide that belongs to the aryloxy-phenoxy-propionates chemical family and is applied for postemergence control of *Echinochloa* spp. in rice. Cyhalofop is effective against *Echinochloa* spp. at 2-4 leaf stage under drained paddy conditions. Profoxydim is highly effective against *Echinochloa* spp. owing to a rapid foliar absorption. Azimsulfuron is a

sulfonylurea herbicide applied postemergence to weeds. It provides good control of *Echinochloa* spp. and also of other common rice weeds, particularly sedges and broadleaves. *E. phyllopogon* and all “white” species of *Echinochloa* are less sensitive to azimsulfuron than “red” ones. Bispyribac-sodium is effective against seedlings of *Echinochloa* spp., *Alisma* spp., sedges, *Murdannia keisak* (Hassk.) Hand.-Maz., and *Heteranthera* spp.

Containment of *Echinochloa* species can also be achieved by applying imazamox when using IMI-tolerant varieties (best known as Clearfield® varieties).

Resistance to ALS-inhibitor herbicides as azimsulfuron, bispyribac-sodium, imazamox and penoxsulam have been reported in some *E. crus-galli* populations since 2007 (Heap, 2013)

### 1.2. Weedy rice

Weedy rice (*Oryza sativa* L.) is an issue in the great majority of Italian rice fields. The spread of weedy rice increased with the shift from rice transplanting to direct seeding, and became a severe problem in Italy over the last 20 years after the cultivation of noncompetitive, semidwarf *indica*-type rice varieties. A large variability of morphological traits has been found in Italian weedy rice. In a survey carried out in the main rice area, about 150 different populations have been identified (Fogliatto et al., 2012). Of these populations, about 56% were awned, 17% mucronate and 27% awnless. Awned populations show the largest biological diversity and are in general more dormant, with tall plants, able to produce more seeds. Thus, they seem to be more adaptable to variable environment and management practices.

Control with herbicides is mostly performed before rice planting or by avoiding herbicide contact with cultivated rice. The main herbicides that are labeled for this specific application on rice are flufenacet, propaquizafop, and glyphosate. Flufenacet is a germination inhibitor that is applied to flooded fields at the end of March to early April, when most weedy rice germination occurs. In spite of control levels not exceeding 70-80%, flufenacet is a useful tool for weedy rice management as it allows the application of ordinary management techniques without delaying planting time. The other herbicides are used in combination with the stale seedbed practice, which is the most common technique adopted by Italian rice growers to control this weed. Systemic herbicides such as glyphosate can be applied even in the crop, by using wipe bar equipment, on weedy rice plants that are taller than the cultivated rice.

Since 2006, the Clearfield® technology allows to control weedy rice and other weeds in crop post-emergence in IMI-tolerant rice varieties. The stewardships guidelines provided by the owner of this technology (BASF) indicate a series of mandatory actions for preventing the selection of imidazolinone-resistant populations in weedy rice, such as the purchase of certified seed from a authorized retailers, the use of residual herbicides to increase grass control, a thorough control of all weedy rice escapes, the rotation of herbicides with alternative modes of action, the prohibition to use of Clearfield® rice in the same field for more than two consecutive years. Notwithstanding these precautions, populations of weedy rice tolerant to imidazolinone herbicides have been recently reported in Italy (Busconi et al., 2012; Scarabel et al., 2012).

### 1.3. *Heteranthera* spp.

Presently the main species occurring in the Italian rice fields are *H. reniformis* Ruiz et Pavon, *H. rotundifolia* (Kunth) Griseb. and *H. limosa* (Sw.) Willd. Some infestations cover 80-90% of the soil surface.

Control of *Heteranthera* species mainly relies on preplant application of oxadiazon. Oxadiazon is now applied to about 80% of infested Italian rice areas. This herbicide is usually applied to flooded fields 5-6 d before sowing or to dry soil 3-4 d before flooding and sowing.

### 1.4. *Alismataceae, Cyperaceae and Butomaceae* species

The main species included in this grouping are *Alisma plantago-aquatica* L. and *A. lanceolatum* With.; *Cyperus difformis* L.; *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla; *Schoenoplectus mucronatus* (L.) Palla; and *Butomus umbellatus* L.

The genus *Alisma* includes species of aquatic and semi-aquatic environments distributed throughout the temperate regions of the Northern hemisphere. *Alisma* species are frequently found on Italian rice fields and are attracting attention in particular since the report of cases of resistance to ALS-inhibiting herbicides.

*C. difformis* is an annual sedge that can germinate later in the season (around May) than most of other rice weeds. Despite its poor competitive ability it can be an issue as late-emerged plants can escape postemergence treatments.

*B. maritimus* (known also as *Scirpus maritimus*) is a perennial that in rice fields can spread by seeds (achenes), even though rhizomes and tubers are the most important dispersal organs, as the first colonizers in the fields are usually sprouted from tubers.

*S. mucronatus* is a perennial with short rhizomes that in paddy fields behaves mostly as an annual reproducing from seed. In Italian and European rice fields it is one of the most common weed. Some populations of *S. mucronatus* have developed resistance to ALS-inhibiting herbicides in Italy.

*B. umbellatus* is a perennial with prostrate rhizomes producing thin upright leaves. High infestations are found close to levees and water inlets.

These plants are normally subjected to the same control program and are often sensitive to the same herbicides. The most common herbicides applied to control these weeds are sulfonylureas as bensulfuron (alone or in combination with metsulfuron), ethoxysulfuron, azimsulfuron, or other herbicides as MCPA, and triclopyr. Bensulfuron is safe for rice and provides excellent control of nearly all annual aquatic broadleaf weeds and sedges under different application timings and paddy conditions. Ethoxysulfuron has an overall efficacy similar to that of bensulfuron, but with a slightly better activity against *B. maritimus*. MCPA is a phenoxy-carboxylic-acid herbicide that commonly performs well against all broadleaf weeds.

The repeated application of ALS-inhibitor herbicides (e.g. sulfonylureas) resulted in the evolution of resistance to these herbicides in populations of *A. plantago-aquatica*, *S. mucronatus* and *C. difformis*. Herbicide resistance within this group of weeds is now an important issue in almost all European rice countries.

### 1.5. Weeds of drill-seeded fields

On about 30% Italian rice area, rice is planted in dry soil and flooded from the beginning of crop tillering until harvesting. In these conditions rice fields are infested by two different weed communities, which are related to dry or flooded environment. The main weeds in dry soil are *Echinochloa* spp., *Panicum dichotomiflorum* Michx., *Bidens* spp., *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop., *Polygonum* spp., *Chenopodium album* L. and *Amaranthus retroflexus* L.. The second weed community, after crop flooding, includes the same aquatic or semi-aquatic species previously mentioned. In these cultural conditions specific weed control programs are required for both groups of weeds.

### 1.6. Other weeds

This group is mainly represented by *Cyperus serotinus* Rottb., *Eleocharis* spp., *Sparganium erectum* L., *Alopecurus geniculatus* L., *Ammannia coccinea* Rottb., and *Bidens cernua* L.. These species are usually less important as they are present in a small rice area and are commonly controlled by management tools used against *Alisma* and the cyperaceae species. *A. coccinea* frequently escapes early treatments with sulfonylurea herbicides because it does not germinate until June. *Leptochloa* spp. have been introduced in Italy at the beginning of 2000's (Romani and Tabacchi 2000; Benvenuti et al. 2004), but their spread area seems to grow only little outside the original area of introduction.

## 2. PROGRAMS OF WEED CONTROL

The most successful ways of rice weed management rely on integrated crop management practices, using herbicides with appropriate agronomic practices, such as tillage, soil grading, water management, fertilizer application, and good varieties. Rice weed control programs are determined primarily by the degree of weedy rice infestation and the method of rice establishment and management. In general the three main weed control programs are:

- 1) broadcast seeding in flooded fields, without weedy rice;
- 2) broadcast seeding in flooded fields, with weedy rice; and
- 3) drill seeding, with delayed flooding.

### Broadcast seeding in flooded fields, without weedy rice

In this condition two or three herbicide treatments are usually required; one pre-seeding mainly for *Heteranthera* spp. control and one or two postemergence applications 10-40 d after crop emergence. The first treatment is usually done with oxadiazon (300-380 g ai ha<sup>-1</sup>) combined sometimes with an ALS inhibitor applied at 1/2, 1/3 of the use rate, to control sedges and other weeds. These products are applied 3-4 d before planting and soil flooding or 5-6 d before planting on flooded soil. The second and, if necessary, third treatments are frequently necessary to control late flushes of *Echinochloa* spp., sedges, alismataceae and other species. When *Heteranthera* spp. is not present, it is possible to limit weed control to a

single treatment at 20-30 d after rice planting, with a mixture of grass-active herbicide and an ALS inhibitor, to control all other weeds.

### Broadcast seeding in flooded fields, with weedy rice infestation

In case of severe weedy rice infestations weed control programs are mainly aimed at controlling this weed. The most successful strategies are principally based on a combination of preventive and direct control measures and are an established example of integrated weed management. Direct control of weedy rice consists mainly of a combination of cultural and chemical interventions in rice pre- or post-planting. The most largely adopted practice to control weedy rice is the stale seedbed technique. When the preplant treatments do not provide sufficient weedy rice control, rice growers frequently carry out control practices at rice flowering time. With a low infestation, weedy rice plants are pulled manually. When infestation is high, weedy rice can be successfully controlled both by panicle cutting and by localized application of systemic herbicides, provided that the weedy plants are taller than the rice crop. Both operations have to be done within 9 days from the flowering of weedy rice; otherwise, viable seeds are produced.

Since its introduction in 2006, Clearfield® technology has been largely adopted by farmers, especially in the most infested fields. For 2012, it has been estimated that about 22% of the rice area was planted with IMI-tolerant cultivars (Ente Nazionale Risi, 2013).

### Drill seeding, with delayed flooding

When rice is direct seeded in dry soil, two or three treatments are generally required : one is carried out using pendimethalin (1000-1300 g ai ha<sup>-1</sup>) or clomazone (200-230 g ai ha<sup>-1</sup>) preemergence to control *Echinochloa* spp., *P. dichotomiflorum* and other weed grasses; with the presence of *Heteranthera* spp. oxadiazon is usually added; second, is the application of propanil in combination with an ALS inhibitor 10-30 d after rice emergence to control sedges, *B. umbellatus*, *A. plantago-aquatica* and *Echinochloa* which escaped the preemergence treatment. A third treatment, if necessary, is another herbicide application just before flooding to control weeds which escaped the previous treatments; sometimes this intervention is performed after field flooding, by applying the same products used in rice seeded in flooded field.

## 3. PRESENT AND FUTURE ISSUES

As already mentioned, several cases of weed resistance to herbicides have been reported on Italian rice fields. In addition to confirmed cases of resistance, increasingly frequent reports of control failures are reported for other species such as *Ammannia coccinea* and *Butomus umbellatus*, which are traditionally considered of secondary importance. The main techniques currently adopted to combat herbicide resistance are the rotation of herbicides and the application of herbicide mixtures with different modes of action. To control ALS-resistant *Alisma* and sedges, rice farmers are increasingly using hormone-type herbicides, such as MCPA, which was widely used before the introduction of ALS inhibitors. Crop rotation, which is probably the best preventive and curative treatment for herbicide resistance, has low potential for adoption by farmers due to technical (soil factors), economic, and organizational reasons.

The Directive 91/414/EEC and the Regulation (EC) No 1107/2009 concerning the placing of plant protection products on the market have determined a re-evaluation of active substances on the basis of their toxicological and environmental profiles. As result, old herbicides, largely used in rice weed control, are not longer available for use. One of the consequences is that a large proportion of available herbicides belongs now to ALS-inhibitors, worsening the issue of resistance management.

Due to the increasingly growing awareness of public opinion about use of water, a possible future scenario in which a significant amount of water is diverted from rice production could not be ignored. This will likely result in other restrictions on the use of herbicides and a significant shift toward cultivation in nonflooded conditions; thus, deeply affecting weed infestation dynamics and weed management programs.

#### 4. REFERENCES

- Barret S.C.H. & Wilson B.F. (1983) Colonizing ability in the *Echinochloa crus-galli* complex (barnyard grass). II. Seed biology. Canadian Journal of Botany. 61: 556-562.
- Benvenuti S., Dinelli G. & Bonetti A. (2004) Germination ecology of *Leptochloa chinensis*: a new weed in the Italian rice agro-environment. Weed Research. 44: 87-96.
- Biroli G. (1807) Del riso. Tipografia Giovanni Silvestri, Milan, Italy.
- Busconi, M., D. Rossi, C. Lorenzoni, G. Baldi & Fogher C. (2012) Spread of Herbicide-resistant Weedy Rice (red Ric L.) after 5 years of Clearfield rice cultivation in Italy. Plant Biology. 14: 751-759.
- Ente Nazionale Risi (2013). Dati statistici delle superfici coltivate a riso in Italia. Online. Internet. Saturday, September 14, 2013. Available [http://www.enterisi.it/servizi/bilanci/bilanci\\_fase01.aspx?Campo\\_15868=10](http://www.enterisi.it/servizi/bilanci/bilanci_fase01.aspx?Campo_15868=10)
- Fogliatto S., Vidotto F. & Ferrero A. (2012) Morphological characterisation of Italian weedy rice (*Oryza sativa*) populations. Weed Research. 52: 60-69.
- Heap, I. 2013. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Online. Internet. Monday, July 22, 2013. Available [www.weedscience.com](http://www.weedscience.com).
- Jacometti G. (1912) Le erbe che infestano le risaie italiane. In: IV Congresso Risicolo Internazionale, Vercelli, Italy, 1912. pp 57-93.
- Romani M. & Tabacchi M. (2000) *Leptochloa fascicularis* nuova infestante del riso. Informatore Agrario. 56: 65-66.
- Scarabel L., Cenghialta C., Manuello D. & Sattin M. (2012) Monitoring and management of imidazolinone-resistant Red Rice (*Oryza sativa* L., var. *sylvatica*) in Clearfield® Italian paddy rice. Agronomy. 2: 371-383.
- Vidotto F., Tesio F., Tabacchi M. & Ferrero A., 2007. Herbicide sensitivity of *Echinochloa* spp. accessions in Italian rice fields. Crop Protection. 26: 285-293.

## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

***Cyperus difformis* resistente a penoxsulam. Dosis respuesta**G. Pardo\*<sup>a</sup>, R. Hens\*, R. Espejo\*, L. Paniagua\*\*, J.M. Urbano\*\* ETSIA, Universidad de Sevilla, Ctra. Utrera Km 1. 41013-Sevilla <sup>a</sup> gpardo@us.es

\*\* Dow AgroSciences Ibérica

**Resumen:** El sistema de cultivo del arroz en España es vulnerable a la aparición de resistencias a herbicidas y el riesgo aumenta si se utilizan inhibidores de la ALS sin tener en cuenta estrategias antirresistencia. El objetivo del trabajo fue demostrar la existencia de poblaciones españolas de *Cyperus difformis* resistentes al penoxsulam. Para ello se utilizaron 4 poblaciones: "Filipinas-S", "Sevilla-S", "Extremadura-R" y "Sevilla-R". En un primer ensayo, las poblaciones "S" y "R" ya tuvieron respuesta muy diferente frente al penoxsulam. En un segundo ensayo, con plantas obtenidas de semilla del primero, se probaron 16 dosis de penoxsulam y los resultados se ajustaron a un modelo de regresión dosis-respuesta Log-logistic (4 parámetros) que confirmaron ese comportamiento diferencial de sus respectivas progenies. Los resultados demuestran existencia de resistencia a penoxsulam al constatarse una respuesta diferencial y heredable. El factor de resistencia, fue de 13,60 y 45,61 para "Extremadura-R" y "Sevilla-R", respectivamente, en el parámetro supervivencia.

**Palabras clave:** Resistencia a herbicidas, inhibidor ALS, arroz, juncia.

## 1. INTRODUCCIÓN

*Cyperus difformis* es, tanto por su capacidad competitiva como por su dificultad para ser controlada, uno de los principales problemas malherbológicos en el cultivo del arroz a nivel mundial (Rao *et al.*, 2007). El uso repetido de herbicidas con el mismo modo de acción y la frecuente ausencia de rotaciones en el cultivo han propiciado la aparición de biotipos resistentes a herbicidas. De este modo, a nivel mundial se encuentran documentados 8 casos de resistencia en *C. difformis* ocurridos en 7 países diferentes y llama la atención que todos ellos presentan resistencia a herbicidas del grupo B. En algunos casos la resistencia se ha descrito contra una materia activa, pero en otros, la resistencia es eficaz frente a 8 materias activas del mismo modo de acción como ocurre en Corea del Sur. En España hay descrito un caso frente bensulfurón-metil y otro en Turquía frente a penoxsulam (Heap, 2013).

En España, el herbicida penoxsulam se empieza a comercializar en el año 2007 por su eficacia en el control selectivo de malas hierbas dicotiledóneas y monocotiledóneas en el cultivo del arroz (2006). En el año 2009 aparecen algunas plantas de *C. difformis* que sobreviven al tratamiento con penoxsulam en algunas parcelas de cultivo comercial en zonas extremeñas y de las marismas del Guadalquivir donde no se había seguido ninguna técnica ni protocolo de prevención de la resistencia. La supervivencia a un tratamiento en campo puede ser debido a multitud de factores, por lo que no puede deducirse que, por eso solo, exista resistencia al herbicida. Por ese motivo se recogió semilla de los individuos problemáticos para su posterior estudio en condiciones controladas. El objetivo del presente trabajo ha sido demostrar la existencia de resistencia a penoxsulam en poblaciones españolas de *C. difformis*.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio constó de dos experimentos en los que se evaluaron 4 poblaciones: "Extremadura-R", "Sevilla-R", "Filipinas-S" y "Sevilla-S". En el primero de ellos, para poblaciones "R", que habían sobrevivido a tratamientos de penoxsulam en campo, se utilizó semilla recolectada en esas mismas parcelas. Para poblaciones "S", que se utilizaron como testigos sensibles, la semilla procedió del banco de germoplasma de la Universidad de Sevilla. Cuando las plantas, obtenidas a partir de la semilla descrita, alcanzaron el estado fenológico 13-14 de *Cyperus difformis* en la escala BBCH, se les aplicó el herbicida. Se hicieron 6 tratamientos (0, 10, 20, 40, 80, 160 g.i.a/ha) con el formulado comercial Viper® (penoxsulam 2,04% p/v) en un experimento en bloques al azar, de 5 repeticiones. Las repeticiones fueron elaboradas en base al tamaño de las plantas el día del tratamiento, es decir, plantas de la misma repetición tienen, además de similar estado fenológico en todas las poblaciones, similar tamaño, con el objetivo de descartar en las poblaciones resistentes cualquier escape debido a un mayor desarrollo de la planta. La parcela elemental fue una maceta de plástico de 7 x 7 x 8 cm en la que se habían trasplantado 6 plantas de *C. difformis*.

Como se verá en el apartado de resultados y discusión, hubo una respuesta diferencial entre poblaciones "R" y "S", corroborándose en las poblaciones "R" lo observado en campo para ellas. Uno de los requisitos para demostrar la resistencia es que esa respuesta diferencial se mantenga en la descendencia. Para ese fin, en el segundo ensayo se utilizó semilla obtenida en plantas sin tratar del primero. Además, en este segundo ensayo se introdujeron algunas modificaciones respecto al primero: un mayor número de tratamientos, siendo 16 (0, 10, 20, 40, 80, 120, 160, 240, 320, 480, 640, 960, 1280, 1920, 2560, 5120 g.i.a/ha), hubo 8 repeticiones y en la maceta se colocó 1 planta.

En los dos ensayos, las semillas de *C. difformis* se hicieron germinar en sustrato de hortícolas para su posterior trasplante. En ambas operaciones el sustrato utilizado fue de la marca Kekkilä (90% materia orgánica, 10% cenizas y 0,2% nitrógeno y 0,1% fósforo). Las plantas estuvieron en todo momento en condiciones controladas (16 horas de luz/8 horas de oscuridad; 28°C/22°C). Las aplicaciones se realizaron con un equipo de pulverización experimental que permite realizar aplicaciones con poco volumen de caldo, en este caso 220 l/ha, a presión constante.

Los parámetros evaluados en los dos ensayos fueron: fitotoxicidad, supervivencia, altura, porcentaje de planta verde y biomasa seca (en la comunicación no se muestran todos). Para el segundo ensayo los resultados de algunos parámetros se sometieron a un modelo de regresión dosis-respuesta. El modelo elegido, de entre los diez propuestos por Ritz & Streibig (2009) fue el Log-logistic con cuatro parámetros, ya que fue el que mejor ajuste presentó:

$$f(x, (b, c, d, e)) = c + \frac{d - c}{1 + \exp \{b(\log(x) - \log(e))\}}$$

donde  $c$  es el límite inferior de la curva,  $d$  es el límite superior,  $e$  es la EC50 o lo que es lo mismo, la concentración efectiva que produce una respuesta a la mitad valor total del parámetro estudiado,  $b$  es la pendiente de la curva en su punto de inflexión. El ajuste ha sido realizado con el programa de software libre R, Versión 2.14.2 (R Development Core Team, 2012) que permite, además, calcular el factor de resistencia. Se considera que se trata de un caso de resistencia si la respuesta diferencial es heredable y el factor de resistencia es superior a 10 (Heap, 2005).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del primer ensayo mostraron una respuesta diferencial de las poblaciones problemáticas "Extremadura-R" y "Sevilla-R" frente a las sensibles "Filipinas-S" y "Sevilla-S" en todos los parámetros analizados. En la figura 1 se puede observar que la reducción de biomasa a los 35 días del tratamiento es prácticamente completa para las poblaciones "S" y muy limitada para las "R", particularmente para las dosis superiores de penoxsulam

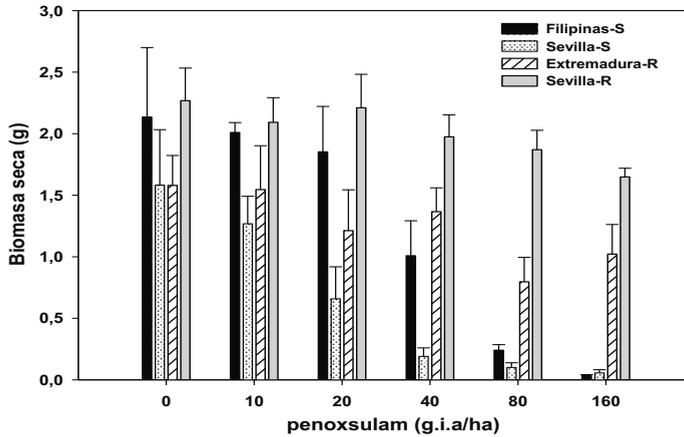


Figura 1. Biomasa seca g/maceta (6 plantas) según la población de *Cyperus difformis* y la dosis de penoxsulam aplicada, a los 35 días después del tratamiento. Datos del primer ensayo. Las barras indican los datos medios y la línea el error estándar.

Los resultados del segundo ensayo muestran que la respuesta diferencial se mantiene en la descendencia. En la figura 2 se puede observar que existen dosis del herbicida que causan un 100% de mortalidad en las poblaciones "S" mientras que la gran mayoría de las plantas "R" sobreviven.

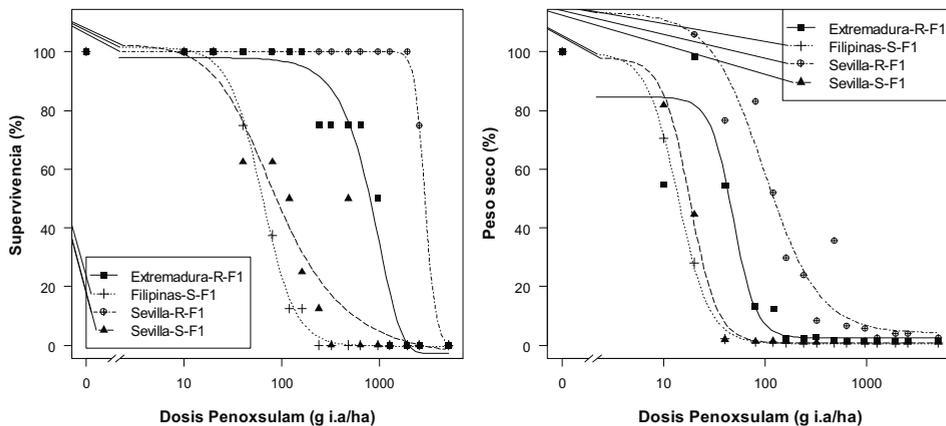


Figura 2 Supervivencia (%) y biomasa seca (% en relación a las plantas sin tratar) según la población de *Cyperus difformis* y la dosis de penoxsulam aplicada, a los 28 días después del tratamiento. Datos del segundo ensayo.

El factor de resistencia (en relación a la población "Filipinas-S") resultó ser de 1,39, 13,60 y 45,61 para "Sevilla-S", "Extremadura-R" y "Sevilla-R", respectivamente en el parámetro supervivencia.

El hecho de que las poblaciones de "Extremadura-R" y "Sevilla-R" presenten un comportamiento diferencial durante dos generaciones sucesivas y sobrevivan a dosis de penoxsulam que son letales para las poblaciones sensibles demuestra la existencia de resistencia al herbicida penoxsulam en poblaciones españolas de *Cyperus difformis*, siendo este el primer caso descrito en España, y el segundo a nivel mundial, puesto que en 2010 fue descrito un caso similar en Turquía (Heap, 2013).

#### 4. REFERENCIAS

- Heap, I (2013). The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. [www.weedscience.com](http://www.weedscience.com). Visitada el 4 marzo de 2013.
- R Development Core Team (2012). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL:<http://www.R-project.org/>.
- Rao AN, Johnson DE, Sivaprasad B, Ladha JK, and Mortimer AM (2007). Weed management in direct-seeded rice. *Advances in Agronomy*. 93, 153- 255.
- Ritz C, & Streibig JC (2005). Bioassay Analysis using R. *Journal of Statistical Software*, Vol 12, Issue 5. URL:<http://www.bioassay.dk>.
- Sorribas M, Romero M, Bernes R, and Larelle, D (2006). Penoxsulam, el nuevo herbicida para el cultivo del arroz. *Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal*, 182: 106-109.

Summary: *Cyperus difformis* resistant to penoxsulam. Dose-response

*Rice crop in Spain is prone to herbicide resistance occurrence, and the risk increases if ALS inhibitors are used without implementing antiresistance strategies. The goal of this research was to confirm the resistance to penoxsulam in Spanish populations of *Cyperus difformis*. Four populations were used: "Filipinas-S", "Sevilla-S", "Extremadura-R" and "Sevilla-R". In a first trial, "S" and "R" populations showed a different response to penoxsulam. In a second experiment, with plants obtained from seeds collected on the checks of the first trial, 16 doses of penoxsulam were tested and the results were adjusted to a regression model dose-response Log-logistic (4 parameters) that confirmed the differential behaviour of their respective progenies. The adjustment allowed calculating the resistance factor, which was 13,60 and 45,61 for "Extremadura-R" and "Sevilla-R" respectively in survival parameter. All these facts indicate that both populations are resistant to penoxsulam.*

Keywords: Herbicide resistance, ALS inhibitor, rice, Smallflower Umbrella Sedge.

## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Opciones para el control de *Cyperus difformis* resistente a penoxsulam**G. Pardo\*<sup>a</sup>, R. Espejo\*, R. Hens\*, L. Paniagua\*\*, J.M. Urbano\*\* ETSIA, Universidad de Sevilla, Ctra. Utrera Km 1. 41013-Sevilla <sup>a</sup>gpardo@us.es

\*\* Dow AgroSciences Ibérica

**Resumen:** El cultivo del arroz en países mediterráneos es particularmente vulnerable a la aparición de resistencias a herbicidas. *Cyperus difformis* es una mala hierba problemática en este cultivo y recientemente se ha descrito la existencia de biotipos resistentes a penoxsulam. El objetivo del trabajo fue evaluar las posibilidades de varias materias activas, alternativas al penoxsulam, que pudieran ser utilizadas para controlar *C. difformis*. En el estudio se utilizaron 6 poblaciones, dos de las cuales eran resistentes al penoxsulam y otras dos sensibles. Los tratamientos aplicados fueron: 1) penoxsulam+triclopyr, 2) bentazona + MCPA, 3) triclopyr, 4) bentazona, 5) MCPA, 6) fluroxipir, 7) azimsulfuron y 8) Testigo no tratado. Los resultados indican que bentazona y triclopyr son los mejores candidatos para ser incluidos en un programa de control alternativo frente a *C. difformis*.

**Palabras clave:** Resistencia a herbicidas, arroz, azimsulfuron, bentazona, MCPA, fluroxipir, triclopyr, junquillo.

**1. INTRODUCCIÓN**

El junquillo, *Cyperus difformis* L, es una de las principales malas hierbas del cultivo del arroz (*Oryza sativa* L), debido a su capacidad competitiva y a su dificultad de control con herbicidas (Rao *et al.*, 2007). En España se cultivaron 114.000 has de arroz en 2012 (Magrama, 2012) todas ellas en condiciones de inundación, y en la mayoría de las zonas las características del suelo y del sistema de riego dificultan enormemente la posibilidad de establecer rotaciones, por lo que predomina el monocultivo. Se trata, por lo tanto, de un escenario particularmente vulnerable a la aparición de resistencias a los herbicidas.

*C. difformis* es una ciperácea autógena, sin especies genéticamente cercanas con las que poder cruzar en el ambiente arrocero. Sin embargo ha demostrado tener una gran capacidad de adaptación a los herbicidas, sobre todo a los inhibidores de la ALS. En el mundo hay descritos 8 casos de resistencia en esta especie, todos ellos frente a herbicidas ALS, incluyendo la resistencia al bensulfuron-metil descrita en España en el año 2000.

El penoxsulam es un nuevo herbicida, inhibidor de la ALS, que ha ocupado una elevada porción del mercado de herbicidas del arroz debido a la amplia gama de especies que controla, entre ellas *C. difformis*.

En el año 2009 se recolectaron semillas de plantas de *C. difformis* que sobrevivieron al penoxsulam en distintas zonas de España. En dos de estas poblaciones se ha demostrado la existencia de resistencia a penoxsulam (Pardo *et al.*, 2013). Por todos estos motivos es particularmente interesante conocer las posibilidades de otras materias activas en el control de *C. difformis*.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha utilizado semilla de 6 poblaciones de *C. difformis*: "Filipinas-S", "Sevilla-S", "Alcollarín", "Extremadura-R", "Gévora" y "Sevilla-R". El nombre de la población hace referencia a la localidad en la que fue recolectada. Las poblaciones catalogadas con "S" y "R" han demostrado ser sensibles o resistentes a penoxsulam en un estudio previo de dosis respuesta, mientras que Gévora y Alcollarín serían también resistentes, aunque sin confirmar.

Las semillas de todas las poblaciones de *C. difformis* se hicieron germinar en sustrato hortícola (90% materia orgánica, 10% cenizas y 0,2% nitrógeno y 0,1% fósforo) para su posterior trasplante, en el mismo sustrato, en macetas de plástico de 7 x 7 x 8 cm a razón de dos plantas por maceta, hasta que se encontraron en el estado fenológico 13-14 en la escala BBCH, momento en el que se realizaron las aplicaciones herbicidas

Los tratamientos empleados fueron los siguientes: 1) penoxsulam+triclopyr (40+288 g.i.a/ha), 2) bentazona + MCPA (1840+300 g.i.a/ha), 3) triclopyr (288 g.i.a/ha), 4) bentazona (1840 g.i.a/ha), 5) MCPA (300 g.i.a/ha), 6) fluroxipyr (150 g.i.a/ha), 7) azimsulfuron (30 g.i.a/ha) y 8) Testigo no tratado. Se incluyó triclopyr y fluroxipyr, ya que aunque a día de hoy no están registrados para su uso en arroz, si están incluidas en el anexo I de la directiva comunitaria 91/414, y en caso de resultar eficaces, las casas comerciarles podrían plantear su registro a medio plazo. Por otra parte, las pocas materias activas autorizadas para ciperáceas pertenecen todas, salvo la bentazona y el MCPA al grupo B, y aunque triclopyr y fluroxipyr son del mismo grupo que éste último (grupo O), pertenecen a familias químicas diferentes.

Las plantas estuvieron en todo momento en condiciones controladas (16 horas de luz/ 8 horas de oscuridad; 28°C/22°C). Las aplicaciones se realizaron con un equipo de pulverización experimental que permite realizar aplicaciones con poco volumen de caldo, en este caso 220 l/ha, a presión constante. El diseño experimental fue de bloques al azar con 6 poblaciones, 5 repeticiones (plantas de cada bloque con similar tamaño) y los 8 tratamientos descritos.

Los parámetros evaluados tras la aplicación de herbicida fueron: supervivencia a los 28 días después del tratamiento, altura, porcentaje de planta verde y biomasa seca. En cuanto al análisis de los datos, debido a la falta de homogeneidad de las varianzas, se optó por una estadística descriptiva, mostrando la media y el error estándar.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados, en lo que se refiere a biomasa seca de *C. difformis*, se muestran en la figura 1. En ellos se observa que azimsulfuron solo controla satisfactoriamente las poblaciones sensibles al penoxsulam, siendo poco eficaz en las otras cuatro, especialmente en "Sevilla-R". Con este resultado no tiene sentido ni la rotación ni la mezcla con esta materia activa para el control de poblaciones problemáticas.

La bentazona ejerce un control eficaz en todas las poblaciones. Todo parece indicar que la elevada eficacia de la mezcla bentazona + MCPA se debe a la eficacia de la bentazona y no tanto al MCPA, ya que éste último aplicado por separado obtiene resultados poco homogéneos, con control total solo en la población de "Filipinas-S". Esto no implica que el MCPA no pueda mejorar el efecto de la bentazona en otros estadios de *C. difformis*, ni que no mejore, en mezcla, el efecto de otros herbicidas.

Fluroxipyr obtiene buenos resultados en Alcollarín, Extremadura-R y Sevilla-S con una reducción de biomasa superior al 95% (GR>95%) regular en Filipinas-S y Gévora (GR>80%) y muy malo en "Sevilla-R" (GR<50%), por lo que no sería una alternativa válida en todos los casos.

Triclopyr presenta una elevada eficacia cuando se aplica sólo o mezclado con penoxsulam. Sin embargo, llama la atención que en Sevilla-R la eficacia del triclopyr solo es inferior a la mezcla triclopyr+penoxsulam, a pesar de ser ésta población una resistente al penoxsulam. Probablemente se trate de un efecto aditivo. El hecho de que penoxsulam no sea eficaz no quiere decir que sea inocuo: el pequeño efecto fitotóxico aumenta la eficacia del triclopyr. Posiblemente una mayor dosis de triclopyr hubiera conseguido el mismo efecto.

El MCPA obtiene peores resultados que triclopyr y ello a pesar de que ambos pertenecen al mismo modo de acción: Grupo O (herbicidas auxínicos), aunque distintas familias (MCPA: ácidos fenoxi-carboxílicos y triclopyr: ácidos piridino-carboxílicos). La menor eficacia del MCPA y la mayor respuesta diferencial encontrada permiten desaconsejar el uso del MCPA por separado para el control de *C. difformis*, al menos en el estadio de la mala hierba ensayado.

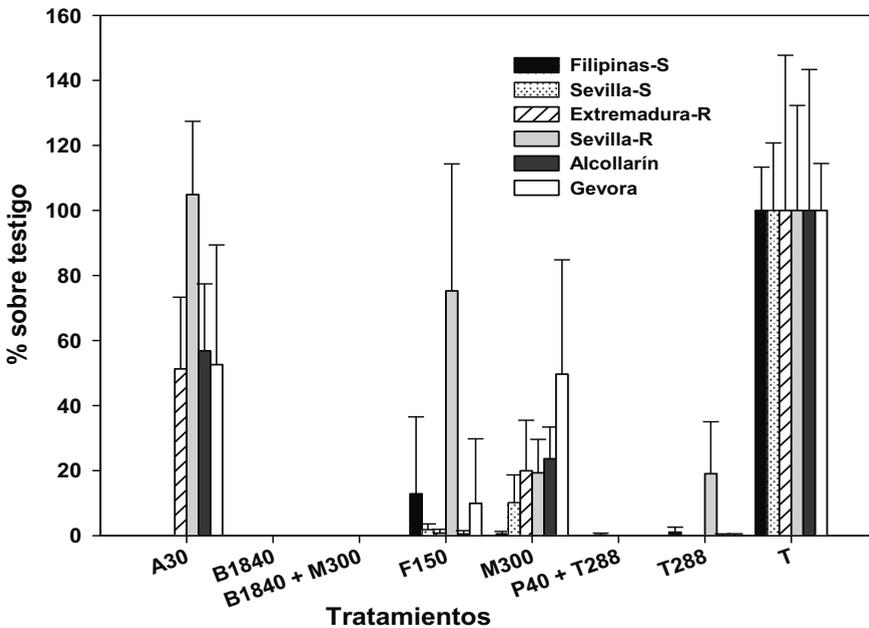


Figura 1. Biomasa seca de *C. difformis* (% en relación al testigo) a los 28 días del tratamiento, en función del herbicida aplicado. El número que acompaña a las letras indica la dosis herbicida en g de sustancia activa/ha. A: azimsulfuron, B: bentazona, M: MCPA, F: fluroxipir, P: penoxsulam, T288: triclopyr, T: testigo. Las barras indican los datos medios y la línea el error estándar.

También llama la atención la diferencia de eficacia entre triclopyr y fluroxipyr, a pesar de que pertenecen al mismo modo de acción (Grupo O) y misma familia (ácidos piridino-carboxílicos). Esto podría explicarse porque, a pesar de lo dicho, triclopyr y fluroxipyr son

materias activas diferentes y por la dosis de producto aplicada, que es mayor en triclopyr (288 g/ha) que en fluroxipyr (150 g/ha). Por otro lado, también son interesantes las diferencias encontradas con respecto al MCPA, ya que los dos tienen reducidas eficacias pero las poblaciones mejor controladas por el MCPA son las peor controladas por el fluroxipyr y viceversa.

Como resumen de los resultados, se puede concluir que los herbicidas bentazona y triclopyr presentan un gran interés como herramientas alternativas al penoxsulam en el control de *C. difformis*. Los herbicidas fluroxipyr y MCPA no presentan eficacias elevadas ni homogéneas a las dosis estudiadas. Las mezclas penoxsulam + triclopyr y bentazona + MCPA no presentan eficacias claramente superiores al triclopyr y bentazona, respectivamente, por lo que su interés práctico es limitado. La materia activa azimsulfurón, únicamente fue eficaz frente a las poblaciones sensibles al penoxsulam.

#### 4. REFERENCIAS

- Heap, I (2013). The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. [www.weedscience.com](http://www.weedscience.com). Visitada el 4 marzo de 2013.
- Magrama (2012). Encuesta sobre Superficies y Rendimientos (ESYRCE). Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. [http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/00ESPANA\\_tcm7-234252.PDF](http://www.magrama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticasagrarias/00ESPANA_tcm7-234252.PDF).
- Pardo G, Hens R, Espejo R, Paniagua L, and Urbano JM (2013). *Cyperus difformis* resistente a penoxsulam. Dosis respuesta. XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013. En prensa.
- Rao AN, Johnson DE, Sivaprasad B, Ladha, JK and Mortimer AM (2007). Weed management in direct-seeded rice. *Advances in Agronomy*. 93, 153- 255.

Summary: Options to control *Cyperus difformis* resistant to penoxulam

*Rice crop in the mediterranean countries is particularly prone to herbicide resistance. Cyperus difformis is a major weed problem in rice crop, and penoxsulam resistance has been recently reported. The aim of the paper was to evaluate the chances of several herbicides to be included in an alternative control to penoxsulam of C. difformis. Six populations of C. difformis were used. Two of them were penoxsulam resistant and two were penoxsulam susceptible. The treatments were: 1) penoxsulam+triclopyr, 2) bentazona + MCPA, 3) triclopyr, 4) bentazona, 5) MCPA, 6) fluroxipyr, 7) azimsulfuron and 8) Untreated check. Results indicate that bentazona and triclopyr are the best candidates to be included in an alternative control.*

Keywords: Herbicide resistance, rice, azimsulfuron, bentazona, MCPA, fluroxipir, triclopyr, Smallflower Umbrella Sedge.

## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Comparación de la aplicación foliar y radical de herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos**

M. Royuela\*<sup>a</sup>, A. Zulet\*, M. Gil-Monreal\*, O. Armendáriz\*, A. Zabalza\*  
\*Universidad Pública de Navarra, Campus Arrosadía s/n, 31006-Pamplona,  
<sup>a</sup> [royuela@unavarra.es](mailto:royuela@unavarra.es)

*Resumen:* En este trabajo se ha profundizado en uno de los efectos fisiológicos más controvertidos de los herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos: la acumulación de carbohidratos. Las plantas de guisante se dividieron en dos grupos (tratados con imazamox o glifosato). Cada grupo a su vez fue dividido en dos tratamientos (aplicación a través de la solución nutritiva o aplicación foliar). Dichos tratamientos provocaron una inhibición similar del crecimiento y se detectó una acumulación de carbohidratos solubles en hojas y en raíces independientemente del lugar de aplicación del herbicida. Estos resultados establecen un nuevo efecto fisiológico común dentro del modo de acción del imazamox y glifosato, y demuestran que la falta de crecimiento no se debe a una falta de sustratos respirables.

**Palabras clave:** aplicación radical, aplicación foliar, herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos, carbohidratos, imazamox, glifosato.

## 1. INTRODUCCIÓN

Actualmente, el control de malas hierbas en la agricultura depende en buena medida de la lucha química a través de la utilización de herbicidas. Los herbicidas interfieren en el metabolismo de las plantas por inhibición de procesos específicos y las consecuencias de esta inhibición resultan letales para las mismas, de forma selectiva o total. En muchos casos no resulta del todo conocido el proceso que origina la toxicidad en las plantas. El gran número de investigaciones llevadas a cabo en los últimos años ha permitido que, para la mayor parte de los herbicidas, se conozca su mecanismo de acción. Sin embargo, la investigación sobre herbicidas debe proporcionar, además de ello, las razones de la muerte de la planta, es decir, la secuencia de procesos que se desencadenan a partir de ese primer paso inhibido, lo que se conoce como modo de acción.

Las rutas de biosíntesis de aminoácidos en plantas son objeto de gran cantidad de estudios de investigación básica y aplicada. Se han identificado enzimas en diferentes rutas de biosíntesis de aminoácidos que se ven afectadas por la aplicación de herbicidas, lo cual tiene una aplicación directa en la agricultura. De especial importancia para el desarrollo de herbicidas es el estudio de aquellas rutas metabólicas que dan lugar a la biosíntesis de los aminoácidos esenciales, como los ramificados y aromáticos, porque son rutas exclusivas de plantas y microorganismos, y por lo tanto sus inhibidores presentan una baja toxicidad para los mamíferos. Los herbicidas inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos ramificados (conocidos como inhibidores de ALS, acetolactato sintasa) y los inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos aromáticos (el glifosato) son dos grupos de compuestos para los cuales, pese a conocerse su diana en la planta, se sigue investigando sobre su modo de acción. Además, hay autores (Guyer *et al.*, 1995; Zhao *et al.*, 1998) que han propuesto una regulación cruzada entre la inhibición de las rutas de biosíntesis de aminoácidos, lo cual plantea la posibilidad de que estos herbicidas provoquen efectos fisiológicos comunes dentro de sus modos de acción,

y lleven a la muerte de las plantas por procesos similares pese a que su mecanismo primero de acción sea distinto.

El objetivo de este trabajo es profundizar en el modo de acción de los herbicidas imazamox (inhibidor de la biosíntesis de aminoácidos ramificados, IBAR) y glifosato (inhibidor de la biosíntesis de aminoácidos aromáticos, IBAA) con aplicaciones vía foliar o vía radical, utilizando el contenido de carbohidratos de las plantas tratadas como marcador del estado de las mismas. Se trabajó con dosis equivalentes en cuanto a efecto final para ambos herbicidas y vías de aplicación, con la finalidad de analizar si existe un efecto general de ambos tipos de herbicidas independientemente del lugar de aplicación de los mismos y de la ruta de biosíntesis de aminoácidos inhibida.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se trabajó en cultivo hidropónico puro con aireación forzada y en condiciones controladas con guisante como planta modelo (Orcaray *et al.*, 2010). Cuando las plantas tenían 12 días se aplicaron los herbicidas glifosato e imazamox, cada uno de ellos en aplicación foliar y radical (a través de la solución nutritiva).

*2.1 Establecimiento de dosis comparables.* En una primera serie de experimentos se establecieron las dosis comparables para cada herbicida y tipo de tratamiento que provocase la muerte de la planta en un mismo periodo de tiempo aproximado. Se tomó como referencia el efecto conocido por vía radical a dosis de 5 mg l<sup>-1</sup> de imazamox y 53 mg l<sup>-1</sup> de glifosato. Se aplicaron las dosis mostradas en la Tabla 1, se analizó velocidad de crecimiento y efecto visual. Con ello se seleccionaron como dosis comparables por su efecto en el crecimiento, las mostradas en la Tabla 1.

Tabla 1. Establecimiento de las dosis comparables

| Herbicida | Aplicación  | Dosis en estudio (mg l <sup>-1</sup> ) | Dosis seleccionada                |
|-----------|-------------|--|-----------------------------------|
| IMAZAMOX  | vía foliar  | 375 – 750 – 1.875                      | 375 mg l <sup>-1</sup> (1,228 mM) |
|           | vía radical | 5                                      | 5 mg l <sup>-1</sup> (0,016 mM)   |
| GLIFOSATO | vía foliar  | 175 – 350 – 875                        | 875 mg l <sup>-1</sup> (3,863mM)  |
|           | vía radical | 53                                     | 53 mg l <sup>-1</sup> (0,234 mM)  |

*2.2 Comparación de los efectos en el contenido de carbohidratos.* Una vez establecidas las dosis comparables de estudio, se prepararon dos grupos de plantas: uno para el estudio de los efectos vía radical (a través de la solución nutritiva) y el otro grupo para la aplicación foliar. En cada grupo se definieron plantas control (no tratadas) y plantas tratadas con imazamox y con glifosato a las dosis seleccionadas (Tabla 1). Se midió el crecimiento de la parte aérea y raíz a lo largo de 15 días tras los tratamientos, y se tomaron muestras de hojas y raíces en el momento de aplicación del tratamiento (día 0) y transcurridos 1, 3, 7, 10 y 15 días. Las muestras fueron inmediatamente congeladas en nitrógeno líquido y almacenadas a -80°C hasta su análisis. Puesto que el contenido en carbohidratos de las plantas está sometido a una importante variación a lo largo del día/noche, todos los muestreos se realizaron a las 4 horas del inicio del fotoperiodo. La determinación del contenido de carbohidratos (glucosa, fructosa, sacarosa y almidón) se realizó por electroforesis capilar tras una extracción en etanol (Zabalza *et al.*, 2004). Los resultados se expresan como carbohidratos solubles totales (ChST= glucosa+fructosa+sacarosa), y almidón, por unidad de peso seco.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**3.1 Establecimiento de dosis comparables.** Las dosis de glifosato e imazamox para ser aplicadas a través de la solución nutritiva ya habían sido determinadas en anteriores estudios (Orcaray *et al.*, 2010). Así, tanto la dosis de 5 mg l<sup>-1</sup> de imazamox como 53 mg l<sup>-1</sup> glifosato aplicados vía radical, provocan la muerte de la planta en unos 20 días, inhibiendo el crecimiento de la raíz desde el día 1 y el crecimiento de la parte aérea desde el día 3 de tratamiento. Teniendo en cuenta la intensidad y la temporalidad de estos efectos, se determinaron las dosis óptimas comparables de cada uno de los herbicidas para la aplicación foliar. Se tomaron medidas de crecimiento y se evaluó visualmente el momento de la muerte de las plantas tratadas con distintas dosis (Tabla 1). Los resultados permitieron establecer las dosis equivalentes para ambos herbicidas en aplicación foliar: 375 mg l<sup>-1</sup> de imazamox y 875 mg l<sup>-1</sup> de glifosato, como generadoras de efectos en el crecimiento similares a los descritos para las aplicaciones radicales (Tabla 1).

**3.2 Efecto de las dosis comparables en el contenido de carbohidratos.** El contenido de azúcares de las plantas indica de forma global el estado del metabolismo del carbono de las mismas. El contenido en carbohidratos solubles identifica los azúcares disponibles y el contenido en almidón indica la reserva de carbono en ese momento.

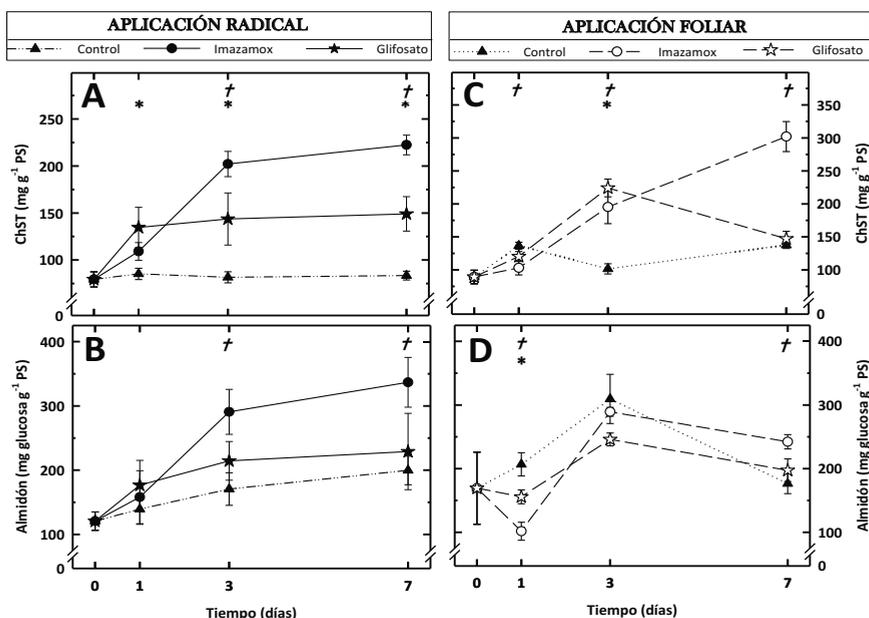


Figura 1. Efecto de los herbicidas IMAZAMOX y GLIFOSATO aplicados vía radical (A, B) o mediante aplicación foliar (C, D) sobre el contenido en carbohidratos solubles totales (ChST) (A, C) y almidón (B, D) en hojas de guisante. Media  $\pm$  ES (n=3). † indica diferencia significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre el valor control y el tratamiento de IMAZAMOX para un día determinado. \* indica diferencia significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre el valor control y el tratamiento de GLIFOSATO para un día determinado.

En el análisis del contenido en carbohidratos solubles totales de las hojas, que corresponde a la suma de los principales azúcares solubles (sacarosa, glucosa y fructosa), observamos que frente a los valores constantes de carbohidratos solubles en plantas control, las plantas

tratadas acumulan estos carbohidratos, tanto en aplicaciones vía radical como foliar, de forma significativa 3 días después del tratamiento e incluso desde el día 1 con aplicación radical de glifosato (Figura 1). El contenido de almidón fue menos concluyente, si bien el imazamox tras aplicación radical si produjo una acumulación de almidón en hojas, tras aplicación foliar solo se observa a día 7. Además la aplicación de glifosato no produjo acumulación de almidón. La acumulación de carbohidratos detectada en hojas indica, por una parte, que sigue habiendo fotosíntesis neta, y por otra, que existe una alteración en la utilización de los fotoasimilados: está limitado su uso directo y/o translocación hacia los sumideros.

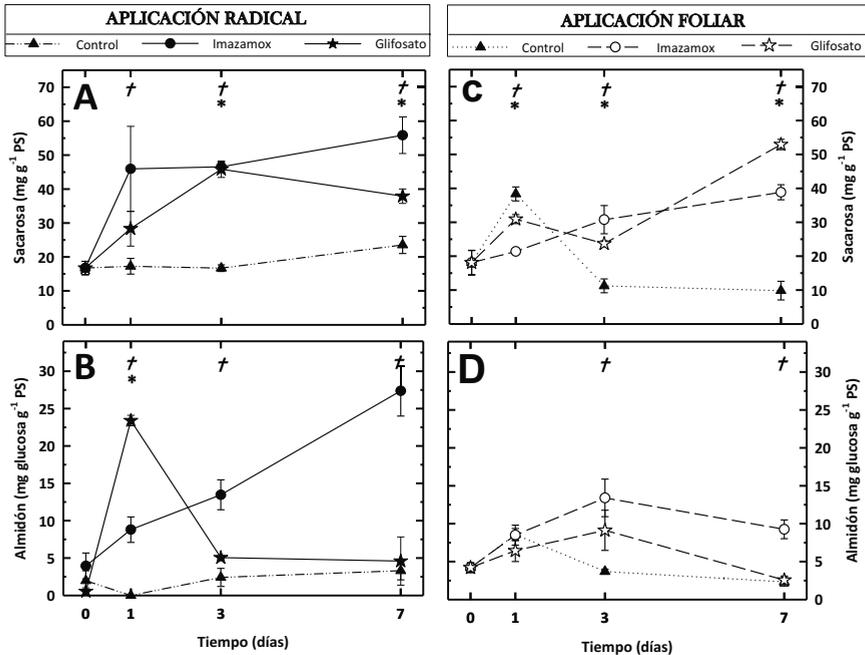


Figura 2. Efecto de los herbicidas IMAZAMOX y GLIFOSATO aplicados vía radical (A, B) o mediante aplicación foliar (C, D) sobre el contenido en sacarosa (A, C) y almidón (B, D) en raíces de guisante. Media ± ES (n=3). † indica diferencia significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre el valor control y el tratamiento de IMAZAMOX para un día determinado. \* indica diferencia significativa ( $P \leq 0,05$ ) entre el valor control y el tratamiento de GLIFOSATO para un día determinado.

El análisis del contenido en carbohidratos tanto en hoja como en raíz permite observar el balance de translocación de carbohidratos de fuentes a sumideros junto con el uso de estos carbohidratos en ambos órganos. En el análisis del contenido de sacarosa en raíz, observamos que ambos herbicidas provocan una acumulación significativa tras las aplicaciones por ambas vías a los 3 y 7 días de tratamiento (Figura 2). El análisis de contenido de almidón en raíces también fue menos concluyente, como en el caso de las hojas. Sólo el herbicida imazamox en ambas aplicaciones produjo una acumulación significativa de almidón en raíces, y dicha acumulación fue mayor y más temprana en la aplicación radical que en la foliar. En general, ninguna de las dos aplicaciones del herbicida glifosato afectaron de una manera al contenido de almidón salvo un incremento puntual a día 1. Estos resultados establecen de manera concluyente que la inhibición de crecimiento de las raíces de estas plantas no es debida a la falta de fotosintetizados, sino muy al contrario, puede ser precisamente la acumulación de carbohidratos en raíces la causa de la acumulación de carbohidratos en hojas puesto que

disminuye la demanda de los sumideros (gradiente de azúcares fuente-sumidero) y con ello desciende el transporte a larga distancia.

Se puede concluir que ambos herbicidas aplicados vía foliar y radical presentan un efecto común en el metabolismo del carbono: acumulación de azúcares (al menos solubles) en hojas y en raíces. Este comportamiento ha sido descrito previamente para aplicaciones radicales de otros inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos ramificados (Zabalza *et al.*, 2004). El hecho de que el efecto sea similar en ambos tipos de aplicaciones señala que la principal disfunción en estas plantas es la incapacidad de utilizar estos esqueletos carbonados, independientemente de si el herbicida se absorbe por hoja o raíz. El hecho de que el comportamiento sea comparable con imazamox y glifosato muestra la existencia de similitudes entre el efecto que tienen los IBAR y los IBAA. El mecanismo de acción de ambos compuestos es diferente pero llegan a producir similares desequilibrios metabólicos que impedirían la utilización óptima de los carbohidratos disponibles (los cuales llegan a acumularse en hojas y raíces) y con ello el crecimiento. Analizando qué tienen en común estos mecanismos, encontramos que tras inhibir ambas rutas de biosíntesis de aminoácidos se produce una variación importante en el contenido en aminoácidos libres (Orcaray *et al.*, 2010), lo que nos lleva a apoyar la teoría de que existe una regulación cruzada entre la inhibición de las rutas de biosíntesis de aminoácidos.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

La investigación presentada ha sido financiada por el proyecto AGL2010-18621.

#### 5. REFERENCIAS

- Guyer D, Patton D and Ward E (1995). Evidence for cross-pathway regulation of metabolic gene expression in plants. *Proc Natl Acad Sci USA* 92, 4997–5000.
- 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.
- 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.
- Zhao J, Last RL and Williams CC (1998). Induction of arabidopsis tryptophan pathway enzymes and camalexin by amino acid starvation, oxidative stress, and an abiotic elicitor. *Plant Cell* 10, 359–370

Summary: *Root supply and spray to the leaves of herbicides inhibiting amino acid biosynthesis. This work analyzes one of the most controversial physiological effects of herbicides inhibiting amino acid biosynthesis: carbohydrate accumulation. Pea plants were divided in two groups (treated with imazamox or glyphosate). Within each group, two sub groups were done, and each herbicide was applied to roots or leaves. All herbicide treatments caused similar growth arrest and soluble carbohydrate accumulation in leaves and roots were detected, independently of whether the herbicides were applied to leaves or roots. This establishes another common physiological effect in the mode of action of glyphosate and imazamox and indicates that root growth inhibition was not caused by sugar starvation in sinks.*

Keywords: root supply, spray to leaves, herbicides inhibiting amino acid biosynthesis, carbohydrates, imazamox, glyphosate.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Nuevos desafíos para la gestión de resistencias a glifosato**

Jaime Costa<sup>a</sup>, Concepción Novillo, Antonio Álvarez Saborido  
Monsanto Agricultura España, S.L. Avda. de Burgos 17, 10<sup>a</sup>. 28036 Madrid  
<sup>a</sup>[jaime.costa@monsanto.com](mailto:jaime.costa@monsanto.com)

*Resumen:* El número de biotipos de malas hierbas resistentes a glifosato ha aumentado durante los últimos años y Monsanto se ha tomado en serio la prevención y gestión de malas hierbas resistentes a esta materia activa como parte integral de una gestión responsable. Puesto que la resistencia a glifosato afecta a una pequeña fracción de las hierbas encontradas en los cultivos (géneros *Lolium* y *Conyza* en el caso de España) y los productos alternativos con distintos mecanismos de acción suelen ser menos asequibles, sigue en altos niveles la adopción de esta materia activa por los agricultores. Las exigencias derivadas de la Directiva 2009/128/CE, traspuesta en España mediante el Real Decreto 1311/2012 para un uso sostenible de los fitosanitarios son a la vez un desafío y una oportunidad para mitigar los efectos económicos de la resistencia a glifosato mediante una gestión integrada que no excluya otras opciones autorizadas y sin evidencia de efectos adversos.

**Palabras clave:** glifosato, resistencias, variedades modificadas genéticamente (transgénicas).

## 1. INTRODUCCIÓN

El glifosato es un herbicida que ha superado los 38 años de uso creciente en España y otros países, sin evidencia de resistencias durante los primeros 27 años en nuestro país y 21 a escala global, pero para el que actualmente se han confirmado resistencias en 24 especies a nivel global, dentro de un total de 400 casos registrados de especie x mecanismo de acción (Heap, 2013).

Desde 1996, también se han cultivado en América variedades de ciertos cultivos modificadas genéticamente para tolerancia a glifosato (MG). Estas nuevas herramientas han permitido nuevas aplicaciones para este herbicida en una superficie que ha alcanzado 144,2 millones de ha en 2012 (James, 2012). En la Unión Europea, los cultivos de varios tipos de variedades tolerantes a glifosato han recibido sendas opiniones científicas por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, pero aún no han sido autorizadas a pesar de unos requisitos desproporcionados de pureza de semillas, trazabilidad y etiquetado. Estos plazos de espera que para algunas plantas MG superan los 4 años, contrastan con el uso menos regulado de variedades tolerantes a herbicidas obtenidas por métodos de mejora convencionales, como las variedades de girasol IMI (resistentes a la imidazolinonas), variedades de girasol resistentes a sulfonilureas e incluso variedades de *Lolium perenne* tolerantes a glifosato (Semillas Fitó, 2013).

La implementación de la Directiva 2009/128/CE para un uso sostenible de los plaguicidas obliga a la gestión integrada de plagas –incluyendo malezas– a partir del 1 de enero de 2014, lo que va a requerir la consideración de alternativas no químicas para el control de malas hierbas, a tener en cuenta tanto por los asesores de gestión integrada como por los comerciales habilitados y usuarios profesionales.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El seguimiento del desarrollo de resistencias a glifosato está siendo realizado:

- A nivel global, con la lectura de publicaciones científicas relevantes y la evolución de biotipos confirmados en [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org)
- En EE.UU., gracias al seguimiento por el USDA (Departamento de Agricultura) de las superficies sembradas con variedades MG y mediante encuestas específicas respondidas por agricultores.
- En España y otros países europeos, analizando reclamaciones recibidas por los distribuidores de formulaciones de glifosato o con estudios realizados por científicos expertos en resistencias (Nandula, 2010; Calha *et al.*, 2011; HRAC, 2013; Taberner, 2013).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En EEUU, el Departamento de Agricultura viene publicando anualmente el seguimiento de la adopción de variedades MG en los principales cultivos (USDA, 2013). Con base en los últimos datos publicados por el USDA podemos concluir que la aceptación de las variedades MG tolerantes a glifosato sigue siendo muy alta, a pesar de que se ha observado una importante presencia de biotipos resistentes a glifosato.

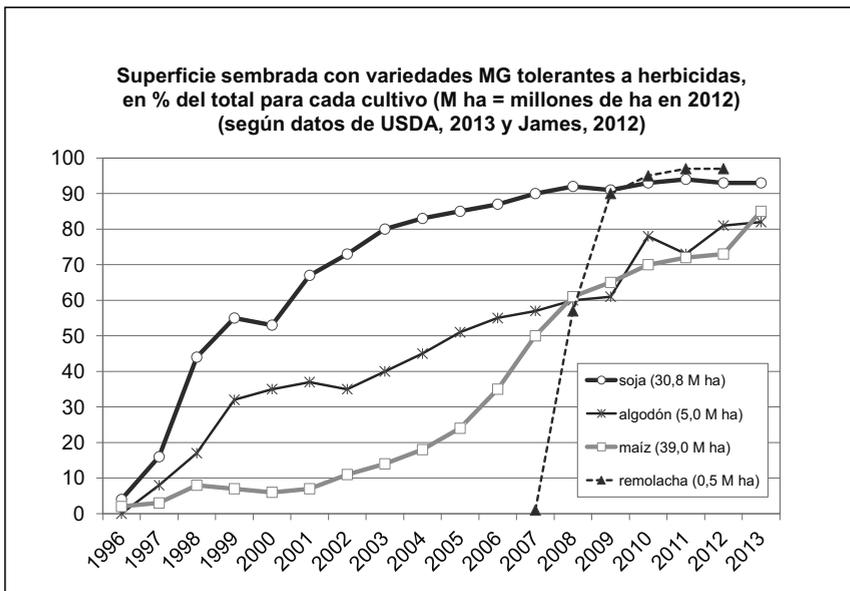


Figura 1. Adopción de variedades modificadas genéticamente (MG) en EE.UU. (1996-2013)

Al mantenimiento de esta aceptación ha podido contribuir las recomendaciones y promoción activa por parte de Monsanto del uso de glifosato en secuencia o mezcla con otros herbicidas complementarios, tanto si los biotipos resistentes han aparecido en la parcela cultivada como si no han sido advertidos, según se refleja en las “Technology Use Guide” que se actualizan anualmente. En las encuestas sobre la opinión de los agricultores que vienen

realizándose desde 2005, se ha analizado la percepción sobre los problemas de malezas bajo diferentes rotaciones de cultivo. La presencia del género *Conyza*, fue considerada un problema para el 30% de los agricultores que siguen la rotación algodón-MG/soja-MG, para el 17% de los agricultores sembrando soja-MG/soja-MG, 14% para los agricultores sembrando algodón-MG/algodón-MG o algodón-MG/maíz-MG, 10% para los agricultores sembrando maíz-MG/soja-MG, entre 4 y 9% para variedades MG de maíz, algodón y soja seguidos de variedades convencionales y era considerada un problema tan solo para un 1% de los agricultores que sembraban maíz-MG de forma continuada (Prince *et al.*, 2011). Una conclusión de estos datos es que para el control de *Conyza* la rotación de materias activas se ha mostrado más efectiva que la rotación de cultivos para mitigar la resistencia a glifosato.

En España y otros países de la Unión Europea, se han detectado biotipos de *Lolium* y *Conyza* resistentes a glifosato en varias zonas, pero la erosión de materias activas con diferentes mecanismos de acción ha continuado, pues terbutilazina y fluometuron parecen ser los últimos representantes de los grupos C1 y C2 cuyo uso en cultivos leñosos se ha perdido, dando lugar a nuevas reducciones de herramientas disponibles para los agricultores. La Directiva 2009/128/CE para un uso sostenible de fitosanitarios, traspuesta a la legislación española con el Real Decreto 1311/2012, establece un marco de actuación para integrar el uso de herbicidas y otros fitosanitarios con herramientas no químicas, como pueden ser las labores, las siegas o el control biológico. Es importante que las aplicaciones integradas de cada una de estas herramientas sean aplicadas en los momentos óptimos para un control eficiente, como por ejemplo:

- Aplicaciones herbicidas de acuerdo con las buenas prácticas indicadas en cada etiqueta, para que proporcionen altos niveles de control
- Aplicaciones de glifosato cuando las malezas anuales a controlar no están muy desarrolladas (roseta, en el caso de *Conyza*)
- Siegas al inicio de floración, antes de que las malezas objetivo desarrollen semillas viables
- Labores superficiales cuando han germinado la mayoría de las malas hierbas
- Operaciones mecánicas compatibles con el hábitat y nidos de animales auxiliares (aves, hormigas, conejos, etc).

Las opciones actuales para una gestión integrada de *Lolium* resistente a glifosato pueden resumirse en la Figura 2.

Como la resistencia seguirá siendo un problema económico para los productores, pensamos que el desafío puede ser superado mediante:

- Estricto seguimiento de las Buenas Prácticas Agrícolas dirigidas al control total de las malezas objetivo, especialmente cuando hay presencia de *Lolium* o *Conyza*. Las dosis subletales parecen favorecer la acumulación de genes relacionados con la resistencia
- Control de los biotipos que escapan al tratamiento antes de que florezcan y formen semillas, mediante el empleo de herbicidas con materias activas complementarias recomendadas en secuencias o mezclas en tanque con glifosato. Esta es una excelente oportunidad en cultivos leñosos, pues facilitan la supervisión de resultados y ofrecen una ventana de varias semanas o meses para reducir la producción de semillas resistentes

- Uso potencial complementario de herramientas mecánicas como la siega -al inicio de floración- o el laboreo –cuando la mayoría de semillas de la especie objetivo han germinado- en rotaciones de cultivos anuales
- Las siegas son preferibles al laboreo por su compatibilidad con la presencia de hormigas (Baraibar *et al.*, 2009), aves y otros animales que pueden ayudar a los agricultores destruyendo las semillas. En una región semi-árida sin laboreo, las semillas de *Lolium rigidum* eran preferidas por la hormiga granívora *Messor barbarus* L. que en cereales puede depredar entre el 40% y el 75% de las semillas producidas (Westerman *et al.*, 2012).

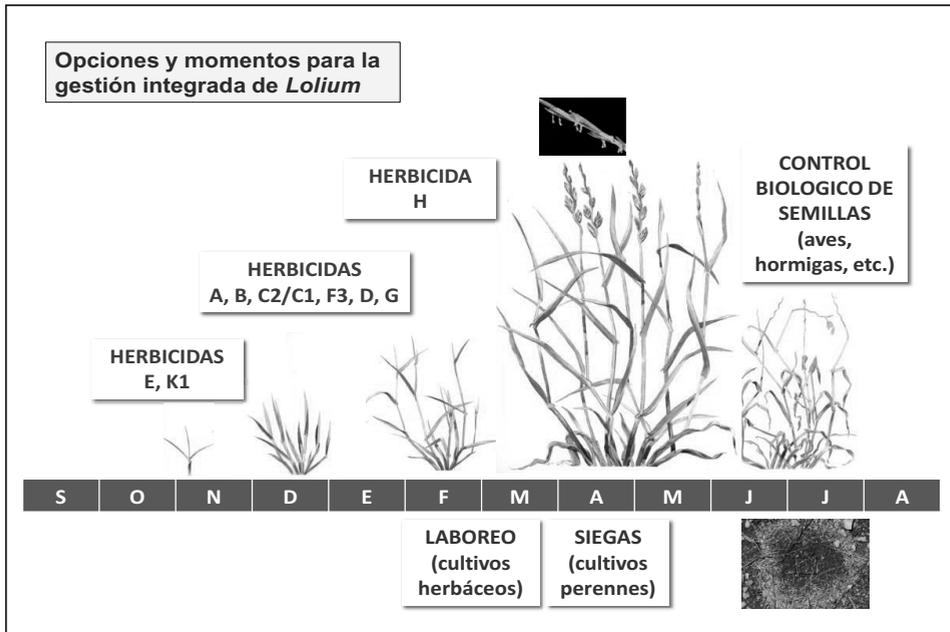


Figura 2. Herramientas para la gestión integrada de vallico (género *Lolium*).

La implementación de la Directiva 2009/128/CE para un uso sostenible de los plaguicidas es a la vez un desafío y una oportunidad para la gestión integrada de las malas hierbas; es un desafío pues el menor empleo de los herbicidas puede empujar al empleo de labores mecánicas con conocido impacto adverso sobre la erosión, emisiones de CO<sub>2</sub> y sobre la biodiversidad del suelo. Pero es también una oportunidad para que las recomendaciones de los técnicos en gestión integrada alcancen a una mayor proporción de agricultores profesionales.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

A los expertos de centros públicos o privados que participan de forma activa en el Comité para la Prevención de Resistencias a Herbicidas (CPRH, 2013).

## 5. REFERENCIAS

- Baraibar B, Westerman P, Carrión E, and Recasens J (2009). Effects of irrigation and tillage on weed seed removal by predators. *Journal of Applied Ecology*, 46, 380-387.
- Calha IM, Portugal J, and De Prado R (2011). Resistência aos herbicidas. *Jornadas Resistência Adquirida a Herbicidas em Culturas Perenes, Beja (Portugal)*, 15 p.
- CPRH (2013). Divulgación sobre resistencia a herbicidas. Páginas [www.semh.net/resistencia\\_herbicidas.html](http://www.semh.net/resistencia_herbicidas.html) consultadas el 25 de julio de 2013.
- Heap I (2013) The international survey of herbicide resistant weeds. Páginas de internet [www.weedscience.org](http://www.weedscience.org) consultadas el 25 de julio de 2013.
- HRAC (2013) Herbicide Resistance Action Committee. Páginas [www.hracglobal.com](http://www.hracglobal.com) consultadas el 25 de julio de 2013.
- James C (2012). *Global status of commercialized biotech/GM crops: 2012*. ISAAA Brief n° 44, 315 pages. ISAAA, Ithaca, New York.
- Monsanto (2013). 2013 US Technology Use Guide, 28 p. Páginas <http://www.monsanto.com/SiteCollectionDocuments/Technology-Use-Guide.pdf> consultadas el 25 de julio de 2013.
- Nandula VK (2010). *Glyphosate resistance in crops and weeds*. Ed. by Nandula VK, 321 pages. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey.
- Prince JM, Shaw DR, Givens WA, Owen MDK, Weller, SC, Young BG, Wilson RG, and Jordan DL (2011). Benchmark Study: I. Introduction, weed population, and management trends from the Benchmark Survey 2010. *Weed Technology*, 26, 525-530.
- Semillas Fitó (2013). Semillas Fitó presenta una variedad de césped no modificada genéticamente resistente al Glifosato. Página de internet [www.semillasfito.com/noticias.php?cod=87](http://www.semillasfito.com/noticias.php?cod=87) consultada el 25 de julio de 2013.
- Taberner A (2013). Alternativas no químicas para el manejo integrado de malezas resistentes. *Viabilidad del glifosato en sistemas productivos sustentables*. Ed. by Ríos A, Serie Técnica 204, 35-40. Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria, Uruguay.
- USDA (2013). Adoption of genetically engineered crops in the US. Economic Research Service, United States Department of Agriculture. Páginas de internet [www.ers.usda.gov/data-products/adoption-of-genetically-engineered-crops-in-the-us/recent-trends-in-ge-adoption.aspx](http://www.ers.usda.gov/data-products/adoption-of-genetically-engineered-crops-in-the-us/recent-trends-in-ge-adoption.aspx) consultadas el 25 de julio de 2013.
- Westerman PR, Atanackovic V, Royo-Esnal A, and Torra J (2012). Differential weed seed removal in dryland cereals. *Arthropod-Plant Interactions*, 6, 591- 599.

Summary: *New stewardship challenges for glyphosate resistant weeds. The number of weed biotypes resistant to glyphosate has increased over the last years, and Monsanto has taken it seriously the prevention and management of resistant weeds as part of our stewardship commitments. Since the resistant to glyphosate is only happening in a small fraction of the crop weeds (Lolium and Conyza in Spain), and the alternative products are usually more expensive, the adoption of this active ingredient remains high among farmers. The requirements of Directive 2009/128/EC for a sustainable use of pesticides are both a challenge and an opportunity to mitigate the economic impact of the resistance to glyphosate through an integrated weed management which does not exclude other approved tools without evidence of adverse effects.*

Keywords: glyphosate, weed resistance, genetically modified varieties (transgenic).



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Nuevas opciones de manejo integrado de poblaciones de *Papaver rhoeas* resistentes a herbicidas**

J. Rey-Caballero <sup>\*a</sup>, J. Torra <sup>\*</sup>, A. Royo-Esnaol <sup>\*</sup>, I. Gonzalez <sup>\*\*</sup>, R. Ferrer <sup>\*\*</sup>, J. Recasens <sup>\*</sup>

<sup>\*</sup> Malherbología y Ecología Vegetal. Dpto HBJ. Agrotecnio, Universitat de Lleida.  
Avda. Rovira Roure 191, 25198 Lleida.

<sup>a</sup> [jordi.rey@hbj.udl.es](mailto:jordi.rey@hbj.udl.es)

<sup>\*\*</sup> Dow Agrosociencias, Ribera del Loira 8-10, 28008 Madrid

*Resumen:* La amapola (*Papaver rhoeas* L.) es la mala hierba dicotiledónea más común en los cereales de España y uno de los principales problemas debido a la aparición de biotipos resistentes a 2,4-D y tribenurón-metil. El manejo integrado de esta maleza resulta imperativo para poder controlar aquellos biotipos que muestren estas resistencias. Con el objetivo de probar diferentes programas de control integrado se ha desarrollado una serie de ensayos en una finca comercial de cereal donde previamente se había confirmado la existencia de biotipos de amapola resistentes. Atendiendo a los resultados preliminares de la primera campaña y parte de los de la segunda, se puede afirmar que las distintas alternativas probadas han conseguido un control satisfactorio de amapola, en especial los tratamientos en PRE-emergencia y POST-emergencia precoz.

**Palabras clave:** tribenurón, 2,4-D, control integrado, amapola.

## 1. INTRODUCCIÓN

*P. rhoeas* está presente en el 39% de los campos catalanes dedicados a la producción de cereal (Riba *et al.*, 1990). Su elevada capacidad de infestación se debe a la formación de bancos de semillas persistentes, a un extenso período de emergencia y a una elevada fecundidad. *P. rhoeas* puede causar unas pérdidas de cosecha en el cereal de al menos un 32% (Torra *et al.*, 2008). A estos problemas hay que añadir la aparición de poblaciones resistentes a herbicidas. En 1992 se empezaron a detectar problemas de control de *P. rhoeas* con 2,4-D (Taberner *et al.*, 1992) y los primeros biotipos resistentes a 2,4-D y tribenurón-metil fueron descritos en 1998 (Claude *et al.*, 1998). Se estima que cerca del 20% de los campos infestados de *P. rhoeas* poseen poblaciones resistentes a inhibidores de la ALS, un 5% poblaciones resistentes a 2,4-D y un 15% albergan poblaciones con ambos tipos de resistencia (CPRH 2012, com. per).

El desarrollo de estrategias de manejo que combinen tanto técnicas culturales como químicas es imperativo para conseguir un manejo óptimo de estas poblaciones problemáticas. Con este propósito se ha desarrollado un estudio con el fin de evaluar diferentes estrategias de tipo cultural (rotaciones de cultivos, fecha y densidad de siembra, manejo de la fertilización) junto con otras estrategias de control químico (rotación de materias activas y modificación del momento de aplicación del herbicida). El objetivo del estudio consiste en el establecimiento de un programa de manejo integrado de poblaciones de *P. rhoeas* resistentes a herbicidas.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio planteado comprende tres campañas cerealistas y se está llevando a cabo en un campo comercial en Sant Antolí (Lleida) de cereal de invierno, donde se habían confirmado previamente biotipos de *P. rhoeas* resistentes a 2,4-D y/o tribenurón-metil. Los resultados

presentados en el presente trabajo corresponden a los de las dos primeras campañas (2011-12 y 2012-13).

Se han establecido ocho estrategias diferentes de control integrado (ECI) de *P. rhoeas*, que incluyen diferentes técnicas culturales (manejo de la fertilización, dosis de siembra y momento de siembra) y químicas (rotación de materias activas y momentos de aplicación).

- ECI-1: Monocultivo tradicional de cereal con aplicación de un mismo herbicida en post-emergencia durante las dos campañas.
- ECI-2: Monocultivo de cereal con rotación de herbicidas en post-emergencia.
- ECI-3: Monocultivo de cereal con una aplicación de herbicida en post-emergencia precoz la primera campaña y otra aplicación en post-emergencia en la segunda campaña.
- ECI-4: Monocultivo de cereal con una aplicación de pre-emergencia y otra de post-emergencia durante la primera campaña y una única aplicación en post-emergencia durante la segunda campaña.
- ECI-5: Monocultivo de cereal con un retraso de siembra de 15 días.
- ECI-6: Monocultivo de cereal con un incremento en la densidad de siembra del cereal (280 Kg/ha).
- ECI-7: Monocultivo de cereal sin nitrógeno en cobertera.
- ECI-8: Monocultivo de cereal con extra de nitrógeno en cobertera (270 Kg N. ha<sup>-1</sup>).

En las cuatro últimas estrategias los herbicidas empleados fueron los mismos que los utilizados en la estrategia ECI-2 (Tabla 1).

Los herbicidas empleados en estas estrategias se aplicaron a las siguientes dosis:

- Image: Bromoxinil a 210 g ha<sup>-1</sup> + Ioxinil a 210 g ha<sup>-1</sup> + MCPP a 360 g ha<sup>-1</sup>
- Intensity: Aminopirialid a 10 g ha<sup>-1</sup> + Florasulam a 4.95 g ha<sup>-1</sup>
- Rokenyl: Isoxaben a 125 g ha<sup>-1</sup>
- Aminopirialid a 6.25 g ha<sup>-1</sup>

El diseño experimental es en bloques completamente aleatorizados con un total ocho parcelas (estrategias) y tres bloques (24 parcelas experimentales). La superficie de las parcelas es de 100 m<sup>2</sup> (10x10 m) y los pasillos entre parcelas de 5 metros de ancho.

La densidad de *P. rhoeas* fue estimada antes de los tratamientos químicos (densidad inicial) y a los 30, 60, 90 y 120 días de los mismos. La última valoración se realizó poco antes de la cosecha y en las figuras aparece como densidad final. La estimación de densidad se realizó lanzando diez veces al azar un marco de 0.1 m<sup>2</sup> en cada parcela donde se contó el número de plantas de *P. rhoeas*. Además, en cada parcela y a partir de la densidad inicial, se estimó el porcentaje de reducción de la población a los 30, 60, 90 y 120 días según la expresión:

$$\text{Reducción de la densidad} = 100 - \left( \frac{\text{Densidad despues de la intervención} \cdot 100}{\text{Densidad antes de la intervención}} \right)$$

Tabla 1. Resumen de las distintas estrategias de control integrado (ECI).

| ECIs  | Campaña 2011-2012                          |                       | Campaña 2012-2013                        |                       |
|-------|--|-----------------------|--|-----------------------|
|       | Herbicida                                  | Momento de aplicación | Herbicida                                | Momento de aplicación |
| ECI-1 | IMAGE<br>(Bromoxinil +<br>loxinil + MCP)   | POST-emergencia       | IMAGE<br>(Bromoxinil +<br>loxinil + MCP) | POST-emergencia       |
| ECI-2 | INTENSITY<br>(Aminopiridil +<br>Florasuam) | POST-emergencia       | IMAGE<br>(Bromoxinil +<br>loxinil + MCP) | POST-emergencia       |
| ECI-3 | Experimental +<br>Aminopiradila            | POST-PRECOZ           | IMAGE<br>(Bromoxinil +<br>loxinil + MCP) | POST-emergencia       |
| ECI-4 | ROKENYL<br>(Isoxaben)                      | PRE-emergencia        | IMAGE<br>(Bromoxinil +<br>loxinil + MCP) | POST-emergencia       |
|       | INTENSITY<br>(Aminopiridil +<br>Florasuam) | POST                  |  |                       |
| ECI-5 | INTENSITY<br>(Aminopiridil +<br>Florasuam) | POST-emergencia       | IMAGE<br>(Bromoxinil +<br>loxinil + MCP) | POST-emergencia       |
| ECI-6 | INTENSITY<br>(Aminopiridil +<br>Florasuam) | POST-emergencia       | IMAGE<br>(Bromoxinil +<br>loxinil + MCP) | POST-emergencia       |
| ECI-7 | INTENSITY<br>(Aminopiridil +<br>Florasuam) | POST-emergencia       | IMAGE<br>(Bromoxinil +<br>loxinil + MCP) | POST-emergencia       |
| ECI-8 | INTENSITY<br>(Aminopiridil +<br>Florasuam) | POST-emergencia       | IMAGE<br>(Bromoxinil +<br>loxinil + MCP) | POST-emergencia       |

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de la varianza (ANOVA) considerando la estrategia de control como único factor. Tras el análisis se verificó la bondad del ajuste a través de un análisis de los residuos (homogeneidad de varianzas). Cuando fue necesario se transformaron los datos para obtener la normalidad de los mismos. Tras haber rechazado la hipótesis nula de igualdad de medias, se realizó un test de Tukey con el fin de comparar las medias de los distintos tratamientos. Para el análisis estadístico se utilizó el software “R” versión 2.9.2 (R Development Core Team, 2009) y su paquete “agricolae” (Felipe de Mendiburu, 2010).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las figuras 1 y 2 reflejan los resultados de densidad y porcentaje de reducción de población a los 60 días después del tratamiento herbicida y al final de la campaña. En la tabla 2 se exponen los datos de reducción de la densidad inicial entre campañas.

**3.1. Comparación entre estrategias.** Partiendo de una densidad promedio de 330 plantas/m<sup>2</sup> en el momento de la aplicación, los resultados muestran que la mejor estrategia ha sido la ECI-4 (Figura 1), donde se ha conseguido un porcentaje de reducción de un 99.9% y una densidad final de 0.5 plantas/m<sup>2</sup>. Por el contrario, las estrategias que peores resultados ofrecieron fueron la ECI-2 y el ECI-7 (con una densidad final de 5 plantas/m<sup>2</sup> cada una). En general, las aplicaciones precoces o aquéllas que fueron acompañadas con una aplicación herbicida de pre-emergencia (ECI-3 y ECI-4) mostraron los mejores resultados.

**3.2. Reducción de la densidad inicial entre campañas.** En la Tabla 2, se muestra el porcentaje de reducción de la densidad inicial de *P. rhoeas* entre la primera y la segunda campaña. Como

podemos observar, la gran mayoría de estrategias consiguen reducir de forma notable la densidad inicial de amapola.

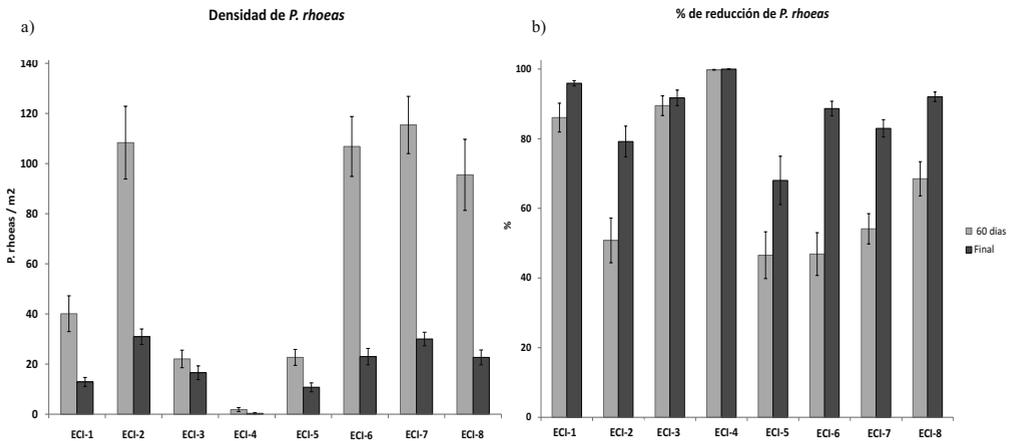


Figura 1. Resultados en Sant Antolí. a) Densidad de *Papaver rhoeas* a los 60 días y 120 días (densidad final) después de los tratamientos herbicidas. b) Porcentaje de reducción de *P. rhoeas* a los 60 y 120 días después de los tratamientos herbicidas.

Las estrategias ECI-3 y ECI-4 han resultado ser las que han reducido en mayor número el porcentaje de emergencia de amapola. Estos datos coinciden con lo observado en el punto anterior, y constatan nuevamente que los tratamientos herbicidas tempranos (en post-emergencia precoz o con una aplicación de pre-emergencia) no sólo muestran alta eficacia en la campaña en la que son aplicados sino que también tienen un efecto en la campaña siguientes al reducir de forma significativa la incorporación de semillas al suelo. Esto permite reducir el banco de semillas y obtener una menor infestación al inicio de la nueva campaña. Trabajos similares desarrollados sobre poblaciones de amapolas resistentes, también han descrito una mejor eficacia de los tratamientos en pre-emergencia y post-emergencia precoz (Cirujeda *et al.* 2001; Torra *et al.* 2010)

Tabla 2. Porcentaje de reducción de la densidad inicial de *P. rhoeas* en la segunda campaña (2012-2013) para cada estrategia de control integrado ensayada (ECI).

| ECI-1 | ECI-2 | ECI-3 | ECI-4 | ECI-5 | ECI-6 | ECI-7 | ECI-8 |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 97.38 | 91.95 | 95.88 | 98.41 | 67.70 | 86.83 | 88.73 | 97.21 |

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este estudio se ha realizado gracias a la financiación y colaboración por parte de la empresa Dow AgroSciences Iberica y dentro del programa UdL-Impuls Banco Santander. Agradecemos la ayuda prestada por parte de Núria Moix, Lluc Pallarés, Eva Edo, Laia Mateu y Ana Baños en llevar a cabo los ensayos de campo.

## 5. REFERENCIAS

- Cirujeda A, Recasens J and Taberner A (2001) A qualitative quick-test for detection of herbicide resistance to tribenuron in *Papaver rhoeas*. *Weed Research*, 41,523–534.
- 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.
- Felipe de Mendiburu (2010). agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.0-9.<http://CRAN.R-project.org/package=agricolae>.
- Riba F, Recasens J and Taberner A (1990). Flora arvense de los cereales de invierno de Cataluña (I). *Reunión 1990 de la Sociedad Española de Malherbología*. pp. 239-246. Madrid, España.
- 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.
- Torra J, González-Andújar JL and Recasens J (2008). Modelling the population dynamics of *Papaver rhoeas* under various weed management systems in a Mediterranean climate. *Weed Research*, 48, 136–146.
- Torra J, Cirujeda A, Taberner A and Recasens J (2010). Evaluation of herbicides to manage herbicide-resistant corn poppy (*Papaver rhoeas*) in Winter cereals. *Crop Protection*, 29, 731–736.

Summary: *New options to establish an integrated management of herbicide resistant Papaver rhoeas populations. Papaver rhoeas is one of the most noxious dicotyledonous weed in winter cereals in Spain and an increasing problem due to the appearance of herbicide resistant biotypes to synthetic auxines and/or to sulfonylureas. The integrated management of this weed is important to control those resistant biotypes. Field experiments in a commercial field where the presence of resistant biotypes were known were conducted to evaluate and integrate different control programs in order to control these problematic populations. According to the preliminary results of the first and second season, we can conclude that the majority of the strategies tested achieved a satisfactory control of this species, especially with PRE- emergency and POST-early herbicide treatments.*

Keywords: Tribenuron, 2,4-D, Integrated Weed Management (IWM), corn poppy.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Weed Control in Turfgrass Management**

Patrick McCullough, Ph.D.

University of Georgia

**1. TURFGRASS INDUSTRY**

The turfgrass industry consists of golf course superintendents, athletic field managers, lawn care professionals, homeowners, sod growers, seed producers, pesticide specialists, and other professional agronomists. The turfgrass industry in the United States provides employment, revenue, and services to communities. The turfgrass industry in Georgia alone contributes \$7.8 billion USD annually to the state's economy and generates over \$1 billion in tax revenues (Waltz 2012). In 2010, over 87,000 people were employed in the turfgrass industry in Georgia, and an estimated 750,000 hectares of turfgrass were maintained.

In the United States, lawns represent the largest area of maintained turfgrass. Homeowners, lawn care specialists, and agronomists manage lawns for aesthetics, recreation, and property maintenance. In Georgia, there are over 506,000 hectares of lawn turfgrass with an estimated \$2.77 billion spent annually on maintenance (Waltz 2012). Turfgrass scientists in the United States provide research and extension services to promote long-term sustainability of the industry. Extension services consist of local seminars, publications, and field days for educating industry professionals on best management practices.

**2. CONTROLLING TURFGRASS WEEDS**

Turfgrass is a perennial crop, and practitioners plan multi-year management programs for successful culture. Weeds reduce aesthetics of turfgrass swards, but may also reduce turf functionality. For example, the presence of crabgrass (*Digitaria* spp.) in an athletic field may reduce the traction and durability of playing surfaces. The presence of weeds on golf course putting greens reduces ball roll distances, and control is often warranted to meet player expectations. Failure to control weeds weakens turfgrass stands and may predispose areas to other pests, such as insects and diseases.

Cultural, mechanical, and chemical methods are used to control weeds in turfgrass management. Properly maintained turfgrasses have competitive growth, and appropriate cultural practices help reduce establishment of weeds (Busey 2003). For example, deep and infrequent irrigation encourages turfgrass root development, which may improve the ability of desired grasses to compete with weeds in mixed stands. Withholding water until the desirable turfgrass species exhibits initial drought stress symptoms can help reduce soil moisture for potential weed infestations. Overwatering, especially in shady areas, may predispose turf to the establishment and growth of weed species.

Traffic, wear, and soil compaction often reduce turfgrass growth and competition with weeds. If possible, turf managers should redirect traffic away from stressed areas to help promote turfgrass recovery over thinned areas. Core aerifications are recommended during active turfgrass growth to alleviate compaction (Carrow et al., 1987). Voids left in turf with exposed soil following aerification may permit weed invasion during periods of peak

germination, and managers may alter timings to optimize turfgrass recovery. For cool-season (C3) grasses, aerification should be timed in early fall once the grass has recovered from summer stresses. Warm-season (C4) grasses should only be aerified during active growth to promote recovery.

Mowing height, frequency, and equipment requirements vary among turfgrass species, and practitioners should maintain turf under appropriate regimens for successful culture. For example, tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) lawns should be mowed at 7.5 cm height for optimum growth, while bermudagrass (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) may be routinely mowed from 3.5 to 5 cm. Raising the mowing height during peak germination of annual weeds may encourage turf competition and reduce potential infestations (Dernoeden et al., 1993). Lower mowing heights reduce photosynthetic capacity of turfgrasses, and provide weeds more access to light, water, and resources needed for growth.

Turfgrasses should also be mowed frequently during periods of vigorous growth to prevent scalping. Scalping thins out turf and may enable weeds to establish. Many weed species do not tolerate frequent mowing. For example, pigweed species (*Amaranthus* spp.) are major problematic weeds in row crops, but are generally not found in turfgrass due to poor tolerances of routine mowing. Following mowing frequency and cutting height recommendations can limit development of many weed species. However, many perennials, such as dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.) and purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) tolerate routine mowing at various heights. Thus, adjustments in mowing height or cultural practices may not effectively control many perennial weeds in turfgrass, and herbicides are often warranted for management.

Herbicides are important components of a turfgrass weed control program. Preemergence herbicides are applied before weeds germinate to prevent establishment in turfgrasses. Preemergence herbicides are used in turfgrass primarily to control annual species since most chemistries have limited efficacy on perennials. Application rate, temperature, leaching, and microbial activity affect the persistence of preemergence herbicides in soil. Turf managers using preemergence herbicides must consider the potential residual effects on turfgrass establishment if overseeding or sodding is needed in treated areas. Preemergence herbicides, such as dinitroanilines, can prevent the establishment of turfgrass seed months after applications. Newly established turfgrass or sod planted in treated areas could have root growth inhibited by preemergence herbicides, and may affect growth and development. Postemergence herbicide use is often needed to control perennials or annuals not controlled by preemergence herbicides. Practitioners in the U. S. have numerous postemergence herbicide options, but limitations on efficacy, labeled areas, turfgrass tolerance, and cost may be challenges for successful control.

### 3. PROBLEM WEEDS OF TURFGRASS

Annual bluegrass (*Poa annua* L.) is the most problematic winter annual weed in turfgrass. Compared to most turfgrass species, annual bluegrass has a lighter green color, coarser leaf texture, and produces unsightly seedheads. Contrary to its name, both annual (live for one season) and perennial (live for many seasons) biotypes of annual bluegrass may be found in turf. Perennial biotypes are more prevalent on closely mowed turf that receives frequent irrigation and high nitrogen fertilization. Perennial biotypes will be more prevalent in shady or highly trafficked areas with compacted soil. While the two biotypes may not be easily

distinguished from each other, annual types are more upright in growth and produce more seed than lower-growing perennial types.

Annual bluegrass seed germinates in late summer or early fall as soil temperatures drop below approximately 20°C (Shem-Tov and Fennimore, 2003). Seedlings grow and mature in fall, overwinter in a vegetative state, and produce seed in spring. Annual bluegrass is a prolific seed producer and individual plants may produce hundreds of viable seed, even when closely mowed. Annual bluegrass flowers over several months in spring, and produces seed that may remain dormant in soil for years before germinating. Annual bluegrass grows well under short day lengths and cool conditions, and may out-compete other turf species during late fall and early spring. Annual bluegrass often dies from summer stresses, but may survive if irrigated and pests are adequately controlled, especially for perennial biotypes.

Crabgrass (*Digitaria* spp.) and goosegrass (*Eleusine indica* (L.) Gaertn.) are problematic summer annual weeds in turf. Crabgrass begins to germinate when soil temperatures reach approximately 13°C in spring. Goosegrass tends to germinate later than crabgrass, as soil temperatures reach 16 to 18°C. Higher temperature requirements for goosegrass may lead to later initial germination flushes than crabgrass. It is recommended that turf managers delay preemergence herbicide applications for goosegrass control by approximately three to four weeks later in spring than initial treatments for crabgrass.

Dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.) is a problematic warm-season perennial weed in turfgrass. Dallisgrass has a clumped growth habit, wide leaf blades, and prolific seedhead production, which significantly reduce turfgrass aesthetics and quality from spring to fall. Dallisgrass has short rhizomes that provide a photosynthate sink before dormancy in late fall and during spring emergence. In the southern United States, dallisgrass emerges from dormancy in early spring (March or April) and will resume active growth until late fall (October or November). Dallisgrass has potential to retain active growth throughout the year in warm climates, but plants undergo dormancy in most areas. Preemergence herbicides are ineffective against dallisgrass populations, and most postemergence herbicides provide erratic control in turf.

Bermudagrass is a warm-season perennial widely used for lawns in the southeastern United States. Although improved common (*Cynodon dactylon* (L.) Pers.) and hybrid bermudagrasses (*Cynodon dactylon* (L.) Pers. x *C. transvaalensis* Burtt-Davy) have desirable qualities as a turfgrass for heat, drought, and wear tolerances, bermudagrass is a problematic weed when grown in mixed stands with other turf species. Centipedegrass (*Eremochloa ophiuroides* (Munro) Hack), St. Augustinegrass (*Stenotaphrum secundatum* (Walt.) Kuntze), tall fescue (*Festuca arundinacea*), and zoysiagrass (*Zoysia* spp.) lawns are often unable to compete with bermudagrass populations during summer months. Selective control of bermudagrass is difficult, and spot applications of nonselective herbicides are often needed for control.

Sedges (*Cyperus* spp.) are diverse species that are often problematic weeds in turfgrass. Sedges are grass-like plants with pointed leaves, triangular stems, and prolific seedhead production. Most sedges tolerate turf maintenance practices, such as close mowing, and have competitive growth with turfgrasses during summer months. Sedges are often found in wet, poorly drained soils and are especially problematic during turfgrass establishment. Annual sedge species are generally easier to control with preemergence herbicides, but can be persistent in thinned or stressed turf. Perennial sedges, such as purple and yellow nutsedge

(*Cyperus rotundus* and *C. esculentus* L.), are more difficult to control than annuals due to extensive rhizomes or tubers production that are attributed to establishment and persistence in turfgrass culture.

Broadleaf weeds (dicots) strongly contrast with turfgrasses in growth and aesthetics in polyculture. Winter annual broadleaf (dicot) weeds are commonly found in turf that is thinned or weakened from traffic, disease, or injury. Turf grown in shade, compacted soils, or with poor drainage are also prone to broadleaf weed infestations during fall and spring. Common winter annual broadleaf weeds in turfgrass include henbit (*Lamium amplexicaule* L.), corn speedwell (*Veronica arvensis* L.), common chickweed (*Stellaria media* (L.) Vill.), and hairy bittercress (*Cardamine hirsuta* L.).

Perennial broadleaf weeds may reproduce by seed or vegetative stems, and are generally not controlled with preemergence herbicides. Postemergence herbicides often burn-back shoot growth of perennials, but regrowth from vegetative stems could warrant repeat applications. Common perennial broadleaf weeds in turfgrass include white clover (*Trifolium repens* L.), common dandelion (*Taraxacum officinale* F. H. Wigg.), buckhorn plantain (*Plantago lanceolata* L.), and yellow woodsorrel (*Oxalis stricta* L.) is a clover-like perennial with heart-shaped leaves.

#### 4. TURFGRASS SPECIES AS WEEDS

Weed control programs are traditionally planned for annual grassy weeds, sedges, and broadleaf weeds in routine turf maintenance. However, any plant grown out of place that reduces turf quality is a weed, including undesirable turfgrasses. Weedy turfgrasses are often well adapted to management practices and may thrive in polyculture with other species. These grasses quickly become perennial weeds that are difficult to control in long-term management programs.

Weedy turfgrass species emerge by seed or from dormant vegetation. Weediness of turfgrasses is attributed to perennial growth and beneficial aspects of routine mowing, fertilization, irrigation, and other practices that promote culture. Herbicide application regimes and other control measures for weedy turfgrasses may be costly and could ultimately warrant complete turf renovation. Chemical control options are often limited for eradicating weedy turfgrasses due to economics, efficacy, and sensitivity of desirable turfgrasses to herbicides. Managers have potential to control undesirable turfgrasses mixed with other species but planning and knowledge of turf ecology, physiology, and culture is critical for long-term success.

The introduction of undesirable turfgrasses often occurs during establishment. Seedlot contamination occurs when weeds are present in bags of turfgrass seed at ratios that compromise establishment of desirable grasses. As the contaminated bag of seed is planted, the undesirable species establishes during grow-in of the desirable turfgrass. These problems may result from failure to detect weed seed in mixtures with desirable seed. For example, tall fescue seedlots are often contaminated with ryegrasses (*Lolium* spp.). Ryegrass and fescue seed are generally planted at about the same rate because total seed numbers are similar by weight. Thus, similarities of seed make detection difficult in mixtures. To help avoid the introduction of weedy turf grasses by seedlot contamination, managers should purchase and plant high quality certified seed with a guaranteed desirable analysis of turf seed by weight.

Weedy turfgrasses have potential to establish in fields that were renovated to a new species. During renovations, failure to completely control the original turfgrass may result in the emergence with mixtures of the newly planted species. This problem often occurs on sod farms or lawns when growers sell or renovate a field of one species, and then plant a different variety in the same area. Although the original turf species was visually absent during establishment, dormant vegetation, seed, or uncontrolled plants may produce new populations that contaminate the newly planted species. This problem often results when fields of warm-season grasses are renovated with cool-season grasses. The warm-season species may be visually absent from verdure in fall and winter, but emerges in spring or summer with favorable environmental conditions.

Soil contamination with weedy turfgrasses can be avoided through sterilization. Methylbromide or dazomet (Basamid) may be used, if available, to kill weeds in soil prior to establishment (Unruh et al., 2002). Applications of nonselective herbicides, such as glyphosate, are effective before renovation to control cool-season turfgrasses, but applications can be erratic on warm-season species. For example, high rates and multiple applications of glyphosate are required to control bermudagrass (Johnson, 1988). Fall applications of glyphosate are often more effective for controlling turfgrasses, than spring or summer applications, due to photosynthate allocation and better potential for controlling belowground tissues.

## 5. OVERSEEDING *Lolium perenne*

Perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) is a cool-season species with desirable color, quality, and texture for overseeding (Ward et al., 1974). Practitioners overseed dormant bermudagrass with perennial ryegrass in fall to enhance turfgrass aesthetics and functionality in winter and spring months. Perennial ryegrass establishment provides winter color to dormant bermudagrass, and helps suppress annual weeds. Turf managers also overseed Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) with perennial ryegrass to enhance surface uniformity, reduce erosion, and suppress pest populations. Since perennial ryegrass germinates quickly, overseeding Kentucky bluegrass may provide timely turf restoration in order to meet expectations of end-users.

Controlling weeds, such as annual bluegrass, before and after overseeding dormant bermudagrass can be critical for successful establishment of perennial ryegrass in fall. Several chemical and cultural practices may be incorporated in management programs for controlling weeds to optimize perennial ryegrass growth. For example, delaying overseeding of perennial ryegrass in late fall may allow turfgrass managers an opportunity to control annual bluegrass during periods of peak germination. Preemergence herbicides, such as oxadiazon or pendimethalin, may be applied in late summer to control winter annual weeds, but application rates may need to be reduced to half of label recommendations for perennial ryegrass safety.

Turfgrass managers may also apply several sulfonylurea herbicides to bermudagrass prior to overseeding, to help control seedling annual bluegrass and minimize competition with perennial ryegrass. For example, rimsulfuron at 10 to 35 g a.i. ha<sup>-1</sup> may be applied seven to fourteen days prior to overseeding bermudagrass with perennial ryegrass (Brecke et al., 2005). These treatments have potential to effectively control annual bluegrass seedlings, and with minimal soil residual that may effect perennial ryegrass germination. Perennial ryegrass competition with weeds is also critical for successful establishment, and thus optimizing

growth with appropriate fertility, irrigation, and pest control is critical for suppressing weed populations.

## 6. HERBICIDE RESISTANCE

Weed populations resistant to herbicides may present long-term challenges in turfgrass management. In order to prevent or manage resistance, turf managers must understand herbicide mode of action and the potential influence on weed population dynamics. Prior to the development of resistance, initial weed populations are susceptible to herbicides and controlled by labeled rates when appropriately applied. Susceptibility to herbicides is a natural response to toxic effects of the active ingredient that influence the potential for successful weed control. Susceptible weeds may be controlled from certain herbicide chemistries due to the inability to detoxify or withstand the effects of an applied herbicide. For example, common dandelion (*Taraxacum officinale*) is generally controlled by 2,4-D. Turfgrasses are not controlled as they are able to sequester or metabolize the herbicide prior to toxic effects occurring in cells. Therefore, dandelion is susceptible to 2,4-D and practitioners may selectively control the species in most turfgrasses.

Practitioners are most concerned about herbicide tolerance in desirable turfgrasses but weeds may also be tolerant to certain herbicide chemistries. Herbicide tolerance is the natural ability of a turfgrass or weed species to withstand the effects of an applied herbicide. For example, most turfgrasses are tolerant of herbicides that selectively control broadleaf weeds such as 2,4-D or dicamba. Broadleaf weeds, such as dandelions, on the other hand may be tolerant of herbicides that selectively control grassy weeds, such as fenoxaprop. A broadleaf species that was once controlled by 2,4-D but is tolerant, or no longer affected by the herbicide, may suggest resistance is occurring throughout the population.

Resistance is an inherited ability of a weed biotype to survive herbicide applications to which the original population was susceptible. Resistance is encouraged when the same herbicide, or herbicides with a similar mode of action, is applied over years for controlling a weed species. Resistant weeds may survive the herbicide application, reproduce, and become the dominant biotype present in the population. As susceptible biotypes are controlled by the herbicide, resistant plants survive treatments in subsequent years and begin to dominate the population through reproduction and establishment.

Resistance management begins with investigating potential application parameters that may result in herbicide failure for controlling weeds. Preemergence herbicides applied at low rates or after weed seedling emergence may not be as effective for controlling annual species, compared to labeled recommendations and appropriate timings. Efficacy of many postemergence herbicides may be reduced on mature annual weeds compared to seedlings. For example, quinclorac is highly efficacious on crabgrass at the multi-leaf to one tiller growth stage but two applications may be required to control multi-tillered plants. Environmental effects on plant growth such as rainfall, drought, or high humidity may also influence herbicide absorption and overall activity for weed control that are unrelated to herbicide resistance.

If the herbicide rate, application techniques, and environmental effects have been ruled out as potential causes for poor weed control, herbicide resistant biotypes may be present in the field. Turfgrass managers should then evaluate products applied for controlling the potentially resistant weeds, and note the mode of action of the active ingredients. Rotating

chemistries will likely be needed, but applying a different herbicide with the same mode of action will be ineffective for controlling resistant biotypes.

## 7. REFERENCES

- Brecke, B., D. O. Stephenson, and J. B. Unruh. 2005. Annual bluegrass control in overseeded bermudagrass. Agronomy Abstracts. CD-ROM. Available from American Society of Agronomy. 677 South Segoe Road, Madison, WI 53711.
- Busey, P. 2003. Cultural management of weeds in turfgrass. *Crop Sci.* 43:1899-1911.
- Busey, P. and D. L. Johnston. 2006. Impact of cultural factors on weed populations in St. Augustinegrass turf. *Weed Sci.* 54:961-967.
- Carrow, R. N., B. J. Johnson, and R. E. Burns. 1987. Thatch and quality of Tifway bermudagrass in relation to fertility and cultivation. *Crop Sci.* 79:524-530.
- Dernoeden, P. H., M. J. Carroll, and J. M. Krouse. 1993. Weed management and tall fescue quality as influenced by mowing, nitrogen, and herbicides. *Crop Sci.* 33:1055-1061.
- Johnson, B. J. 1988. Glyphosate and SC-0224 for bermudagrass (*Cynodon* spp.) cultivar control. *Weed Technol.* 2:20-23.
- Shem-Tov, S. and S. A. Fennimore. 2003. Seasonal changes in annual bluegrass (*Poa annua*) germinability and emergence. 51:690-695.
- Unruh, J. B., B. J. Brecke, J. A. Dusky, and J. S. Godbehere. 2002. Fumigant alternatives for methyl bromide prior to turfgrass establishment. *Weed Technol.* 16:379-387.
- Waltz, C. 2012. Turfgrass industry facts in Georgia. 2013 Turfgrass Pest Control Recommendations for Professionals. University of Georgia Cooperative Extension Bulletin 984. pp.4.
- Ward, C. Y., E. L. McWhirter, and W. R. Thompson. 1974. Evaluation of cool-season turf species and planting techniques for overseeding bermudagrass golf greens. *Int. Turf. Res. J.* 2:480-495.



## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Datos preliminares sobre la reducción de la fertilización mineral en sistemas cerealistas de secano bajo diferentes sistemas de laboreo**

Navarrete L<sup>\*a</sup>, Sánchez MJ\*, Alarcón R\*, Hernanz JL\*\*, Sánchez-Girón V\*\*\*

\*Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario, Finca El Encín, Apdo. 127, 28800-Alcalá de Henares, Madrid, <sup>a</sup> [luis.navarrete@madrid.org](mailto:luis.navarrete@madrid.org)

\*\* ETSI Montes, Termodinámica y Motores, Ciudad Universitaria s/n, 28040-Madrid

\*\*\* ETSI Agrónomos, Departamento de Ingeniería Rural, Ciudad Universitaria s/n, 28040-Madrid

*Resumen:* Se presenta la primera campaña de datos (2011/12) sobre el efecto de la reducción de la fertilización en 3 ensayos de campo sobre sistemas de laboreo, en cultivos cerealistas de secano. La nascencia resultó menor en la siembra directa de veza, los rendimientos no difirieron entre sistemas de laboreo, tanto en veza como en trigo, pero fueron mas del doble en el trigo en rotación que en monocultivo. En el trigo en rotación, bajo fertilización reducida, se registró un rendimiento superior al obtenido con la dosis convencional. De 30 arvenses censadas, *Fumaria officinalis*, *Amaranthus blitoides* y *Polygonum aviculare* fueron menos abundantes en siembra directa. En trigo, *Papaver rhoeas* y *Descurainia sophia* fueron más abundantes en siembra directa, lo mismo que *D. sophia* en veza. El total de arvenses fue significativamente mayor en el laboreo mínimo en el cultivo de veza, y menor al reducir la dosis de fertilización, en el caso del trigo.

**Palabras clave:** Fertilización reducida, vegetación arvense, sistemas de laboreo, rotación de cultivos, abundancia relativa.

## 1. INTRODUCCIÓN

El incremento de los costes de la producción agrícola, como consecuencia del encarecimiento de los derivados del petróleo, principalmente, gasóleo y fertilizantes químicos, junto con la incertidumbre climatológica, están poniendo en entredicho la agricultura extensiva en el secano semiárido. En este sentido, una de las estrategias de los agricultores para rebajar los costes de producción, ha sido la disminución del número y la intensidad de las labores. Ello debería ofrecer el empuje definitivo para la adopción de los llamados Sistemas de Laboreo de Conservación, en los que se reduce o elimina el laboreo convencional, y cuyos efectos, tanto sobre los cultivos como sobre la vegetación arvense, han sido objeto de estudio por parte de numerosos autores, en diversas latitudes (Derksen *et al.*, 1995; Schillinger *et al.*, 1999; Blackshaw *et al.*, 2001; Dorado & López-Fando, 2006; Lacasta *et al.*, 2007; Fernández-Quintanilla *et al.*, 2010). Además, debido al incremento del precio de los fertilizantes, el 70% en los últimos 10 años, otra de las estrategias ha sido la de reducir la dosis de los mismos, detectándose caídas en su consumo del 17% para los nitrogenados, 33% para los fosforados y 15% para los potásicos (Ministerio de Agricultura, 2011). Como consecuencia de ello, tanto los rendimientos de los cultivos como la dinámica de alguna de las arvenses podrían resultar alterados (Sweeney *et al.*, 2008). En este trabajo se presentan datos al respecto, correspondientes a la campaña 2011/12, en la que se inicia la reducción de la fertilización en 3 ensayos de campo de larga duración.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Los ensayos, denominados E1, E2 y E3, están ubicados en la finca El Encín (Alcalá de Henares, Madrid), y fueron iniciados en 1983, 1985 y 2002, respectivamente. En ellos se vienen comparando 3 sistemas de laboreo: convencional (LC), mínimo (LM) y siembra directa (SD), tanto en un monocultivo de trigo (E1), como en una rotación de trigo y veza para forraje (E2), y de trigo y veza para grano (E3). El diseño es de bloques al azar con 4 repeticiones en el ensayo E2, considerando como tratamiento el sistema de laboreo; y en los ensayos E1 y E3 también es de bloques al azar con 4 repeticiones, pero con parcelas divididas, considerando el nivel de fertilización (convencional (Fc) y reducida (Fr) en un 40%) como subtratamiento. En el caso del trigo, las dosis convencionales de fertilizantes fueron: 80 kg/ha de N (62% en sementera y 38% en cobertera) y 30 kg/ha de P y K. Para la veza: 13.5 kg/ha de N, P y K, solo en sementera. El tamaño de las parcelas es de 330, 800 y 480 m<sup>2</sup>, para los ensayos E1, E2 y E3, respectivamente. El suelo, de textura franca, 1% de M.O. y pH de 7,8. Los cultivos y variedades considerados han sido: trigo blando, var. *Adagio* (501 semillas/m<sup>2</sup> y 39.7 mg/semilla) y veza para forraje, var. *Senda* (168 semillas/m<sup>2</sup> y 59.4 mg/semilla). Las variables evaluadas de los cultivos fueron: nascencia de plántulas (5 marcos de 0.1m<sup>2</sup>/parcela); rendimiento (2 pases de microcosechadora en diagonal, para el trigo y 10 marcos de 0.1m<sup>2</sup> para el forraje de veza/parcela). De la vegetación arvense fue estimada la densidad mediante el recuento de los individuos de cada especie en 10 marcos de 0.1 m<sup>2</sup>/parcela. A partir de los datos de la densidad se ha estimado la abundancia relativa (Ar) siguiendo el modelo utilizado por Derksen *et al.* (1995), y calculado para cada especie como:  $Ar = ((Dr + Fr)/2) * 100$ , siendo Dr y Fr la densidad y frecuencia, relativas de cada especie, respectivamente. Los valores obtenidos fueron sometidos al análisis de la varianza, previa transformación por arcoseno en el caso de la Ar. La separación de medias fue realizada mediante el test de rango múltiple de Tukey con un nivel de significación del 5%.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados, obtenidos en condiciones de fuerte sequía invernal: 18.7 mm de precipitación entre diciembre de 2011 y marzo de 2012, muestran que la nascencia del cultivo de veza (E2) fue significativamente menor en el sistema de SD que donde se realizaba algún tipo de laboreo (LM y LC). La misma tendencia siguió el cultivo de trigo (E3), sin ofrecer respuesta diferencial (figura 1). Schillinger *et al.* (1999), en el noroeste de los EEUU, ya obtuvieron resultados similares al sembrar cultivos de cebada sobre rastrojo de trigo, bajo diferentes sistemas de laboreo, en condiciones de seco. En cuanto al rendimiento de los cultivos, no se encontraron diferencias significativas entre sistemas de laboreo ni en la interacción sistemas de laboreo x fertilización, tanto en el monocultivo de trigo (E1) como en la rotación (E3), observándose que en esta última, los rendimientos de trigo, fueron entre 2 y 3 veces superiores a los registrados en el monocultivo (figura 2a), en coincidencia con los resultados de Lacasta *et al.* (2007) que indican que el cereal produjo un 50% más cuando estaba en rotación con veza para heno, que en monocultivo.

En el cultivo de veza (E2), la menor densidad de plantas nacidas pudo condicionar el menor rendimiento obtenido en la SD, aunque no se pudo obtener respuesta diferencial (figura 2a). El nivel de fertilización, si afectó significativamente al rendimiento del trigo en rotación (E3), donde fue mayor (1407 kg ha<sup>-1</sup>) con la dosis reducida de fertilizante, que con la dosis convencional (1241 kg ha<sup>-1</sup>). En el monocultivo de trigo (E1) se observó la misma tendencia, aunque con un nivel de significación  $\geq 6.4\%$  (figura 2b).

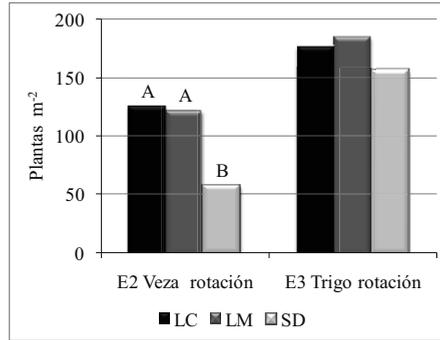


Figura 1. Nascencia de veza y trigo en diferentes sistemas de laboreo (LC, LM y SD: convencional, mínimo y siembra directa). En cada ensayo (E2 y E3), letras distintas indican diferencias significativas entre sistemas de laboreo ( $P \leq 0.05$ , test de Tukey).

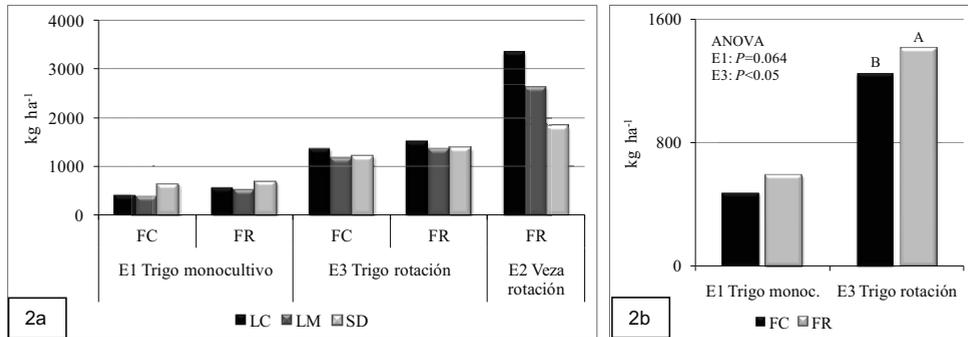


Figura 2. Rendimiento de los cultivos. 2a) En función del sistema de laboreo y nivel de fertilización (FC: convencional; FR: reducida); 2b) En función del nivel de fertilización en ensayos con trigo. En cada ensayo, letras distintas indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ , salvo indicación).

En cuanto a la vegetación arvense, el total de especies censadas fue de 30; 26 en el cultivo de veza (E2) y 16 en el de trigo en rotación (E3). Las especies principales, aquellas con una abundancia superior al 1%, en al menos la mitad de los sistemas comparados, fueron 18. De ellas, solo 5 ofrecieron respuesta diferencial al sistema de laboreo: *Descurainia sophia* (L.) Webb. Ex Prantl. (Jaramago), *Papaver rhoeas* L. (Amapola), *Fumaria officinalis* L. (Conejitos), *Polygonum aviculare* L. (Cordoncillo) y *Amaranthus blitoides* S. Watson (Bledo). En general, las 3 últimas especies, en el cultivo de veza (E2), resultaron más abundantes en uno (o ambos) de los sistemas donde se labraba (LC y LM) que en el sistema de SD (figura 3b). Similar comportamiento tuvo *P. aviculare* en el cultivo de trigo (figura 3a). Estos resultados coinciden, en parte, con los obtenidos, para esta especie, por Blackshaw *et al.*, (2001) que la asocian al sistema de LC. También coinciden con los de Dorado & López-Fando (2006), más abundancia de *P. aviculare* en el LC que en la SD, en una rotación de guisante y cebada, en La Higuera (Toledo), y en general con lo indicado por Fernández-Quintanilla *et al.*, (2010) sobre la evolución de estas especies en cultivos herbáceos al reducirse el laboreo. Por el contrario, *P. rhoeas* y *D. sophia*, en el cultivo de trigo (E3), fueron más abundantes en el sistema de SD que en los sistemas de LM y LC (figura 3a), nuevamente en coincidencia con Dorado & López-Fando (2006), en el comportamiento de *P. rhoeas* y en discordancia con

Blackshow *et al.*, (2001), sobre el comportamiento de *D. sophia*, a la que asocian al LC. Esta última especie, en nuestro ensayo E2, con veza, también resultó más abundante en el sistema de SD que en el de LM, como había ocurrido en el ensayo E3 (figura 3b). En cuanto al total de las especies arvenses, en el cultivo de veza (E2), la mayor densidad (108 plantas m<sup>-2</sup>) se registró en el sistema de LM, oscilando alrededor de las 30 plantas m<sup>-2</sup> en los sistemas de SD y LC, a diferencia de lo indicado por Dorado & López-Fando (2006), mayor densidad de arvenses en SD y LM que en LC. En el cultivo de trigo (E3), aunque la tendencia fue similar, no se obtuvo respuesta diferencial (figura 4a). En cuanto al nivel de fertilización, en el cultivo de trigo, la respuesta de la vegetación arvensa, tanto para cada especie como en conjunto, no fue significativa al nivel del 5%. Sin embargo, al nivel del 8%, la densidad total de las mismas ya resultó significativamente menor al utilizar la dosis reducida de fertilizante (figura 4b). En este sentido, trabajos realizados por Sweney *et al.*, (2008) indican que la época de aplicación del fertilizante nitrogenado (N) puede influenciar la nascencia y competitividad de las arvenses. Así, tanto la nascencia como la biomasa de algunas especies de *Chenopodium*, *Polygonum* o *Setaria*, se incrementaba al aplicar o no N, y al hacerlo en diferentes fechas del mes de abril.

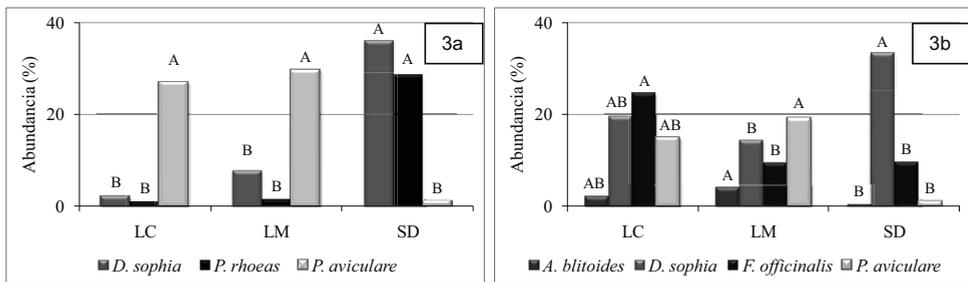


Figura 3. Abundancia de arvenses con respuesta significativa al sistema de laboreo. 3a) Ensayo E3 (trigo rotación); 3b) Ensayo E2 (veza rotación). Para cada especie, letras distintas indican diferencias significativas entre sistemas de laboreo ( $P \leq 0.05$ ).

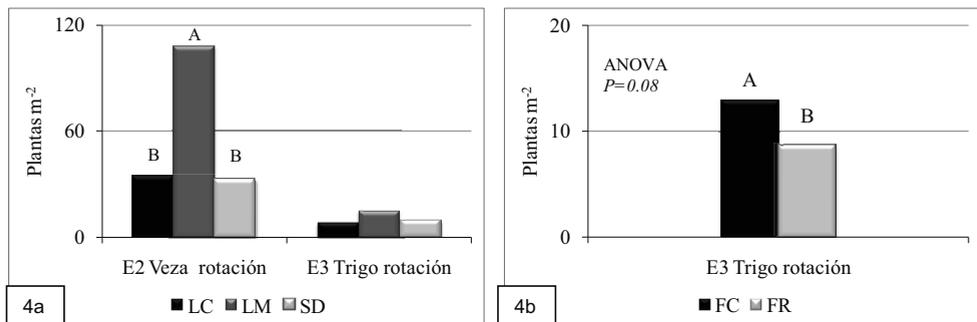


Figura 4. Densidad total de arvenses. 4a) En función del sistema de laboreo; 4b) En función del nivel de fertilización. Letras distintas indican diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ , salvo indicación)

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Ministerio de Ciencia e Innovación y al IMIDRA por la financiación y ayuda prestada para el desarrollo del proyecto de investigación AGL2012-39929-C03-01, así como a los técnicos Andrés Bermejo y Noelia Rodríguez por su inestimable ayuda en el mantenimiento y desarrollo de estos ensayos.

#### 5. REFERENCIAS

- Derksen DA, Thomas AG, Lafond GP, Loeppky HA, and Swanton CJ (1995). Impact of post-emergence herbicides on weed community diversity within conservation-tillage systems. *Weed Research*, 35, 311-320.
- Blackshaw RE, Larney FJ, Lindwall CW, Watson PR and Derksen DA (2001). Tillage intensity and crop rotation affect weed community dynamics in a winter wheat cropping system. *Canadian Journal of Plant science*, 81(4), 805-813
- 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.
- Fernández-Quintanilla C, Saavedra M, Dorado J and Navarrete L (2010). Control de malas hierbas en agricultura de conservación. *Aspectos agronómicos y medioambientales de la Agricultura de Conservación*. Ed. González-Sánchez EJ, Ordóñez-Fernández R and Gil-Ribes JA, 145-156. Eumedia- MARM-MP, Madrid.
- Lacasta C, Estalrich E, Meco R and Benítez M (2007). Interacción de densidades de siembra de cebada y rotaciones de cultivo sobre el control de la Flora arvense y el rendimiento del cultivo. *La Malherbología en los nuevos sistemas de producción agraria*. Ed. Mansilla J, Artiago A and Monreal JA, pp. 191-196. SEMh-UCLM, Albacete.
- Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, (2011). Anuario de estadística 2010. <http://www.marm.es/es/estadistica/temas/anuario-de-estadistica/2010/default.aspx>
- Schillinger WF, Cook RJ and Papendick RI (1999). Increased Dryland Cropping Intensity with No-Till Barley. *Agronomy Journal*, 91, 744-752.
- Sweeney AE, Renner KA, Labowski C and Davis A (2008). Effect of fertilizer nitrogen on weed emergence and growth. *Weed Science*, 56, 714-721.

Summary: Preliminary data on the reduction of mineral fertilizer in rainfed cereal systems under different tillage systems

*We present the first season of data (2011/12) on the effect of reduced fertilization on three tillage systems, conventional, minimum and no-tillage, for rainfed vetch and wheat crops. Although crop establishment was less in no-tillage vetch, yields were not significantly different in the tillage systems compared in both crops. However, wheat yields were two fold larger in rotation with vetch than in monoculture. Reduced fertilization resulted in an increase of the yield of wheat in rotation with vetch in comparison with the yield obtained with non-reduced fertilization. Weed survey comprised thirty different species. In the vetch crop, *Fumaria officinalis*, *Amaranthus blitoides* and *Polygonum aviculare* were less abundant in direct seeding. For the wheat crop, *Papaver rhoeas* and *D. sophia* were more abundant in direct seeding, as same as *D. sophia* in the vetch crop. The largest abundance of weeds was observed in the vetch crop under minimum tillage and the less abundance of weeds corresponded to reduced fertilization in the wheat crop.*

Keywords: Reduced fertilization; weed; tillage systems; crop rotation; relative abundance.



## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Identificación del efecto de la dependencia de densidad, las prácticas agrícolas y las variables climáticas en la dinámica poblacional de las malas hierbas**D. García de León<sup>\*a</sup>, L. Navarrete<sup>\*\*</sup>, M. Lima<sup>\*\*\*</sup>, J.L. González-Andújar<sup>\*</sup><sup>\*</sup>Protección de cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC). Av. Menéndez Pidal s/n. Campus Alameda del Obispo. Apdo. 4084, 14080-Córdoba. <sup>a</sup>[dgilhernandez@ias.csic.es](mailto:dgilhernandez@ias.csic.es)<sup>\*\*</sup>Investigación Agraria, Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), Ctra. N II, Km. 38,200, 28800-Alcalá de Henares<sup>\*\*\*</sup>Pontificia Universidad Católica de Chile (PUC), Avenida Libertador General Bernardo O'Higgins, 340, Santiago, Chile

*Resumen:* La teoría de la dinámica de poblaciones define factores endógenos y exógenos que influyen en los cambios temporales en la densidad de las plantas. Sin embargo, en general, se desconoce la contribución relativa de cada uno de ellos. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la dependencia de la densidad, las prácticas agrícolas y el clima en la dinámica a largo plazo de 7 malas hierbas. Se ha encontrado que la dependencia de la densidad reguló a 4 y 6 y, la temperatura únicamente a 1 y 2 de las 7 especies bajo mínimo y no laboreo, respectivamente, destacando la importancia de los factores endógenos como reguladores poblacionales.

Palabras clave: factores endógenos y exógenos, cambio climático, laboreo de conservación, rotación de cultivos

**1. INTRODUCCIÓN**

La teoría de la dinámica de poblaciones define dos tipos de factores que influyen en los cambios temporales en la densidad de los organismos: endógenos (dependencia de densidad) y exógenos (manejo, clima, etc.). Actualmente existe el consenso de que ambos tipos de factores regulan las poblaciones, aunque el alcance de cada factor es variable (Lima *et al.*, 2012). La amenaza del cambio climático ha resaltado la necesidad de conocer la contribución relativa de los factores endógenos y exógenos, ya que su conocimiento permitirá establecer líneas de actuación que ayuden a predecir y mitigar su efecto. El conocimiento de los factores que regulan la dinámica poblacional de las malas hierbas es esencial para mitigar su efecto sobre los cultivos. Dicho conocimiento, junto con la predicción de su rango de expansión (Kriticos *et al.*, 2011) y su efecto en la relación de interferencia mala hierba-cultivo (Davis & Ainsworth, 2012) bajo escenarios de cambio climático, permitirán definir estrategias de manejo adecuadas. Dentro del anterior contexto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar los efectos sobre siete importantes malas hierbas de los cultivos cerealistas, de la dependencia de la densidad, el manejo agrícola (rotación de cultivos y sistema de laboreo) y el clima (temperatura y precipitación).

**2. MATERIAL Y MÉTODOS**

En 1985 se estableció un experimento a largo plazo en la Finca Experimental “El Encín”, Alcalá de Henares, Madrid (latitud 40° 29'N; longitud 3° 22'W, altitud: 610 m). Las densidades de las malas hierbas *Atriplex patula*, *Capsella bursa-pastoris*, *Descurainia sophia*, *Fumaria officinalis*, *Lamium amplexicaule*, *Papaver rhoeas* y *Veronica hederifolia* fueron registradas en marcos de 0,1 m<sup>2</sup> anualmente durante 25 años (1986-2011) en cuatro parcelas en régimen de mínimo laboreo y cuatro parcelas en no laboreo siguiendo una secuencia de

rotación de cultivos cereal de invierno-leguminosa. Todas ellas son plantas anuales con bancos de semillas persistentes. El muestreo tuvo lugar entre los meses de febrero y abril coincidiendo con el máximo desarrollo vegetativo de la comunidad de malas hierbas. Información más detallada sobre la metodología de muestreo puede encontrarse en Hernanz *et al.* (2009).

El error asociado a los censos puede sesgar la detección de la dependencia de la densidad en las poblaciones (Freckleton *et al.*, 2006). Para corregir este problema, se realizó un análisis bootstrap (1000 re-muestréos poblacionales). Una vez considerado el error del censo, se empleó un test de aleatorización no paramétrico (Test de Pollard) para (1) identificar la existencia de regulación dependiente de la densidad, (2) evaluar si existe efecto de las prácticas agrícolas y (3) identificar efectos de la temperatura media y la precipitación acumulada de octubre a abril sobre la tasa de crecimiento de las poblaciones estudiadas. El proceso de aleatorización siguió varias etapas y se calculó para cada sistema de laboreo de forma independiente. En primer lugar, se estableció un modelo lineal para explicar los cambios poblacionales observados a lo largo del tiempo:

$$R_t = a + b * N_t + c * Rotación + d * C_t \quad (1)$$

donde  $R_t$  es la tasa finita de cambio de la población ( $N_{t+1}/N_t$ ),  $N_t$  es la densidad de malas hierbas. Rotación es una variable dicotómica indicando la fase del ciclo (cereal o leguminosa),  $a$  es el intercepto;  $b$ ,  $c$  y  $d$  son los parámetros del modelo. En segundo lugar, se permutó  $R_t$  1000 veces (cambios poblacionales simulados) ajustando la ecuación 1 a cada permutación, conservando el orden original de las variables explicativas. Posteriormente, se comparó el coeficiente de correlación del modelo para los cambios observados con los 1000 modelos para cambios poblacionales simulados. Finalmente, se construyó una región de rechazo para la hipótesis nula de la no existencia de relación entre cambio poblacional y cada variable explicativa.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Bajo mínimo laboreo, cuatro especies (*P. rhoeas*, *D. sophia*, *A. patula*, *C. bursa-pastoris*) presentaron una regulación de sus densidades debida a factores dependientes de la densidad. En no laboreo se incrementó su número afectando a seis especies (*V. hederifolia*, *P. rhoeas*, *D. sophia*, *A. patula*, *F. officinalis*, *L. amplexicaule*) (Tabla 1). Estos resultados ponen de manifiesto la importancia de los factores endógenos como reguladores poblacionales. Similares resultados han sido encontrados por otros autores en poblaciones de plantas asociadas a cultivos y a espacios naturales (Hernández-Plaza *et al.*, 2012; Knape & de Valpine, 2012). Se evidenció que la proporción de especies reguladas por factores endógenos fue mayor en no laboreo que en mínimo laboreo. Una posible explicación es que el sistema de mínimo laboreo introduce una perturbación en el sistema (Hernanz *et al.*, 2009) que puede afectar a los procesos demográficos y, por consiguiente, a la auto regulación de la población.

En cuanto a los factores exógenos, la temperatura afectó únicamente a las dinámicas poblacionales de *Atriplex patula* bajo no laboreo y *Descurainia sophia* bajo ambos sistemas de laboreo (Tabla 1). No se encontraron efectos significativos de la precipitación sobre la dinámica de ninguna de las poblaciones estudiadas (Tabla 1). Resulta sorprendente la relativa baja proporción de especies afectadas por la temperatura y el nulo efecto observado de la precipitación. La importancia de ambas variables ha sido demostrada por muchos autores (ej. Dorado *et al.*, 2009). Es posible que la existencia de efectos no lineales o retardados asociados

a los laboreos de conservación, que no son contemplados por la metodología empleada, puedan explicar el reducido efecto de las variables climáticas.

Finalmente, la rotación de cultivos no afectó a ninguna de las poblaciones estudiadas (Tabla 1). Posiblemente, esto se debió a que el ciclo de rotación (2 años) fue demasiado corto para afectar el reclutamiento poblacional a largo plazo (González-Díaz *et al.*, 2012).

Tabla 1. Test de Pollard aplicado a la ecuación 1.

| Especie                  | Coef. | Mínimo Laboreo                             |                   |  | No Laboreo                               |                   |  |
|--------------------------|-------|--|-------------------|--|--|-------------------|--|
|                          |       | Denso-dependencia                          | Rotación          | Clima                                  | Denso-dependencia                        | Rotación          | Clima                                  |
| <i>V. hederifolia</i>    | b     | ns <sup>P,T</sup>                          | -                 | -                                      | 0.05 <sup>P</sup> ,<br>0.04 <sup>T</sup> | -                 | -                                      |
|                          | c     | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      |
|                          | d     | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      |
| <i>P. rhoeas</i>         | b     | 0.02 <sup>P</sup> ,<br>0.01 <sup>T</sup>   | -                 | -                                      | 0.02 <sup>P</sup> ,<br>0.03 <sup>T</sup> | -                 | -                                      |
|                          | c     | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      |
|                          | d     | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      |
| <i>D. sophia</i>         | b     | 0.02 <sup>P</sup> ,<br>0.02 <sup>T</sup>   | -                 | -                                      | 0.03 <sup>P</sup> ,<br>0.03 <sup>T</sup> | -                 | -                                      |
|                          | c     | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      |
|                          | d     | -  | -                 | ns <sup>P</sup> ,<br>0.05 <sup>T</sup> | -  | -                 | ns <sup>P</sup> ,<br>0.03 <sup>T</sup> |
| <i>A. patula</i>         | b     | 0.01 <sup>P</sup> ,<br>0.01 <sup>T</sup>   | -                 | -                                      | 0.03 <sup>P</sup> ,<br>0.02 <sup>T</sup> | -                 | -                                      |
|                          | c     | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      |
|                          | d     | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      | -  | -                 | ns <sup>P</sup> ,<br>0.03 <sup>T</sup> |
| <i>C. bursa-pastoris</i> | b     | 0.029 <sup>P</sup> ,<br>0.026 <sup>T</sup> | -                 | -                                      | ns <sup>P,T</sup>                        | -                 | -                                      |
|                          | c     | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      |
|                          | d     | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      |
| <i>F. officinalis</i>    | b     | ns <sup>P,T</sup>                          | -                 | -                                      | 0.03 <sup>P</sup> ,<br>0.02 <sup>T</sup> | -                 | -                                      |
|                          | c     | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      |
|                          | d     | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      |
| <i>L. amplexicaule</i>   | b     | ns <sup>P,T</sup>                          | -                 | -                                      | 0.03 <sup>P</sup> ,<br>0.04 <sup>T</sup> | -                 | -                                      |
|                          | c     | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      | -  | ns <sup>P,T</sup> | -                                      |
|                          | d     | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      | -  | -                 | ns <sup>P,T</sup>                      |

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por la Junta de Castilla la Mancha (proyecto POI 10-0123-554) y por los fondos FEDER y el plan Nacional de Investigación (I+D) del Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2012-33736 y AGL2012-39929-C03). DGL agradece al CSIC la concesión de una beca JAE-PREDOC-LINCGlobal y al Prof. R. P. Freckleton la ayuda en el desarrollo del trabajo

#### 5. REFERENCIAS

- Davis AS and Ainsworth EA (2012). Weed interference with field-grown soyabean decreases under [CO<sub>2</sub>] in a FACE experiment. *Weed Research*, 52, 77-285.
- Dorado, J, Sousa, E, Calha, IM, Gonzalez-Andujar, JL, and Fernández-Quintanilla, C, (2009) Predicting weed emergence in maize crops under two contrasting climatic conditions. *Weed Research* , 49, 251-260
- Freckleton, RP Watkinson, AR, Green, RE, and Sutherland, WJ (2006) Census error and the detection of density dependence. *Journal of Animal Ecology*, 75, 837-851
- González-Díaz, L, van den Berg, F, van den Bosch, F, Gonzalez-Andújar, JL (2012) Controlling annual weeds in cereals by deploying crop rotation at the landscape scale: *Avena sterilis* as an example. *Ecological Applications*, 22, 982-992
- Hernández-Plaza, E, Navarrete, L, Lacasta, C and González-Andújar, JL (2012) Fluctuations in plant populations: Role of exogenous and endogenous factors. *Journal of Vegetation Science*, 23, 640-646
- Hernanz, JL, Sánchez-Girón, V, and Navarrete, L (2009) Soil carbon sequestration and stratification in a cereal/leguminous crop rotation with three tillage systems in semiarid conditions. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 133, 114-122
- Knape, J and de Valpine, P (2012) Are patterns of density dependence in the global population dynamics database driven by uncertainty about population abundance? *Ecology Letters*, 15, 17-23
- Kriticos, DJ, Watt, MS, Potter, KJB, Manning, LK, Alexander, NS, and Hassel, N (2011). Managing invasive weeds under climate change: Considering the current and potential future distribution of *Buddleja davidii*. *Weed Research*, 51, 85-96
- Lima, M, Navarrete, L and González-Andújar, JL (2012) Climate effects and feedback structure determining weed population dynamics in a long-term experiment. *PloS ONE*, 7, e30569

Summary: Identifying the effect of density dependence, agricultural practices and climate variables on weeds population dynamics. Population dynamic theory defines endogenous and exogenous factors determining temporal changes of plant densities. However, in general, their relative contribution is unknown. This study aimed to assess the long term effect of density dependence, management and climate on 7 weeds. Density dependence regulated 4 and 6 and, temperature only 1 and 2 out of 7 species under minimum and zero tillage, respectively, highlighting endogenous factors as population drivers.

Keywords: endogenous and exogenous factors, climate change, conservation tillage, crop rotation

## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Análisis de la vegetación espontánea en cultivos de otoño-invierno en Alentejo (Portugal)**

Ramôa S. \*, Oliveira e Silva P. \*, Vasconcelos, T. \*\*, Portugal, J. \*

\*Departamento de Biociências, Escola Superior Agrária de Beja, Rua Pedro Soares, Apartado 6158, 7800-908 Beja, Portugal [pedrosilva@ipbeja.pt](mailto:pedrosilva@ipbeja.pt), [sramoa@ipbeja.pt](mailto:sramoa@ipbeja.pt), [jportugal@ipbeja.pt](mailto:jportugal@ipbeja.pt)\*\*Instituto Superior de Agronomia, Tapada da Ajuda, Apartado 354, 1349- 017 Lisboa, Portugal [tvasoncelos@isa.utl.pt](mailto:tvasoncelos@isa.utl.pt)

*Resumen:* Se realizaron 105 muestreos florísticos en parcelas de cultivos de otoño-invierno donde se identificaron 264 especies. Las familias con mayor expresión fueron las *Asteraceae*, *Poaceae* y *Fabaceae* y solo tres especies estuvieron presentes en más de mitad de las parcelas muestreadas: *Avena sterilis*, *Lolium rigidum*, *Phalaris minor*. *L. rigidum* ha mostrado un grado de infestación muy alto, *A. sterilis* un grado de infestación alto y *P. minor* un grado de infestación medio. La textura y el fósforo extraíble han sido los factores ecológicos activos. La distribución de *P. minor* no se encontró relacionada con el factor textura del suelo; *L. rigidum* mostró preferencia para suelos de textura mediana y *A. sterilis* para suelos de textura mediana y fina. *A. sterilis* y *L. rigidum*, no han manifestado preferencia ecológica para el factor fósforo extraíble y *P. minor* ha revelado preferencia por suelos con contenido medio de fósforo.

**Palabras clave:** flora adventicia, clima mediterráneo, Perfiles Ecológicos e Información-Mutua, factores activos, textura, fósforo extraíble, preferencias ecológicas.

**1. INTRODUCCIÓN**

En los últimos años se han producido importantes cambios en los sistemas de agricultura tradicional practicada en la región alentejana al transformarse parcialmente en regadío (desde el año 2006) aumentando la superficie de olivos intensivos y viñedo en detrimento de cultivos de secano tradicionales como trigo y girasol. Entre otros aspectos, la introducción de nuevas prácticas culturales conducen a nuevos equilibrios en la composición y diversidad florística que, necesariamente, serán importantes conocer e evaluar (Gigon *et al.*, 2009), dado que la composición de la flora adventicia en los agro-sistemas es muy sensible a las prácticas agrícolas. Así, el objetivo general de este trabajo es analizar la vegetación adventicia en una fase inicial de los cambios en los sistemas de cultivo introducidos con la creación de *Alqueva*, el mayor lago artificial de Europa, situado en el río Guadiana. Para la caracterización de la composición florística, se va analizar las variables ambientales asociadas a su variabilidad e establecer las preferencias ecológicas de las especies más importantes del conjunto florístico identificado en el año de 2007.

**2. MATERIALES Y METODOS**

En el año 2007 se realizaron 105 muestreos florísticos en cultivos de trigo, avena, cebada, olivo, en barbechos y prados, en el distrito de Beja (sur de Portugal - Alentejo). Los inventarios florísticos se realizaron en los meses de primavera (Abril y Mayo) y el método de muestreo fue la "vuelta al campo" propuesto por Maillet (1981). Todas las plantas fueron inventariadas para la obtención de un registro de la presencia y ausencia de especies y posteriormente clasificadas al nivel de especie al cual se asoció al nombre latino el código Bayer correspondiente. Se estimó la abundancia de cada una de las especies en un área representativa del lugar. La escala de abundancia utilizada fue propuesta por Barralis (1976).

En este estudio se ha considerado los factores ecológicos normalmente utilizados en estudios similares. Los lugares fueron referenciados con un GPS, utilizando posteriormente el programa Quantum GIS. Se superpusieron los puntos de muestreo referenciados mediante GPS al mapa de Suelos del Atlas do Ambiente según la clasificación *World Reference Base for Soil Resources* (WRB). De esta manera se identificaron los diferentes tipos de suelos existentes en cada parcela muestreada y se establecieron las clases de suelos. Respecto a la precipitación, se consideraron las respectivas clases a partir de la información acerca de la precipitación media acumulada, de Octubre a Mayo, para cada municipio en el que se realizaron los muestreos florísticos. Se elaboró el catálogo florístico y se registró el número de especies adventicias presentes en cada muestreo florístico realizado, obteniéndose los valores de la frecuencia absoluta y frecuencia relativa (FR). Se calculó la abundancia media (AM) según la siguiente ecuación:

$$AM = \frac{n_1 \times 0.5 + n_2 \times 1.5 + n_3 \times 11.5 + n_4 \times 35.5 + n_5 \times 75.5}{n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5}$$

Se identificaron las especies relacionadas con el grado de infestación según Michez & Guillem (1984) y se establecieron los diferentes tipos de perfiles ecológicos de una especie E y un factor L. Se calculó la entropía-especie [ $\hat{H}(E)$ ], la Información-mutua [IM(L,E)] de las especies para los factores ecológicos analizados y la respectiva calidad del muestreo [Q(L)]. Para los factores considerados activos, factores con  $IM(L,E) \geq 0,05$  bits y  $Q(L) \geq 0,9$  (Fernandes, 1994), se obtuvieron los perfiles corregidos para las especies con frecuencia relativa  $\geq 25\%$  y todas las otras especies con grado de infestación medio, alto y muy alto, potencialmente problemáticas para los cultivos. Para los factores ecológicos discretos se establecieron grupos de especies indicadoras a partir del índice de las frecuencias corregidas: (+) >100, relación positiva entre la especie y el factor de clase; (-) >100, relación negativa entre la especie y el factor de clase; (0) =100, no existe relación entre la especie y el factor de clase. Para los factores ecológicos continuos se calcularon los valores del baricentro (g) y la de amplitud de distribución de las especies. Se establecieron grupos de especies indicadoras basadas en la ordenación de las especies conforme el valor del baricentro. El tratamiento de los datos se llevó a cabo en la hoja de cálculo de Microsoft Office Excel 2007. En primer lugar se procedió al análisis de las frecuencias de las especies, continuando con el análisis de la vegetación por el método de los Perfiles Ecológicos e Información Mutua.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron 264 especies distribuidas en 43 familias. La familia con mayor representación es la *Asteraceae* (19%), seguida de la *Poaceae* (17%) y *Fabaceae* (14%), y representan 50% del total de las especies presentes en el área de estudio. Solo se identificaron tres especies en más de mitad de los muestreos realizados: *Avena sterilis*, *Lolium rigidum* y *Phalaris minor*. El grado de infestación de las especies identificadas se puede observar en la Figura 1.

Solamente una especie muestra muy alto grado de infestación, *L. rigidum* (LOLRI); 14 de ellas muestran un grado de infestación alto entre las cuales se encuentra la especie *A. sterilis* (AVEST). *P. minor* (PHAMI) presenta un grado de infestación medio.

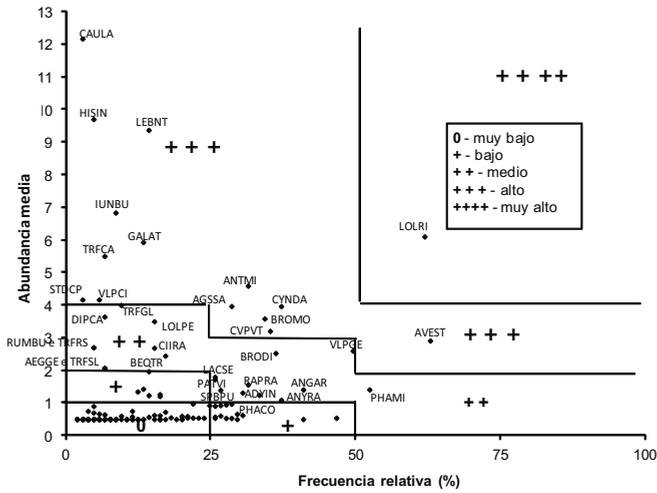


Figura 1 - Grado de infestación de las especies identificadas.

La calidad del muestreo [Q(L)] para los factores textura y fósforo extraíble, es superior a 0,9 y, como tal, considerados como factores muy bien muestreados. Por otra parte, el hecho de que estos factores presenten valores de información-mutua [IM(L,E)] más altos que 0,05 indican una buena relación con las especies.

Con el fin de conocer las preferencias ecológicas de las especies más relevantes, se construyeron las Tablas 1 y 2. La Tabla 1 se ha construido a partir de los perfiles ecológicos corregidos. De la Tabla 1 se retira la relación de la vegetación adventicia y sus preferencias ecológicas con el factor textura: suelos de textura gruesa y media gruesa - *Echium plantagineum*, *Carlina racemosa*, *Spergularia purpurea*, *Raphanus raphanistrum*, *Agrostis pourretii*, *Galactites tomentosa* y *Bromus hordeaceus*; suelos de textura gruesa - *Chamaemelum mixtum*, *Trifolium campestre* y *Hordeum murinum*; suelos de textura media-gruesa, media-fina y fina - *A. sterilis*, *Plantago lagopus*, *Scolymus maculatus* y *Sonchus oleraceus*; suelos de textura media-fina y fina - *Convolvulus arvensis*; suelos de textura media-gruesa y media-fina - *Lactuca serriola*, *L. rigidum* y *Rumex pulcher*; suelos de textura gruesa, media-fina y fina - *Anagallis arvensis*; suelos de textura gruesa y fina - *Cynodon dactylon*; suelos de textura gruesa y media-fina - *Diptotaxis catolica*.

La Tabla 2 se construyó a partir de los valores del baricentro y se puede inferir la relación de la vegetación adventicia y sus preferencias ecológicas con el factor fósforo extraíble: suelos con contenidos de fósforo extraíble bajos - *T. campestre*, *S. purpurea*, *A. pourretii*, *Leontodon taraxacoides*, *Trifolium glomeratum*, *Vulpia geniculata*, *R. raphanistrum*, *G. tomentosa*, *B. hordeaceus*, *Vulpia ciliata*, *C. mixtum*, *E. plantagineum* y *R. pulcher*; suelos con medios contenidos de fósforo extraíble - *Bromus diandrus*, *H. murinum*, *Crepis vesicaria*, *Medicago polymorpha*, *Andryala integrifolia*, *A. arvensis*, *P. minor* y *Phalaris coerulescens*; suelos con contenidos de fósforo extraíble alto - *Sonchus oleraceus*, *Scolymus maculatus* y *Foeniculum vulgare*. Todas las especies mostraron grandes amplitudes ecológicas, que van desde suelos con contenidos de fósforo muy bajos hasta suelos con contenidos de fósforo muy altos, con excepción para: *S. purpurea*, *L. taraxacoides*, *A. pourretii*, *V. geniculata*, *R.*

*raphanistrum*, *G. tomentosa*, *R. pulcher*, *B. diandrus*, *H. murinum* y *M. polymorpha*, para contenidos muy alto de fosforo extraíble; *T. campestre* y *T. glomeratum*, para contenidos altos y muy altos de fosforo extraíble; *V. ciliata*, para contenidos muy bajos, altos y muy altos de fósforo extraíble; *S. maculatus*, para contenidos muy bajos.

Tabla 1- Preferencias ecológicas para la clase textura.

| Grupos | Especies                     | 1 | 2 | 3 | 4 |
|--------|------------------------------|---|---|---|---|
|        | <i>Echium plantagineum</i>   | + | + | - | - |
|        | <i>Spergularia purpurea</i>  | + | + | - |   |
|        | <i>Raphanus raphanistrum</i> | + | + | - |   |
|        | <i>Agrostis pourretii</i>    | + | + | - |   |
|        | <i>Galactites tomentosa</i>  | + | + | - |   |
|        | <i>Carlina racemosa</i>      | + | + | - |   |
| 1      | <i>Bromus hordeaceus</i>     | + | + | - |   |
|        | <i>Chamaemelum mixtum</i>    | + | - | - | - |
|        | <i>Trifolium campestre</i>   | + | - |   |   |
| 2      | <i>Hordeum murinum</i>       | + | - | - |   |
|        | <i>Avena sterilis</i>        | - | + | + | + |
|        | <i>Plantago lagopus</i>      | - | + | + | + |
|        | <i>Scolymus maculatus</i>    | - | + | + | + |
| 5      | <i>Sonchus oleraceus</i>     | - | + | + | + |
| 6      | <i>Convolvulus arvensis</i>  | - | - | + | + |
|        | <i>Lactuca serriola</i>      | - | + | + |   |
|        | <i>Lolium rigidum</i>        | - | + | + | - |
| 7      | <i>Rumex pulcher</i>         | - | + | + | - |
| 11     | <i>Anagallis arvensis</i>    | + | - | + | + |
| 12     | <i>Cynodon dactylon</i>      | + | - | - | + |
| 13     | <i>Diplotaxis catalica</i>   | + |   | + |   |

Clases de textura: (1) Arenoso-franca (AF) Franco-arenosa (FA) Franca (F), (2) Limosa (L), Franco-limosa (FL) Franco-arcilla-arenosa (FGA), (3) Franco-arcillosa (FG) Franco-arcillo-limosa (FGL), (4) Arcillo-limosa (GL); Arcillosa (G)

## 5. CONCLUSIONES

Se identificaron 264 especies espontáneas en cultivos de otoño-invierno siendo que las familias con mayor representación fueron las *Asteraceae*, las *Poaceae* y *Fabaceae*. Sin embargo, sólo se identificaron tres especies en más de mitad de los muestreos: *A. sterilis*, *L. rigidum* y *P. minor*. *L. rigidum* ha sido la única especie con un grado de infestación muy alto. El método de Perfiles Ecológicos e Información Mutua ha permitido mostrar que, para el presente estudio, los factores considerados activos fueron la textura y el contenido de fósforo extraíble. Se ha observado una baja calidad del muestreo para los restantes factores. Para las especies más representativas se puede considerar lo siguiente: a) *L. rigidum* ha mostrado preferencia para suelos de textura mediana y *A. sterilis* para suelos textura mediana y textura fina; b) *P. minor* ha revelado preferencia por suelos con contenido medios de fósforo. Con este estudio se hace cada vez más claro que, lo número de especies relevantes a tener en cuenta en la gestión de las malas hierbas en los cultivos es muy pequeño.

Tabla 2- Preferencias ecológica para la clase fósforo extraíble.

| Grupos | Especies                      | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Baricentros |
|--------|-------------------------------|---|---|---|---|---|-------------|
|        | <i>Trifolium campestre</i>    |   | x |   |   |   | 1,7         |
|        | <i>Spergularia purpurea</i>   |   | x |   |   |   | 1,8         |
|        | <i>Agrostis pourretii</i>     |   | x |   |   |   | 2,0         |
|        | <i>Leontodon taraxacoides</i> |   | x |   |   |   | 2,2         |
|        | <i>Trifolium glomeratum</i>   |   | x |   |   |   | 2,2         |
|        | <i>Vulpia geniculata</i>      |   | x |   |   |   | 2,2         |
|        | <i>Raphanus raphanistrum</i>  |   | x |   |   |   | 2,2         |
|        | <i>Galactites tomentosa</i>   |   | x |   |   |   | 2,2         |
|        | <i>Bromus hordeaceus</i>      |   | x |   |   |   | 2,3         |
|        | <i>Vulpia ciliata</i>         |   | x |   |   |   | 2,3         |
|        | <i>Chamaemelum mixtum</i>     |   | x |   |   |   | 2,4         |
|        | <i>Echium plantagineum</i>    |   | x |   |   |   | 2,4         |
| 1      | <i>Rumex pulcher</i>          |   | x |   |   |   | 2,4         |
|        | <i>Bromus diandrus</i>        |   | x |   |   |   | 2,5         |
|        | <i>Hordeum murinum</i>        |   | x |   |   |   | 2,5         |
|        | <i>Crepis vesicaria</i>       |   | x |   |   |   | 2,7         |
|        | <i>Medicago polymorpha</i>    |   | x |   |   |   | 2,7         |
|        | <i>Andryala integrifolia</i>  |   | x |   |   |   | 2,8         |
|        | <i>Anagallis arvensis</i>     |   | x |   |   |   | 3,0         |
|        | <i>Phalaris minor</i>         |   | x |   |   |   | 3,0         |
| 2      | <i>Phalaris coerulescens</i>  |   | x |   |   |   | 3,1         |
|        | <i>Sonchus oleraceus</i>      |   |   |   | x |   | 3,6         |
|        | <i>Scolymus maculatus</i>     |   |   |   | x |   | 3,7         |
| 3      | <i>Foeniculum vulgare</i>     |   |   |   | x |   | 3,8         |

Clases de fósforo extraíble (mg Kg<sup>-1</sup>): (1) ≤ 25 (muy bajo), (2) 26-50 (bajo), (3) 51-100 (medio), (4) 101 - 200 (alto), (5) >200 (muy alto)

## 6. REFERENCIAS

- Barralis, G. (1976). Méthode d'étude des groupements adventices des cultures annuelles à la Côte d'Or. Vème Coll. Int. Ecol. Biol. Mauvaise Herbes. Dijon, 1:59 – 68.
- Fernandes, J.M. (1994). *Estudos de competição da erva-moira na cultura do tomate para indústria numa perspectiva de Protecção Integrada*. Diss. Mestrado em Protecção Integrada. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica. Lisboa, 137 p.
- Gigón, R.; López, R. L.; Vigna, M. R. (2009). Efectos del cultivo antecesor e sistema de labranza sobre las comunidades de malezas en el cultivo de trigo (*Triticum aestivum*) en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires, Argentina. In: Sousa, E.; Calha, I.; Moreira, I.; Monteiro, A.; Rodrigues, L.; Portugal, J.; Vasconcelos, T. (Eds.). *Herbologia e Biodiversidade numa Agricultura Sustentável*. XII Congresso da Sociedad Española de Malherbologia (Semh); XIX Congresso da asociacion Latinoamericana de Malezas (ALAM); II Congresso Iberico de Ciencias de las Malezas (IBCM). ISAPress. Lisboa: 69 -70.
- Maillet, J. (1981). *Evolution de la flora adventice dans le Montpellierais sous la pression des techniques culturales*. Thèse Doct. Ing. Ecologie, U.S.T.L. Montpellier, 200 p.
- Michez, J M. & Guillermin, J. (1984). Signalement écologique et degré d'infestation des adventices des cultures d'été en Lauragais. 7ème Coll. Int. Ecol. Biol. *Mauvaises Herbes*, 1: 155 – 162.

**Summary:** Analysis of spontaneous vegetation in fall winter crops in Alentejo (Portugal). In year 2007, 105 floristic surveys were carried out in autumn-winter crops where 264 species were identified. Families with higher expression were Asteraceae, Poaceae and Fabaceae and only three species were present in more than half of the surveys: Avena sterilis, Lolium rigidum, Phalaris minor. L. rigidum has shown a very high degree of infestation while A. sterilis has shown high and P. minor a medium degree of infestation. Soil texture and extractable phosphorus have been considered active ecological factors. The distribution of P. minor was not found to be related to soil texture factor while L. rigidum showed preference for medium textured soils and A. sterilis to medium and fine textured soils. A. sterilis and L. rigidum have not expressed a preference for extractable phosphorus factor but P. minor has revealed preference for medium soil phosphorus content.

**Key words:** adventitious flora, mediterranean climate, Ecological Profiles and Mutual-Information, active factors, soil texture, extractable phosphorus, ecological preferences.

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Comparación de la riqueza y la composición de especies arvenses entre los diferentes hábitats de los cultivos cerealistas**

Y. Pallavicini,\*<sup>a</sup>, F. Bastida †, A. Pujadas ‡, J. Izquierdo §, J. L. González-Andújar\*

\*Dept. de Protección de cultivos, Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC). Av. Menéndez Pidal s/n. Campus Alameda del Obispo. Apdo 4084, 14080-Córdoba. <sup>a</sup>yesipalla@ias.csic.es

†Dept. de Ciencias Agroforestales, Universidad de Huelva. Carretera de Palos de la frontera s/n., 21071-la Rábida, Palos de la Frontera, Huelva.

‡Departamento de Ciencias y Recursos Agrícolas y Forestales, Universidad de Córdoba. Campus de Rabanales. Apdo 3092, 14071-Córdoba.

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

*Resumen*: El objetivo de este trabajo fue comparar la riqueza y la composición de especies arvenses en los diferentes hábitats del cultivo de cereal en Andalucía. En 23 campos, se identificaron tres hábitats que reflejan un gradiente creciente de perturbación causado por el manejo agronómico: lindero, borde y centro. En cada hábitat se cuantificó la riqueza y la abundancia de las especies arvenses. El lindero tuvo una mayor riqueza que los demás hábitats del campo, no se detectó diferencia entre el centro y el borde. No hubo un patrón claro de asociación de la flora arvense a los diferentes hábitats. Los linderos, pueden ser un reservorio de diversidad de especies arvenses, pero si éstos son perturbados periódicamente, pueden ser un foco de malas hierbas.

**Palabras clave**: biodiversidad, lindero del cultivo, gradiente de perturbación.

## 1. INTRODUCCIÓN

La literatura presenta evidencias de que existe un gradiente creciente de perturbación provocado por el manejo agronómico del cultivo desde el lindero hacia el centro del cultivo (José-María *et al.*, 2010). Esto conlleva una adaptación de las especies a la perturbación, encontrándose en el centro del cultivo las especies mejor adaptadas al manejo agronómico (Gunton *et al.*, 2011). Por el contrario, los linderos son hábitats menos perturbados donde pueden encontrarse un mayor número de especies y con una composición florística diferente a la del interior del cultivo (José-María *et al.*, 2010), albergando, entre otras, especies con alto valor de conservación (Fried *et al.*, 2009, Bassa *et al.*, 2011).

El objetivo del trabajo fue comparar la riqueza y la composición de especies arvenses en los diferentes hábitats del campo de cereal.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Durante la primavera de 2010 y 2011, se seleccionaron 23 campos de cereal en Andalucía. En cada campo se definieron tres hábitats: el lindero del cultivo (franja no cultivada adyacente al cultivo), el borde (primeros cinco metros dentro del cultivo) y el centro (a partir de 20 m dentro del cultivo). En cada hábitat se cuantificó la riqueza y la abundancia de las especies arvenses por medio de cinco marcos de 1m<sup>2</sup> espaciados cada cinco metros. La riqueza de especies arvenses en los tres hábitats fue comparada mediante un análisis Kruskal-Wallis. La

composición de especies del conjunto de los tres hábitats se estudió mediante un escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) utilizando la distancia de Bray-Curtis. Este análisis se realizó con las especies encontradas con una frecuencia mayor al 5% (86 especies) utilizando el software R.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontraron un total de 242 especies, de las cuales 198 correspondieron al lindero (media= 24, mínimo=8, máximo= 53), 129 al borde (media= 16, mínimo=2, máximo= 36) y 105 al centro del cultivo (media= 12, mínimo=2, máximo=23). Las especies más frecuentes en los tres hábitats fueron: *Lolium rigidum*, *Polygonum aviculare* y *Anagallis arvensis* (tabla 1). Los resultados pusieron de manifiesto que los linderos tuvieron más riqueza que el borde y el centro del cultivo ( $\chi^2= 24,8$ , gl=2,  $p<0,001$ ), a su vez, estos últimos no difirieron entre sí. Estos resultados sugieren que los linderos son un refugio para la flora arvense como se ha constatado por diversos autores (José\_María *et al.*, 2010; Poggio *et al.*, 2010).

El NMDS (Fig.1) no mostró un patrón claro de especies arvenses asociadas a los hábitats del campo de cereal como se ha puesto de manifiesto en otros estudios (Jose-María *et al.*, 2010). Ello puede deberse a que los linderos, además de contener especies exclusivas de este hábitat, también contiene en gran medida a las especies presentes en el borde y el centro del cultivo. De hecho, de las 86 especies analizadas, más del 80% de las especies del borde y del centro también se encontraron en el lindero. Esto último puede deberse a que los linderos estudiados, que generalmente son angostos (miden menos de tres metros de ancho), son perturbados periódicamente por el manejo agronómico (ej. laboreo, aplicación de herbicidas, etc) (Schipers & Joenje, 2002). Estas perturbaciones, favorecen especialmente a las malas hierbas anuales (ej. *L. rigidum* y *A. sterilis*) (Marshall & Moonen, 2002) que perjudican seriamente el rendimiento de los cultivos. Nuestros resultados sugieren que la creación y mantenimiento de linderos anchos (de mas de tres metros) y protegidos de perturbaciones, puede incrementar la diversidad de la flora arvense (Marshall & Moonen, 2002) y a su vez evitar que sean refugios de las malas hierbas.

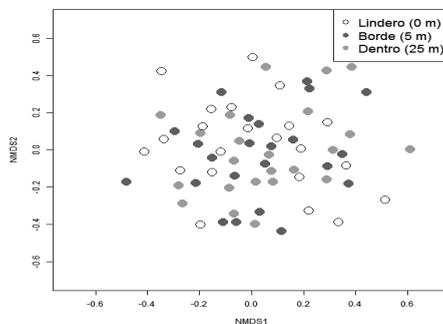


Figura 1. Escalamiento multidimensional no métrico de la composición florística en los distintos hábitats muestreados.

Tabla 1. Especies arvenses más frecuentes y abundantes en los tres hábitats considerados en campos de cereales. Abun.= Abundancia (Suma de todos los individuos inventariados), Frec.= frecuencia de aparición (%)

| Lindero                    |       |       | Borde                          |       |       | Centro                         |       |       |
|----------------------------|-------|-------|--------------------------------|-------|-------|--------------------------------|-------|-------|
| especies                   | Abun. | Frec. | especies                       | Abun. | Frec. | especies                       | Abun. | Frec. |
| <i>Lolium rigidum</i>      | 1248  | 87,0  | <i>Polygonum aviculare</i>     | 1212  | 52,2  | <i>Anagallis arvensis</i>      | 404   | 65,2  |
| <i>Glebionis coronaria</i> | 670   | 65,2  | <i>Anagallis arvensis</i>      | 362   | 47,8  | <i>Convolvulus arvensis</i>    | 348   | 65,2  |
| <i>Sonchus oleraceus</i>   | 104   | 65,2  | <i>Phalaris minor</i>          | 187   | 47,8  | <i>Pulicaria paludosa</i>      | 775   | 60,9  |
| <i>Bromus madritensis</i>  | 212   | 60,9  | <i>Lolium rigidum</i>          | 392   | 43,5  | <i>Polygonum aviculare</i>     | 566   | 56,5  |
| <i>Malva parviflora</i>    | 249   | 60,9  | <i>Convolvulus arvensis</i>    | 212   | 39,1  | <i>Phalaris paradoxa</i>       | 669   | 47,8  |
| <i>Polygonum aviculare</i> | 916   | 60,9  | <i>Phalaris paradoxa</i>       | 1016  | 39,1  | <i>Avena sterilis</i>          | 161   | 43,5  |
| <i>Anagallis arvensis</i>  | 275   | 56,5  | <i>Glebionis coronaria</i>     | 270   | 34,8  | <i>Phalaris minor</i>          | 49    | 34,8  |
| <i>Avena sterilis</i>      | 276   | 47,8  | <i>Lolium multiflorum</i>      | 104   | 34,8  | <i>Sonchus oleraceus</i>       | 54    | 34,8  |
| <i>Pulicaria paludosa</i>  | 395   | 47,8  | <i>Phalaris brachystachys</i>  | 194   | 34,8  | <i>Galium aparine</i>          | 2224  | 26,1  |
| <i>Cynodon dactylon</i>    | 137   | 43,5  | <i>Polypogon monspeliensis</i> | 301   | 34,8  | <i>Papaver rhoeas</i>          | 25    | 26,1  |
| <i>Diplotaxis virgata</i>  | 86    | 43,5  | <i>Avena sterilis</i>          | 44    | 30,4  | <i>Phalaris brachystachys</i>  | 186   | 26,1  |
| <i>Hordeum murinum</i>     | 552   | 43,5  | <i>Glebionis segetum</i>       | 103   | 30,4  | <i>Coryza bonariensis</i>      | 53    | 21,7  |
| <i>Phalaris minor</i>      | 164   | 39,1  | <i>Pulicaria paludosa</i>      | 301   | 30,4  | <i>Juncus bufonius</i>         | 2223  | 21,7  |
| <i>Phalaris paradoxa</i>   | 144   | 39,1  | <i>Sonchus oleraceus</i>       | 31    | 30,4  | <i>Polypogon monspeliensis</i> | 55    | 21,7  |
| <i>Campanula erinus</i>    | 36    | 34,8  | <i>Glaucium corniculatum</i>   | 21    | 26,1  | <i>Lolium rigidum</i>          | 289   | 17,4  |

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por los fondos FEDER y el plan Nacional de Investigación (I+D) del Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto AGL2009-07883) y por una beca predoctoral FPI otorgada a Y.P. por el Ministerio de Economía y Competitividad (BES-2010-032527). Gracias a los propietarios de las fincas por su permiso para realizar el muestreo en sus fincas y a los integrantes del grupo de Ecología de malas hierbas por su ayuda en los muestreos y por la fructífera discusión acerca del presente trabajo.

#### 5. REFERENCIAS

- Bassa M, Boutin C, Chamorro L, Sans X (2011). Effects of farming management and landscape heterogeneity on plant species composition of Mediterranean field boundaries. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 141, 455-460.
- Fried G, Petit S, Dessaint Fand Rebourd X (2009). Arable weed decline in Northern France: Crop edges as refugia for weed conservation? *Biological Conservation*, 142, 238-243.
- Gunton R M, Petit S and Gaba S (2011). Functional traits relating arable weed communities to crop characteristics. *Journal of Vegetation Science*, 22, 541-550.
- José-María L, Armengot L, Blanco-Moreno J M, Bassa M & Sans F X (2010). Effects of agricultural intensification on plant diversity in Mediterranean dryland cereal fields. *Journal of Applied Ecology*, 47, 832-840.
- Marshall EJP & Moonen AC (2002). Field margins in northern Europe: their functions and interactions with agriculture. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 89, 5-21.
- Poggio SL, Chaneton, EJ., Ghersa, CM. (2010). Landscape complexity differentially affects alpha, beta, and gamma diversities of plants occurring in fencerows and crop fields. *Biological Conservation*, 143, 2477-2486.

Schippers P& Joenje W (2002). Modelling the effect of fertiliser, mowing, disturbance and width on the biodiversity of plant communities of field boundaries. *Agriculture. Ecosystems and Environment*, 93, 351-365.

Summary: *Comparison of richness and species composition amongst habitats of cereal fields.* The aim of this work was to compare richness and weed composition amongst different habitats in cereal field in Andalusia. In 23 cereal fields three habitats, reflecting an increasing perturbation gradient, were determined: Boundary, edge and centre. Species richness and abundance was quantified in each habitat. Weed richness was the highest at the boundaries, while there was no difference between the edge and centre. There was not a clear pattern of weed composition amongst the habitats. Boundaries might act as a source of plant diversity, but if they receive periodic perturbation might also become a source of harmful weeds.

Keywords: biodiversity, field boundary, gradient of perturbation.

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

### Flujo de genes de resistencia a herbicidas vía polen en *Lolium rigidum*

Iñigo Loureiro, Concepción Escorial, Cristina Chueca

Dpto. Protección Vegetal. INIA. Ctra. La Coruña km. 7,5, 28040-Madrid, <sup>a</sup>chueca@inia.es

*Resumen:* El movimiento de los genes de resistencia a herbicidas vía polen es especialmente preocupante en el caso de especies con polinización cruzada como el vallico (*Lolium rigidum* L.). Con el fin de conocer las tasas de polinización cruzada en función de la distancia y orientación en relación a la fuente de resistencia, se ha llevado a cabo un ensayo de tres años. El diseño experimental consistió en una fuente central de polen de un biotipo de *L. rigidum* caracterizado como resistente al herbicida diclofop-metil rodeado en 8 direcciones por macetones con plantas de un biotipo sensible colocados a las distancias de 0, 1; 5, 10, 15, 20 y 25 metros de la fuente, con tres macetones por lado y distancia. Se han obtenido valores de hibridación de 5,5% a 11,6% en las plantas adyacentes a la fuente de polen. Estos valores fueron de 1,5-8,9% a la distancia de 15 m y de hasta 4,1% a 25 m, la distancia máxima del ensayo, con diferencias significativas entre los años. Los datos evidencian la importancia del flujo de genes vía polen en la dispersión de la resistencia. Se ha realizado el ajuste de los datos de hibridación a un modelo exponencial con el fin de predecir el flujo de genes al aumentar la distancia a la fuente. El conocimiento de las tasas de polinización cruzada será de gran utilidad a la hora de predecir la probabilidad de que tenga lugar la expansión de la resistencia, así como para adoptar estrategias para delimitarla y mitigarla. **Palabras clave:** Vallico, diclofop, polinización cruzada, dispersión de la resistencia

## 1. INTRODUCCIÓN

El vallico (*Lolium rigidum* Gaud.) es una mala hierba gramínea presente en la mayoría de los cultivos de cereal de invierno en todas las regiones de España. Durante años se ha controlado mediante la aplicación en pre o post-emergencia de herbicidas anti-gramíneos específicos, cuya excelente eficacia alentó su amplia y reiterada utilización. Sin embargo, *L. rigidum* tiene una gran capacidad para desarrollar resistencias a los herbicidas utilizados para su control (Preston y Powles, 2002). En la actualidad, según el CPRH encontramos en España campos de cereal en los que esta especie es resistente a los herbicidas que contienen diclofop-metil, clorsulfuron, clortoluron, clodinafop, tralkoxidim, o isoproturon, así como en algunos casos resistencias cruzadas y múltiples entre unos y otros (SEMh, 2013).

El movimiento potencial de los genes de resistencia a herbicidas vía polen dentro de las poblaciones y entre poblaciones de malas hierbas más o menos distantes puede tener como consecuencia la evolución de la resistencia a esos herbicidas si los alelos de resistencia no estaban presentes en la población sensible. En muchas especies de malas hierbas, tanto autógamias como alógamas, y en especial en gramíneas cuyo vector de polinización es en general el viento, el flujo de genes vía polen es mucho mayor que, por ejemplo, el debido a la dispersión de semillas. A pesar de su gran importancia, la contribución del flujo de genes a la dispersión de la resistencia a herbicidas es un fenómeno al que se le ha prestado escasa atención y por tanto su importancia podría estar subestimada. El objetivo de este estudio es determinar en nuestras condiciones las tasas de polinización cruzada entre dos biotipos de *L. rigidum*, uno sensible y otro resistente al herbicida diclofop-metil, datos que serán de gran utilidad a la hora de predecir la probabilidad de que tenga lugar la expansión de la resistencia.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo de polinización cruzada se llevó a cabo en la estación experimental del INIA (40° 28'N; 3° 45'O) en los años 2009, 2010 y 2011. Se utilizó como donante de polen el biotipo de *L. rigidum* AUS 96 previamente caracterizado como resistente a diclofop-metil, y como receptor un biotipo sensible con una mortalidad del 100% a la dosis recomendada en campo (540 g.a.i./ha.). La resistencia a diclofop en este biotipo está conferida por un único gen nuclear dominante (Tardif *et al.*, 1996). Ambos biotipos se germinaron en placa de Petri, se vernalizaron y se trasplantaron a macetones rellenos con una mezcla de mantillo:tierra:arena (1:1:1).

El diseño experimental consistió todos los años en una fuente central de polen de 3 x 3 m con una densidad de 100 plantas m<sup>-2</sup> del biotipo de *L. rigidum* resistente a diclofop rodeado en 8 direcciones por macetones que contenían 30 plantas m<sup>-2</sup> del biotipo sensible colocados a las distancias de 0, 1; 5, 10, 15 metros de la fuente de polen. A favor de viento se colocaron también macetones en las distancias de 20 y 25 m. Se colocaron tres macetones por lado y distancia. Se solapó la floración de las plantas de los biotipos donante y receptor de polen.

Finalizada la floración y una vez maduras las plantas, se recogió la semilla de cada macetón del biotipo sensible para la identificación de híbridos. Las semillas se sembraron en bandejas rellenas con 25 L de la mezcla anterior, con 600 semillas por bandeja y tres bandejas por tratamiento. Cuando las plantas alcanzaron 3-4 hojas, se contó el número de plantas emergidas en cada bandeja y se realizó el screening para la identificación de plantas F<sub>1</sub> resistentes mediante pulverización con diclofop-metil 36% p/v (Iloxan<sup>®</sup>, AgrEvo) a 540 g m.a. ha<sup>-1</sup>. Los tratamientos se realizaron con un pulverizador automático equipado con una boquilla plana Teejet 8002-E calibrado para pulverizar 176 l ha<sup>-1</sup> a 130 kPa. Una vez tratadas las bandejas se colocaron de forma aleatoria en el invernadero, a temperaturas que oscilaron entre 16-24°C (noche-día), sin iluminación adicional. Cuatro semanas después de los tratamientos se contaron las plantas supervivientes en cada bandeja, que eran híbridos putativos, y se cortaron sus hojas. Una semana después se realizó un segundo tratamiento con diclofop y tres semanas después del segundo tratamiento se contaron de nuevo las plantas supervivientes. Las plantas F<sub>1</sub> que sobrevivieron los dos tratamientos se consideraron híbridos resistentes.

El análisis estadístico se realizó con el programa StatGraphics 5.1. Se aplicó la transformación  $\arcseno\sqrt{x}/100$  a los datos de porcentajes de hibridación previamente a la realización de un análisis de la varianza. Se analizó el efecto sobre las tasas de hibridación del año, la distancia y la dirección en relación a la fuente de polen. Las diferencias significativas entre medias se probaron mediante un test de Newman Keuls (P=0,05). Con el fin de estimar el flujo de genes potencial en relación a la distancia a la fuente de polen, los datos de cruzamiento se ajustaron al modelo exponencial  $P = a e^{-bx}$ , utilizado en otros estudios de flujo de genes vía polen (Loureiro *et al.*, 2012), donde P es el porcentaje de hibridación (%); x la distancia (m) a la fuente de polen; a la hibridación cuando x = 0 and b un coeficiente no lineal que determina la pendiente de la curva.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las condiciones ambientales durante el solapamiento en los períodos de floración de la fuente de polen resistente y la receptora sensible se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Condiciones ambientales durante los períodos de solapamiento en la floración entre el biotipo de *Lolium rigidum* resistente al herbicida diclofop-metil y el biotipo sensible.

| Año  | Período de cruzamiento (N° días) | Temperatura Media (°C) (Max./Mín.)      | % HR media (Max./Mín.) | mm Precipitación (N° de días) | Viento (km h <sup>-1</sup> ) |
|------|----------------------------------|---|------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 2009 | 14 - 29 Mayo<br>(16)             | 18,9 ± 2,6<br>(26,5 ± 4,8 / 10,9 ± 2,6) | 47 ± 17<br>(13-74)     | 28<br>(3)                     | 9,5 ± 3.4                    |
| 2010 | 10 Mayo - 2 Junio<br>(24)        | 17,2 ± 4,1<br>(24,5 ± 5,4 / 10,1 ± 3,9) | 51 ± 9<br>(21-80)      | 4,6<br>(3)                    | 8,9 ± 3.2                    |
| 2011 | 1 - 21 Mayo<br>(21)              | 16,7 ± 1,8<br>(23,2 ± 2,8 / 10 ± 2,3)   | 62 ± 7<br>(26-92)      | 25<br>(7)                     | 9,4 ± 4.9                    |

La Figura 1 muestra los resultados obtenidos en los tres años en los que se realizó el ensayo de flujo de genes de resistencia vía polen en *L. rigidum*. Las tasas de obtención de híbridos resistentes fueron significativamente diferentes entre años ( $P < 0,05$ ). Las tasas más bajas se obtuvieron en el año 2009, con un porcentaje medio del 5,5% en las plantas adyacentes a la fuente de polen. Se encontraron diferencias significativas en función de la orientación a la fuente de polen, con valores de 2,2% a 8,1% en contra o a favor del viento predominante respectivamente. Estos porcentajes disminuyeron significativamente al 2,9% (1,6-3,9) a 1 m, y se mantuvieron alrededor del 1,5% (0,07-2,3) hasta la distancia de 15 m, la máxima del ensayo en ese año. En 2010, las tasas obtenidas fueron 9,8% (7,1-12,8) a 0 m y 6,5% (4,8-9,1) a 1 m. A partir de 5 m los valores fueron similares a los de 2009. Los valores más elevados de hibridación se obtuvieron en 2011 a todas las distancias del ensayo: 11,6% (8,3-15,7) a 0 m, 9,5% (4,7-13,7) a 1 m, 8,9 % (7,3-10,6) y 7,4% (5,7-10,7) a 15 y 20 m respectivamente, y 4,1% (3,5-4,6) a 25 m, la distancia máxima del ensayo.

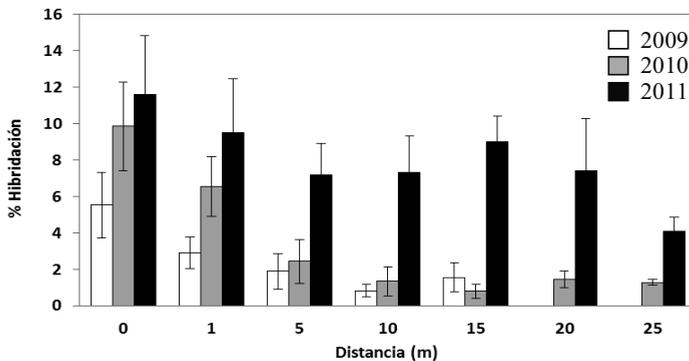


Figura 1. Tasa media de polinización cruzada obtenida entre un biotipo de *L. rigidum* resistente a diclofop-metil (fuente de polen) y otro susceptible colocado a diferentes distancias en el ensayo realizado durante tres años en la parcela experimental de la finca del INIA.

La Figura 2 muestra las curvas obtenidas al ajustar los datos de hibridación en función de la distancia a la fuente de polen resistente al modelo exponencial, lo que nos va a permitir estimar el flujo de genes de resistencia vía polen.

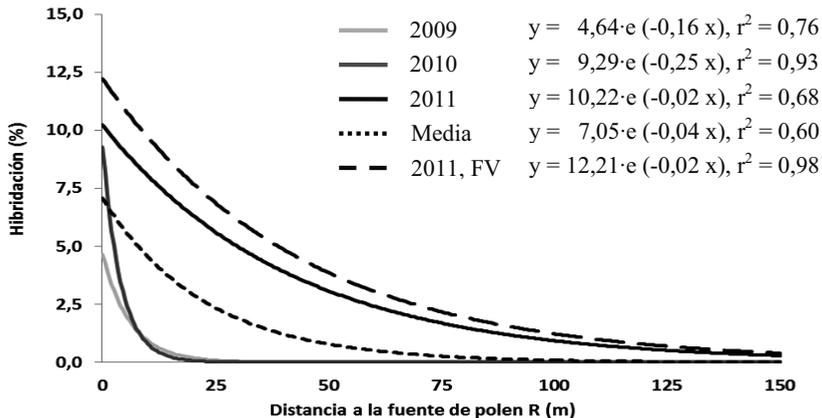


Figura 2. Curvas de flujo de genes de resistencia vía polen en *L. rigidum* obtenidas por ajuste de los datos al modelo exponencial  $P = a \cdot e^{-bx}$ . Se muestra el modelo para cada año, para la media de los tres años y para el escenario más desfavorable, obtenido con los datos de hibridación de los lados a favor de viento (FV) del año 2011.

Nuestros datos para la hibridación en las distancias adyacentes a la fuente de polen se encuentran dentro del amplio rango de 8-56% obtenido para estos mismos biotipos en condiciones más favorables para la hibridación (en condiciones de invernadero y con el biotipo sensible introducido en una nube de polen resistente) (Loureiro *et al.* 2009). Busi *et al.* (2008) citan valores de polinización del 37,8% a la distancia de 0 m en un ensayo realizado en campo entre biotipos de *L. rigidum* sensibles y resistentes a sulfometuron cuando utilizaban una sola planta sensible por distancia. Los porcentajes disminuían a 12,9% cuando había dos plantas por tiesto. Estos datos, al igual que los obtenidos en este trabajo muestran, tasas de flujo de genes mucho mayores que las tasas de mutación, que son de  $10^{-5}$  a  $10^{-6}$  para genes mayores (Maxwell y Mortimer, 1994). De acuerdo con la predicción del modelo realizado para los tres años, en condiciones similares a las del ensayo, obtendríamos una hibridación de 0,001% (1 híbrido resistente en 100.000 semillas) a 200 m de la fuente de polen, distancia que sería de 400 m en el caso de contemplar el escenario más desfavorable (a favor de viento). Busi *et al.* (2008), en ausencia de competencia de polen, encontraron híbridos resistentes a una distancia de hasta 3 km de la fuente de polen.

En las especies algámicas como *L. rigidum*, las resistencias conferidas por genes nucleares dominantes, como es el caso del diclofop en este biotipo, se van a desarrollar y a propagar rápidamente puesto que los alelos de resistencia no se pierden en la descendencia heterocigota cuando se aplica el herbicida, reduciéndose considerablemente el tiempo necesario para el desarrollo de una resistencia a nivel comercial. Del mismo modo, se va a favorecer el potencial desarrollo de resistencias múltiples lo que va a hacer aún más difícil el control de las poblaciones resistentes. Según Slatkin (1976), la difusión de un solo alelo de resistencia podría ser suficiente para introducir el carácter de resistencia en una población previamente susceptible. El flujo de genes a los niveles observados puede resultar en el movimiento y expansión de alelos de resistencia, bien a rodales dentro del mismo campo o a campos no tan cercanos (Loureiro *et al.*, 2010). Los resultados obtenidos serán de gran valor en el desarrollo de modelos de simulación de resistencia a herbicidas en *L. rigidum*. En el contexto de la gestión y mitigación de la resistencia a herbicidas, será importante eliminar los rodales de vallico sospechosos de resistentes antes de su floración, en lugar de antes de la producción de semillas.

#### 4. REFERENCIAS

- Busi R, Yu Q, Barrett-Lennard R and Powles S (2008). Long distance pollen-mediated flow of herbicide resistance genes in *Lolium rigidum*. *Theoretical and Applied Genetics* 117, 1281-1290.
- Loureiro I, Escorial MC, García-Baudín JM and Chueca MC (2009). Hibridación entre una población de *Lolium rigidum* sensible y otra resistente a diclofop-metil. *Herbología e biodiversidade numa agricultura sustentável*. XII Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, pp. 251-254. Lisboa.
- Loureiro I, Rodríguez-García E, Escorial MC, García-Baudín JM, González-Andujar JL and Chueca MC (2010). Distribution and frequency of resistance to four herbicide modes of action in *L. rigidum* accessions randomly collected in winter cereal fields in Spain. *Crop Protection* 29, 1248-1256.
- Loureiro I, Escorial MC, González A and Chueca MC (2012). Pollen-mediated gene flow in wheat (*Triticum aestivum* L.) in a semiarid field environment in Spain. *Transgenic Research* 21, 1329-39.
- Maxwell BD & Mortimer AM (1994). Selection for herbicide resistance. En: *Herbicide Resistance in Plants: Biology and Biochemistry*. Powles SB y Holtum JAM. Baton Rouge. CRC Press Inc.
- Preston C & Powles SB (2002). Evolution of herbicide resistance in weeds: initial frequency of target site-based resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in *Lolium rigidum*. *Heredity* 88, 8-13.
- SEMh (2013). ¿Cómo manejar una población de vallico (*Lolium rigidum*) resistente al cereal en invierno?. CPRH (Comité para la Prevención de Resistencias a Herbicidas). <http://www.semh.net/descarga/resistencia-a-herbicidas/FichaLoliumCPRH2011.pdf>
- Slatkin M (1976). The rate of spread of an advantageous allele in a subdivided population. *Population Genetics and Ecology*. Ed. Pages Karlin S & Nevo E, pp.767-780. Academic Press, Inc. New York.
- Tardif FJ, Preston C, Holtum JA & Powles SB (1996). Resistance to acetyl-CoA carboxylase-inhibiting herbicides endowed by a single major gene encoding a resistant target site in a biotype of *Lolium rigidum*. *Australian Journal of Plant Physiology* 23, 15-23.

Summary: *Gene flow of herbicide resistance genes via pollen in Lolium rigidum.* The movement of herbicide resistance genes via pollen is particularly worrying in the case of cross-pollinated species such as ryegrass (*Lolium rigidum* L.). In order to identify the cross-pollination rates related to distance and orientation to the resistance source, a three-year trial was carried out. The experimental design was a central pollen source with a *L. rigidum* biotype characterized as resistant to the herbicide diclofop-methyl surrounded in eight directions by pots with a sensitive biotype placed at distances of 0, 1, 5, 10, 15, 20 and 25 meters from the source, with three pots by direction and distance. Hybridization rates varied from 5.5% to 11.6% in the plants adjacent to the pollen source. These values were from 1.5 to 8.9% at 15 m distance and up to 4.1% at 25 m, the maximum distance of the assay, with significant differences between years. The hybridization data show the importance of gene flow via pollen in the dispersal of the resistance genes. Data was adjusted to an exponential decay model in order to predict gene flow at increasing distances to the pollen source. Knowledge of cross-pollination rates will be useful in predicting the likelihood of the occurrence of resistance expansion and in adopting strategies to delimit and mitigate it.

Keywords: ryegrass, diclofop, cross-pollination, dispersal of herbicide resistance



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

## El manejo de barbechos como indicador de la eficiencia de medidas agroambientales en secanos cerealistas

I. Robleño\*<sup>a</sup>, X. Solé\*, A. Royo-Esnal\*, J. Torra\*\*, J.A. Conesa\* & J. Recasens\*

\* Grupo de Malherbología y Ecología Vegetal. Dpto HBJ. ETSEA-Agrotecnio. Univ. de Lleida. Av. Rovira Roure 191. 25198-Lleida <sup>a</sup>[irene.rm@hbj.udl.cat](mailto:irene.rm@hbj.udl.cat)

\*\* Fundació UdL-IRTA. Agrotecnio. Av. Rovira Roure 191. 25198-Lleida

*Resumen:* Una de las medidas agroambientales fomentadas en áreas ZEPA, y especialmente en zonas cerealistas del Valle del Ebro, está centrada en el mantenimiento de barbechos. El tipo de manejo de estos barbechos influye en su estructura durante los meses estivales y condiciona, a su vez, el establecimiento de las aves esteparias. En el presente trabajo se comparan manejos mecánicos (chisel) y químicos (herbicida) realizados en diferentes fechas (marzo y abril) en dos barbechos con distinto origen y edad. Los muestreos de vegetación realizados durante el mes de mayo reflejan una mayor abundancia de especies en los barbechos con manejos tardíos (abril) y tratamientos químicos. El tipo de manejo y la historia acumulada en cada campo influyen de forma determinante en la cobertura y composición de la vegetación.

**Palabras clave:** agrosistemas, aves esteparias, estructura vegetación, herbicida, laboreo, zonas ZEPA.

### 1. INTRODUCCIÓN

La heterogeneidad de los paisajes agrícolas se relaciona positivamente con un mayor incremento de diversidad (García *et al.* 2007). La intensificación, aparte de la pérdida de biodiversidad (Stoate *et al.* 2009) amenaza la sostenibilidad de los servicios ambientales prestados por estos paisajes. Un grupo de gran importancia y que ha experimentando un marcado declive en toda Europa es el de las aves ligadas a los agro-ecosistemas y es, precisamente, en la península Ibérica donde se encuentran las principales poblaciones europeas.

En los últimos años diversos estudios vienen tratando de identificar los factores de gestión agraria más directamente implicados en dicho declive y en la evaluación de la efectividad de las medidas puestas en marcha para tratar de frenarlo, como son las medidas agroambientales. En las áreas cerealistas de secano del Valle del Ebro (NE de España), una de las medidas implementadas es la conservación de determinadas zonas denominadas ZEPA (Zonas de Especial Protección para las Aves) como refugios para ese tipo de avifauna. El presente trabajo se centra en el seguimiento de barbechos como estrategia agronómica que implica ventajas y beneficios ambientales al sistema. El tipo de manejo y su eficacia condiciona la estructura (altura y densidad) y composición de la vegetación durante los meses siguientes, creando hábitat favorable para el apareamiento, cobijo y reproducción (Delgado, 2009; Mcmahon, 2010). A su vez, el aumento de la riqueza y la diversidad de especies aporta estabilidad al sistema y recursos tróficos, ya que incrementa el número y la variedad de semillas e insectos disponibles (Asteraki *et al.* 2004). En consecuencia, la estructura de la vegetación y la disponibilidad trófica es un factor clave para que las aves esteparias seleccionen y se establezcan en dichos espacios.

Con el fin de evaluar qué tipo de manejo resulta óptimo para alcanzar la estructura de vegetación deseada en estos sistemas acogidos a ayudas agroambientales, se ha establecido un ensayo en dos barbechos con distinto origen y en dos zonas ZEPA distintas.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Durante la campaña 2011-12, se seleccionaron dos campos de barbecho en áreas cerealistas de secano comprendidas dentro de zonas ZEPA en los municipios de Ballobar (Huesca) y Balaguer (Lleida). Estos dos campos presentaban distintos precedentes. El primero era posterior a una rotación cultural cereal-leguminosa, mientras que el segundo se había mantenido en barbecho durante los últimos tres años. Con el fin de estimar la dinámica y estructura de la vegetación según el tipo de manejo, en cada barbecho se instalaron cuatro parcelas experimentales (10 x 20m) siguiendo un diseño en bloques completamente aleatorizado, con tres repeticiones. En cada parcela se realizó un tipo de manejo distinto, pero siempre antes del 15 de abril acorde con las limitaciones de las medidas agroambientales. Los cuatro manejos fueron los siguientes: una labor mecánica con chisel en dos fechas distintas (marzo y abril) y un tratamiento herbicida a base de glifosato (dosis: 1,5 l/ha) en dos fechas distintas (marzo y abril). La riqueza y la cobertura de las especies vegetales presentes se estimaron en el mes de mayo, coincidiendo con el momento de su máximo desarrollo. Dentro de cada parcela se tomaron cinco puntos de muestreo en cuadros de 50 x 50 cm.

A partir de los datos de cobertura se elaboraron curvas rango abundancia para representar la diversidad vegetal de la comunidad y a su vez como indicador de la dinámica intrínseca de la fitocenosis. Mediante este método de análisis se ha comparado el efecto de la fecha del tratamiento (precoz –marzo- o tardío –abril-) para cada manejo considerado así como entre tipos de manejo. Este análisis se realizó mediante el paquete estadístico R v2.10.1 (R Development Core Team 2009).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el barbecho de Ballobar (Fig.1), en su conjunto, se observan mayores valores de abundancia de especies que en el de Balaguer (Fig.2) independientemente del tipo y momento de realización del manejo. Ese barbecho procede de una rotación cereal–leguminosa y es de suponer que el banco de semillas esté constituido de forma preferente y en mayor magnitud por especies anuales. El barbecho de Balaguer, en cambio, al ser más estable en el tiempo, está protagonizado por especies bienales y plurianuales (género *Sonchus* o *Crepis*), menos dependientes de la carga de semillas del suelo. Además, su mecanismo de dispersión anemócora podría ser una ventaja en la colonización de espacios sin vegetación y facilitaría su protagonismo en el barbecho.

En ambos casos se observa que los tratamientos tardíos (abril), presentan mayor abundancia de especies que los más tempranos, tanto en el caso del uso de chisel como de herbicida. A su vez, para cada fecha de manejo considerada se observa también una mayor abundancia de especies en aquellas parcelas donde se realizó un tratamiento químico que en aquellas donde se realizó una labor con chisel. Esto ocurre así en todos los casos menos en Balaguer, donde el tratamiento químico precoz presenta mayor abundancia.

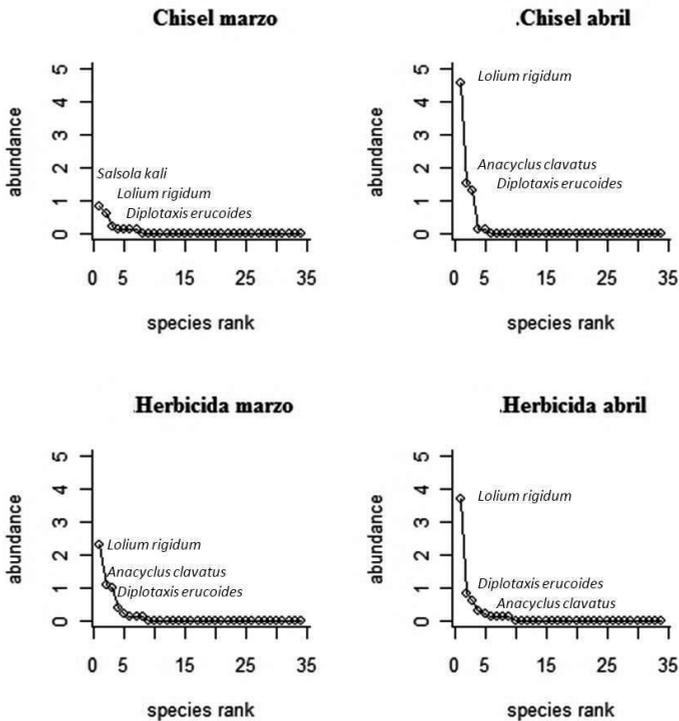


Figura 1. Resultados de las curvas rango-abundancia para datos de cobertura de especies estimados en el mes de mayo en el barbecho de Ballobar tras sendos tratamientos mecánico (chisel) y químico (herbicida) realizados en marzo y abril. Se detallan las especies que representan el mayor porcentaje de abundancia.

En el barbecho de Ballobar no sólo se observa una mayor abundancia de especies en los manejos de abril sino que está protagonizado por *Lolium rigidum*. Tanto en chisel como en el tratamiento herbicida esta especie adquiere unos valores similares mientras disminuye su protagonismo en los tratamientos de marzo. En éstos, destaca *Salsola kali* en manejo con chisel.

La presencia de una mayor abundancia de especies en los manejos tardíos que en aquellos realizados de forma precoz, debe explicarse por las condiciones meteorológicas habidas esa campaña. En su conjunto la campaña 2011-12 fue muy seca (290 mm), y la ausencia de lluvias invernales no permitió la realización de los manejos hasta entrada la primavera debido a la escasa presencia de vegetación.

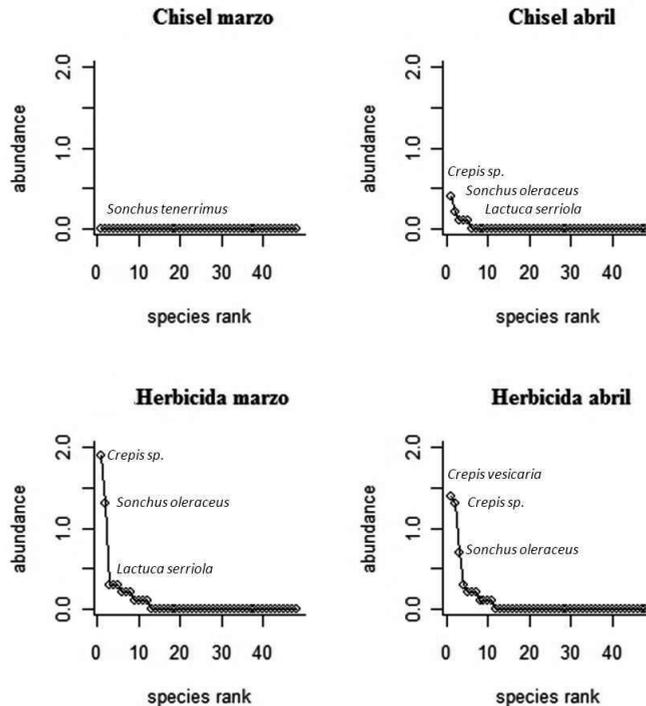


Figura 2. Resultados de las curvas rango-abundancia para datos de cobertura de especies estimados en el mes de mayo en el barbecho de Balaguer tras sendos tratamientos mecánico (chisel) y químico (herbicida) realizados en marzo y abril. Se detallan las especies que representan el mayor porcentaje de abundancia.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este estudio se ha realizado dentro de un proyecto del Plan Nacional I+D+i (AGL2010-22084-C02-01) financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia y gracias a una beca predoctoral de la Universitat de Lleida. Agradecemos la ayuda prestada por parte de Núria Moix, Lluç Pallarés y Jordi Rey en los muestreos realizados en el campo.

#### 5. REFERENCIAS

- Asteraki EJ, Hart BJ, Ings TC and Manley WJ (2004) Factors influencing the plant and invertebrate diversity of arable field margins. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 102, 219-231.
- Delgado MP, Morales MB, Traba J and García de la Morena E (2009) Determining the effects of hábitat management and climate on the population trends of declining steppe bird. *Ibis*, 151, 440-451.

- García B, Alcántara M, Gajón A, de Juana E, Lax LM, Cirera JL, Delgado I, Fábregas S, Pueyo Y, Alados CL, Yanes M and Leitão D (2007) *Restauración y mejora de zonas esteparias. Manuales de Desarrollo Sostenible*. Fundación Santander Central Hispano, pp. 57.
- McMahon B, Giralt D, Raurell M, Brotons L and Bota G (2010) Identifying set-aside features for bird conservation and management in northeast Iberian pseudo-steppes. *Bird Study*, 57, 289-300.
- R Development Core Team (2009) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Stoate C, Báldi A, Beja P, Boatman ND, Herzog I, van Doorn A, de Snoo G, Rakosyi L and Ramwell C (2009) Ecological impacts of early 21 st century agricultural change in Europe – A review. *Journal of Environmental Management*, 91, 22-46.

Summary: *Fallow management as an indicator of the efficiency of agri-environmental measures in dryland cereal fields. Fallows maintenance is one of the practices encouraged as agri-environmental measure in dryland cereal systems of the Ebro Valley (Spain) included in IBAs. Its management influences the structure of vegetation during the summer months and the establishment of steppe birds. In the present work, two different managements, mechanical (chisel) and chemical (herbicide), two different dates of application (March and April) in two fallow with different origin, are compared. The samples taken in May reflect a greater abundance of species in late management (April) and with chemical treatments. The type of management and the cumulated history of each field have a decisive influence on the covert and plant composition.*

Keywords: agrosystems, steppe birds, vegetation structure, tillage, herbicide, IBAs



## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Citrus Orchard with *Conyza bonariensis* resistant to glyphosate**

Manuel Simões\*, João Portugal\*\*, Ana Monteiro\* e Isabel M Calha\*\*\*

\*Centro de Botânica Aplicada à Agricultura, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa; Portugal [manuel.felizes@hotmail.com](mailto:manuel.felizes@hotmail.com)  
[anamonteiro@isa.utl.pt](mailto:anamonteiro@isa.utl.pt)

\*\* ESAB /IPBeja, Escola Superior Agrária de Beja, Rua Pedro Soares, Apartado 6158, 7800-908 Beja, Portugal, [jportugal@ipbeja.pt](mailto:jportugal@ipbeja.pt)

\*\*\* INIAV I.P. Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Sistemas Agrários e Florestais e Sanidade Vegetal, Quinta do Marquês 2784-505, Oeiras, Portugal [isabel.calha@iniav.pt](mailto:isabel.calha@iniav.pt)

**Resumen:** La resistencia al glifosato en Portugal se confirmó recientemente en poblaciones de *Conyza bonariensis* infestando olivares intensivos. Este trabajo presenta los resultados de un estudio para confirmar la resistencia al glifosato en una población de *C. bonariensis* de un huerto de cítricos en el sur de Portugal. La resistencia se confirmó con bioensayos de plantas enteras, donde se evaluó el peso fresco y seco a los 21 días tras la aplicación (DAA) de siete dosis de glifosato (180 - 5760 ae ha<sup>-1</sup>) a las plantas en roseta (BBCH 118), en un diseño de RBD con 7 a 10 repeticiones y se repitió. El factor de resistencia (RF = ED<sub>50</sub>R/ED<sub>50</sub>S) fue de 3,3. Flazasulfurón fue estudiado como una alternativa para el control de poblaciones de *C. bonariensis* R a lo glifosato. Se realizaron bioensayos de dosis-respuesta con siete dosis de flazasulfurón (10 a 320 g ha<sup>-1</sup>) y tensioactivo (0,1%) aplicado a plantas con 4-6 hojas lo que permitió confirmar la eficacia de la sulfonilurea: 100% mortalidad en todas las dosis. Bioensayo placa Petri: 17 DAS (días después de la siembra), el glifosato redujo la supervivencia de plántulas en el biotipo S de *C. bonariensis* a cerca de cero en 0,5 mg mL<sup>-1</sup> de glifosato. En el biotipo R muchas plántulas sobrevivieron a esta misma dosis. Para discriminar entre biotipos R y S se utilizó la clorosis de los cotiledones como indicador de la mortalidad.

**Palabras clave:** bioensayos de dosis-respuesta, flazasulfuron, prueba rápida, cítricos

## 1. INTRODUCTION

In established olive groves of south Portugal, weeds are represented by a great richness of species particularly *Asteraceae* (PACHECO *et al.*, 2009), competing with the crop mainly in summer. There are several options for weed control but in that portuguese region the predominant weed management strategy is cover cropping mostly by resident vegetation or soil tillage between rows, and strip treatment with herbicide down the tree row. Total reliance on herbicide is not common unless in intensive olive groves. This strategy has several disadvantages (besides the obvious impact on the environment) including the occurrence of herbicide resistance. Glyphosate is the most important herbicide for non-selective weed management in perennial crops both at world and national level.

Glyphosate has been shown to be translocated rapidly to meristematic tissue and stem apices, where growth failure occurs. This herbicide has a unique mode of action, it inhibits the enzyme *5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate (EPSP) synthase* [EC 2.5.1.19] (STEINRÜCKEN & AMRHEIN, 1980). The inhibition of EPSP synthase results in shikimate accumulation and prevents the biosynthesis of the aromatic amino acids,

phenylalanine, tyrosine, and tryptophan. Glyphosate is detoxified only slowly in plants by degradation to aminomethylphosphonic acid (AMP) (COLE, 1985).

Glyphosate has always been considered a low-risk herbicide for selecting resistance (POWLES, 2008). Thus, glyphosate was used worldwide for more than 20 years with no reports of evolved resistance in weed species until 1996, when glyphosate resistance was reported in *Lolium rigidum* Gaud. in Australia (PRATLEY *et al.*, 1996).

Nowadays evolved resistance to glyphosate has been reported in 24 weed species worldwide, 62% with multiple resistance to other MOA herbicides. To the 249 species resistant to glyphosate match 168 biotypes, of which over 55% occurred in the U.S. and are associated with genetically modified crops (HEAP, 2013). Instead, in other continents including Europe, resistance occurred in perennial crops orchards (Malaysia and South Africa) and olive groves and vineyards in the Mediterranean area (COLLAVO *et al.*, 2009). In Europe resistance to glyphosate was confirmed in five species: *Conyza bonariensis* (L.) Cronq (URBANO *et al.*, 2005; DINELLI *et al.*, 2008; CALHA & OSUNA, 2010), *C. canadensis* (L.) Cronq. (MARTINEZ & URBANO, 2007; MENDES *et al.*, 2011), *C. sumatrensis* (Retz.) E. Walker, *Lolium multiflorum* Lam. and *L. rigidum* (CRUZ-HIPÓLITO *et al.*, 2007; FAVIER & GAUVRIT 2007; COLLAVO *et al.*, 2009a; CALHA & PORTUGAL, 2012).

In perennial crops from Iberian Peninsula high selection pressure was imposed by herbicides, with glyphosate being applied for more than 15 years, often more than once a year (PORTUGAL *et al.*, 2011). The objectives of this work are 1) confirmation of glyphosate resistance in one population of *C. bonariensis* from a citrus orchard in the south of Portugal with dose-response whole plant bioassays; 2) assessment of the efficacy of flazasulfuron on GR population in whole plant bioassay as an alternative herbicide to glyphosate and 3) development of a Petri dish bioassay as a quick-test with routine purposes for screening large number of samples.

## 2. MATERIAL AND METHODS

### 2.1 Whole plant bioassays

*Plant material.* Seeds from *Conyza bonariensis* plants were collected from a citrus orchard in Alentejo (south of Portugal) (population B8) after inadequate control by glyphosate applied at the normal field rate. A susceptible (C) population from a non-herbicide treated area, from the same region was used as reference. Seeds of the B8 and C populations were germinated in plastic trays containing potting soil and seedlings (50 per tray) were grown in a glasshouse at 20/15°C day/night temperature under natural sunlight. Seedlings were transplanted at the first leaf stage to have three plants per pot and were well watered and fertilized in the greenhouse.

*Herbicide treatments.* Plants at the rosetta stage (BBCH 118) were treated with a range of six doses in logarithmic scale from 90 to 2880 g e.a. ha<sup>-1</sup> glyphosate (Roundup Ultra, 360 g e.a. L<sup>-1</sup>, SL, Bayer), using a Oxford Precision System (OPS) delivering 246 L spray solution ha<sup>-1</sup>, at 275 kPa pressure, through a single flat fan nozzle (N=720 g e.a. ha<sup>-1</sup>).

Fresh and dry weight (60 °C, 48-h) were recorded 21 days after herbicide application (DAA). Percent mortality was recorded as necrotic meristem. The ED<sub>50</sub> (herbicide rate causing 50 % reduction of fresh/dry weight) was estimated using non-linear regression

analysis (SEEFELDT *et al.*, 1995; KNEZEVIC *et al.*, 2007). The experimental layout was a complete randomized design with four replicates. The assay was repeated and results were combined.

## 2.2 Quick –test : Petri dish bioassay.

Seeds were germinated on agar medium (1 %) containing 2 g KNO<sub>3</sub> L<sup>-1</sup> in 9 cm Petri dishes fortified with a range of 5 glyphosate concentrations ( 0,05 – 0,4 mg mL<sup>-1</sup> ). A growth chamber was calibrated to 20 / 25 °C with 16-h light ( 20 μmol s<sup>-1</sup>m<sup>-2</sup> fluorescent light). Germination and chlorosis of the cotyledons (referred as seedling mortality) was assessed during 23 days.

## 3. RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1 Whole plant bioassays

*Dose-response to glyphosate.* For the susceptible population, plant mortality increased with herbicide dose. At 90 g e.a.ha<sup>-1</sup>, a mortality rate of 25 % was observed, followed by 50 % at 180 and 360 g e a ha<sup>-1</sup> and 100% at the higher doses, whilst for the resistant population, 50 % mortality rate was observed at the higher doses. The response of *C. bonariensis*, to increasing glyphosate doses, expressed as fresh or dry weight, was not significantly different, following a sigmoid log-logistic curve (fig 1a and 1b). ED<sub>50</sub> values ranged from 115.99 and 119.80 g e.a ha<sup>-1</sup> in S-population to 371.08 and 396 g e.a ha<sup>-1</sup> for R-populations, with resistance indices (RI) of 3.2 and 3.3, respectively for fresh and dry weight.

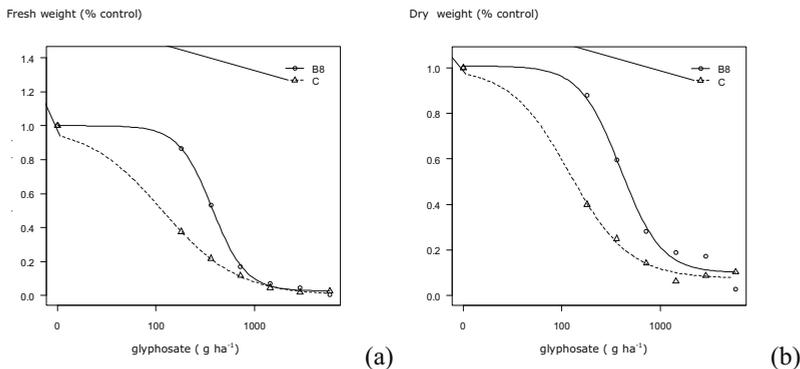


Figure 1 – Dose response curves to glyphosate (a) fresh weight (RI=3.2) ; (b) dry weight (RI= 3.3) for *Conyza bonariensis* (bioensayos de dosis-respuesta de *Conyza bonariensis* a glifosato)

### 3.2 Quick –test: Petri dish bioassay

*Conyza bonariensis* germination is fast, reaching a maximum (96%) in least than 10 days. Seed germination was not affected by glyphosate. However chlorosis of the cotyledons as an indicator of mortality could discriminate between B8 and C biotypes.

Dose-response to flazasulfuron

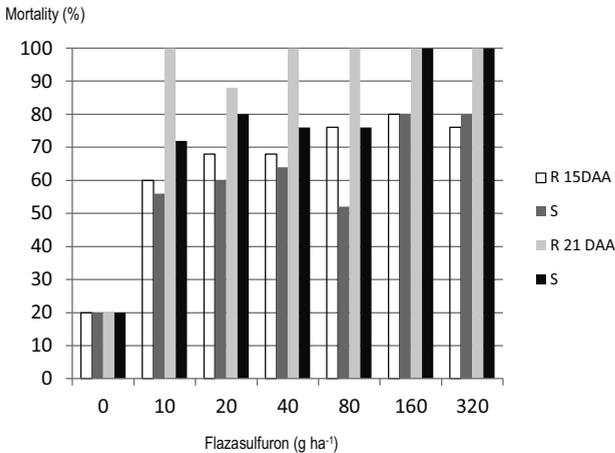


Figure 2 – Mortality (%) of R (B8) and S (C) *C. bonariensis* populations to flazasulfuron, 15 and 21 days after application. (Mortalidad (%) de población R (B8) e S (C) de *C. bonariensis* frente a siete dosis de flazasulfurón)

Seventeen DAS (days after seeding), glyphosate reduced *C. bonariensis* seedling survivorship in the C biotype to near zero at 0.5 mg mL<sup>-1</sup> glyphosate. In the B8 biotype many seedlings survived at the same dose (Table 1).

Table 1: Effect of glyphosate concentration on *Conyza bonariensis* seedlings mortality (chlorosis of cotyledons)

Evolución de la mortalidad (clorosis de los cotiledones) de dos poblaciones de *Conyza bonariensis* en función de la concentración de glifosato

| glyphosate concentration (mg mL <sup>-1</sup> ) | Mortality (%) |         |          |         |
|---|---------------|---------|----------|---------|
|   | B8            |         | C        |         |
|   | mean          | (SE)    | mean     | (SE)    |
| 0   | 0             | (0.000) | 0        | (0.000) |
| 0.05  | 14            | (0.028) | 73       | (0.056) |
| 0.1   | 84            | (0.063) | 96       | (0.303) |
| 0.2   | 92            | (0.057) | 99       | (0.014) |
| 0.3   | 97            | (0.014) | 100      | (0.000) |
| 0.4   | 100           | (0.000) | 100      | (0.000) |
| F   | 108.36        |         | 277.74   |         |
| p   | 1.48E-09      |         | 5.73E-12 |         |

Whole plant bioassays are the most used methods for resistance screening since they best mimic field conditions. Glyphosate resistance was confirmed in a *C. bonariensis* population from a citrus orchard with a resistant factor of 3.3. However, for routine purposes with large number of samples a single dose Petri dish bioassay should be preferable. A concentration of 0.05 mg mL<sup>-1</sup> could discriminate between R (resistant)

and S (susceptible) populations of *C. bonariensis*. However further studies with larger number of populations should be carried out to validate these results.

#### 4. ACKNOWLEDGMENTS

This study was funded partially by the Project PRODER - REMDA Olival. We gratefully acknowledge M<sup>a</sup> Lurdes Silva from INIAV I.P. for technical assistance.

#### 5. REFERENCES

- Calha IM & Osuna MD (2010) - Herbicide Weed Resistance in Portuguese Olive Groves. AFPP – 21st COLUMA Conference - International Meeting On Weed Control, Dijon – 8, 9 Dec.
- Calha IM & Portugal J (2012) Glyphosate resistance status and potential solutions in Portugal *Actas International Workshop “European Status and Solutions for Glyphosate Resistance”*: 2-4 May, Cordoba, Spain.
- Cole DJ (1985). The mode of action of glyphosate – a literature analysis, in: Grossbard E., Atkisson D. (eds). *The Herbicide Glyphosate*. Butterworth & Co Publishers.
- Collavo A, Gauvrit C, Mueller N, Sattin M & DePrado R (2009b). Glyphosate resistant weeds in Europe: a review: 473-476. in: Sousa et al. (eds) *Herbologia e Biodiversidade numa Agricultura Sustentável*, XII Cong SEMh/XIX Cong ALAM, II Cong IBACM, Lisbon, Vol 2. IsaPress. 452 pp.
- Cruz-Hipolito H E, Diaz M A, Ruiz-Santaella JP, De Prado RA, Menendez J & Vidal R (2007). Glyphosate resistance In several populations of *Lolium* spp. from Spain. *Proceedings 2007 WSSA Annual Meeting*. Santo António, Texas.
- Dinelli G, Marotti I, Catizone P, Bonetti A, Urbano JM & Barnes J (2008).- Physiological and molecular basis of glyphosate resistance in *Conyza bonariensis* biotypes from Spain, *Weed Research*, 48, 257– 265.
- Favier T & Gauvrit C (2007). Premier case de resistance au glyphosate en France, *AFPP – Vingtième Conférence du COLUMA*, Dijon – 11 et 12 de Dec, CD.
- González-Torrvalva F, Gil-Humanes J, Rojano-Delgado AM, Cruz-Hipolito HE, Barro F & De Prado R (2009b). New Target Site Mutation in a Glyphosate Resistant Sumatran Fleabane (*Conyza sumatrensis*). *WSSA Abstracts*. 137
- Martinez A & Urbano JM (2007). Nivel de resistencia a glifosato en poblaciones de *Conyza canadensis* de Andalucía. *Actas del XI Congreso de la Sociedad Española de Malherbologia*: 349-353.
- Heap I (2013). The International Survey of Herbicide Resistant Weeds available online at <http://www.weedscience.org>, accessed January 2013
- Knezevic Sz, Streibig JC & Ritz C (2007). Utilizing R software package for dose-response studies: the concept and data analysis. *Weed Technology*. 21: 840-848.. &
- Mendes S, Portugal J & Calha IM (2011) –Prospecção de resistência ao glifosato em populações de *Conyza canadensis*. *Livro de resumos do 9º Encontro Nacional de Protecção Integrada (9ENPI)*: 93. 17 e 18 de Novembro, Viseu
- Pacheco A, Vasconcelos T, Silva V, Portugal J, Monteiro A & Moreira I (2009). Influência do Tipo de solo na Vegetação espontânea em olivais intensivos no Alentejo (Portugal), in: Sousa et al. (eds). *Herbologia e Biodiversidade numa Agricultura Sustentável*: 39-42. Actas XII Congresso SEMh/ XIX Congresso ALAM/II Congresso IBACM. Vol 1. IsaPress. 452 pp.
- Portugal J, IM Calha & R DePrado (2011). Infestantes resistentes ao glifosato na Península Iberica *Congreso ALAM*, Viña del Mar, Chile (*aceite para publicação*).
- Powles S B (2008). Evolved glyphosate-resistant weeds around the world: lessons to be learnt. *Pest Management Science*, 64, 360-365.
- Pratley J, Baines P, Eberbach P, Incerti M & Broster J (1996). Glyphosate resistance in annual ryegrass, In: *Proceedings 11th Annual Conference of the Grassland Society of NSW* (eds J Virgona & D Michalk), 122, The Grassland Society of NSW, Wagga Wagga, Australia.

- Seefeldt SS, Jensen JE, Fuerst EP (1995). Log-logistic analysis of dose-response relationships, *Weed Technology*, 9, 218-227.
- Steinrucken H & Amrhein N (1980). The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimic acid-3-phosphate synthase. *Biochemistry Biophysical Research Communication*, 94, 1207-1212.
- Urbano JM, A Borrego, V Torres, C Gimenez, GMY Leon, C Jimenez; G Dinelli & J Barnes, (2007). Glyphosate-resistant hairy fleabane (*Conyza bonariensis*) in Spain. *Weed Technology*, 21, 396-401.
- VanGessel MJ, Scott BA, Johnson QR & White-Hansen SE (2009). Influence of glyphosate-resistant horseweed (*Conyza canadensis*) growth stage on response to glyphosate applications. *Weed Technology* 23:49-53

**Summary:** *Citrus Orchard with Conyza bonariensis resistant to glyphosate. Glyphosate resistance in Portugal was recently confirmed in Conyza bonariensis populations from intensive olive groves. This paper presents the results of a study to confirm glyphosate resistance in one population of C. bonariensis (B8) from a citrus orchard in the south of Portugal using a susceptible population as reference (C).*

*Resistance was confirmed with whole plant bioassays, where fresh weight was assessed 21 days after application (DAA) of seven doses of glyphosate (180 -5760 a.e.ha<sup>-1</sup>) to plants at rosetta stage (BBCH 118), in a RBD design with 7 to 10 replicates and it was repeated. The resistance factor (RF = ED50R/ED50S) was 3.3. Flazasulfuron was studied as an alternative to control glyphosate-R-populations of C. bonariensis. Dose-response bioassay, with seven doses flazasulfuron (10-320 g ha<sup>-1</sup>) and tensioactive (0.1%) applied to plants with 4-6 leaves, confirmed the efficacy of the sulfonylurea herbicide: 100 % mortality for all doses.*

**Keywords:** dose-response bioassays, flazasulfuron, quick test, citrus grove

## Evaluación de diferentes tratamientos herbicidas para el control de *Conyza* spp. y otras dicotiledóneas en olivar

M. Saavedra<sup>a</sup>, V. Vega, D. Pérez-Mohedano, J.C. Hidalgo, C. Alcántara, J. Hidalgo  
IFAPA Alameda del Obispo, Apdo. 3092, 14080-Córdoba,  
<sup>a</sup>[mariam.saavedra@juntadeandalucia.es](mailto:mariam.saavedra@juntadeandalucia.es)

*Resumen:* En un olivar adulto se evaluó visualmente la eficacia de 16 tratamientos herbicidas de preemergencia y mezclas de pre y postemergencia aplicados en otoño sobre *Conyza canadensis* y *C. bonariensis*, en estado entre cotiledones y roseta pequeña, y *Medicago polymorpha*, *Diplotaxis virgata* y *Malva parviflora* en estado vegetativo y 5-15 cm de altura, frente a un testigo sin tratar. El diseño fue bloques al azar, con 5 repeticiones y parcelas de 35 m<sup>2</sup>. Todos los tratamientos a los 158 días después de aplicación, excepto oxifluorfen + glifosato (0,96+1,08 kg m.a./ha) requirieron nuevas aplicaciones para mantener en buen estado el suelo. Para conseguir una eficacia en el control de conizas y otras dicotiledóneas, se propone aplicar en otoño herbicidas de postemergencia, que eliminen las malas hierbas presentes durante la recolección, y hacer un segundo tratamiento a final de invierno con herbicida residual, mezclado o no con herbicida de postemergencia, según las necesidades. Esta estrategia evitaría riesgos de contaminación de aceites con herbicidas.

**Palabras clave:** Postemergencia, olivar, *Diplotaxis virgata*, *Medicago polymorpha*.

### 1. INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Conyza* se encuentran entre las malas hierbas más difíciles de controlar en olivar (Saavedra & Pastor, 2002) y están bien adaptadas a sistemas de no laboreo tratados con herbicidas y a los riegos por goteo, donde emergen de forma casi continua durante los meses templados de otoño y primavera. La presencia de vilano y pequeño tamaño del aquenio facilita enormemente su dispersión y la infestación en sólo uno o dos años. Están consideradas plantas terófitas, anuales (Pignatti, 1982), pero en el ambiente del sur de España se pueden observar plantas con características de hemicriptófitas, con capacidad de rebrotar y perennizar (Saavedra & Pastor, 2002). El problema se incrementa cuando existen restos vegetales y en plantaciones jóvenes por estar limitada la disponibilidad de herbicidas autorizados para plantones (MAGRAMA, 2013). Estas especies han desarrollado resistencia a diferentes herbicidas, tanto de preemergencia (De Prado *et al.*, 1989), como más recientemente a glifosato (De Prado, 2012), por lo que su control es aún más complicado.

Por otro lado, la información con que cuentan los agricultores y técnicos que les asesoran, sobre la eficacia de los herbicidas que podrían usar para el control de las malas hierbas, es escasa y a veces incluso errónea. Además existe desconocimiento sobre la biología y ecología de las malas hierbas, incluso de las más frecuentes, y esto les impide buscar alternativas al uso de herbicidas. Sin embargo, últimamente se han registrado materias activas para olivar que apenas ha utilizado el agricultor, pero que podrían suponer alternativas viables a otros herbicidas y a glifosato, que es en muchos casos el único herbicida utilizado.

En este trabajo nos hemos planteado los siguientes objetivos: 1- evaluar la eficacia de herbicidas de pre y postemergencia de uso frecuente y otros poco conocidos en olivar, sobre diferentes especies del género *Conyza* spp. y sobre otras especies dicotiledóneas que *a priori*

no presentan problemas de control y 2- diseñar estrategias de uso de herbicidas alternativas a los usos actuales para el control de especies difíciles.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un ensayo en olivar adulto a marco  $7 \times 7$  m, con riego por goteo, en Alameda del Obispo (Córdoba), sobre suelo fértil de textura franca, con más de 1 m de profundidad,  $\text{pH}=8.3$ , contenido en caliza total superior a 38% (según horizontes) y tratado durante varios años con herbicidas. Las especies dominantes eran *C. canadensis* y *C. bonariensis*, en estado entre cotiledones y roseta de 2-2,5 cm, y *Medicago polymorpha* (MEDPO), *Diptotaxis virgata* (DIPVI) y *Malva parviflora* en estado vegetativo con 10-15 cm de altura, junto a otras especies en baja densidad y distribución poco homogénea. Abundaban además los restos de poda triturados y restos secos de plantas. La infestación de *Conyza* spp. se ha producido tras reiterados tratamientos con herbicidas de pre y postemergencia, donde glifosato era habitual en todas las aplicaciones.

El diseño experimental fue bloques al azar, con 5 repeticiones y parcelas elementales de  $5 \times 7$  m, situadas entre dos olivos y entre los centros de las calles. Los herbicidas (Tabla 1) se aplicaron el 5 de noviembre de 2012. Se había previsto tratar 15 días antes, con hierba menos desarrollada, pero las condiciones meteorológicas no lo permitieron. Se utilizó un vehículo ligero de diseño propio, provisto de una barra con 10 boquillas Albuz APG110 amarillas a presión 1,8 bar y 350 l/ha. El pH del agua se redujo de 7,2 a 4,9 añadiendo reductor de pH Stop Acid, 0,7 ml por l de agua. El suelo estaba muy húmedo debido a las abundantes lluvias ocurridas con anterioridad y a las 7 horas de la aplicación volvió a llover. Las pluviometrías y temperaturas durante el ensayo se indican en la Figura 1.

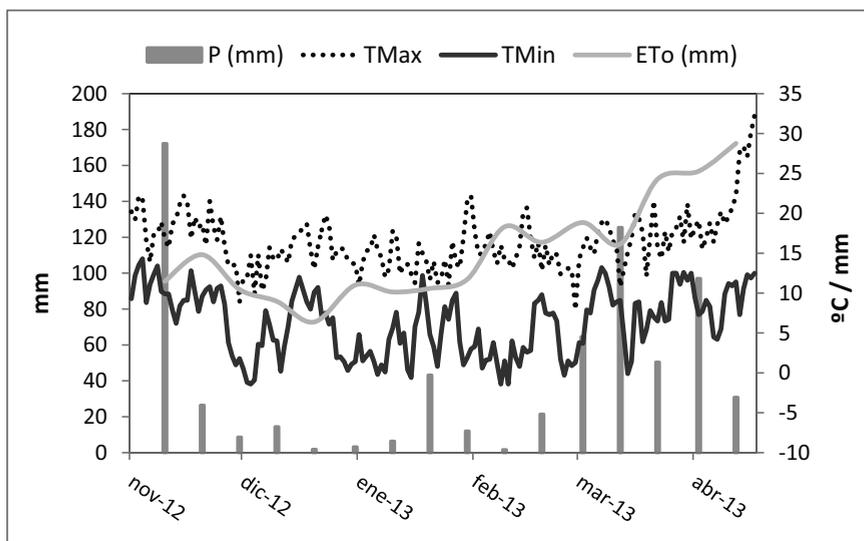


Figura 1. Pluviometría acumulada cada 10 días, temperaturas máxima y mínima y ETo durante el periodo de ensayo. Estación Alameda del Obispo.

Tabla 1. Herbicidas y dosis aplicadas en diferentes fechas.

| Tratamiento y m.a. <sup>1</sup> |   |                            | Producto       | m.a.<br>% | Aplicaciones                                      |                              |                              |
|---------------------------------|---|----------------------------|----------------|-----------|---|------------------------------|------------------------------|
|                                 |   |                            |                |           | 1 <sup>a</sup><br>Dosis<br><sup>2</sup> p.c. l/ha | 2 <sup>a</sup><br>100<br>DDA | 3 <sup>a</sup><br>128<br>DDA |
| T1                              | Amitrol+Glifosato                           | Etizol+Pitón               | 24+36          | 4+3       | (1)   |                              |                              |
| T2                              | Glifosato+MCPA                              | Pitón+U-46                 | 36+60          | 3+1.5     | (2)   |                              |                              |
| T3                              | Diflufenicán                                | Mamut                      | 50             | 0,7       | (2)   |                              |                              |
| T4                              | Diflufenicán+Glifosato+MCPA                 | Mamut+Pitón+U-46           | 50+36+60       | 0.7+2 +1  |   | (2)                          |                              |
| T5                              | Flazasulfurón                               | Terafit                    | 25             | 0.2       |   |                              |                              |
| T6                              | Flazasulfurón+Glifosato+MCPA                | Terafit+Pitón+U-46         | 25+36+60       | 0.2+2 +1  |   |                              |                              |
| T7                              | Flumioxacina+Glifosato+MCPA                 | Pledge+Pitón+U-46          | 50+36+60       | 0.7+2 +1  |   | (2)                          |                              |
| T8                              | Oxifluorfén+Glifosato                       | Goal Supreme+Pitón         | 48+36          | 2+3       |   |                              |                              |
| T9                              | Oxifluorfén+Glifosato+MCPA                  | GoalSupreme+Pitón+<br>U-46 | 48+36+60       | 2+2+1     |   |                              |                              |
| T10                             | Terbutilazina                               | Cilotor                    | 50             | 2         | (2)   |                              |                              |
| T11                             | Terbutilazina+Glifosato                     | Cilotor+Pitón              | 50+36          | 2+3       |   | (2)                          |                              |
| T12                             | Terbutilazina+Glifosato+MCPA                | Cilotor+Pitón+U-46         | 50+36+60       | 2+2+1     |   | (2)                          |                              |
| T13                             | Diflufenicán+Oxifluorfén                    | Irydia                     | 4+15           | 2         | (2)   |                              |                              |
| T14                             | Diflufenicán+Oxifluorfén+<br>Glifosato      | Irydia+Pitón               | 4+15+36        | 2+3       |   | (2)                          |                              |
| T15                             | Diflufenicán+Oxifluorfén+<br>Glifosato+MCPA | Irydia+Pitón+U-46          | 4+15+<br>36+60 | 2+2+1     |   | (2)                          |                              |
| T16                             | Fluometurón                                 | Cottolinz                  | 50             | 3         | (2)   |                              |                              |
| T17                             | Testigo                                     |                            |                |           | (3)   |                              |                              |

<sup>1</sup>m.a.= Materia activa; <sup>2</sup>p.c.=Producto comercial. Tres aplicaciones: 1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup> y 3<sup>a</sup>. DDA= Días después de la 1<sup>a</sup> aplicación. (1) Goal Supreme +U-46 (2+1.5 l/ha); (2) Pitón+U-46 (3+1.5 l/ha); (3) Desbrozado

Ante la evolución de la hierba, hubo que realizar una 2<sup>a</sup> y otra 3<sup>a</sup> aplicación sobre aquellos tratamientos donde la eficacia ya resultaba insuficiente. A los 100 días después de la primera aplicación (DDA), el 13 febrero, se trataron de nuevo: T1 con Goal Supreme +U-46 (2+1,5 l/ha); T2, T3, T13 y T16 con Pitón+U-46 (3+1,5 l/ha) y el testigo fue desbrozado. A los 128 DDA, el 13 de marzo, se trataron: T4, T11, T12, T14 y T15 también con Pitón+U-46 (3+1,5 l/ha).

A los 14, 35, 73, 127 y 158 días después de la 1<sup>a</sup> aplicación (DDA), 3 personas realizaron evaluaciones de eficacia para las especies más importantes, puntuando de 0 (control nulo) a 100 (control total, planta muerta e imposibilidad de rebrote). Se anotaron los síntomas que iban apareciendo y su evolución, así como los rebrotes que se producían en cada tratamiento. Se realizó el ANOVA para los datos transformados mediante la expresión  $\arcsen(x/100)^{1/2}$ . Se obvió el tratamiento testigo en las 3 primeras fechas. La separación de medias y diferencias entre tratamientos se realizó mediante el test Tukey a  $P<0,05$ .

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de eficacia en las diferentes fechas se indican en la Tabla 2. A los 73 DDA todos los tratamientos que contenían herbicidas de postemergencia (amitrol, glifosato, MCPA) resultaron muy efectivos contra *Conyza* y demás dicotiledóneas. En cambio, todos los que contenían solamente herbicidas de preemergencia fueron poco efectivos, a excepción de

flazasulfurón, que actuó lentamente, pero proporcionó una excelente eficacia hasta los 73 DDA, y posteriormente buen control y síntomas de fitotoxicidad hasta los 158 DDA, en que se vio la necesidad de nuevos controles. Estos herbicidas de preemergencia tuvieron hasta los 73 DDA un comportamiento diferente, mientras que a los 14 DDA diflufenicán y flazasulfurón controlaron bastante bien *D. virgata*, terbutilazina, diflufenicán+oxifluorfen y principalmente fluometurón no lo hicieron. En el caso de *M. polymorpha* el control de flazasulfurón no difirió de los mejores tratamientos, pero el resto de herbicidas de preemergencia apenas produjeron fitotoxicidad.

A los 100 DDA fue necesario hacer nuevas aplicaciones en los tratamientos de postemergencia (T1 y T2), por falta de persistencia, y también en los tratamientos con herbicida solo de preemergencia (T3, T10, T13 y T16) por falta de control de la hierba que estaba presente al inicio del ensayo, excepto T5, flazasulfurón, que siguió actuando lentamente y controlando nuevas emergencias y las plantas desarrolladas.

Tras la evaluación a los 127 DDA, se obtuvo excelente eficacia de los tratamientos realizados a los 100 DDA, pero se vio la necesidad de hacer un control, una 3ª aplicación (que se realizó a los 128 DDA) en otros tratamientos en los que la hierba comenzaba a desarrollarse y la eficacia era insuficiente (T4, T7, T11, T12, T14, T15).

Tabla 2. Eficacia de los tratamientos 14, 35, 73, 127 y 158 días después de la 1ª aplicación (DDA).

|     | 14 DDA |       | 35 DDA |        | 73 DDA |        | 127 DDA<br>(27 dda-2ª) |        | 158 DDA<br>(58 dda-2ª)<br>(31 dda 3ª) |         |
|-----|--------|-------|--------|--------|--------|--------|------------------------|--------|---------------------------------------|---------|
|     | DIPVI  | MEDPO | DICOT  | Conyza | DICOT  | Conyza | DICOT                  | Conyza | DICOT                                 | Conyza  |
| T1  | 99 a   | 99 a  | 99 a   | 99 a   | 77 b   | 84 a   | 99 a                   | 98 ab  | 99 a                                  | 98 a    |
| T2  | 98 a   | 97 a  | 96 a   | 97 a   | 93 ab  | 68 a   | 99 a                   | 99 ab  | 98 a                                  | 96 a    |
| T3  | 93 ab  | 14 b  | 16 b   | 29 b   | 0 c    | 7 b    | 89 abc                 | 100 a  | 93 ab                                 | 89 abc  |
| T4  | 95 ab  | 88 a  | 97 a   | 97 a   | 90 ab  | 86 a   | 13 e                   | 11 d   | 90 ab                                 | 96 a    |
| T5  | 82 ab  | 72 a  | 82 a   | 80 a   | 86 ab  | 92 a   | 65 abcd                | 45 cd  | 62 bc                                 | 43 de   |
| T6  | 98 a   | 87 a  | 98 a   | 90 a   | 98 a   | 94 a   | 92 ab                  | 77 abc | 91 ab                                 | 49 cde  |
| T7  | 98 a   | 88 a  | 97 a   | 90 a   | 97 ab  | 96 a   | 70 abcd                | 49 cd  | 98 a                                  | 99 a    |
| T8  | 97 a   | 95 a  | 96 a   | 81 a   | 96 ab  | 98 a   | 84 abc                 | 77 abc | 92 ab                                 | 89 abcd |
| T9  | 97 a   | 95 a  | 98 a   | 86 a   | 98 a   | 97 a   | 82 abc                 | 52 bcd | 88 ab                                 | 50 bcde |
| T10 | 77 b   | 16 b  | 18 b   | 8 b    | 6 c    | 4 b    | 98 a                   | 100 a  | 94 ab                                 | 85 abcd |
| T11 | 96 ab  | 94 a  | 96 a   | 97 a   | 96 ab  | 82 a   | 65 abcde               | 41 cd  | 99 a                                  | 99 a    |
| T12 | 98 a   | 84 a  | 95 a   | 90 a   | 94 ab  | 90 a   | 58 bcde                | 32 cd  | 92 ab                                 | 99 a    |
| T13 | 76 b   | 21 b  | 23b    | 9 b    | 6 c    | 8 b    | 98 a                   | 99 ab  | 97 a                                  | 98 a    |
| T14 | 99 a   | 96 a  | 99 a   | 99 a   | 97 ab  | 96 a   | 49 bcde                | 44 cd  | 97 a                                  | 90 ab   |
| T15 | 98 a   | 99 a  | 98 a   | 94 a   | 97 ab  | 92 a   | 44 cde                 | 36 cd  | 97 a                                  | 99 a    |
| T16 | 13 c   | 8 b   | 6 b    | 4 b    | 0 c    | 0 b    | 93 ab                  | 100 a  | 93 ab                                 | 74 abcd |
| T17 | 0      | 0     | 0      | 0      | 0      | 0      | 25 de                  | 27 cd  | 31                                    | 9 e     |
| CV: | 11.44  | 20.42 | 14.09  | 21.53  | 13.25  | 19.44  | 22.31                  | 29.7   | 14.8                                  | 21.95   |

Escala de eficacia: 0=control nulo, 100 planta muerta.

\*Dentro de cada columna, los valores seguidos de diferente letra indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey,  $P < 0,05$ ). dda=días después de aplicación

DIPVI= *D. virgata*, MEDPO= *M. polymorpha*, DICOT= Dicotiledóneas

En la última evaluación realizada a los 158 días desde la 1ª aplicación, solo el testigo presentaba una infestación alta, pero de los 4 tratamientos que no habían sido tratados dos veces (T5, T6, T8, T9), solamente en T8 se seguía alcanzando un alto grado de control. En el

tratamiento T2, donde solo se aplicaron herbicidas de postemergencia hasta los 158 DDA, la eficacia fue buena, pero era evidente la incipiente emergencia de nuevas conizas y de otras especies, por lo que se hace necesario un 3er tratamiento. De la misma manera, pero debido a la pérdida de eficacia del tratamiento residual, se requerirán nuevos tratamientos a corto plazo en: T3, T10 y T16.

El testigo, desbrozado a los 100 DDA, mostraba la mayor infestación de *Conyza* spp. con una cobertura muy elevada tanto de ésta como de dicotiledóneas.

Otros resultados observados por los autores y que pueden ser de utilidad en el manejo de suelo en olivar fueron: Eliminación total de musgos por parte de flumioxacin (T7); *Sagina apetala*, que no fue considerada como mala hierba, sino planta con escasa capacidad de competir pero alta capacidad de cubrir el suelo, permaneció viva en T1, T8 y T9; la ineficacia de fluometurón (T16) produjo a los 158 una excesiva presencia de restos vegetales que dificultarán los tratamientos posteriores al iniciar el riego; se ha puesto en evidencia que el momento y forma de aplicación no fueron adecuados para fluometurón.

Ante la limitada persistencia de todos los herbicidas residuales, y a tenor de los resultados obtenidos, proponemos cambiar la estrategia de control de aplicación de herbicidas residuales en otoño y de postemergencia en primavera, por esta otra: aplicar en otoño herbicidas de postemergencia, que nos eliminen las malas hierbas presentes durante la recolección, y hacer un segundo tratamiento a final de invierno con herbicida residual, mezclado o no con herbicida de post, según las necesidades. Esta estrategia evitaría durante la recolección el riesgo de contaminación de aceites con herbicidas como diflufenicán y oxifluorfén, que presentan un coeficiente de reparto octanol-agua ( $K_{ow}$ ) muy elevado, y se consideran de alto riesgo, pero que son muy eficaces en el control de malas hierbas, sobre todo en años lluviosos. El centro de las calles puede y debe mantenerse con vegetación durante el invierno, y manejar esa cubierta vegetal, mediante siega, labor o aplicación de herbicidas, según los objetivos que se planteen en cada explotación.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Al Proyecto Tranforma Olivar, financiado con fondos FEDER, y a Josefina Capitán, Antonio Prieto y Marcos Hidalgo por su asistencia en campo.

#### 5. REFERENCIAS

- MAGRAMA (2013). *Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Registro de Productos Fitosanitarios.*
- Pignatti S (1982). *Flora d'Italia. Volumen Terzo.* Pg. 22-23.
- Prado De R (2012). Glyphosate weed resistance: status and solutions in Spain. *Workshop on Glyphosate Weed Resistance: European Status and Solutions.* Córdoba, May 2012. 33-34.
- Prado De R, Domínguez C y Tena M (1989) Characterization of triazine-resistant biotypes of common lambsquarter (*Chenopodium album*), hairy bleabane (*Conyza bonariensis*) and yellow foxtain (*Setaria glauca*) found in Spain. *Weed Science*, 37, 1-4.
- Saavedra M & Pastor M (2002). *Sistemas de Cultivo en Olivar. Manejo de Malas Hierbas y Herbicidas.* 429 pg.

Summary: Evaluation of several herbicidal treatments in olive orchards to control *Conyza* spp. and another broadleaf weeds. The effectiveness of 16 herbicides treatments of pre-emergence and a mixture of pre and post-emergence were visually evaluated in autumn in an olive grove on *Conyza canadensis* and *C. bonariensis* in phenological stage ranging between cotyledons and small rosettes and on *Medicago polymorpha*, *Diplotaxis virgata* and *Malva parviflora* in vegetative stage and plant height between 5-15 cm. The experimental design was a randomized complete block with 5 replications and plots of 35 m<sup>2</sup>. All treatments at 158 days after the application, except glyphosate+oxyfluorfen (0.96+1.08 kg a.i./ha), needed additional application to keep the weed controlled. In order to achieve a high effectiveness in weed control it is proposed to apply post-emergence herbicides in autumn to control weeds during harvest period and to do a second treatment at the end of the winter with a residual herbicide, alone or in mixture with a post-emergence herbicide. This weed control strategy could avoid the olive oil contamination by herbicides.

Keywords: Postemergence, olive groves, *Diplotaxis virgata*, *Medicago polymorpha*.

## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Actividad herbicida del aceite esencial de *Satureja montana* L.**

David García-Rellán<sup>\*a</sup>, Mercedes Verdeguer<sup>\*</sup>, M. Amparo Blázquez<sup>\*\*</sup> y Herminio Boira<sup>\*</sup>.

<sup>\*</sup> Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n, 46022-Valencia, <sup>a</sup>dagarrel@upv.es

<sup>\*\*</sup> Departament de Farmacologia, Facultat de Farmàcia, Universitat de València, Avda. Vicent Andrés Estellés s/n, 46100-Burjassot (Valencia).

**Resumen:** La actividad herbicida del aceite esencial de *Satureja montana* L. fue probada in vitro sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de tres arvenses: *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. y *Conyza canadensis* (L.) Cronq. con el objetivo de estudiar su posible uso como herbicida natural. El aceite esencial fue muy efectivo sobre todas las arvenses, inhibiendo completamente la germinación de *P. oleracea* en todas las concentraciones ensayadas y reduciéndola en más de un 90% en el caso de *A. hybridus* y *C. canadensis*. Sobre las plántulas germinadas de *A. hybridus* redujo el crecimiento desde un 67,3% (concentración de 0,3 µl/ml) hasta un 98,5% (0,5 µl/ml), mientras que en la única concentración de aceite esencial en la que hubo germinación de *C. canadensis* (0,125 µl/ml) la inhibió en un 94,8%.

**Palabras clave:** aceite esencial, *Satureja montana* L., actividad herbicida, arvenses

## 1. INTRODUCCIÓN

Las plantas arvenses son responsables de la pérdida del 12% de la producción mundial de cultivos (Anaya, 1999). Es por ello que numerosos estudios están dirigidos hacia el control de la germinación y desarrollo de arvenses. El uso de herbicidas sintéticos sigue siendo actualmente el más extendido. Sin embargo, el uso reiterado de la aplicación de herbicidas sintéticos ha tenido en algunos casos un impacto negativo en el suelo, en la contaminación de acuíferos y en la toxicidad de organismos vivientes, incluidos el hombre. Además ha tenido como consecuencia el aumento de arvenses resistentes frente a los herbicidas disponibles, lo que está llevando a la búsqueda de nuevos compuestos con actividad herbicida entre los que se encuentran los aceites esenciales (Anaya, 1999; Dudai *et al.*, 1999; Duke *et al.*, 2003; Singh *et al.*, 2003).

El objetivo principal de este trabajo fue determinar el potencial herbicida del aceite esencial de *S. montana* L. sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de tres arvenses: *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. y *Conyza canadensis* (L.) Cronq.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

**2.1. Material vegetal.** Con objeto de obtener semillas para la realización de ensayos, se recogieron plantas en estado de fructificación de las especies *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis* entre agosto de 2008 y noviembre de 2011 de campos de cultivo situados en Valencia y Sinarcas (Valencia, España). Durante 15 días las plantas se secaron en laboratorio, a temperatura ambiente. Posteriormente se extrajeron las semillas, que fueron seleccionadas, eliminando las que tuvieran un tamaño, color, forma o estado de maduración anómalo. Las semillas se conservaron en placas Petri de 9 cm de diámetro selladas con parafilm, y se hicieron dos lotes con semillas de cada planta, conservándose el primero a temperatura

ambiente (para evitar la aparición de latencias debido al frío) y el segundo en nevera a 4°C, hasta el momento de su utilización.

**2.2. Evaluación del potencial de inhibición de la germinación y el crecimiento.** Para llevar a cabo los ensayos de inhibición de la germinación se sembraron 20 semillas de cada especie arvense (*A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*) en placas Petri de 9 cm de diámetro. Como sustrato se utilizaron dos discos de papel de filtro de 9 cm de diámetro y 50 g/m<sup>2</sup> de espesor, y otros dos discos de papel cubrieron las semillas siendo impregnadas todas las placas con 4 ml de agua destilada (control), y volúmenes de 0,5, 1, 2 y 4 µl del aceite esencial, obteniéndose concentraciones de 0,125, 0,25, 0,5 y 1 µl/ml respectivamente. Las placas fueron selladas con parafilm. Se realizaron 5 repeticiones (100 semillas) para cada una de las tres arvenses.

Las placas con semillas se incubaron en cámara de germinación (CLIMAS modelo APG-GROW), a una temperatura de 30,0±0,1°C durante 16 horas de luz y 20,0±0,1°C durante 8 horas de oscuridad en el caso de *P. oleracea* y *C. canadensis*. Para *A. hybridus* se utilizó una temperatura constante de 27,0±0,1°C con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 de oscuridad. Las condiciones de incubación fueron seleccionadas en base a la bibliografía existente (Angelini *et al.*, 2003; Steckel *et al.*, 2004) y a ensayos preliminares (Verdeguer *et al.*, 2011).

Para evaluar la actividad herbicida de los aceites esenciales se hicieron lecturas de las placas a los 3, 5, 7, 10, 14 y 21 días de incubación. Se registró el número de semillas germinadas y se obtuvieron imágenes digitales de las plántulas crecidas, para posteriormente medir su longitud (coleoptilo incluyendo radícula), procesando las imágenes mediante el programa Image Tool. Cada vez que se leyeron las placas se sellaron de nuevo con parafilm, sin añadir agua ni aceites esenciales durante los ensayos.

**2.3. Tratamiento y análisis estadístico de datos.** Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI. Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) a los resultados obtenidos. El ANOVA se realizó utilizando el test de comparación múltiple de Fisher (intervalos LSD, Least Significant Difference) para la separación de medias, con un nivel de confianza del 95% ( $P \leq 0,05$ ). Las diferencias significativas entre los distintos tratamientos se han indicado con letras diferentes en la misma columna, en todas las tablas de resultados.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El aceite esencial de *S. montana*, mostró un gran efecto inhibitorio sobre la germinación de las tres arvenses ensayadas, reduciendo significativamente la germinación con respecto al control a todas las dosis empleadas (Tabla 1). Sobre las semillas de *P. oleracea* y *C. canadensis* no se observaron diferencias entre las distintas dosis, apareciendo una inhibición del 95,5% a la menor dosis ensayada en *C. canadensis* y una inhibición completa en el resto de concentraciones como en el caso de *P. oleracea*. *A. hybridus* sí que mostró diferencias entre concentraciones, reduciendo la germinación un 91% en la primera concentración (0,125 µl/ml), un 94% en la segunda (0,25 µl/ml), un 99% en la tercera (0,5 µl/ml), e inhibiendo totalmente la germinación en la concentración más alta (1 µl/ml).

**Tabla 1.** Germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis* tratadas con aceite esencial de *S. montana*

| Concentración<br>( $\mu\text{l/ml}$ ) | Germinación (%) $\pm$ e.s.* |                           |                          |
|---------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|--------------------------|
|                                       | <i>Amaranthus hybridus</i>  | <i>Portulaca oleracea</i> | <i>Conyza canadensis</i> |
| 0 (control)                           | 81,0 $\pm$ 3,7a**           | 83,0 $\pm$ 3,7a           | 89,0 $\pm$ 2,9a          |
| 0,125                                 | 7,0 $\pm$ 3,4b              | 0,0 $\pm$ 0,0b            | 4,0 $\pm$ 4,0b           |
| 0,250                                 | 5,0 $\pm$ 3,9bc             | 0,0 $\pm$ 0,0b            | 0,0 $\pm$ 0,0b           |
| 0,5                                   | 1,0 $\pm$ 1,0bc             | 0,0 $\pm$ 0,0b            | 0,0 $\pm$ 0,0b           |
| 1                                     | 0,0 $\pm$ 0,0c              | 0,0 $\pm$ 0,0b            | 0,0 $\pm$ 0,0b           |

\* e.s.: error estándar

\*\*Misma letra indica que no hay diferencias estadísticas entre valores de la misma columna

En cuanto a los efectos sobre el crecimiento de las plántulas, dado que el aceite esencial de *S. montana* inhibió completamente la germinación de *P. oleracea* a todas las concentraciones y la de *C. canadensis* a las tres concentraciones superiores ensayadas, únicamente se obtuvieron datos de longitud de las plántulas control y de la concentración de 0,125  $\mu\text{l/ml}$ , sobre esta última especie, observándose una reducción del crecimiento del 94,8% (Tabla 2). En *A. hybridus*, la longitud de las plántulas se redujo un 76,8, 67,3 y 98,5% al aplicar las concentraciones de 0,125, 0,25 y 0,5  $\mu\text{l/ml}$ , respectivamente, sin diferencias significativas entre ellas.

**Tabla 2.** Efecto del aceite esencial de *S. montana* sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*

| Concentración<br>( $\mu\text{l/ml}$ ) | Longitud (mm $\pm$ e.s.*)  |                           |                          |
|---------------------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|
|                                       | <i>Amaranthus hybridus</i> | <i>Portulaca oleracea</i> | <i>Conyza canadensis</i> |
| 0 (control)                           | 25,2 $\pm$ 0,99a**         | 8,1 $\pm$ 0,9             | 5,8 $\pm$ 0,41a          |
| 0,125                                 | 5,8 $\pm$ 3,23b            | -                         | 0,3 $\pm$ 0,06b          |
| 0,250                                 | 8,2 $\pm$ 5,22b            | -                         | -                        |
| 0,5                                   | 0,4 $\pm$ 0,37b            | -                         | -                        |
| 1                                     | -                          | -                         | -                        |

\* e.s.: error estándar

\*\*Misma letra indica que no hay diferencias estadísticas entre valores de la misma columna

El carvacrol, componente mayoritario del aceite esencial de *S. montana* se ha revelado como un compuesto con una elevada actividad fitotóxica. Diferentes estudios realizados con aceite esencial rico en carvacrol coinciden en su elevada actividad herbicida. Así, la esencia de esta misma especie, *S. montana*, recolectada en Italia y con un 56,8% de carvacrol, inhibió completamente la germinación de todas las arvenses estudiadas (*P. oleracea*, *Chenopodium album* L. y *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.) y cultivos (*Raphanus sativus* L., *Capsicum annuum* L. y *Lactuca sativa* L.) que se ensayaron (Angelini *et al.*, 2003). También el aceite esencial de *Origanum onites* L. y *O. vulgare* L. con 72 y 66% de carvacrol, respectivamente, tuvo una gran actividad herbicida, al inhibir completamente la germinación de todas las arvenses, *Amaranthus retroflexus* L., *P. oleracea*, *E. crus-galli* y *Setaria verticillata* (L.) P. Beauv., y en 2 de los 3 cultivos ensayados, *Oryza sativa* L. y *Solanum lycopersicum* L. mientras que no inhibió totalmente la de *Gossypium hirsutum* L., (Argyropoulos *et al.*, 2008).

En ambos ensayos se aplicó carvacrol puro a las concentraciones ensayadas obteniendo resultados similares o incluso más efectivos. Grosso *et al.* (2010) ensayaron el aceite esencial de *Coriandrum sativum* L., *S. montana* (con un 52.2% de carvacrol), *Santolina chamaecyparissus* L. y *Thymus vulgaris* L. comparando la dosis inhibitoria 50 ( $\mu$ l de aceite esencial por placa Petri que provoca la inhibición del 50% de las semillas) sobre cuatro cultivos (*Zea mays* L., *Triticum durum* L., *Pisum sativum* L. y *Lactuca sativa* L.) y dos arvenses (*P. oleracea* y *Vicia sativa* L.), presentando el aceite esencial de *S. montana* los valores menores de DE<sub>50</sub> de entre los aceites esenciales ensayados sobre todas las especies a excepción del trigo duro, donde fue el segundo. Por último, el aceite esencial de *Thymus capitatus* (L.) Hoffm. and Link (77,0% de carvacrol) y *O. vulgare* (29,2%) se ensayó sobre *P. oleracea* y *C. canadensis*, siendo la actividad fitotóxica proporcional a la cantidad de carvacrol (Verdeguer, 2011).

De acuerdo con los resultados obtenidos y la bibliografía consultada, los aceites esenciales con un gran contenido en carvacrol muestran un gran potencial fitotóxico. Sin embargo, no son selectivos frente a las especies que actúan, lo que podría producir efectos no deseados sobre especies de interés.

#### 4. REFERENCIAS

- Anaya AL (1999). Allelopathy as a tool in the management of biotic resources in agroecosystems. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18: 697-739.
- Angelini LG, Carpanese G, Cioni PL, Morelli I, Macchia M and Flamini G (2003). Essential oils from Mediterranean *Lamiaceae* as weed germination inhibitors. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 51: 6158-6164.
- Argyropoulos EI, Eleftherohorinos IG and Vokou D (2008). In vitro evaluation of essential oils from Mediterranean aromatic plants of the Lamiaceae for weed control in tomato and cotton crops. *Allelopathy Journal* 22: 69-78.
- Dudai N, Poljakoff-Mayber A, Mayer AM, Putievsky E and Lerner HR (1999). Essential oils as allelochemicals and their potential use as bioherbicides. *Journal of Chemical Ecology* 25: 1079-1089.
- Duke SO, Baerson SR, Dayan FE, Rimando AM, Scheffler BE, Tellez MR, Wedge DE, Schrader KK, Akey DH, Arthur FH, De Luca AJ, Gibson DM, Harrison HF Jr., Peterson JK, Gealy DR, Tworowski T, Wilson CL and Morris JB (2003). United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service: research on natural products for pest management. *Pest Management Science* 59: 708-717.
- Grosso C, Coelho, JA, Urieta JS, Palavra AMF and Barroso JG (2010). Herbicidal activity of volatiles from Coriander, Winter Savory, Cotton Lavender, and Thyme isolated by hydrodistillation and supercritical fluid extraction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 11007-11013.
- Singh HP, Batish DR and Kohli RK (2003). Allelopathic interactions and allelochemicals: new possibilities for sustainable weed management. *Critical Reviews in Plant Sciences* 22: 239-311.
- Steckel LE, Sprague CL, Stoller EW and Wax LM (2004). Temperature effects on germination of nine *Amaranthus* species. *Weed Science* 52: 217-221.
- Verdeguer M (2011). Fitotoxicidad de aceites esenciales y extractos acuosos de plantas mediterráneas para el control de arvenses. Tesis doctoral.

Summary: *Herbicidal activity of *Satureja montana* L. essential oil*

The herbicidal activity of *S. montana* essential oil was tested in vitro against germination and seedling grow of three weeds: *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. and *Conyza canadensis* (L.) Cronq. with the aim of determining their potential use a natural herbicide. The essential oil was very active against all weeds, completely inhibiting their germination in *P. oleracea* at all the concentrations assayed and reducing by more than 90% *A. hybridus* and *C. canadensis* germination. Against germinated seedlings of *A. hybridus*, the essential oil reduced growth from 67,3% (concentration of 0,25  $\mu$ l/ml) to 98,5% (0,5  $\mu$ l/ml), while in the only essential oil concentration in which there was germination of *C. canadensis* (0,125  $\mu$ l/ml), the growth was inhibited by 94,8%.

Keywords: essential oil, *Satureja montana* L., herbicidal activity, weeds



## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Composición y actividad herbicida *in vitro* del aceite esencial de la raíz de *Artemisia absinthium* L.**

J. A. Llorens\*<sup>a</sup>, S. García-Plasencia\*, D. García-Rellán\*, M. Verdeguer\*, H. Boira\*  
 \*Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n 46022-Valencia, <sup>a</sup>juallom2@qim.upv.es

*Resumen:* Se determinó la composición del aceite esencial obtenido de las raíces de *Artemisia absinthium* L., analizándolo mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas, y su potencial herbicida fue estudiado sobre las arvenses *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. y *Conyza canadensis* (L.) Cronquist, realizándose ensayos de inhibición de la germinación *in vitro*. Se identificaron 24 compuestos que representaron el 93,54% del aceite esencial. El compuesto mayoritario fue el acetato de bornilo (22,29%), seguido del  $\beta$ -mirceno (17,7%). El aceite esencial inhibió completamente la germinación de *A. hybridus* al ser aplicado a las 3 dosis superiores (0,25, 0,5 y 1  $\mu$ l/ml), y un 98% a la dosis menor (0,125  $\mu$ l/ml) sin diferencias significativas entre ellas. Sobre *C. canadensis* redujo la germinación a todas las concentraciones ensayadas, siendo la inhibición máxima del 94,8%. Sin embargo, no se observó ningún efecto del aceite esencial sobre la germinación de *P. oleracea*.

*Palabras clave:* herbicidas naturales, aceite esencial, *Artemisia absinthium*, GC-EM, germinación, crecimiento, *Portulaca oleracea*, *Conyza canadensis*, *Amaranthus hybridus*.

## 1. INTRODUCCIÓN

El efecto alelopático de diversas especies del género *Artemisia* ha sido objeto de diferentes investigaciones relacionadas con la aplicación de extractos, generalmente acuosos, de sus partes aéreas (Bong-Seop & Kyeong, 1992; Lydon *et al.*, 1997; Bara *et al.*, 1999; Cruz *et al.*, 2002; Deef & Abd El-Fattah, 2008). En el caso concreto de *Artemisia absinthium*, la presencia de compuestos con actividad alelopática tales como ciertas cumarinas, viene ya descrita por Zhukov & Timofeev (1987). La cubierta con restos vegetales de *A. absinthium* mostró efectos inhibitorios sobre la germinación *in vitro* de *Sonchus oleraceus* y *Amaranthus retroflexus* (Bara *et al.* 1999), así como sus extractos acuosos en forma de infusión sobre *Bidens pilosa* (Cruz *et al.*, 2002). También han sido aislados y caracterizados compuestos volátiles con efectos alelopáticos en *Artemisia vulgaris* (Barney *et al.*, 2005). El extracto acuoso en forma de decocción de la raíz de *A. absinthium* ha mostrado efecto inhibitorio sobre la germinación *in vitro* de *Poa annua* L. (Gómez de Barreda *et al.*, 2009). No existen, sin embargo, datos acerca del potencial alelopático del aceite esencial de la raíz de *A. absinthium*. Su composición ha sido también escasamente estudiada (Kennedy *et al.*, 1993; Nin *et al.*, 1997; Blagojevic *et al.*, 2006). A diferencia de los dos primeros trabajos citados, este último proporciona una caracterización detallada de su composición química, abundante en hidrocarburos monoterpénicos (35,6%, siendo el  $\alpha$ -fencheno el mayoritario) y con una presencia particularmente importante de ésteres monoterpénicos (63,5%, destacando principalmente los derivados del linalool).

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

*2.1. Material vegetal.* Con objeto de obtener semillas para la realización de ensayos, se recogieron plantas en estado de fructificación de las especies *Amaranthus hybridus* L.,

*Portulaca oleracea* L. y *Conyza canadensis* (L.) Cronquist de campos de la provincia de Valencia en los años 2008 (*P. oleracea*) y 2011 (*A. hybridus* y *C. canadensis*).

En agosto de 2012 se recolectaron plantas de *Artemisia absinthium* L. de una población natural localizada en Calamocha (Teruel). Las raíces fueron separadas y conservadas en congelador a -40°C para la posterior obtención de su aceite esencial.

**2.2. Obtención del aceite esencial.** Las raíces de *A. absinthium* fueron cuidadosamente lavadas con agua fría y cortadas en trozos de 0,5-1 cm. La hidrodestilación se llevó a cabo durante 3 h en un equipo Clevenger utilizando una proporción de 10 g de material/100 ml agua destilada. El aceite esencial extraído fue deshidratado con sulfato de sodio anhidro y almacenado a -18°C hasta su análisis por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM).

**2.3. Análisis cromatográfico.** El aceite esencial obtenido fue analizado por CG-EM para su identificación y mediante CG para su cuantificación. Para ello se partió de una disolución de 10 µl de aceite esencial en 1 ml de diclorometano. El análisis CG-EM fue llevado a cabo mediante un equipo Clarus 500 GC (Perkin-Elmer Inc.) equipado con una columna capilar ZB-5 (método de impacto electrónico a 70 eV). Los cromatogramas TIC y los espectros de masas fueron procesados mediante el *software* Turbomass 5.4 (Perkin-Elmer Inc.). La identificación se llevó a cabo mediante el cálculo de los índices de retención de Kovats relativos a la serie de C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub> n-alcenos junto con la comparación automatizada de los espectros de masas con los disponibles en la librería NIST MS 2.0, mediante el programa AMDIS. La cuantificación de la muestra fue determinada por CG mediante el método de normalización de las áreas de los picos, sin aplicar factores de respuesta. Se utilizó un equipo análogo al empleado en CG-EM, con el mismo tipo de columna e idénticas condiciones de operación. Asimismo, se determinaron los índices de retención de Kovats relativos a la serie de C<sub>8</sub>-C<sub>30</sub> n-alcenos, para la identificación de los compuestos mediante su comparación con los obtenidos mediante CG-EM.

**2.4. Evaluación del potencial de inhibición de la germinación.** Para llevar a cabo los ensayos de inhibición de la germinación se sembraron 20 semillas de cada especie arvense (*A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis*) en placas Petri de 9 cm de diámetro. Como sustrato se utilizaron dos discos de papel de filtro de 9 cm de diámetro y 50 g/m<sup>2</sup> de espesor, y otros dos discos de papel cubrieron las semillas, siendo impregnadas todas las placas con 4 ml de agua destilada (control), y volúmenes de 0,5, 1, 2 y 4 µl del aceite esencial, obteniéndose concentraciones de 0,125, 0,25, 0,5 y 1 µl/ml respectivamente. Las placas fueron selladas con Parafilm. Se realizaron 5 repeticiones (100 semillas) para cada una de las concentraciones, por cada especie arvense. Las placas con semillas se incubaron en cámara de germinación (CLIMAS modelo APG-GROW), a una temperatura de 30.0±0.1°C durante 16 horas de luz y 20.0±0.1°C durante 8 horas de oscuridad. Para evaluar la actividad herbicida del aceite esencial se tomaron lecturas de las placas a los 3, 5, 7, 10 y 14 días de incubación, registrándose el número de semillas germinadas.

**2.5. Tratamiento estadístico.** Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI. Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) a los resultados obtenidos, verificando previamente la homocedasticidad de los datos mediante los test de Cochran, Bartlett y Levene. El ANOVA se realizó utilizando el test de comparación múltiple de Fisher (intervalos LSD, Least Significant Difference) para la separación de medias, con un nivel de confianza del 95% (P≤0,05). Los porcentajes de germinación fueron transformados

antes de proceder a realizar el ANOVA mediante la fórmula  $y = \arccos \sqrt{x}$ , donde x era el porcentaje de germinación en tanto por uno, para satisfacer los requerimientos de homocedasticidad.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. *Composición del aceite esencial.* La población de *A. absinthium* de la que procede el material vegetal utilizado en este trabajo ha sido previamente estudiada, tanto la composición del aceite esencial de las partes aéreas como el de la raíz (Llorens-Molina *et al.*, 2012). Pese a la elevada variabilidad individual observada, los resultados muestran globalmente una composición similar a la descrita por Blagojevic *et al.* (2006), aunque con una mayor proporción de hidrocarburos monoterpénicos (50,37%) y menor de ésteres monoterpénicos (39,10%). Entre los primeros son mayoritarios  $\beta$ -mirceno (20,5%) y  $\alpha$ -fencheno (18,8%); entre los segundos, acetato de bornilo (22,9%) y acetato de terpinilo (6,6%). La composición del aceite esencial utilizado en los ensayos de potencial herbicida viene descrita en la Tabla 1.

En cuanto al rendimiento del aceite esencial obtenido (expresado en % de V (ml) de aceite esencial respecto a m (g) de material vegetal), se determinó por triplicado al ser obtenido para los ensayos de germinación. El valor medio fue de  $0,19 \pm 0,03\%$ .

Tabla 1. Composición del aceite esencial de *Artemisia absinthium* ensayado *in vitro* frente a la germinación de arvenses.

| Compuestos                                  | IK   | Área (%)     |
|---|------|--------------|
| <b>HIDROCARBUROS MONOTERPÉNICOS</b>         |      | <b>30,95</b> |
| $\alpha$ -Pinoeno                           | 939  | 1,16         |
| $\alpha$ -Fencheno                          | 952  | 9,98         |
| $\beta$ -Pinoeno                            | 979  | 1,37         |
| $\beta$ -Mirceno                            | 991  | 17,7         |
| Limoneno                                    | 1029 | 0,74         |
| <b>MONOTERPENOS OXIGENADOS (NO ESTERES)</b> |      | <b>6,59</b>  |
| Alcanfor                                    | 1145 | 0,56         |
| Borneol                                     | 1173 | 3,15         |
| Grandisol                                   | 1219 | 2,4          |
| Carvacrol                                   | 1303 | 0,48         |
| <b>ÉSTERES MONOTERPÉNICOS</b>               |      | <b>55,36</b> |
| Acetato de cis-crisantenilo                 | 1264 | 1,3          |
| Acetato de bornilo                          | 1288 | 22,29        |
| Acetato de trans-pinocarveol                | 1315 | 0,87         |

| Compuestos                     | IK   | Área (%)      |
|--------------------------------|------|---------------|
| Acetato de hidrocarveoliso     | 1332 | 1,24          |
| Acetato de $\alpha$ -terpineol | 1347 | 12,42         |
| Acetato de nerilo              | 1367 | 1,25          |
| Isobutanoato de linalilo       | 1371 | 3,3           |
| Acetato de geranilo            | 1375 | 2,5           |
| Isobutanoato de nerilo         | 1491 | 1,82          |
| Isobutanoato de geranilo       | 1515 | 0,52          |
| Isovalerato de nerilo          | 1535 | 3,68          |
| Butanoato de geranilo          | 1569 | 2,3           |
| Isovalerato de geranilo        | 1582 | 1,34          |
| 2-Metilbutanoato de geranilo   | 1595 | 0,53          |
| Isovalerato de nerilo          | 1535 | 3,68          |
| Butanoato de geranilo          | 1569 | 2,3           |
| Isovalerato de geranilo        | 1582 | 1,34          |
| 2-Metilbutanoato de geranilo   | 1595 | 0,53          |
| <b>SESQUITERPENOS</b>          |      | <b>0,64</b>   |
| $\beta$ -Cariofileno           | 1419 | 0,64          |
| <b>TOTAL IDENTIFICADO</b>      |      | <b>93,54%</b> |

Compuestos principales (Área > 0,5%), por grupos fitoquímicos y en orden de elución.

IK= índice de Kovats relativo a  $C_8-C_{32}$  *n*-alcanos.

3.2. *Potencial herbicida del aceite esencial.* De las especies ensayadas, *A. hybridus* se mostró como la más sensible a los efectos del aceite esencial de *A. absinthium* (Tabla 2), ya que su germinación fue completamente inhibida al aplicar el aceite a las 3 concentraciones superiores y se redujo un 98% a la dosis menor, sin diferencias significativas entre ellas. Sobre *C. canadensis*, todas las dosis aplicadas disminuyeron la germinación, pero la inhibición máxima (94.8%) se logró al aplicar la concentración mayor. Sin embargo, el aceite esencial no produjo ningún efecto sobre la germinación de *P. oleracea* (Tabla 2).

Tabla 2. Actividad del aceite esencial de *Artemisia absinthium* sobre la germinación de semillas de *Portulaca oleracea*, *Conyza canadensis* y *Amaranthus hybridus*.

| Concentración<br>( $\mu$ l/ml) | Germinación (%) $\pm$ e.s. |                          |                            |
|--------------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|
|                                | <i>Portulaca oleracea</i>  | <i>Conyza canadensis</i> | <i>Amaranthus hybridus</i> |
| 0 (control)                    | 65,0 $\pm$ 3,5 a           | 96,0 $\pm$ 1,9 a         | 98,0 $\pm$ 2,0 a           |
| 0,125                          | 69,0 $\pm$ 4,8 a           | 61,0 $\pm$ 13,4 b        | 2,0 $\pm$ 1,2 b            |
| 0,250                          | 65,0 $\pm$ 2,0 a           | 16,0 $\pm$ 9,1 c         | 0,0 $\pm$ 0,0 b            |
| 0,5                            | 63,0 $\pm$ 4,6 a           | 21,0 $\pm$ 13,1 c        | 0,0 $\pm$ 0,0 b            |
| 1                              | 67,0 $\pm$ 2,5 a           | 5,0 $\pm$ 5,0 c          | 0,0 $\pm$ 0,0 b            |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas para el test de comparación múltiple de Fisher, intervalos LSD, con un nivel de confianza del 95% ( $P \leq 0,05$ ).

#### 4. REFERENCIAS

- Bara S, Zaragoza C and Valderrábano J (1999). Efecto alelopático y antihelmíntico de *Artemisia absinthium*. Congreso 1999 de la Sociedad Española de Malherbología: actas, pp. 233-240. Gobierno de La Rioja, Logroño.
- Barney JN, Hay AG and Weston LA (2005). Isolation and characterization of allelopathic volatiles from mugwort (*Artemisia vulgaris*). *Journal of Chemical Ecology*, 31(2), 247-265.
- Blagojevic P, Radulovic N, Palic R and Stojanovic G (2006). Chemical composition of the essential oils of serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 4780-4789.
- Bong-Seop Kil & Kyeong Won Yun (1992). Allelopathic effects of water extracts of *Artemisia princeps* var. *orientalis* on selected plant species. *Journal of Chemical Ecology*, 18, 39-51.
- Cruz MES, Schwan-Estrada KRF, Nozaki MH, Batista MA and Stangarlin JR (2002). Efeito alelopático de *Cymbopogon citrates* e *Artemisia absinthium* sobre sementes de *Bidens pilosa*. *Acta Horticulturae*, 569, 229-234.
- Deef HE & Abd El-Fattah RI (2008). Allelopathic effects of water extract of *Artemisia Princeps* var. *orientalis* on wheat under two type of soils. *Academic Journal of Plant Sciences*, 1, 12-17.
- Gómez de Barreda D, Sáez T, Llorens JA and Castell V (2009). Uso de un extracto acuoso de raíz de ajeno (*Artemisia absinthium*) para el control de *Poa annua* en césped. En: *Herbología e Biodiversidade Numa agricultura sustentável*. Ed: ISA Press. I: 325-328.
- Kennedy AI, Deans SG, Svoboda, KP, Gray AI and Waterman PG (1993). Volatile oils from normal and transformed root of *Artemisia absinthium*. *Phytochemistry*, 32, 1449-1451.
- Llorens-Molina JA, Vacas S, García-Rellán D and Boira H (2012). Seasonal variations in essential oil composition of roots and plants of *Artemisia absinthium* L. in a population from Teruel (Spain). *International Symposium on Essential Oils*, p. 108. Centro de Biotecnología Vegetal-Fundação da Faculdade de Ciências de Lisboa.

- Lydon J, Teasdale JR and Chen PK (1997). Allelopathic activity of annual wormwood (*Artemisia annua*) and the role of artemisine. *Weed Science*, 45, 807-811.
- Nin S, Bennici A, Roselli G, Mariotti D, Schiff S and Magherini R (1997). *Agrobacterium*-mediated transformation of *Artemisia absinthium* L. (wormwood) and production of secondary metabolites. *Plant Cell Reports*, 16, 725-730.
- Zhukov GA & Timofeev VV (1987) A study of the chemical composition of a wormwood infusion. *Chemistry of Natural Compounds*, 23, 371-372.

Summary: Composition and in vitro herbicidal activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* L. root.

The composition of the essential oil obtained from roots of *Artemisia absinthium* L. was determined by GC and GC/MS and the herbicidal potential was tested in vitro against *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. and *Conyza canadensis* (L.) Cronquist. Twenty-four compounds were identified accounting for 93.54% of the essential oil. The main compound was bornyl acetate (22.29%), followed by  $\beta$ -myrcene (17.7%). The essential oil completely inhibited *A. hybridus* germination when applied at the 3 higher doses (0.25, 0.5 and 1  $\mu$ l/ml), and 98% at the lower dose (0.125  $\mu$ l/ml), without significant differences between them. Towards *C. canadensis*, it reduced the germination at all concentrations tested, being maximum inhibition 94.8% at the highest concentration. However, the essential oil showed no effect on *P. oleracea* germination.

Keywords: natural herbicides, essential oil, *Artemisia absinthium*, GC/MS, germination, growth, *Portulaca oleracea*, *Conyza canadensis*, *Amaranthus hybridus*.



## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Potencial herbicida del extracto acuoso de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link**

M. Verdeguer\*<sup>a</sup>, L. Mascarell\*, D. García-Rellán\*, A. Salamone\*\*, S. Agnello\*\*, H. Boira\*

\*Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n 46022-Valencia, <sup>a</sup>merversa@doctor.upv.es

\*\*CRA-Unità di ricerca per il recupero e la valorizzazione delle specie floricole mediterranee, S.S. 113-Km 245.500 90011-Bagheria (Palermo), Italia

*Resumen:* El potencial herbicida de los extractos acuosos de hojas de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link se probó in vitro sobre la germinación y el crecimiento de plántulas de las arvenses *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. y *Conyza canadensis* (L.) Cronq para su posible desarrollo como herbicida natural. El extracto acuoso mostró el mayor potencial herbicida sobre *C. canadensis*, inhibiendo su germinación a las dos concentraciones superiores, mientras que solamente la concentración del 100% redujo el crecimiento de las plántulas, estimulando el resto de concentraciones el desarrollo de las mismas. En *A. hybridus* únicamente la dosis mayor redujo su germinación y crecimiento, mientras que el resto de concentraciones incrementó el crecimiento de las plántulas, al igual que en *C. canadensis*. El extracto no mostró efectos significativos sobre la germinación de *P. oleracea*, pero aumentó el crecimiento de sus plántulas.

*Palabras clave:* herbicidas naturales, extracto acuoso, inhibición, germinación, crecimiento, arvenses, *Thymus capitatus*, *Portulaca oleracea*, *Conyza canadensis*, *Amaranthus hybridus*

## 1. INTRODUCCIÓN

*Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link es una especie aromática mediterránea que crece entre el nivel del mar y diferentes altitudes, dependiendo de las regiones, llegando a los 1400 m en Turquía y a los 2000 m en Creta (Morales, 1987). En el Sur de Italia se encuentra ampliamente distribuida, principalmente entre los 0 y los 600 m sobre el nivel del mar (Miceli *et al.*, 2006). Se halla típicamente en las garrigas, laderas secas, maquias abiertas y bosques de pino mediterráneo, encontrándose sobre todo tipo de sustratos, con preferencia sobre rocas calcáreas, suelos esqueléticos, arenas y dunas litorales o roquedos con influencia marina (Morales, 1987; Pignatti, 1982).

Existen algunos trabajos sobre el potencial alelopático de *T. capitatus*. En Israel se observó que diversas anuales que crecían alrededor de formaciones de *T. capitatus* eran suprimidas, entre ellas *Plantago psyllium* L. y *Erucaria hispanica* (L.) Druce. Estos efectos se verificaron en laboratorio, al comprobar que la germinación de ambas especies fue inhibida por compuestos volátiles procedentes de brotes de *T. capitatus*, así como por sus extractos acuosos y aceites esenciales (Katz *et al.*, 1987). Otros estudios también demostraron los efectos alelopáticos de los aceites esenciales de *T. capitatus* sobre *Raphanus sativus* L. y *Lepidium sativum* L. (Hemada & El-Darier, 2011) y sobre *C. canadensis* y *P. oleracea* (Verdeguer, 2011).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el potencial herbicida del extracto acuoso de *T. capitatus* procedente de una población natural de la provincia de Agrigento (Sicilia, Italia)

sobre las arvenses *Amaranthus hybridus*, *Conyza canadensis* y *Portulaca oleracea* para su posible desarrollo como herbicida natural.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. *Material vegetal.* Con objeto de obtener semillas para la realización de ensayos, se recogieron plantas en estado de fructificación de las especies *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L. y *Conyza canadensis* (L.) Cronq. Concretamente, *A. hybridus* fue recogida en Puçol (Valencia, España) el 10 de noviembre de 2011; *P. oleracea* en Sinarcas (Valencia, España) el 10 de octubre de 2007 y *C. canadensis* también en Sinarcas el 2 de noviembre de 2011. Durante 15 días las plantas se secaron en laboratorio, a temperatura ambiente. Posteriormente se extrajeron las semillas, que fueron seleccionadas, eliminando las que tuvieron un tamaño, color, forma o estado de maduración anómalo.

Para la obtención de extractos acuosos se recogieron partes aéreas de *Thymus capitatus* (L.) Hoffmanns. et Link de una población natural de la provincia de Agrigento (Sicilia, Italia) en abril de 2012.

2.2. *Obtención de extractos acuosos.* Los extractos acuosos se obtuvieron de forma inmediata a partir de planta fresca, siguiendo el método descrito por Pérez *et al.* (2002). Se maceraron cada 20 g de partes aéreas de *T. capitatus* con 200 ml de agua destilada introduciéndose en un baño a 80°C durante 15 minutos. A continuación se filtró la solución acuosa obtenida, extrayéndose de nuevo el marco con 100 ml de agua destilada en baño maría a 80°C durante otros 15 minutos. Se volvió a filtrar y se reunieron los filtrados obtenidos. El extracto obtenido se consideró la concentración básica (100%). Se conservaron los extractos en congelador a -40°C hasta el momento de su aplicación en los ensayos. Para la preparación de las concentraciones de ensayo, se diluyó con agua destilada el extracto original (100%), obteniéndose las concentraciones del 50, 30 y 10%.

2.3. *Evaluación del potencial de inhibición de la germinación y el crecimiento.* Se sembraron 20 semillas de cada especie arvense (*A. hybridus*, *P. oleracea* o *C. canadensis*) en placas Petri de 9 cm de diámetro. Como sustrato se utilizaron dos discos de papel de filtro de 9 cm de diámetro y 50 g/m<sup>2</sup> de espesor, y otros dos cubrieron las semillas, siendo impregnados con 4 ml de agua destilada (control) o de la solución correspondiente (10, 30, 50 y 100%) de los extractos acuosos de *T. capitatus*. Las placas se sellaron con Parafilm. Se realizaron 5 repeticiones (100 semillas) por cada concentración de los diferentes extractos, para cada una de las 3 especies arvenses.

Para evaluar la actividad herbicida de los extractos acuosos, se hicieron lecturas de las placas, a los 3 (sólo en *A. hybridus* y *P. oleracea*, al iniciar la germinación antes que las demás especies arvenses), 5, 7, 10 y 14 días de incubación. Se registró el número de semillas germinadas y se obtuvieron imágenes digitales de las plántulas crecidas, para posteriormente medir su longitud (coleoptilo más radícula), procesando las imágenes mediante el programa Image Tool. Cada vez que se leyeron las placas se sellaron de nuevo con Parafilm, no añadiéndose agua, soluciones de los extractos acuosos ni aceites esenciales o compuestos patrón durante los ensayos.

2.4. *Tratamiento y análisis estadístico de datos.* Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.1. Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) a los resultados obtenidos, verificando previamente la homocedasticidad de los datos mediante los

test de Cochran, Bartlett y Levene. Para la separación de medias se usó el test de comparación múltiple de Fisher, intervalos LSD, con un nivel de confianza del 95% ( $P \leq 0,05$ ).

Los porcentajes de germinación fueron transformados antes de proceder a realizar el ANOVA mediante la fórmula  $y = \arcsen \sqrt{x}$ , donde  $x$  era el porcentaje de germinación en tanto por uno, para satisfacer los requerimientos de homocedasticidad. En algunos casos fue necesario transformar los datos de longitud de plántulas a  $y = \log(x+1)$ , para cumplir con este requisito.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ninguna concentración del extracto acuoso mostró efectos inhibitorios sobre la germinación de *P. oleracea* (Tabla 1), observándose efectos estimulatorios de los extractos sobre el crecimiento de sus plántulas (Tabla 2). Solamente la concentración del 100% controló la germinación y el crecimiento de *A. hybridus*, reduciéndolos respectivamente un 29,6 y un 16,9% (Tablas 1 y 2), mientras que las restantes concentraciones no mostraron efectos sobre la germinación pero estimularon el crecimiento de las plántulas de *A. hybridus*. Sobre *C. canadensis* el extracto mostró un mayor potencial herbicida, inhibiendo su germinación a las concentraciones del 50 y 100% en un 33,7 y 91,8% (Tabla 1). Solamente el extracto a la dosis del 100% redujo el crecimiento de las plántulas en un 67,6%, mientras que el resto de concentraciones estimularon el desarrollo de las mismas (Tabla 2).

**Tabla 1.** Efecto del extracto acuoso de *Thymus capitatus* sobre la germinación de semillas de *Amaranthus hybridus*, *Portulaca oleracea* y *Conyza canadensis* a los 14 días de incubación.

| Concentración (%) | Germinación (% $\pm$ e.s.) |                           |                          |
|-------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|
|                   | <i>Amaranthus hybridus</i> | <i>Portulaca oleracea</i> | <i>Conyza canadensis</i> |
| 0 (control)       | 96,0 $\pm$ 1,9 a           | 77,0 $\pm$ 9,0 a          | 84,0 $\pm$ 7,8 a         |
| 10                | 93,0 $\pm$ 3,7 a           | 80,0 $\pm$ 3,2 a          | 70,0 $\pm$ 14,1 ab       |
| 30                | 96,0 $\pm$ 1,9 a           | 77,0 $\pm$ 5,4 a          | 84,0 $\pm$ 6,2 a         |
| 50                | 99,0 $\pm$ 1,0 a           | 79,4 $\pm$ 7,3 a          | 55,7 $\pm$ 4,8 b         |
| 100               | 67,6 $\pm$ 5,1 b           | 85,3 $\pm$ 4,1 a          | 6,9 $\pm$ 3,0 c          |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas para el test de comparación múltiple de Fisher, intervalos LSD, con un nivel de confianza del 95% ( $P \leq 0,05$ ).

**Tabla 2.** Efecto del extracto acuoso de *Thymus capitatus* sobre el crecimiento de plántulas de *Amaranthus hybridus*, *Portulaca oleracea* y *Conyza canadensis* a los 14 días de incubación.

| Concentración (%) | Longitud (mm $\pm$ e.s.)   |                           |                          |
|-------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|
|                   | <i>Amaranthus hybridus</i> | <i>Portulaca oleracea</i> | <i>Conyza canadensis</i> |
| 0 (control)       | 29,20 $\pm$ 0,82 c         | 9,19 $\pm$ 0,79 e         | 4,50 $\pm$ 0,28 b        |
| 10                | 32,42 $\pm$ 0,79 b         | 14,76 $\pm$ 1,23 c        | 6,67 $\pm$ 0,55 a        |
| 30                | 39,59 $\pm$ 0,82 a         | 23,13 $\pm$ 0,79 a        | 6,47 $\pm$ 0,33 a        |
| 50                | 39,99 $\pm$ 1,46 a         | 18,44 $\pm$ 0,62 b        | 5,62 $\pm$ 0,38 ab       |
| 100               | 24,26 $\pm$ 1,27 d         | 12,02 $\pm$ 0,99 d        | 1,46 $\pm$ 0,83 c        |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas para el test de comparación múltiple de Fisher, intervalos LSD, con un nivel de confianza del 95% ( $P \leq 0,05$ ).

En ensayos anteriores con los extractos acuosos de *Lantana camara* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh., *Eriosephalus africanus* L., *Cistus ladanifer* L. y *Artemisia gallica* Willd. para el control de las arvenses *A. hybridus*, *P. oleracea* y *C. canadensis* (Verdeguer,

2011) se concluyó que la actividad de los extractos acuosos ensayados dependía de su composición, de la especie sobre la que actuaban y de las dosis empleadas. Así mismo se verificó que de estas tres especies, *C. canadensis* era la más sensible a los extractos acuosos empleados y *P. oleracea* la más resistente, mientras que *A. hybridus* mostraba un comportamiento selectivo. Los resultados obtenidos confirman estas conclusiones. *P. oleracea* se comportó de nuevo como una especie resistente frente a la aplicación del extracto acuoso, llegando a incrementar su crecimiento en presencia del mismo. Los extractos acuosos de *A. gallica* estimularon el crecimiento de *P. oleracea* aplicados a las mismas concentraciones que el extracto de *T. capitatus* (Verdeguer, 2011). Estos resultados podrían deberse a que los aleloquímicos contenidos en estos extractos tuvieran un efecto estimulatorio en vez de inhibitorio sobre esta especie. Los aleloquímicos que estimulan la germinación y el crecimiento de otras plantas constituyen una importante área de estudio (Rice, 1986). Los efectos alelopáticos estimulatorios se pueden emplear para el desarrollo de promotores del crecimiento naturales (Oudhia *et al.*, 1998). El hecho de que el extracto de *T. capitatus* pueda estimular el crecimiento de *C. canadensis* y *A. hybridus* a bajas concentraciones e inhibirlo a altas puede explicarse también en base a que en diferentes estudios se ha observado que aleloquímicos que inhibían el crecimiento de especies a ciertas concentraciones, pueden estimularlo a concentraciones menores (Narwal, 1994).

En base a los resultados obtenidos, el extracto acuoso de *T. capitatus* a la concentración del 100% controla la germinación y el crecimiento de *C. canadensis*, por lo que podría utilizarse como herbicida natural selectivo sobre esta especie. Serían necesarios estudios sobre otras especies y en condiciones de campo para obtener mayores conclusiones sobre el potencial herbicida de este extracto.

#### 4. REFERENCIAS

- Hemada M & El-Darier S (2011). Comparative study on composition and biological activity of essential oils of two *Thymus* species grown in Egypt. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 11, 647-654.
- Katz DA, Sneh B and Friedman J (1987). The allelopathic potential of *Coridothymus capitatus* L. (Labiatae). Preliminary studies on the roles of the shrub in the inhibition of annuals germination and/or to promote allelopathically active actino-mycetes. *Plant and Soil*, 98, 53-66.
- Miceli A, Negro C and Tommasi L (2006). Essential oil variability in *Thymbra capitata* (L.) Cav. growing wild in Southern Apulia (Italy). *Biochemical Systematics and Ecology*, 34, 528-535.
- Morales R (1987). The genus *Thymbra* L. (Labiatae). *Anales Jardín Botánico Madrid*, 44, 349-380.
- Narwal SS (1994). *Allelopathy in crop production*. Scientific Publishers, Jodhpur, India.
- Oudhia P, Kolhe SS, Tripathi RS (1998). Allelopathic effect of *Blumea lacera* L. on rice and common Kharif weeds. *Oryza*, 35, 175-177.
- Pérez JG, Torres S, Puente M and Aguilar R (2002). Efecto alelopático del extracto acuoso de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) sobre ocho cultivos económicos. Documento online. <http://www.ucf.edu.cu/URBES/CD/ALELOPATIA%20DEL%20TABACO.htm>
- Pignatti S (1982). Flora d'Italia, vol. II. Edagricole, Bologna, Italy.
- Verdeguer M (2011). Fitotoxicidad de aceites esenciales y extractos acuosos de plantas mediterráneas para el control de arvenses. Tesis doctoral. Universitat Politècnica de València.

Rice EL (1986). *The Science of Allelopathy*. Wiley, New York.

Summary: *Herbicide potential of aqueous extract from Thymus capitatus (L.) Hoffmanns. et Link. The herbicide potential of aqueous extracts from leaves of Thymus capitatus (L.) Hoffmanns. et Link was tested in vitro on germination and seedling growth against Amaranthus hybridus L., Portulaca oleracea L. and Conyza canadensis (L.) Cronq. in order to determine its possible development as a natural herbicide. The aqueous extract showed the greatest herbicidal potential towards C. canadensis, inhibiting its germination at 50 and 100% concentrations. Only the highest dose reduced C. canadensis seedling growth, while the other concentrations stimulated it. In A. hybridus only the highest dose reduced germination and growth, whereas the remaining concentrations increased the seedling growth, as well as in C. canadensis. The extract showed no significant effect on the germination of P. oleracea, but increased the growth of their seedlings.*

Keywords: natural herbicides, aqueous extract, inhibition, germination, growth, *Thymus capitatus*, *Portulaca oleracea*, *Conyza canadensis*, *Amaranthus hybridus*.



## XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Estudio de la toxicidad de un extracto vegetal con acción herbicida mediante una batería de ensayos.**M. A. Castillo <sup>\*a</sup>, C. Sabater <sup>\*</sup>, M. J. Ibáñez<sup>\*</sup>, D. Gómez de Barreda Ferraz<sup>\*\*</sup><sup>\*</sup>Departamento de Biotecnología, <sup>\*\*</sup> Departamento de Producción Vegetal, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n 46022-Valencia <sup>a</sup> [mcastill@btc.upv.es](mailto:mcastill@btc.upv.es)

*Resumen:* En el presente trabajo se ha evaluado la toxicidad de un extracto acuoso procedente de la planta *Artemisia absinthium* (ajenjo) con actividad herbicida, mediante una batería de bioensayos: ensayo de inhibición del crecimiento del alga unicelular *Pseudokirchneriella subcapitata*, ensayo de mortalidad del microcrustáceo *Artemia salina* y ensayo de comportamiento de evasión-repulsión con la lombriz de tierra *Eisenia fetida*. Los resultados indican que el extracto herbicida muestra diferente grado de toxicidad para los tres organismos ensayados: es tóxico para *A. salina* con un valor de LID (dilución mínima sin efecto) mayor de 16. Por el contrario presenta baja toxicidad frente a las algas (LID=4) y con respecto a las lombrices, éstas no evitan el suelo contaminado con el extracto herbicida, lo que indica que el extracto no presenta toxicidad frente a estos organismos.

Palabras clave: *Artemisia absinthium*, herbicida natural, aleopatía, toxicidad, bioensayos.

**1. INTRODUCCIÓN**

El género *Artemisia* comprende más de 400 especies de plantas perennes y arbustos ampliamente distribuidos a lo largo de Europa, Asia, América del Norte y África del Sur (Chon & Nelson, 2010), considerándose como malas hierbas en muchas partes del mundo. Muchas malezas son ecológicamente importantes ya que contienen compuestos bioactivos con actividad alelopática lo que les confiere mayor supervivencia en el ecosistema (Meepagala *et al.*, 2003). La aleopatía provoca efectos dañinos sobre el crecimiento de otras plantas vecinas. Varios han sido los trabajos en los que se describen actividades alelopáticas en diferentes especies del género *Artemisia*. Por ejemplo, se han encontrado en aceites esenciales y alcaloides de *A. absinthium*, en extractos acuosos y sustancias volátiles de *A. princeps* var. *orientalis* y en extractos acuosos de *A. campestris* ssp. *Caudate* (Chon & Nelson, 2010).

En el cultivo de los céspedes, *Poa annua* L. es posiblemente la mala hierba más difícil de controlar. Es, además, especialmente perniciosa en los céspedes de los campos de golf, sobre todo en la zona denominada “green”, pues interfiere en el juego al impedir un correcto deslizamiento de la bola, siendo, además, muy difícil de controlar. Se hace necesaria la investigación de nuevos métodos de control de *P. annua*, siendo el uso de herbicidas naturales uno de ellos (Gómez de Barreda *et al.*, 2011).

El ajeno (*A. absinthium* L.) es una planta de conocidas propiedades alelopáticas (Bara *et al.*, 1999), cuyos extractos han sido objeto de diferentes investigaciones. Gómez de Barreda *et al.* (2009) ensayaron la capacidad herbicida de los extractos de la parte aérea del ajeno frente a *P. annua*, comprobando sus propiedades anti-germinativas. Así mismo, en un trabajo posterior, Gómez de Barreda *et al.*, (2011) comprueban la inhibición de la emergencia de la planta en suelo.

El uso de extractos vegetales requiere de una adecuada evaluación biológica/toxicológica con el fin de garantizar su utilización sin consecuencias dañinas sobre el medio ambiente. Por ello, el objetivo propuesto en este trabajo es evaluar, en laboratorio, la toxicidad de un extracto acuoso de ajeno mediante tres bioensayos de toxicidad.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El extracto vegetal de acción herbicida se obtiene a partir de las partes aéreas (hojas, tallo y flores) de la planta del ajeno, cultivada en una parcela experimental perteneciente al Departamento de Producción Vegetal de la Universidad Politécnica de Valencia. Para ello se introducen 200 g de la planta triturada en 2 L de agua y se llevan a ebullición mediante un matraz Clavenger. El extracto filtrado se utiliza en los ensayos de toxicidad.

*2.1. Ensayo de inhibición del crecimiento del alga Pseudokirchneriella subcapitata.* Para la determinación del efecto inhibitor del extracto vegetal sobre el crecimiento del alga verde dulceacuícola *P. subcapitata* se han seguido las especificaciones descritas en la normativa UNE-EN ISO 8692 (2005), con algunas modificaciones. El criterio de evaluación del ensayo ha sido la inhibición del crecimiento del alga mediante la determinación de la concentración de clorofila *a* en las soluciones de ensayo. Todos los ensayos se han realizado en microplacas estériles de 96 pocillos. Las soluciones de ensayo se han preparado mezclando cantidades apropiadas de medio de cultivo, agua ultrapura y extracto de ajeno con el fin de obtener los distintos niveles de dilución (1:1,25, 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:12, 1:16). Los controles negativos se preparan mezclando cantidades apropiadas de medio de cultivo y agua ultrapura. Además, se preparan controles positivos utilizando dicromato potásico (5 mg/l) como sustancia de referencia. El inóculo inicial de algas ha sido  $10^4$  células/ml, procedente de un cultivo en fase exponencial. Cada ensayo consta de dieciséis réplicas control y ocho réplicas de cada nivel de dilución. Tras su preparación, las microplacas se introducen en una bolsa de plástico, en atmósfera de CO<sub>2</sub>, se sellan y se llevan a una cámara con iluminación constante (8.000 lux), a una temperatura de  $24 \pm 2^\circ\text{C}$ . Para evaluar el crecimiento de las algas, se mide la fluorescencia de las soluciones de ensayo a las 24, 48, 72 y 96 horas en el lector de microplacas multifunción Tecan Infinite M200, siendo la longitud de onda de excitación de 430 nm y la longitud de onda de emisión de 670 nm. La inhibición del crecimiento se mide como la disminución del contenido en clorofila *a* de las distintas soluciones de ensayo en relación a los controles. Los porcentajes de inhibición se utilizan para el cálculo del valor LID (dilución mínima sin efecto) mediante análisis ANOVA (Statgraphics v. 5.1).

*2.2. Ensayo de toxicidad aguda con el microcrustáceo Artemia salina.* El ensayo se ha llevado a cabo mediante el microtest Artoxkit M (Microbiotests, Inc., Gent, Belgium). Los quistes de *A. salina* fueron cultivados en agua de mar artificial proporcionada por el fabricante e incubados a  $25^\circ\text{C}$ , durante 48 horas, bajo iluminación constante (1.000 a 4.000 lux), obteniendo larvas de segundo y/o tercer estadio. El bioensayo se realiza en una placa de 24 pocillos que permite probar 5 diluciones del extracto por triplicado con 10 larvas por réplica, así como tres controles con el mismo número de individuos. Las diluciones del extracto ensayadas fueron 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 y 1:16. Tras 24 h de exposición a  $25^\circ\text{C}$ , en oscuridad, se cuentan las larvas muertas. Se considera que una larva está muerta cuando no realiza movimientos internos o externos después de observarla durante 10 segundos.

*2.3. Ensayo de evitación-repulsión con la lombriz Eisenia fetida.* Por último, el ensayo con las lombrices se ha realizado de acuerdo con la norma ISO/DIS 17512-1.2 (2007). El ensayo se basa en la capacidad de un organismo para moverse, huir, de los sitios contaminados. Se ha

trabajado con recipientes de plástico de 30 x 20 x 6 cm. Los recipientes se dividen por la mitad con una lámina de plástico, disponiendo en cada parte 250 g de un suelo artificial (ASTM, 1995). A una de las partes se adiciona la dilución correspondiente del extracto de ajenjo (1:1, 1:2, 1:4) y a la otra parte agua destilada, en un volumen apropiado para obtener una humedad del 40%. Cada dilución se ensaya por triplicado. A continuación, se quita la lámina de plástico que divide el recipiente y se colocan en su lugar 10 individuos de *E. fetida*. Se tapa el recipiente con una gasa y se incuba a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  en oscuridad, durante 48 horas. Al cabo de dicho tiempo se coloca de nuevo la lámina divisoria y se cuentan los gusanos que hay en cada parte. Según el protocolo de trabajo un suelo no es apto cuando existe un 20% o menos de individuos presentes en este suelo o lo que es lo mismo cuando la repulsión es igual o mayor al 80% de la población expuesta. Los resultados se expresan como porcentaje de respuesta neta (NR) de acuerdo a la norma y según la siguiente ecuación (Amorim *et al.*, 2005):

$$NR = \left( \frac{C - T}{N} \right) \times 100$$

C: n° de organismos en el control  
T: n° de organismos en suelo tratado  
N: n° total de organismos

Un NR positivo indica evitación, mientras que un 0% o un valor negativo indica que no hay una respuesta o que hay atracción por el suelo tratado.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los porcentajes de inhibición del crecimiento de algas de las distintas diluciones del extracto herbicida se muestran en la Figura 1.

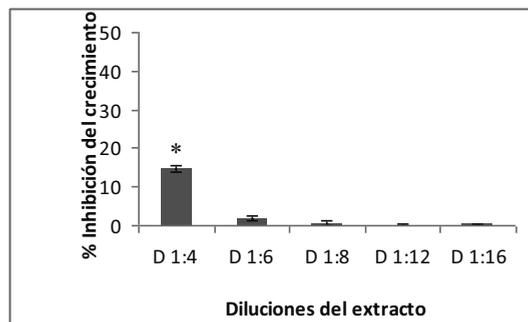


Figura 1. Inhibición del crecimiento (%) de *P. subcapitata* expuesta a diluciones del extracto. (\*:diferencias significativas con respecto al control,  $p < 0,05$ ).

El valor LID equivale a la dilución 1:4 del extracto ya que de todas las diluciones ensayadas sólo ésta presenta diferencias significativas con respecto a la respuesta del control. Las diluciones 1:1,25 y 1:2 se descartaron debido al color intenso de las soluciones de ensayo que dificultaron el correcto crecimiento de las algas.

Con respecto al ensayo de letalidad realizado con el microcrustáceo *A. salina*, los resultados muestran una elevada toxicidad del extracto (Tabla 1). Las diluciones más

concentradas mostraron una mortalidad del 100%, mortalidad que va descendiendo hasta el 23% observado en el extracto más diluido (1:16). El análisis ANOVA de los resultados permite comprobar que las diluciones ensayadas presentan diferencias significativas con respecto al control ( $p < 0,05$ ). El valor LID, en este caso, equivale a una dilución mayor a 1:16. La dilución que produce un 50% de mortalidad en *A. salina*, con su intervalo de confianza al 95%, calculada mediante análisis Probit (SPSS v.16.0), es 1:7,8 (1:6,5-1:9,5).

En cuanto a los ensayos realizados con la lombriz de tierra *E. fetida*, se obtuvieron valores medios de NR de -26,7%, -20,0% y -6,7% para el extracto sin diluir, dilución 1:2 y dilución 1:4, respectivamente, lo que demuestra que los gusanos no evitan el suelo contaminado con el extracto herbicida (Figura 2).

Tabla1. Mortalidad (%) de *A. salina* expuesta a diluciones del extracto.

| Dilución | Mortalidad (%) |
|----------|----------------|
| 1:1      | 100,0          |
| 1:2      | 100,0          |
| 1:4      | 65,5           |
| 1:8      | 39,2           |
| 1:16     | 22,9           |

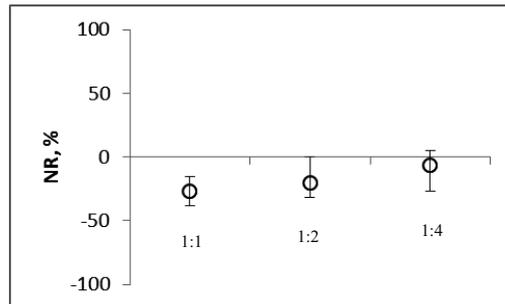


Figura 2. Respuesta neta obtenida (Media  $\pm$  SD) en el ensayo de evitación-repulsión de *E. fetida* expuesta a diluciones del extracto.

La elevada toxicidad del extracto frente a larvas de *A. salina* está de acuerdo con los resultados obtenidos por Fernández-Calienes *et al.* (2009) sobre esta misma especie, los cuales clasificaron el extracto de *Artemisia*, obtenido a partir de las hojas, como extremadamente tóxico, frente a las categorías de moderadamente tóxico y no tóxico de extractos procedentes de otras especies vegetales. Estos mismos autores evaluaron previamente dichos extractos frente a protozoos y células humanas sin encontrar acción selectiva. Este organismo ha sido utilizado ampliamente para valorar la toxicidad de extractos obtenidos de diferentes especies de plantas corroborando su adecuación para este tipo de muestras (Cáceres, 1996).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran una mayor sensibilidad de los organismos acuáticos, especialmente *A. salina*, al extracto de ajeno y a sus diluciones. La lombriz de tierra *E. fetida* ha resultado ser más resistente, por lo que el extracto de *A. absinthium* podría ser utilizado en ecosistemas terrestres para el control de *P. annua*.

Este trabajo completa estudios realizados anteriormente sobre *A. salina*, dirigidos a valorar la toxicidad y efectos sobre la salud humana de extractos de *A. absinthium* (Fernández-Calienes *et al.*, 2009). Por ello, con la medida de la toxicidad sobre los otros dos organismos, se obtiene una visión más general sobre los efectos tóxicos del extracto sobre el medio ambiente, ya que son considerados buenos indicadores de ecotoxicidad. Los resultados obtenidos constituyen un punto de partida para el uso potencial del extracto como herbicida natural.

#### 4. REFERENCIAS

- Amorim MJB, Römbke J, Soares AMVM (2005). Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: effects of benomyl, carbendazim, phmedipham and different soils types. *Chemosphere*, 59, 501-510.
- ASTM (1995). (American Society for Testing and Materials). Designation: E 1676-95. Standard guide for conducting a laboratory soil toxicity test with lumbricid earthworms *Eisenia fetida*. Annual Book of ASTM Standards.
- Bara S, Zaragoza C, Valderrabano J (1999). Efecto alelopático y antihelmíntico de *Artemisia absinthium*. Actas del Congreso 1999 de la Sociedad Española de Malherbología. Logroño. 233-240.
- Cáceres A (1996). Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. 1ª ed. Editorial Universitaria: San Carlos de Guatemala.
- Chon S, Nelson C (2010). Allelopathy in compositae plants. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30, 349–358.
- Fernández-Calienes A, Mendiola J, Monzote L, García Parra M, Sariego I, Acuña D, Scull R, Gutiérrez Y (2009). Evaluación de la toxicidad de extractos de plantas cubanas con posible acción antiparasitaria utilizando larvas de *Artemia salina* L. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 61(3), 254-258.
- Gómez de Barreda D, Devís O, Osca JM, Castell V, Llorens JA (2011). Aplicación de un extracto acuoso de ajeno (*Artemisia absinthium*) para el control en pre-emergencia de *Poa annua* en un césped de *Agrostis stolonifera*. *Plantas invasoras. Resistencia a herbicidas y detección de malas hierba*, 215-218. XIII Congreso 2011 de la Sociedad Española de Malherbología
- Gómez de Barreda D, Sáez T, Llorens JA, Castell V (2009). Uso de un extracto acuoso de raíz de ajeno (*Artemisia absinthium*) para el control de *Poa annua* en césped. *Herbología e Biodiversidade numa Agricultura sustentável*. Congreso 2009 de la Sociedad Española de Malherbología.
- ISO (2007). Soil quality: avoidance test for testing the quality of soils and effects of chemicals on behaviour-part 1: test with earthworms (*Eisenia fetida* and *Eisenia andrei*). ISO/DIS 17512-1.2. International Organization for Standardization. Geneva. Switzerland.
- Meepagala KM, Kuhajek JM, Sturtz GD, Wedge DE (2003). Vulgarone B, the antifungal constituent in the steam-distilled fraction of *Artemisia douglasiana*. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 1771–1780.
- UNE-EN ISO 8692 (2005). Calidad del agua: Ensayo de inhibición del crecimiento de algas de agua dulce con algas verdes unicelulares (ISO 8692:2004).

Summary: A bioassay battery test to evaluate the toxicity of a vegetal extract with herbicide activity. A bioassay battery has been conducted to evaluate the toxicity of an aqueous extract of *Artemisia absinthium* (wormwood) aerial part, with herbicide activity. The bioassays were: growth inhibition of the unicellular algae *Pseudokirchneriella subcapitata*, mortality of the microcrustacean *Artemia salina* and terrestrial avoidance of the earthworm *Eisenia fetida*. Results indicate the herbicide extract has different levels of toxicity against the assayed organisms: It is toxic for *A. salina* with a LID (Lowest Ineffective Dilution) value > 16 of the extract. However, it has a low toxicity for algae (LID = 4) and earthworms do not migrate from contaminated soil with the extract.

Key words: *Artemisia absinthium*, natural herbicide, allelopathy, toxicity, bioassay.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

## Evaluación del herbicida prosulfocarb y su mezcla con diflufenican sobre cereales de invierno para el control de *Lolium rigidum*

J.M. Osca<sup>a</sup>, D. Gómez de Barreda Ferraz

Departamento de Producción Vegetal. Universitat Politècnica de València  
Camí de Vera, s/n 46022-Valencia, <sup>a</sup>[josca@prv.upv.es](mailto:josca@prv.upv.es)

*Resumen:* Se evaluó el herbicida prosulfocarb y su mezcla con diflufenican tanto en preemergencia como en postemergencia sobre diferentes especies/variedades de cereales y *Lolium rigidum*. Tras el tratamiento, se evaluó el número de plántulas emergidas y su peso fresco en los ensayos de preemergencia y la mortalidad de plántulas y el peso fresco en postemergencia. En preemergencia, esta mezcla no impidió la germinación y posterior emergencia de los cereales y la mala hierba, sin embargo si que se observó un descenso del peso fresco de *L. rigidum* y de una variedad de avena. El tratamiento en postemergencia, no mostró mortalidad de plántulas en ninguna de las especies ensayadas, y volvieron a ser las especies *L. rigidum* y *Avena strigosa* las únicas que mostraron un descenso del peso fresco. En cuanto al uso en preemergencia de prosulfocarb sin diflufenican, se constató que no controlaba *L. rigidum*.

**Palabras clave:** vallico, control, fitotoxicidad, sinergia.

### 1. INTRODUCCIÓN

En muchas regiones del interior de España, los cereales de invierno constituyen la base de la agricultura, de hecho, la cebada y el trigo ocupan el primer y tercer puesto, respectivamente, del total de superficie cultivada en España. Uno de los factores más importantes que afectan a su producción es la presencia de malas hierbas, siendo la especie *Lolium rigidum* Gaudin (vallico) una de las más importantes de entre las que compiten con los cereales de invierno (González-Díaz *et al.*, 2007), no sólo en España sino en diferentes sistemas cerealistas del mundo (Chauhan *et al.*, 2006; Wakelin & Preston, 2006; Walsh *et al.*, 2011).

Como métodos de control de esta mala hierba en cereales, se recomienda, además del uso de herbicidas selectivos, la adopción de prácticas agronómicas que fomenten la competencia del cultivo frente a la mala hierba, tales como aumentar la densidad de plantas del cultivo o variar las fechas de siembra (Paynter & Hills, 2009; Paynter, 2010), dado que los casos de poblaciones de vallico resistentes a herbicidas están aumentando significativamente en los últimos años. En caso de no practicar la siembra directa, el laboreo sería otra práctica agronómica efectiva para evitar la aparición de resistencias.

Algunos herbicidas que controlan de forma selectiva *L. rigidum* en cereales de invierno pertenecen a los grupos de los derivados de la urea, dinitroanilinas, sulfonilureas o alguna mezcla como prosulfocarb + s-metolacloro (Walsh *et al.*, 2011), o prosulfocarb en mezcla con otra materia activa de las familias herbicidas citadas (Cirujeda & Taberner, 2009). En España, para el control de vallico en cereales de invierno (depende del cultivo), están autorizadas las materias activas clodinafop, clodinafop + pinoxadem, clorsulfuron, diclofop y fenoxaprop + diclofop. Existen otras materias activas efectivas contra el vallico, que están autorizadas en algunos cereales, contra malas hierbas anuales, como iodossulfuron, iodossulfuron +

mesosulfuron, florasulam + pinoxulam, prosulfocarb o trakloxdim, pero en definitiva no hay una clara recomendación para el control del vallico en cada uno de los cereales de invierno.

Uno de estas materias activas, el prosulfocarb, es un herbicida que pertenece al grupo de los tiocarbamatos. Es absorbido por las raíces, hojas y semillas de las malas hierbas en el momento de la germinación, siendo trasladado a toda la planta. En España está autorizado en trigo y cebada para el control de malas hierbas anuales, es muy eficaz frente al vallico, y puede incluso utilizarse en postemergencia de la mala hierba (hasta 2 hojas), aunque puede causar cierta fitotoxicidad temporal en el cereal (Garnica & Lezaún San Martín, 2012). Por otra parte, el herbicida diflufenican es una materia activa de la familia de las carboxamidas que una vez absorbida, es transportada hacia los meristemos apicales en los que inhibe la biosíntesis de los carotenoides. Se ha demostrado la sinergia del diflufenican con prosulfocarb para el control selectivo de vallico en cereales (Garnica & Lezaún San Martín, 2012).

El objetivo de esta experimentación es comprobar la eficacia de prosulfocarb, solo o en mezcla con diflufenican, frente a *L. rigidum* y la selectividad sobre las diferentes especies y variedades de los cereales testados (avena, cebada, centeno y trigo).

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron 3 ensayos, durante el invierno de 2011, en los que se testaron las dos materias activas prosulfocarb y diflufenican sobre 16 variedades de cereales de invierno y la mala hierba *L. rigidum*. Los ensayos se realizaron en macetas de polietileno de 15 cm de diámetro y 20 cm de altura, en las que se sembraron 10 semillas de cada especie/variedad, que se listan a continuación: *Avena sativa* ('Aintree', 'Flingrante' y 'Prevision'), *Avena strigosa* ('Saia 6'), *Hordeum vulgare* subsp. *dystichum* ('Garbo', 'Graphic', 'Hispanic', 'Pewter' y 'Voley'), *Hordeum vulgare* subsp. *hexastichum* ('Marado'), *Secale cereale* ('Fugato' y 'Petkus'), *Triticum aestivum* ('Craklin' y 'Verdun') y *Triticum turgidum* ('Claudio' y 'Nefer'). El ensayo A consistió en la aplicación tanto en preemergencia de los cereales como de *L. rigidum*, de la mezcla prosulfocarb + diflufenican a la dosis 2.400 g + 62,5 g de m.a. ha<sup>-1</sup> respectivamente. El ensayo B fue similar al A, con la diferencia que la aplicación de la mezcla herbicida fue en postemergencia (BBCH: 12). Por último, el ensayo C, consistió en la aplicación de la materia activa prosulfocarb a 2.400 g de m.a. ha<sup>-1</sup> en preemergencia de las especies y variedades antes listadas, con la única sustitución de la variedad 'Saia-6' por 'Chapline' (*Avena sativa* o *A. byzantina*) debido a la baja tasa de germinación-emergencia de la primera. En los tres ensayos el diseño fue de bloques completamente aleatorizados con cuatro repeticiones, incluyendo testigos para cada especie/variedad.

El sustrato fue un suelo franco-arenoso tamizado (malla 2 mm). La aplicación herbicida se hizo con una mochila a motor WHALE BEST modelo LS 937, con boquillas de abanico y una altura de tratamiento de aproximadamente 30 cm. El volumen de caldo utilizado resultante en los tratamientos fue de 320 L x ha<sup>-1</sup>. Tras la realización de cada tratamiento las macetas se colocaron sobre bancadas en un invernadero (ventilado sin calefacción), distribuidas al azar y se les dio un riego ligero (≈ 5 mm) mediante nebulización. Durante la duración del ensayo se llevó un registro de temperatura mediante datalogger HOBO mod. U23.

Durante los ensayos se evaluaron diferentes parámetros: En los ensayos A y C, el porcentaje de plántulas emergidas a los 15 días de la emergencia del 50% de plántulas en los testigos y a los 21 días (de ese mismo momento), el peso fresco de las plantas por maceta. En

el ensayo B se evaluó, a los 15 días de la aplicación, la mortalidad de plántulas y a los 21 días de la aplicación, el peso fresco de las plantas por maceta.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Ensayo A: prosulfocarb y diflufenican en preemergencia.** No existieron diferencias significativas en el número de plantas emergidas entre los controles sin tratar y las macetas tratadas sea cual sea la especie/variedad ensayada (datos no mostrados). En cuanto al peso fresco de las plántulas a los 21 días de la emergencia del 50% de los testigos (Figura 1a), sí que hubieron diferencias estadísticamente significativas. Como era de suponer, *Lolium rigidum* fue la especie más afectada por el tratamiento, siéndolo también la especie cultivada *Avena strigosa*. En los trigos, tanto blandos (*T. aestivum*) como duros (*T. durum*), se observó un efecto estimulador del desarrollo que se manifestó en un mayor peso fresco. En cebadas (*H. vulgare*), el resto de avenas (*Avena* sp.) y centenos (*S. cereale*) se observaron ligeros descensos del peso fresco, si bien no llegaron a ser estadísticamente significativos respecto de los trigos.

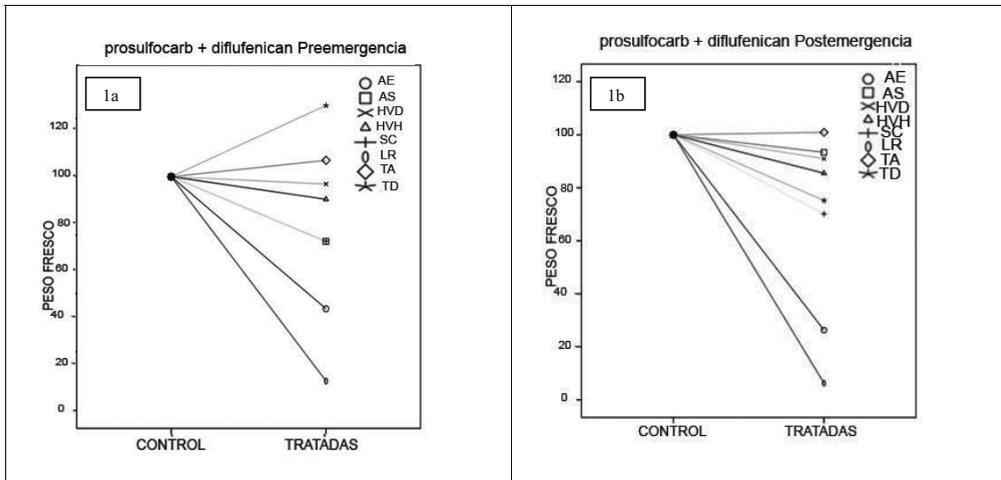


Figura 1: Comparación del peso fresco (expresado en % con respecto al control). 1a) A los 21 días de la emergencia del 50% de los testigos cuando se aplicó la mezcla herbicida en preemergencia. 1b) A los 21 días del tratamiento, cuando se aplicó la mezcla herbicida en postemergencia. AE: *Avena strigosa*; AS: *Avena sativa*; HVD: *Hordeum vulgare* subsp. *dystichum*; HVH: *Hordeum vulgare* subsp. *hexastichum*; SC: *Secale cereale*; LR: *Lolium rigidum*; TA: *Triticum aestivum*; TD: *Triticum durum*.

**Ensayo B: prosulfocarb y diflufenican en postemergencia.** A los 15 días del tratamiento se observó el mismo número de plántulas vivas de cualquier especie/variedad, tanto si fueron tratadas como si no (datos no mostrados). A los 21 días del tratamiento (Figura 1b), al igual que ocurrió en el ensayo A, al analizar el efecto del tratamiento herbicida sobre el peso fresco de los distintos tipos de cultivos considerados, se obtuvieron diferencias significativas según el tratamiento, la especie y la interacción de ambos factores. Vuelven a ser *L. rigidum* y *A. strigosa* las especies más afectadas por el tratamiento de postemergencia. En trigos blandos

(*T. aestivum*) ya no se observa un efecto estimulador del desarrollo como ocurrió en el tratamiento en preemergencia. En cebadas (*H. vulgare*), el resto de avenas (*Avena sp.*), trigo duro (*T. durum*) y centenos (*S. cereale*) se observan ligeros descensos de peso, que son más acusados en trigo duro y centenos, si bien las diferencias de peso no llegan a ser estadísticamente significativas respecto a los trigos blandos.

Ensayo C: prosulfocarb en preemergencia. De nuevo, no existen diferencias significativas en el número de plantas emergidas entre los controles sin tratar y las macetas tratadas (datos no mostrados). Al analizar el efecto del tratamiento herbicida sobre el peso fresco (Figura 2) por tipo de cultivos considerados, se obtienen efectos significativos según tratamiento, especie e interacción de ambos factores. En el caso de *L. rigidum* hay que destacar que si bien existe un apreciable descenso de peso, éste ha sido insuficiente desde el punto de vista del control como mala hierba, ya que las plantas no murieron. Los cereales que más han acusado el efecto depresor del tratamiento han resultado ser el centeno y las avenas. En el caso de la cebada de dos carreras se observa un aumento del peso de las plantas tratadas, hecho que no ocurría en los tratamientos con diflufenican.

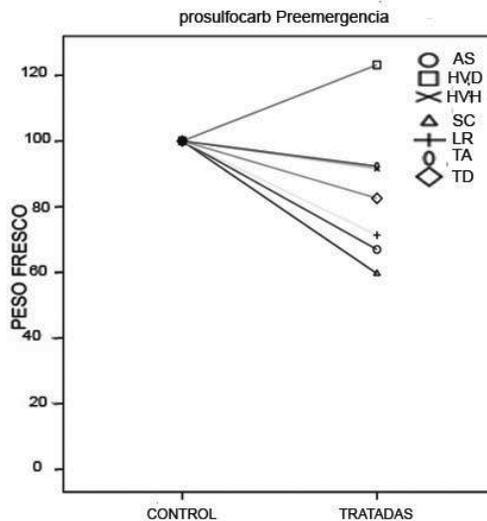


Figura 2: Comparación del peso fresco (expresado en % con respecto al control) a los 21 días de la emergencia del 50% de los testigos cuando se aplicó prosulfocarb en preemergencia. AS: *Avena sativa*; HVD: *Hordeum vulgare* subsp. *dystichum*; HVH: *Hordeum vulgare* subsp. *hexastichum*; SC: *Secale cereale*; LR: *Lolium rigidum*; TA: *Triticum aestivum*; TD: *Triticum durum*.

Cirujeda & Taberner 2009, indican que entre todas las materias activas y mezclas ensayadas para el control de *L. rigidum* en cebada y trigo, las mezclas que incluían prosulfocarb eran las que mejor la controlaron en preemergencia, pero no mostraron ninguna eficacia en postemergencia. Así mismo, al analizar el efecto de los tres tipos de tratamientos sobre el peso fresco de *L. rigidum*, se observa, que los tratamientos más efectivos son los que llevan la mezcla de prosulfocarb + diflufenican, en detrimento de la aplicación de prosulfocarb solo.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la empresa SAPEC AGRO la financiación de este ensayo.

#### 5. REFERENCIAS

- Chauhan, B. S., Gill, G. and Preston, C. 2006. Influence of environmental factors on seed germination and seedling emergence of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*). *Weed Science* 54:1004-1012.
- Cirujeda, A. & Taberner, A. 2009. Chemical control of herbicide-resistant *Lolium rigidum* Gaud. in north-eastern Spain. *Pest Management Science*. 66: 1380-1388.
- Garnica, I. & Lezaún San Martín, J. A. 2012. Control de malas hierbas en cereales de invierno. *Navarra Agraria*, 194: 21-30.
- González-Díaz, L., Pujadas Salvà, A. J. y González-Andujar, J. L. (2007). Modelo bioeconómico para el manejo conjunto de la comunidad arvense *Lolium rigidum* y *Avena sterilis* subsp. *Ludoviciana* en trigo de invierno. La malherbología en los nuevos sistemas de producción agraria. Eds. Mansilla, J., Artigao, A. and Monreal, J.A., pp. 179-183. Universidad de Castilla La Mancha. Albacete.
- Paynter, B. H. & Hills, A. L. 2009. Barley and Rigid Ryegrass (*Lolium Rigidum*) Competition Is Influenced by Crop Cultivar and Density. *Weed Technology*. 23:40-48.
- Paynter, B. H. 2010. Wide Row Spacing and Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*) Competition Can Decrease Barley Yield. *Weed Technology*. 24:310-318.
- Wakelin, A. M. & Preston, C. 2006. Inheritance of glyphosate resistance in several populations of rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) from Australia. *Weed Science*. 54:212-219.
- Walsh, M. J., Fowler, T. M., Crowe, B., Ambe, T. and Powles, S. B. 2011. The Potential for Pyroxasulfone to Selectively Control Resistant and Susceptible Rigid Ryegrass (*Lolium rigidum*) Biotypes in Australian Grain Crop Production Systems. *Weed Technology*. 25:30-37.

Summary: Evaluation of prosulfocarb and prosulfocarb + diflufenican on winter cereals for *Lolium rigidum* control. An experiment was conducted to evaluate the herbicide prosulfocarb applied alone in preemergence and in a mixture with diflufenican in pre and postemergence on *Lolium rigidum* and different cereal species/cultivars. In the preemergence treatments, number of emerged seedlings and their fresh weight were evaluated and seedling mortality and fresh weight in the postemergence treatment. The assayed herbicide combination applied in preemergence did not prevent cereals and the weed from germination and emergence, however a significant statistical decrease in fresh weight was observed for *L. rigidum* and one of the oats varieties. In postemergence treatment, mortality was not detected in any case but a significant decrease in fresh weight was observed in *L. rigidum* and *Avena strigosa*. The use of prosulfocarb alone in preemergence did not control *L. rigidum*.

Keywords: annual ryegrass, weed control, phytotoxicity, herbicide synergy



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

## Respuesta diferencial de la diversidad funcional de las comunidades arvenses a la intensidad del laboreo

E. Hernández <sup>\*a</sup>, L. Navarrete <sup>\*\*</sup>, J.L. González-Andújar <sup>\*</sup>

<sup>\*</sup>Instituto de Agricultura Sostenible (IAS-CSIC), Apdo 4084. 14080-Córdoba, <sup>a</sup>  
[mehernan@ias.csic.es](mailto:mehernan@ias.csic.es)

<sup>\*\*</sup>Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario,  
Finca El Encín, Apdo. 127, 28800-Alcalá de Henares, Madrid

*Resumen:* En una rotación de cereal-leguminosa, con 26 años, bajo diferentes sistemas de laboreo: tradicional, mínimo y no laboreo, se analizó la diversidad funcional de las comunidades arvenses presentes. Los resultados muestran que la diversidad funcional difirió en función de la intensidad de laboreo y del tipo de caracteres funcionales considerados. Cuando se midió como equitatividad funcional (FEve), el efecto del laboreo dependió del tiempo transcurrido desde el inicio del experimento. Así, el incremento de la FEve en las comunidades arvenses fue mayor en el laboreo tradicional que en el mínimo o no laboreos. Cuando la diversidad funcional se midió como FDis (índice de dispersión funcional) el efecto del laboreo dependió de los caracteres funcionales considerados. Así, el FDis de los caracteres regenerativos en las comunidades arvenses fue mayor en el laboreo tradicional que en el mínimo o no laboreos. Estas diferencias no fueron tan apreciables cuando se analizaron caracteres vegetativos.

**Palabras clave:** SLA, caracteres funcionales, perturbaciones, modelos lineales mixtos.

### 1. INTRODUCCIÓN

La diversidad funcional describe la variabilidad, en valor y rango, de los caracteres biológicos dentro de una comunidad. En concreto, de aquellos caracteres relacionados con el desarrollo de los organismos y con la influencia de éstos en el funcionamiento de los sistemas (Díaz & Cabido, 2001). El uso de caracteres y medidas de diversidad funcional puede resultar de utilidad para evaluar el efecto de las estrategias de manejo sobre la estructura de las comunidades de especies arvenses. Por ejemplo, permite generalizar el efecto de una estrategia a comunidades formadas por especies muy distintas, así cómo discernir sobre qué caracteres funcionales actúa una determinada estrategia de manejo (Storkey *et al.*, 2010, Gunton *et al.*, 2011). Las teorías de ensamblaje de comunidades sugieren que los factores bióticos y abióticos, junto con procesos estocásticos, actúan sobre los caracteres funcionales presentes en el conjunto regional de especies para determinar la abundancia relativa de las mismas en las distintas comunidades (Lortie *et al.*, 2004, Shipley *et al.*, 2006, Laliberté *et al.*, 2012). El efecto de estos factores sobre la estructura de las comunidades puede caracterizarse en términos de diversidad funcional - diversidad de caracteres biológicos (Villéger *et al.*, 2008).

En las comunidades vegetales, los factores abióticos se han considerado tanto mecanismos que pueden restringir la diversidad funcional (Carmona *et al.*, 2012) como mecanismos que promueven la diversidad de caracteres funcionales (Grime, 2006). La reducción de la diversidad funcional en una comunidad puede implicar una disminución en el rango de valores que presentan las especies para algunos caracteres biológicos, o una disminución en la equitatividad con la que los distintos valores aparecen en la comunidad. Es decir, los factores abióticos pueden condicionar la abundancia de las especies a la posesión de unos

determinados valores de caracteres funcionales. Por otra parte, cuando los factores abióticos permiten la coexistencia en la comunidad de especies con valores muy diferentes para un determinado carácter funcional, la diversidad funcional se incrementa. El incremento o reducción en la diversidad funcional puede ser función del tipo de factor abiótico y de los caracteres funcionales considerados.

En los agrosistemas, el laboreo puede considerarse como un factor abiótico, una perturbación que modifica las propiedades y la estructura del suelo, y afecta a la distribución, tanto vertical como horizontalmente, de las semillas de especies arvenses (Swanton *et al.*, 2000, Hernanz *et al.*, 2002, Vogeler *et al.*, 2009). Por tanto, la frecuencia e intensidad del laboreo puede condicionar la germinación y el establecimiento de las especies arvenses.

En este trabajo utilizamos datos de un experimento de larga duración, en el cual una rotación de cereal-leguminosa fue sometida a tres tipos de laboreo: laboreo tradicional, mínimo y no laboreo, para determinar: 1) si las diferencias en la intensidad del laboreo dan lugar a diferencias en la diversidad funcional, y 2) si el efecto difiere entre la diversidad funcional de caracteres vegetativos y la diversidad funcional de caracteres regenerativos. En este estudio usamos la intensidad del laboreo como indicador de la intensidad de una perturbación en los agrosistemas, y seleccionamos cuatro caracteres biológicos, dos relacionados con la fase vegetativa y dos relacionados con la fase regenerativa de las especies arvenses.

Nuestras hipótesis fueron: i) que las parcelas donde se lleva a cabo el laboreo tradicional - mayor perturbación- dan lugar a comunidades de especies arvenses con mayor diversidad funcional que las parcelas sometidas a mínimo o no laboreo, y ii) que la diversidad funcional asociada a los caracteres regenerativos será mayor que la asociada a los caracteres vegetativos.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se llevó a cabo en las parcelas experimentales del Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA) situadas en la Finca El Encín (Alcalá de Henares, Madrid). El experimento consistía en un tratamiento, la intensidad del laboreo, con tres niveles: laboreo tradicional (LT), mínimo (ML) y no laboreo (NL), distribuidos en un diseño en bloques al azar con cuatro repeticiones. El LT consistió en al menos un pase de arado de vertedera a una profundidad media de 30 cm, seguido de otro laboreo con un cultivador (20 cm). El ML incluyó un pase de chisel (30 cm) o de cultivador, seguido por un segundo pase con un cultivador. En NL la única operación que se realizó previa a la siembra fue la aplicación de un herbicida. A lo largo de 26 años, se registró la abundancia de las especies arvenses en cada una de las parcelas en 10 marcos de 0,1m<sup>2</sup>. Se seleccionaron cuatro caracteres funcionales, dos relacionados con la fase vegetativa de las especies: altura y área foliar específica (SLA), y dos relacionados con la persistencia: el número medio de semillas producido por un individuo de la especie y el tamaño medio de las semillas. Para todas las especies los valores de los cuatro caracteres se obtuvieron de la bibliografía y de bases de datos de acceso público (Castroviejo *et al.*, 1986-2012, Valdés *et al.*, 1987, Kleyer *et al.*, 2008, Royal Botanic Gardens Kew, 2008). En cada parcela y en cada uno de los años, los datos de abundancia de cada especie y los valores de los caracteres biológicos se utilizaron para calcular dos índices de diversidad funcional: el índice de dispersión funcional, FDis y el índice de equitatividad funcional, FEve (Villéger *et al.*, 2008, Laliberté & Legendre, 2010). FDis es una medida de la dispersión de las especies en el espacio funcional, ponderada por la abundancia relativa de cada especie en la comunidad. El

espacio funcional está delimitado por los valores más extremos de cada uno de los caracteres funcionales considerados en la comunidad estudiada. FEve es una medida de la regularidad en la distribución de los valores de los caracteres funcionales dentro del espacio funcional, ponderada por la abundancia relativa de las especies. Elegimos estas dos medidas al tratarse de facetas diferenciadas de la diversidad funcional y matemáticamente poco correlacionadas (Laliberté & Legendre, 2010). Los índices se calcularon en la biblioteca “FD” (Laliberté & Legendre, 2010) en el entorno de R (R Development Core Team, 2011). Ambos índices se calcularon separadamente para los dos tipos de caracteres funcionales: vegetativos y regenerativos.

Para analizar si la intensidad de laboreo determinó la diversidad funcional (medida como FDis y FEve) y si la diversidad funcional de los caracteres regenerativos era mayor que la de los vegetativos se utilizaron modelos lineales mixtos. En todos los casos nuestro modelo completo incluía, como efectos fijos, el número de años desde el inicio del experimento, el tipo de laboreo (tradicional, mínimo o no laboreo), el tipo de caracteres funcionales utilizados para calcular los índices (vegetativos o regenerativos), así como todas las posibles interacciones entre estas variables. El diseño del experimento se contempló introduciendo el bloque como un factor aleatorio. El criterio de información de Akaike sirvió para determinar el modelo más parsimonioso para cada índice. Todos los modelos se ajustaron con las funciones de la librería nlme (Pinheiro *et al.*, 2011) en el entorno de R (R Development Core Team, 2011).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el conjunto de los 26 años de experimento, se registraron un total de 44 especies arvenses. *Papaver rhoeas* L., *Veronica hederifolia* L., y *Descurainia sophia* (L.) Webb. ex Prantl, fueron las especies más abundantes. En cuanto a los resultados de los análisis, el modelo más parsimonioso para FDis fue aquel que incluyó todos los efectos fijos y todas las interacciones dobles entre éstos. Mientras que para FEve el mejor modelo fue aquel que incluyó todos los efectos fijos y la interacción entre tiempo y tipo de caracteres funcionales y entre la intensidad de laboreo y el tiempo. Nuestros resultados muestran que la diversidad funcional de las comunidades arvenses, medida como FDis y FEve, responde a la intensidad del laboreo. Esta respuesta es función del tiempo (si usamos el índice FEve), o del tipo de caracteres utilizados para calcular la diversidad funcional (caso de FDis). La equitatividad funcional (FEve) se incrementa a lo largo del experimento y este incremento es mayor en las parcelas con laboreo tradicional que en aquellas con laboreo mínimo o no laboreo (tiempo x intensidad de laboreo:  $F_{2,557} = 8,25$   $p = 0,003$ ; Figura 1). A su vez, a lo largo de los 26 años del experimento, la equitatividad funcional de los caracteres vegetativos se incrementa en mayor medida que la de los caracteres regenerativos (tiempo x tipo de carácter funcional:  $F_{1,557} = 6,63$   $p = 0,01$ ). En el índice de dispersión funcional (FDis) el efecto de la intensidad del laboreo es función del tipo de caracteres funcionales utilizados para calcular el índice (intensidad de laboreo x tipo de carácter funcional:  $F_{2,557} = 12,86$   $p < 0,001$ ). Cuando se utilizan caracteres regenerativos FDis es mayor en las parcelas sometidas a laboreo tradicional que en aquellas de laboreo mínimo o no laboreo. Sin embargo estas diferencias no son tan apreciables cuando se utilizan los caracteres vegetativos para calcular el índice. Por otra parte, el índice de dispersión funcional se incrementó a lo largo del experimento cuando se utilizaron caracteres vegetativos, pero se mantuvo constante cuando los caracteres usados fueron regenerativos (tiempo x tipo de carácter funcional:  $F_{1,557} = 40,3$   $p < 0,001$ ; Figura 1).

Nuestros resultados sugieren que el NL permite un rango más reducido de estrategias regenerativas que el LT. Esto puede ocurrir si en las parcelas de NL, los valores más extremos de tamaño y número de semillas producidas por las especies arvenses presentes, son más similares entre sí que en las parcelas de mínimo y no laboreo. En cuanto a los caracteres vegetativos, los tres tipos de laboreo permiten una variabilidad similar. Es decir, el tipo de laboreo no es un factor que origine diferencias en cuanto a la variabilidad en la altura y SLA de las especies arvenses. Sin embargo, para los tres tipos de laboreo, la variabilidad encontrada en la comunidad arvense para los valores de SLA y altura se incrementó a lo largo del tiempo que duró el experimento.

Existe un cierto gradiente desde el LT hacia el NL en cuanto a FEve. LT da lugar a una distribución más equitativa de los caracteres y de las abundancias de las especies en el espacio funcional. Esto puede ocurrir si en las parcelas de LT las especies arvenses no presentan unas pocas estrategias muy diferenciadas, sino que en la comunidad existen especies con valores intermedios de SLA, altura, tamaño y producción de semillas.

Nuestros resultados son un ejemplo del uso de índices de diversidad funcional para determinar el efecto del manejo sobre las comunidades arvenses. Utilizar los índices de diversidad funcional permite discernir sobre qué caracteres de las especies arvenses está influyendo cada manejo. En nuestro caso, el laboreo parece influir en mayor medida sobre los caracteres regenerativos de las especies arvenses. Además, estos índices permiten conocer cómo responde el conjunto de la comunidad. En nuestro caso, la comunidad arvense en las parcelas de LT parece responder incrementando el rango de estrategias en cuanto a los caracteres regenerativos.

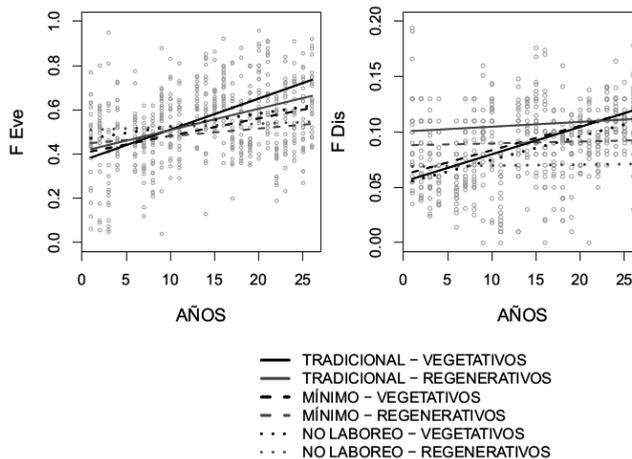


Figura 1. Valores del índice de equitatividad funcional (FEve) y del índice de dispersión funcional (FDIs) de las comunidades arvenses a lo largo de 26 años. Las líneas representan las predicciones de los modelos realizados para el efecto del tipo de laboreo (tradicional, mínimo y no laboreo) y para el tipo de caracteres biológicos considerados (vegetativos o regenerativos) a lo largo del tiempo del experimento.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Al equipo de Malherbología de la finca “El Encín”. Este trabajo ha sido financiado por fondos FEDER: proyecto 7883 y el plan Nacional de Investigación (I+D) del Ministerio de Economía y Competitividad (proyectos AGL2012-39929-C03-01 y AGL2012-33736)

#### 5. REFERENCIAS

- Carmona CP, Azcárate FM, de Bello F, Ollero HS, Lepš J and Peco B. (2012). Taxonomical and functional diversity turnover in Mediterranean grasslands: interactions between grazing, habitat type and rainfall. *Journal of Applied Ecology* 49:1084-1093.
- Castroviejo S, Laínz M, López-González G, Montserrat P, Muñoz-Garmendia F, Paiva J, et al., editores. (1986-2012). *Flora ibérica 1-8, 10-15, 17-18, 21*. Real Jardín Botánico, CSIC., Madrid.
- Díaz S&Cabido M. (2001). Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution* 16:646-655.
- Grime JP. (2006). Trait convergence and trait divergence in herbaceous plant communities: Mechanisms and consequences. *Journal of Vegetation Science* 17:255-260.
- Gunton RM, Petit S and Gaba S. (2011). Functional traits relating arable weed communities to crop characteristics. *Journal of Vegetation Science* 22:541-550.
- Hernanz JL, López R, Navarrete L and Sánchez-Girón V. (2002). Long-term effects of tillage systems and rotations on soil structural stability and organic carbon stratification in semiarid central Spain. *Soil and Tillage Research* 66:129-141.
- Kleyer M, Bekker RM, Knevel IC, Bakker JP, Thompson K, Sonnenschein M, et al. (2008). The LEDA Traitbase: a database of life-history traits of the Northwest European flora. *Journal of Ecology* 96:1266-1274.
- Laliberté E&Legendre P. (2010). A distance-based framework for measuring functional diversity from multiple traits. *Ecology* 91:299-305.
- Laliberté E, Shipley B, Norton DA and Scott D. (2012). Which plant traits determine abundance under long-term shifts in soil resource availability and grazing intensity? *Journal of Ecology* 100:662-677.
- Lortie CJ, Brooker RW, Choler P, Kikvidze Z, Michalet R, Pugnaire FI, et al. (2004). Rethinking plant community theory. *Oikos* 107:433-438.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D and R Development Core Team. (2011). nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models.
- R Development Core Team. (2011). R: A language and environment for statistical computing. Royal Botanic Gardens Kew. 2008. Seed Information Database (SID). Version 7.1.
- Shipley B, Vile D and Garnier É. (2006). From Plant Traits to Plant Communities: A Statistical Mechanistic Approach to Biodiversity. *Science* 314:812-814.
- 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.
- Swanton CJ, Shrestha A, Knezevic SZ, Roy RC and Ball-Coelho BR. (2000). Influence of tillage type on vertical weed seedbank distribution in a sandy soil. *Canadian Journal of Plant Science* 80:455-457.
- Valdés B, Talavera S and Fernández-Galiano E, editores. (1987). *Flora Vascular de Andalucía Occidental*. Ketres Editora S.A., Barcelona.
- Villéger S, Mason NWH and Mouillot D. (2008). New multidimensional functional diversity indices for a multifaceted framework in functional ecology. *Ecology* 89:2290-2301.

Vogeler I, Rogasik J, Funder U, Panten K and Schnug E. (2009). Effect of tillage systems and P-fertilization on soil physical and chemical properties, crop yield and nutrient uptake. *Soil and Tillage Research* 103:137-143.

Summary: *Differential response of functional diversity of weed communities to tillage intensity.* In a long term, 26 years, cereal-leguminous rotation with three tillage intensities: traditional, minimum and no-tillage, we analyzed the functional diversity of the present weed communities. Functional diversity responded to tillage and the traits considered. This effect was conditioned to the time since the beginning of the experiment when functional evenness (FEve) was considered. The increase of FEve through time was greater in traditional than minimum or no tillage plots. When functional diversity was measured as FDis (dissimilarity index) the effect of tillage depended on the type of trait considered. Specifically FDis of regenerative traits was greater in traditional tillage plots than in minimum and no-tillage plots, whereas FDis of vegetative traits did not differ between tillage intensities. Functional diversity (FEve y FDis) of vegetative traits increased through the experiment more than functional diversity of regenerative traits.

Keywords: SLA, trait, disturbance, lineal models.

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**La huella en un banco de semillas de un suelo agrícola después de 16 años con laboreo de conservación**

Santín Montanyá, M. I.\*<sup>a</sup>; Zambrana Quesada E. \*\* ; Tenorio Pasamón, J. L. \*\*

\*Dpto. de Protección Vegetal, <sup>a</sup>[jsantin@inia.es](mailto:jsantin@inia.es)

\*\*Dpto. de Medio Ambiente

INIA. Ctra. de la Coruña, Km 7.5, Madrid 28040.

*Resumen:* Las prácticas de laboreo causan cambios en las comunidades de malas hierbas presentes en los cultivos, y en el banco de semillas de los suelos agrícolas. Nuestro objetivo fue comparar la influencia de los sistemas de laboreo de conservación (laboreo reducido o siembra directa), frente al laboreo tradicional en el banco de semillas de un suelo agrícola, después de 16 años de monocultivo de trigo. Se tomaron muestras de suelo en parcelas con los tres sistemas de laboreo, a 3 profundidades: 0-7 cm, 7-15cm y 15-30 cm. Nuestros resultados mostraron una clara influencia del laboreo del suelo y la profundidad en la densidad del banco de semillas del suelo. Las parcelas con siembra directa mostraron la mayor densidad de semillas, concentradas mayoritariamente cerca de la superficie. Sin embargo, la riqueza de especies no se vio afectada por el laboreo, únicamente por la profundidad.

Palabras clave: cereal, laboreo, malas hierbas, monocultivo, trigo.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las malas hierbas perjudican al cultivo que está en desarrollo. Existen desde que existe la agricultura, y se han ido adaptando a las prácticas agrícolas empleadas haciendo aún más difícil su control, con las consiguientes pérdidas en la producción de los cultivos. En este contexto, y dentro de la amplia casuística existente hoy en día respecto a la forma de manejar los agro-sistemas, la agricultura de conservación apuesta por compatibilizar la productividad agraria con la conservación de los recursos naturales y medioambientales.

El seguimiento de las poblaciones de malas hierbas adquiere especial relevancia cuando pasamos de una agricultura convencional a la agricultura de conservación. Para muchos investigadores, la adopción de prácticas de laboreo de conservación tiene un considerable impacto sobre las comunidades de malas hierbas, la elección de métodos eficaces de control y la producción del cultivo (Ball & Miller, 1992). Las técnicas de laboreo del suelo pueden influir en las comunidades de malas hierbas de determinadas comunidades agrícolas (Sonoskie *et al.*, 2006). Resultados de investigaciones realizadas en este campo, describen la influencia del laboreo en la abundancia y composición de la flora adventicia y valoran la dependencia a largo plazo del sistema de cultivo empleado y la duración del experimento (Dorado *et al.*, 1999; Hernández-Plaza *et al.*, 2011).

En este sentido, el conocimiento de las especies más problemáticas es importante, pero no sólo debemos vigilar aquellas especies cuya población suponga un riesgo, sino también las que sin haber llegado a serlo, se mantienen en el suelo. Por tanto, el estudio del banco de semillas de malas hierbas de los suelos agrícolas, es primordial para realizar una buena gestión de las malas hierbas. Además, el laboreo interfiere en el ciclo

de vida de las malas hierbas en función de la profundidad a la que se encuentren, destruyendo semillas o desencadenando su germinación (Legere *et al.*, 2011).

Nuestro objetivo es comparar la huella que distintos sistemas de laboreo: laboreo de conservación (laboreo reducido o no laboreo), frente al laboreo convencional han dejado en el banco de semillas de un suelo agrícola, después de 16 años de monocultivo de trigo.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

En la finca “La Canaleja” situada en Alcalá de Henares (Madrid), con una pluviometría media de 470 mm al año y una altitud de 610 m sobre el nivel del mar, se inició un experimento en otoño de 1994, en parcelas con monocultivo de trigo, con tres sistemas de laboreo: laboreo tradicional (LT), laboreo reducido (ML) y siembra directa (SD). Se ha realizado el estudio de la densidad y riqueza específica del banco de semillas del suelo, 16 años después del establecimiento del ensayo.

El muestreo se realizó en otoño de 2010, en 12 parcelas de trigo en monocultivo (20 x 12.5m). Se delimitó un área de 8.5 x 16m en el centro de cada parcela, donde se realizaron 5 extracciones con un cilindro de 5 cm de diámetro a 3 profundidades distintas: P1 (0-7cm), P2 (7-15cm) y P3 (15-30 cm). Después de un mes de estratificación en frío (4°C) y oscuridad, las muestras se homogeneizaron y se colocaron en el invernadero para evaluar, a través de la metodología de germinación de plántulas, la densidad (nº de plántulas) y riqueza (nº de especies) del banco de semillas del suelo. La densidad de malas hierbas se refirió a la unidad de área (1m<sup>2</sup>). El experimento consistió en un diseño split-plot, con el sistema de laboreo como factor principal y la profundidad como factor secundario. De manera que se tomaron un total de 36 muestras, con 3 sistemas de laboreo x 3 profundidades/sistema x 4 repeticiones.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante un Análisis de varianza multifactorial (ANOVA) de la densidad y riqueza específica de las malas hierbas, para los tres sistemas de laboreo y en las tres profundidades. Con el fin de homogeneizar la varianza, el nº de plántulas sufrió una transformación (SQRT) previa al ANOVA. Las diferencias entre tratamientos se detectaron mediante el test de comparación de medias de Mínima Diferencia Significativa (LSD), con un nivel de significación del 5%. Todos los test informáticos se realizaron con el paquete informático STATGRAPHICS ® (Statgraphics Plus for Windows, 1998).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se ha descrito el laboreo de conservación, como el sistema que presenta mayores problemas de malas hierbas, debido a la elevada densidad de emergencias, promovida por una concentración mayor de semillas en el suelo, ocasionando un incremento de la infestación de malas hierbas. En nuestros resultados observamos que el sistema de laboreo influyó en la densidad del banco de semillas del suelo presente en la parcela. El nº de plántulas emergidas en los sistemas de laboreo de conservación, en especial la siembra directa, fue significativamente superior a la densidad presente en laboreo tradicional. No ocurrió así con el nº de especies, en el que no se encontraron diferencias significativas entre los laboreos empleados (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis de varianza (p-valor) del efecto del efecto del sistema de laboreo y profundidad sobre la densidad y riqueza del banco de semillas del suelo. Diferencias entre letras muestran diferencias significativas según el Test de rango múltiple LSD ( $p < 0,05$ ).

| Tratamientos            | Densidad (n° plántulas/m <sup>2</sup> ) | Riqueza (n° especies) |
|-------------------------|---|-----------------------|
| Sistema de Laboreo (SL) | 0,0355*                                 | 0,1442 n.s.           |
| LT                      | 2,846 a                                 | 1,535 a               |
| ML                      | 3,177 ab                                | 1,577 a               |
| SD                      | 3,471 b                                 | 1,761 a               |
| Profundidad (P)         | 0,0006***                               | 0,0036**              |
| P 1 (0-7 cm)            | 3,660 b                                 | 1,839 b               |
| P 2 (7-15 cm)           | 3,147 a                                 | 1,624 a               |
| P 3 (15-30 cm)          | 2,687 a                                 | 1,410 a               |
| SL x P                  | 0,0021**                                | 0,0560 n.s.           |

La distribución vertical de las semillas se presenta en la Figura 1, y se pudo observar que el n° de plántulas emergidas fue significativamente diferente entre laboreo tradicional, que presentó una distribución homogénea en el horizonte del suelo, y el laboreo de conservación, ya que con el mínimo laboreo se incrementó el n° de plántulas en P1 y P2 y con la siembra directa las semillas se concentraron mayoritariamente en P1 (Figura 1a). Sin embargo, no encontramos diferencias en la riqueza específica entre los sistemas de laboreo; y el n° de especies en la primera profundidad fue significativamente superior a las demás profundidades para todos los sistemas de laboreo empleados (Figura 1b).

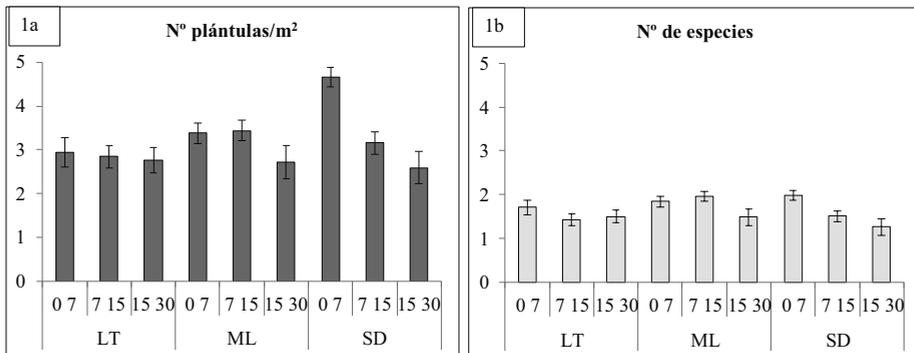


Figura 1. Distribución de las semillas de malas hierbas en el horizonte del suelo para cada sistema de laboreo. 1a) n° plántulas/m<sup>2</sup>; 1b) n° de especies

Nuestros resultados apuntan una clara influencia del sistema de laboreo y la profundidad en la densidad y la distribución del banco de semillas de malas hierbas del suelo, en parcelas con monocultivo de trigo a largo plazo, en condiciones semiáridas. Sin embargo, las prácticas de laboreo no influyeron de forma significativa en el número de especies de malas hierbas, aunque sí se vio afectada su distribución vertical en el

horizonte del suelo, lo que explicaría en parte la influencia de la profundidad en los procesos de latencia y germinación de diferentes especies de malas hierbas.

En este contexto, un mejor conocimiento de los factores que pueden influir en la emergencia de las especies presentes en un campo, nos permitirá mejorar la eficacia de los sistemas de control de las malas hierbas, suponiendo un avance cualitativo importante en el control de las poblaciones de malas hierbas.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de investigación RTA 2010-00006-C03-02 (Ministerio de Economía y Competitividad). Los autores agradecen a José Silveria Blanco y F<sup>co</sup> Javier Ruiz Rodríguez, personal de la finca “La Canaleja”, su profesional apoyo y dedicación en el trabajo de campo realizado.

#### 5. REFERENCIAS

- Ball DA & Miller SD (1992). Weed seedbank response to tillage, herbicides and crop rotation sequence. *Weed Science*, 40, 654-659.
- Lègère A, Stevenson CF and Benoit DL (2011). The Selective Memory of Weed Seedbanks after 18 Years of Conservation tillage. *Weed Science*, 59, 98-106.
- Sonoskie LM, Herms CP and Cardina J (2006). Weed seed bank community composition in a 35-yr-old tillage and rotation experiment. *Weed Science*, 54, 263-273.
- Hernández-Plaza E, Kozak M, Navarrete L and González-Andújar JL (2011). Tillage system did not affect weed diversity in a 23-year experiment in Mediterranean dryland. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 140, 102-105.
- Dorado J, Del Monte JP and López-Fando C (1999). Weed seed bank response to crop rotation and tillage in semiarid agro ecosystems. *Weed Science*, 47, 67-73.

*Summary: The trace in a seed bank of an agricultural soil after 16 years with conservation tillage. Tillage practices cause changes in weed communities in crops and in the seed bank of agricultural soils. Our objective was to compare the influence of conservation tillage and traditional tillage on density and richness of the soil seed bank after 16 years with wheat monoculture. We took soil samples in plots with three tillage systems: traditional, reduced and direct seed, at 3 depths: 0-7cm, 7-15cm and 15-30cm. Our results showed the influence of tillage techniques and depth on density weed seeds present in the plots. Direct seed plots showed the highest density of seeds that was concentrated in the first depth. However, species richness was not affected by tillage, only by the depth.*

**Keywords:** cereal, tillage, weeds, monoculture, wheat.

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

## Respuesta de 39 poblaciones de *Bromus diandrus* de Castilla-León a Broadway y Atlantis, dos herbicidas utilizados para su control en trigo

Iñigo Loureiro, Concepción Escorial, Cristina Chueca

Dpto. Protección Vegetal. INIA. Ctra. La Coruña km. 7,5, 28040-Madrid, <sup>a</sup>chueca@inia.es

**Resumen:** *Atlantis y Broadway son dos herbicidas utilizados en la actualidad para el control de Bromus diandrus en trigo. Se ha estudiado la respuesta a estos herbicidas de 39 poblaciones de B. diandrus recogidas en campos de cereal de Castilla y León en 2012 y de una población INIA que no ha sido expuesta previamente a herbicidas. Los ensayos se realizaron en cámara en condiciones controladas con dos dosis, la dosis normal empleada para su control en campo y la mitad, y 150 plantas por dosis y población. Los resultados muestran variación en la respuesta de las poblaciones de B. diandrus a las dosis empleadas, con porcentajes de peso fresco en relación al testigo de entre 3,1% y 62,8% a dosis normal de Atlantis y de 3,6% a 55,9% para Broadway. Además, hay correlación en la respuesta de las poblaciones a ambos herbicidas. Numerosas poblaciones presentan una resistencia de tipo intermedio para ambos herbicidas.*

**Palabras clave:** Bromo, iodosulfurón-metil sodio + mesosulfurón-metil, piroxsulam + florasulam, control químico.

### 1. INTRODUCCIÓN

A principios de los años ochenta las especies del género *Bromus* se encontraban esporádicamente como adventicias en los campos de trigo y cebada de la región del Duero, siendo *Bromus diandrus* Roth la especie más importante del género en España (García Baudin, 1983; Recasens *et al.*, 1996). Sin embargo, desde hace unos años el nivel de infestación de bromo está aumentando año tras año, estando esta especie presente en un mayor número de campos de cereal y a densidades cada vez más elevadas, convirtiéndose en una mala hierba problemática que puede causar pérdidas en los rendimientos de los cultivos de trigo de hasta el 50% (Gill *et al.*, 1987). Este aumento en su importancia aparece fundamentalmente con la adopción de técnicas culturales de mínimo laboreo y siembra directa que favorecen la proliferación de esta especie (Froud-Williams, 1988), a lo que se une la reducción en la competencia de otras malas hierbas como avenas (*Avena* sp.) o vallicos (*Lolium rigidum* L.) que sí son controladas eficazmente por herbicidas anti-gramíneos selectivos, y el hecho de que es una especie de difícil control con los herbicidas disponibles en cultivos de cereal.

Sólo existen herbicidas eficaces para el control de bromo en trigo, por lo que una forma utilizada para controlar *B. diandrus* es cultivar trigo en vez de cebada y utilizar los herbicidas Atlantis (iodosulfurón-metil sodio + mesosulfurón-metil) y Broadway (piroxsulam + florasulam), eficaces frente a esta mala hierba. Esta situación supone una presión de selección muy alta por lo que existe un grave riesgo de seleccionar poblaciones resistentes de bromo a estos herbicidas. Mientras que el Atlantis es un herbicida que se lleva utilizando unos años para el control de bromo, el Broadway es un herbicida relativamente nuevo.

El objetivo de este trabajo es evaluar la respuesta a estos herbicidas de 39 poblaciones de *B. diandrus* recogidas en 2012 en campos de cereal de Castilla-León.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

En el año 2012 se recogió semilla madura de 39 poblaciones de *B. diandrus* en muestreos de malas hierbas realizados en campos de cereal de diferentes provincias de Castilla-León. Esta semilla se sembró en vasos de plástico de 1 L con una mezcla de mantillo:tierra:arena (1:1:1) con 50 semillas por vaso y tres vasos por dosis de tratamiento y herbicida. Las dosis de Atlantis® (iodosulfurón-metil sodio 0,6 % + mesosulfurón-metil 3%, Bayer) empleadas fueron de 0, 250 y 500 g ha<sup>-1</sup> y las de Broadway® (piroxsulam 6,83% + florasulam 2,28% p/p, Dow AgroSciences) de 0, 138 y 275 g ha<sup>-1</sup>. Las dosis utilizadas corresponden al testigo, a la mitad de la dosis normal aplicada en campo (0,5x), con el fin de detectar variabilidad en la respuesta a herbicidas, y a la dosis normal (1x). Se añadieron los adyuvantes recomendados, el activador Biopower (0,3%) para Atlantis y PG Supermojante (0,2%) para Broadway. En ambos tratamientos se incluyó una población recogida en el INIA que no ha sido previamente expuesta a ningún herbicida. Los tratamientos herbicidas se aplicaron cuando las plantas estaban en 2-3 hojas con un pulverizador automático (Devries Manufacturing, Hollandale, EEUU) equipado con una boquilla plana Teejet 8002-E, calibrado para pulverizar 176 l ha<sup>-1</sup> a 130 kPa. Los ensayos se llevaron a cabo en una cámara de condiciones controladas con 16 h de luz (250-300 µE m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> PAR) a 22±2° C y 8 h de oscuridad a 16±1° C.

Treinta días después de cada tratamiento, se cortó y pesó la parte aérea de las plantas de cada vaso para obtener el parámetro peso fresco. Las poblaciones se clasificaron en relación con su respuesta a cada uno de los herbicidas como resistentes (S) si mostraban un peso fresco inferior al 15% en relación al testigo, con resistencia moderada o intermedia (I) si el peso fresco era de entre el 15 y el 85% y resistentes (R) cuando era superior al 85%.

Los datos de reducción en el peso fresco fueron expresados en porcentajes con respecto al testigo y se realizó la transformación  $\arcsin\sqrt{x/100}$  previa a la realización de los análisis de varianza. Se utilizó el test de Newman Keuls (P=0,05) de comparación de medias. Se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para comprobar la correlación en la respuesta a ambos herbicidas.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se presentan los resultados de la respuesta obtenida para cada población y herbicida a las dos dosis empleadas. Para el Atlantis, el peso fresco (en % testigo) varió entre 5,8 y 65,8% a la mitad de la dosis recomendada en campo (Figura 1a) y entre 3,1 y 62,8 % a la dosis normal (Figura 1b). En el caso de Broadway, estos valores fueron de 4,9% a 72,6% a mitad de la dosis y de 3,6% a 55,9% a la dosis normal.

Las poblaciones que fueron más resistentes a Atlantis, también lo fueron a Broadway (Figura 1), con una correlación para la respuesta de  $r = 0,89$  a la dosis normal de cada herbicida y de  $r = 0,79$  a la mitad de la dosis.

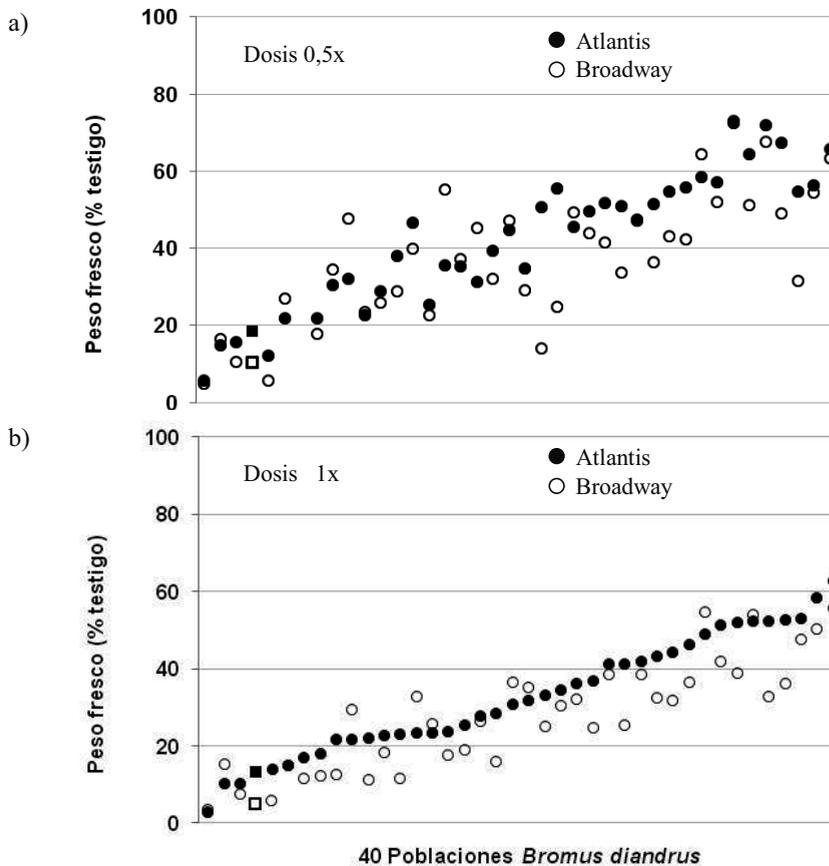


Figura 1. Respuesta de 39 poblaciones de *B. diandrus* de Castilla León y de una población recogida en el INIA a los herbicidas Atlantis (en negro) y Broadway (en blanco). 1a) Dosis mitad de la dosis normal de campo; 1b) Dosis normal ( $275 \text{ g ha}^{-1}$  para Broadway y  $500 \text{ g ha}^{-1}$  para Atlantis). Los círculos representan el peso fresco en relación al testigo. El cuadrado representa la respuesta de la población INIA. Las poblaciones se encuentran ordenadas en función de su respuesta a Atlantis 1x.

La Tabla 1 muestra los resultados del porcentaje de poblaciones de *B. diandrus* que se clasificaron en función de su respuesta en peso como sensibles, con resistencia intermedia y resistentes a los dos herbicidas y a las dosis empleadas. La población recogida en el INIA y sin antecedentes de haber estado en contacto con herbicidas presentaba un peso fresco del 13% del testigo para el tratamiento con la dosis normal de Atlantis, siendo de 5% para el Broadway, y fue clasificada como sensible a ambos herbicidas ( $< 15\%$  del peso fresco del testigo). Aunque no se detectaron poblaciones resistentes, el porcentaje de poblaciones que presentaron resistencia intermedia fue del 72,5% para Broadway y 82,5 % para el Atlantis

cuando se empleaban a la dosis recomendada. Las plantas de estas poblaciones estaban dañadas y habían frenado su desarrollo y crecimiento en relación a sus testigos.

Tabla 1. Porcentaje de poblaciones de *Bromus diandrus* sensibles (S), con resistencia moderada o intermedias (I) y resistentes (R) a cada uno de los herbicidas aplicados. 1x: dosis normal (275 g ha<sup>-1</sup> para Broadway y 500 g ha<sup>-1</sup> para Atlantis).

| Herbicida | Dosis |       |       |       |       |       |
|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|           | 0,5x  |       |       | 1x    |       |       |
|           | S (%) | I (%) | R (%) | S (%) | I (%) | R (%) |
| Atlantis  | 10,0  | 90,0  | 0     | 17,5  | 82,5  | 0     |
| Broadway  | 12,5  | 87,5  | 0     | 27,5  | 72,5  | 0     |

Los herbicidas Atlantis y Broadway para los que se ha evaluado la respuesta de las poblaciones de *B. diandrus*, pertenecen al grupo B, inhibidores de ALS. Mientras que el Atlantis es un herbicida que se lleva utilizando unos años para el control de bromo, el Broadway es un herbicida relativamente nuevo. Ambos herbicidas no han sido utilizados de forma intensa debido a su coste. Tasas elevadas de poblaciones con resistencia intermedia también se han citado para otras poblaciones de *B. diandrus* de Castilla-León tratadas con otro herbicida que pertenece al mismo grupo, el sulfosulfuron (Escorial *et al.*, 2011). Es posible que los niveles de resistencia detectados sean debidos a la selección más intensa con otros herbicidas de tipo sulfonilurea, como clorsulfurón, que sí han sido muy utilizados para el control de gramíneas en cereal. La variación encontrada en los niveles de resistencia parece indicar que ésta se ha desarrollado según la exposición de las poblaciones a los herbicidas. Esta resistencia ya ha sido citada en un biotipo de *B. tectorum*, resistente a sulfosulfuron y que había sido seleccionado con primisulfuron (Mallory-Smith *et al.*, 1999). Owen *et al.*, (2012) han encontrado recientemente en Australia poblaciones de *B. rigidus* con resistencia metabólica a inhibidores de ALS, debido a que una selección continuada enriquece de diferentes alelos de resistencia a las poblaciones e incrementa su nivel general de resistencia.

Para garantizar la sostenibilidad de los herbicidas para el control de *Bromus*, siendo estos tan necesarios como escasos, es necesario realizar todas las acciones posibles. Entre estas acciones se encuentran los muestreos de poblaciones de malas hierbas para el seguimiento de la respuesta a los herbicidas utilizados para su control, puesto que los datos sobre los niveles de variación para la resistencia a herbicidas permitirán predecir el comportamiento futuro de las poblaciones.

#### 4. REFERENCIAS

- Escorial C, Loureiro I, Rodriguez E and Chueca C (2011). Population variability in the response of riggut brome (*Bromus diandrus*) to sulfosulfuron and glyphosate herbicides. *Weed Science* 59, 107-112.
- Froud-Williams RJ (1988). Changes in weed flora with different tillage and agronomic management systems. *Weed Management in Agroecosystems: Ecological Approaches*. Ed. by Altieri MA & Liebman M, pp. 213–236. CRC Press. Boca Raton, FL.
- García-Baudin JM (1983). Malas hierbas gramíneas en los cereales (trigo y cebada) de la región del Duero. Consejo General de Castilla y León: Servicio de Extensión Agraria Boletín de Información nº 9. 16 p.

- Gill GS, Poole ML and Holmes JE (1987). Competition between wheat and brome grass in Western Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 27, 291-294.
- Mallory-Smith C, Hendrickson P and Mueller-Warrant G (1999). Cross-resistance of primisulfuron resistant *Bromus tectorum* L. (downy brome) to sulfosulfuron. *Weed Science* 47, 256-257.
- Owen MJ, Goggin DE and 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.
- Recasens J, Riba F, Izquierdo J, Forn R and Taberner A (1996). Gramíneas infestantes de los cereales de invierno de Cataluña. *I.T.E.A.* 2, 116-130.

Summary: *Response of 39 populations of Bromus diandrus from Castilla-León to Broadway and Atlantis, two herbicides used for its control in wheat.* Broadway and Atlantis are two herbicides used to control *Bromus diandrus* in wheat. The response of 39 populations of *B. diandrus* collected in 2012 in cereal fields of Castilla-León and of one population from INIA that has not been previously exposed to herbicides was studied. The assays were conducted in controlled growth chamber conditions with two doses, the usual dose used for field control and half rate, with 150 plants per dose and population. The results show variation in the response of populations of *B. diandrus* at the employed doses, with fresh weight percentages in relation to untreated plants between 3.1% and 62.8% at Atlantis field dose and between 3.6% and 55.9% for Broadway field dose. There is correlation in the response of the populations to both herbicides. Numerous populations show intermediate resistance to both herbicides.

Keywords: Brome, iodosulfuron-methyl sodium + mesosulfuron-methyl, pyroxsulam + florasulam, chemical control



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**La flora en los márgenes internos no supone una amenaza para los campos colindantes en zonas cerealistas de Aragón**

A. Cirujeda\*<sup>a</sup>, A. Mari\*, S. Murillo\*\*J. Aibar\*\*\*, C. Zaragoza\*

\* Unidad de Sanidad Vegetal, CITA, Avda. Montañana 930, 50018 Zaragoza,  
<sup>a</sup> [acirujeda@aragon.es](mailto:acirujeda@aragon.es)

\*\* Dep. Agricultura, Ganadería y M. Ambiente, Pza. S. P. Nolasco 7, 50071 Zaragoza

\*\*\* EPS. Universidad de Zaragoza, Ctra. de Cuarte, Km 67, 22071 Huesca

*Resumen:* En las áreas cerealistas de Aragón se están aplicando medidas agroambientales. En el presente trabajo se estudia el efecto de la medida “Conservación y creación de márgenes internos de los campos” sobre la flora arvense en 30 márgenes y en sus respectivos campos adyacentes en la provincia de Zaragoza en los años 2011 y 2012. Los resultados muestran una mayor riqueza específica y una mayor cobertura en los márgenes que en los campos. El estudio de las especies más frecuentes y más abundantes, y el análisis canónico de correspondencia de los datos de abundancia muestran que la gran mayoría de especies no coinciden en ambos espacios. Por tanto, la protección de dichos márgenes no supone una amenaza para los campos desde el punto de vista de las malas hierbas y además conlleva un incremento de biodiversidad a escala regional.

Palabras clave: medidas agroambientales, análisis multivariante, linderos, ribazos, biodiversidad vegetal.

## 1. INTRODUCCIÓN

En las áreas cerealistas de Aragón se están aplicando medidas agroambientales determinadas por el Reglamento 1698/2005 del Consejo de 20/09/2005 referente al programa de Desarrollo Rural. En esta comunicación se describe el efecto de la medida “conservación y creación de márgenes internos de los campos” sobre la vegetación arvense. Con esta medida agroambiental los agricultores se comprometen a conservar los márgenes internos de las parcelas ya existentes dispuestos de forma perpendicular a la pendiente de la parcela, y con una longitud mínima de 175 metros lineales por hectárea de cultivo o barbecho que los albergue. En estos márgenes la gestión de la vegetación será mediante pastoreo o siega, estando prohibido el uso del fuego y herbicidas. El objetivo de este trabajo es conocer si la creación y conservación de estos márgenes favorece la biodiversidad vegetal y determinar el posible riesgo de introducción de especies nocivas desde los márgenes a los campos.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Durante abril de 2011 y de 2012 se inventarió la flora en un total de 30 campos y sus márgenes internos en 6 localidades diferentes de Zaragoza acogidas a la medida agroambiental (Leciñena, Botorrita y Velilla de Ebro en 2011 y Pina de Ebro, Monegrillo y Castejón de Monegros en 2012). Para ello se identificaron todas las especies que se encontraron en 3 tramos de 2 metros lineales de cada margen escogidos al azar y las malas hierbas presentes en los campos colindantes en cuadrados de 2 x 2 metros. En campo se determinó la cobertura total y se le adjudicó a cada especie el porcentaje de cobertura que aportaba al total. En gabinete se han obtenido otros datos: 1) datos relativos a la parcela: superficie del campo, pendiente del campo, altitud y 2) datos relativos a los márgenes: número total de márgenes en cada campo, anchura de los márgenes estudiados, orientación de los márgenes estudiados. Se ha utilizado el programa CANOCO 4.5. para realizar análisis

multivariante, en concreto un análisis canónico de correspondencia con los datos de abundancia (CCA) (ter Braaks and Smilauer, 2002).

En las zonas de estudio la presencia de márgenes internos entre parcelas son estructuras tradicionales y muy frecuentes, existiendo la mayoría de ellas desde hace décadas. Cabe tener en cuenta este aspecto para poder comprender los resultados obtenidos en el estudio.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número de especies encontrado en los márgenes fue superior al número de especies encontrado en los campos en todos los casos (Tabla 1). En Leciñena se encontró la menor riqueza de especies y en Velilla de Ebro, la mayor. Dentro de los campos se encontraron entre 3 y 6 especies.

**Tabla 1.** Número de especies vegetales encontradas en los márgenes y en los campos colindantes.

|                      | Número de especies |                  |
|----------------------|--------------------|------------------|
|                      | Margen             | Campo colindante |
| 2011                 |                    |                  |
| Botorrita            | 14 ± 2.1           | 3 ± 0.8          |
| Velilla de Ebro      | 16 ± 3.0           | 4 ± 1.9          |
| Leciñena             | 8 ± 2.1            | 6 ± 1.2          |
| 2012                 |                    |                  |
| Pina de Ebro         | 10 ± 1.1           | 4 ± 0.7          |
| Castejón de Monegros | 13 ± 1.2           | 5 ± 0.7          |
| Monegrillo           | 14 ± 0.9           | 6 ± 0.6          |

La cobertura del suelo en los márgenes fue muy elevada en todos los casos (82-95% en los márgenes) y el porcentaje de suelo cubierto por las malas hierbas en los campos, mucho menor (8-39%). En el conjunto de los dos años se encontraron 146 especies diferentes en los márgenes y 78 en los campos. Las especies más frecuentes encontradas en los márgenes fueron *Salsola vermiculata* y *Phalaris minor*, mientras que en los campos fueron *Lolium rigidum* y *Convolvulus arvensis* (Tabla 2).

**Tabla 2.** Listado de las cinco especies más frecuentes y más abundantes según su cobertura (calculado sobre el número de veces que aparecen) en los márgenes y campos de cultivo adyacentes para los años 2011 y 2012 (%).

| Márgenes | Especies más frecuentes          | Especies más abundantes            |
|----------|----------------------------------|------------------------------------|
|          | <i>Salsola vermiculata</i> (81)  | <i>S. vermiculata</i> (39)         |
|          | <i>Phalaris minor</i> (49)       | <i>Atriplex halimus</i> (37)       |
|          | <i>Bromus diandrus</i> (38)      | <i>Vulpia</i> spp. (34)            |
|          | <i>B. rubens</i> (36)            | <i>L. spartium</i> (27)            |
|          | <i>Lygeum spartium</i> (35)      | <i>Rosmarinum officinalis</i> (22) |
| Campos   |                                  |                                    |
|          | <i>Lolium rigidum</i> (63)       | <i>B. diandrus</i> (12)            |
|          | <i>Convolvulus arvensis</i> (50) | <i>Hirschfeldia incana</i> (10)    |
|          | <i>Diploaxis erucoides</i> (37)  | <i>Vicia</i> spp. (9)              |
|          | <i>Euphorbia serrata</i> (37)    | <i>Descurania sofia</i> (7)        |
|          | <i>Salsola kali</i> (33)         | <i>C. juncea</i> (4)               |
|          | <i>Chondrilla juncea</i> (31)    |                                    |

Los factores incluidos en el análisis canónico de correspondencia se introdujeron por orden de importancia siguiendo el test de permutación de Monte-Carlo y todos fueron significativos. Este modelo fue capaz de explicar el 14.8 % de la variación total. Los resultados del análisis multivariante confirman que la flora en los márgenes y en los cultivos es diferente independientemente de la localidad y del año (Figura 1). La gran mayoría de especies está muy asociada a los márgenes o bien a los cultivos. Hay algunas especies presentes en ambos espacios pero ninguna de ellas ha sido dominante en ambos espacios. *Bromus madritensis* y *Anacyclus clavatus* fueron especies relacionadas con los márgenes pero que aparecieron también en los campos. No obstante, la primera fue encontrada en 42% de los tramos de márgenes estudiados pero sólo en 8% de los campos estudiados con una abundancia del 14% y 12%, respectivamente. *A. clavatus* fue encontrada en 38% de los tramos de márgenes estudiados y en 31% de los campos ocupando en ambos casos un porcentaje de suelo muy bajo (3 y 1% en los márgenes y campos, respectivamente).

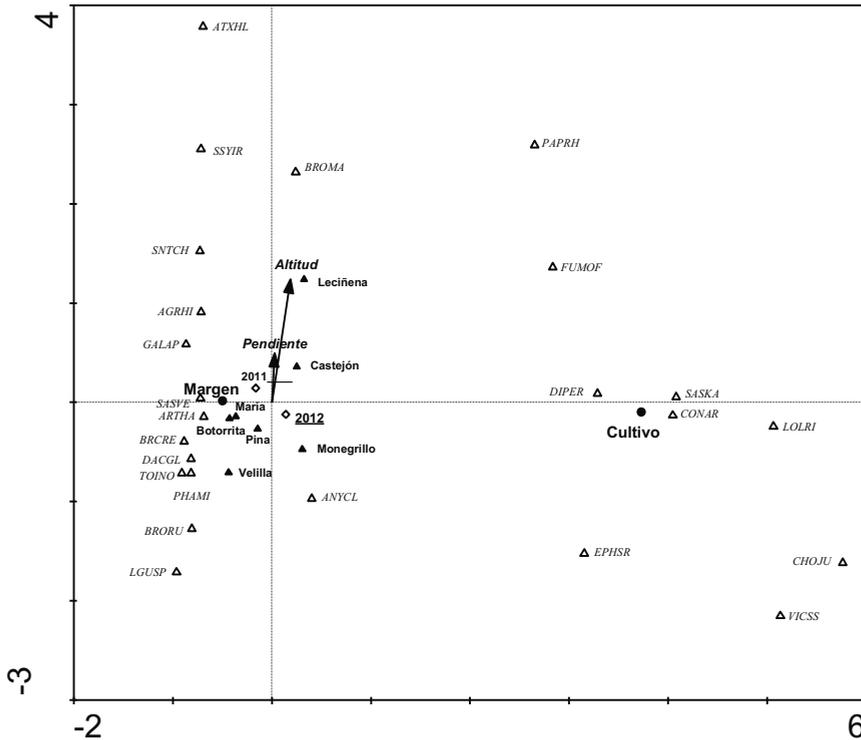
Por otro lado, las especies *Papaver rhoeas*, *Fumaria officinalis*, *Diploaxis eruroides* y *Euphorbia serrata* son especies asociadas a los campos pero que también aparecen en algunos márgenes con valores bajos tanto de frecuencia como de abundancia (datos no presentados). Estos resultados son coherentes con los resultados de Smith *et al.* (1999) en el Reino Unido quienes también encontraron pocas especies coincidentes en los espacios de márgenes y campos.

Estas grandes diferencias en la vegetación son probablemente debidas a dos factores: por un lado las operaciones culturales habituales realizadas en los campos (laboreo, siembra, fertilización) favorecen el desarrollo de especies anuales y muy competitivas como *P. rhoeas* o *L. rigidum* mientras que el no laboreo y la ausencia de fertilizantes aplicados directamente en los márgenes propicia el desarrollo de especies plurianuales climáticas y típicas en las zonas de estudio (descritas en Conesa *et al.*, 2011). Por otro lado, la elevada cobertura del suelo por especies plurianuales (*S. vermiculata*, *L. spartium* etc.) dificulta la emergencia de especies anuales arvenses en los márgenes, pues precisan de un espacio físico para emerger y crecer, que es escaso bajo estos arbustos. También cabe mencionar que la deriva de los herbicidas hormonales aplicados en los campos afecta a la flora de los márgenes seleccionando especies tolerantes a dichos herbicidas.

Los resultados encontrados indican que la flora encontrada en márgenes establecidos y en los campos de cultivo adyacentes es muy diferente, lo cual demuestra que la protección de dichos márgenes no supone una amenaza para los campos desde el punto de vista de las malas hierbas pudiendo ser espacios de importancia ecológica para albergar especies de aves u otros animales como han demostrado otros trabajos (Guerrero *et al.*, 2010).

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este estudio se ha financiado mediante el proyecto AGL2010-22084-C02-02 del Ministerio de Ciencia e Innovación. Agradecemos a los conductores y a Rosario Gurucharri del Dep. de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente su amable disposición y colaboración.



**Figura 1.** Análisis canónico de correspondencia (CCA) en el que se representan las 24 especies de mayor peso relacionadas con los factores encontrados significativos para la distribución de la vegetación. AGRHI: *Agropyron hispidus*, ANYCL: *Anacyclus clavatus*, ARTHA: *Artemisia herba-alba*, ATXHL: *Atriplex halimus*, BRCRE: *Brachypodium retusum*, BRORU: *Bromus rubens*, BROMA: *Bromus madritensis*, CHOJU: *Chondrilla juncea*, CONAR: *Convolvulus arvensis*, DACGL: *Dactylis glomerata*, DIPER: *Diploaxis erucoides*, EPHSR: *Euphorbia serrata*, FUMOF: *Fumaria officinalis*, GALAP: *Galium aparine*, LGUSP: *Lygeum spartium*, LOLRI: *Lolium rigidum*, PAPRH: *Papaver rhoeas*, PHAMI: *Phalaris minor*, SASKA: *Salsola kali*, SASVE: *Salsola vermiculada*, SNTCH: *Santolina chamaecyparissus*, SSYIR: *Sisymbrium irio*, TOINO: *Torilis nodosa*, VICSS: *Vicia* spp.

## 5. REFERENCIAS

- Conesa JA, Castañeda C y Pedrol J (2011). Las saladas de Monegros y su entorno. Hábitats y paisaje vegetal. Consejo de Protección de la Naturaleza e Aragón, Zaragoza, 540 pp.
- ter Braaks CJF y Smilauer P (2002). CANOCO Reference manual and CanoDraw for Windows User's guide: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5.). Microcomputer Power (Ithaca, NY, USA), 500 pp.

Guerrero I, Martínez P, Morales MB y Onate J (2010). Influence of agricultural factors on weed, carabid and bird richness in a Mediterranean cereal cropping system. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 138, 103-108.

Smith H, Firbank LG y Macdonald DW (1999). Uncropped edges of arable fields managed for biodiversity do not increase weed occurrence in adjacent crops. *Biological Conservation*, 89, 107-111.

Summary: *The flora in the intern field margins is not a threat for the adjacent fields from the weed point of view in the cereal cropping region of Aragón. In the cereal growing areas of the Aragón regions (NE Spain) agri-environmental schemes have been applied in the Rural Development Programme. In the present work the effect of the measures “conservation and creation of internal field margins” on weed flora has been studied in 30 field margins and in the adjacent fields in the Zaragoza province in years 2011 and 2012. A higher specific richness and higher soil cover were found in the margins compared to the fields. The study of the most frequent and most abundant species and the canonical correspondence analysis of the abundance data showed that most of the species are not found in both spaces. Therefore, the protection of the field margins is not a threat for the fields from the weed management point of view and moreover increases biodiversity at a regional scale.*

Keywords: agri-environmental schemes, multivariate analysis, boundary, plant biodiversity.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Influencia del tipo y de la profundidad de suelo en la germinación de las semillas y la emergencia de las plántulas de *Digitaria sanguinalis*.**

M.Teresa Mas\*<sup>a</sup>, Antoni M. Verdú\*

\*Departament 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).

<sup>a</sup> [maite.mas@upc.edu](mailto:maite.mas@upc.edu)

**Resumen:** Se han realizado dos experimentos en invernadero con macetas para probar la influencia del tipo y la profundidad de suelo en la germinación de cariósides y la emergencia de plántulas de *Digitaria sanguinalis*. Las cariósides se sembraron a diversas profundidades en substrato comercial y en suelo tipo Inceptisol (junio y setiembre 2012, respectivamente) para realizar el seguimiento de la emergencia de plántulas. En el primer experimento, en las profundidades en las que no se detectaron emergencias, se recolectaron las cariósides con la finalidad de poder diferenciar las germinadas (cariósides vacías) de aquellas que entraron o estaban en latencia. Los resultados más relevantes respecto a la emergencia de plántulas fueron: i) no hubo diferencias significativas de emergencia entre substratos ( $p > 0,05$ ); ii) el valor medio de emergencia decreció significativamente a medida que las cariósides se localizaban a mayor profundidad ( $p < 0,05$ ); iii) se detectaron germinaciones fracasadas. Las profundidades que limitan o impiden emergencia concuerdan con las obtenidas por otros autores. Los valores de porcentaje de germinación fatal (en relación a la capacidad de elongación del mesocótilo) observados representan una contribución interesante para el control de las malas hierbas.

**Palabras clave:** cariósida, mesocótilo, latencia, germinación suicida, garranchuelo.

## 1. INTRODUCCIÓN

La ubicación de las semillas de malas hierbas en el suelo juega un importante papel en la supervivencia de éstas y en la emergencia de las plántulas (Reuss *et al.*, 2001).

*Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. está considerada entre las malas hierbas anuales estivales más cosmopolitas. Se distribuye en las regiones tropicales y templadas y es una maleza problemática en muchos cultivos, en particular en los hortícolas (Aguyoh & Masiunas, 2003). Se propaga fundamentalmente por semillas por lo que la producción de semillas, el elevado nivel de latencia al ingresar en el suelo en el periodo de la lluvia de semillas, y la dinámica del banco de semillas del suelo son claves en la dinámica de estas poblaciones (Gallart *et al.*, 2008; Gallart *et al.*, 2010).

La variabilidad de la microtopografía de la superficie del suelo y de sus primeros centímetros en profundidad condicionan la germinación de las semillas y el establecimiento de las plántulas, ya que aparecen micrositos con diferentes combinaciones de los factores humedad-temperatura-régimen de aireación (Reuss *et al.*, 2001).

Otro factor a considerar es la transmitancia de la luz a través del suelo que depende del tamaño de las partículas, el contenido de humedad, el color y la presencia de materia orgánica (Gulshan & Dasti, 2012). Pons (2000) indica que la respuesta de las semillas a la luz puede

controlar el proceso de germinación en campo, un factor crucial para la supervivencia de las plántulas y el crecimiento en las sucesivas fases del ciclo vital. Este autor apunta que en semillas pequeñas, como es el caso de *D. sanguinalis*, la luz actúa más como señal que como recurso. Las semillas pequeñas presentan embriones que disponen de relativamente pocas reservas para dar soporte a las plántulas que, en caso de estar enterradas, deben alcanzar la superficie del suelo, o de lo contrario, mueren (fatal germination, Davis & Renner, 2007).

El laboreo del suelo permite acercar las semillas a la superficie del suelo y en un entorno favorable que, desde el punto de vista ambiental, puede estimular su germinación. Con el debido conocimiento, prácticas como las de retraso de siembra (stale seedbed) pueden ser útiles para contribuir a reducir el stock de semillas de malas hierbas como *D. sanguinalis* en el banco del suelo (Benvenuti & Macchia, 2006).

El objetivo de esta comunicación es presentar el efecto del tipo de suelo y de la profundidad de enterrado sobre la germinación de las semillas de *D. sanguinalis* y la evolución de las plántulas hasta alcanzar la superficie del suelo.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron dos experimentos en condiciones de invernadero, E1 en junio y E2 en septiembre de 2012. Las cariósides utilizadas formaban parte de un lote recolectado en la finca Torre Marimon (Caldes de Montbui, Barcelona) en setiembre de 2011.

En las macetas de plástico (11.5 cm de diámetro y 10 cm de altura), se colocó una malla en el fondo y se rellenaron, en E1 con sustrato comercial (tierra universal Bauhaus, TU) y en E2 con arena (3cm) y posteriormente suelo agrícola (Inceptisol) procedente de la finca antes mencionada (denominada SIC) tamizado (2mm) y autoclavado. Previo al llenado de las macetas los sustratos se llevaron a saturación con agua destilada.

Para garantizar el nivel de profundidad, se colocaron en las macetas dos mallas cruzadas con un paso inferior a 700 micras. En cada maceta se ubicaron 25 cariósides. Antes de ser colocadas en las macetas, se comprobó el nivel de germinación de cariósides del mismo lote. En el ensayo E1 se sembraron a 6 profundidades (0, 2, 4, 6, 8, y 10 cm) con 12 réplicas por tratamiento. En el ensayo E2, a la vista de los resultados obtenidos en E1 sólo se probaron 3 profundidades (0, 2 y 4 cm) con 20 réplicas por tratamiento. Se siguió la emergencia de las semillas en las macetas de los dos experimentos durante un mes.

En las macetas en las que no se registró ninguna emergencia se recuperaron las cariósides para, una vez en el laboratorio, comprobar su estado. Se separaron y se contabilizaron las cariósides vacías (semillas germinadas que no alcanzaron la superficie del suelo) y las no vacías. Éstas últimas, las cariósides aparentemente normales (con pericarpio), se pusieron a germinar en placa de Petri en condiciones controladas con el fin de evaluar el nivel de latencia que presentaban; en los ensayos de germinación se siguió el procedimiento descrito por Gallart *et al.* (2008).

Con una muestra de de 125 cariósides del mismo lote se realizó una prueba para estimar la longitud del mesocótilo de las plántulas. Se utilizó la metodología señalada, pero en esta ocasión las placas de Petri se humedecieron con una solución mineral completa para plantas (Arnon & Hoagland, 1940). Una vez germinadas se pasaron a régimen de total oscuridad

(envolviendo las placas con papel de aluminio) y se dejaron 168 horas en la cámara. La longitud del mesocótilo se midió bajo una lupa (3x).

Para el análisis de la varianza de los datos seguido del test Tukey de separación de medias se utilizó el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., 1999). Previo a realizar el análisis, los datos fueron transformados con la función arcoseno.

Se calculó una regresión polinómica para ajustar el nivel de inhibición en la emergencia de plántulas al incrementar la profundidad de enterrado en el suelo (Benvenuti *et al.*, 2001).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los dos experimentos y en el conjunto de profundidades ensayadas, los niveles de emergencia de plántulas no superaron el 43% (0 – 42,2%).

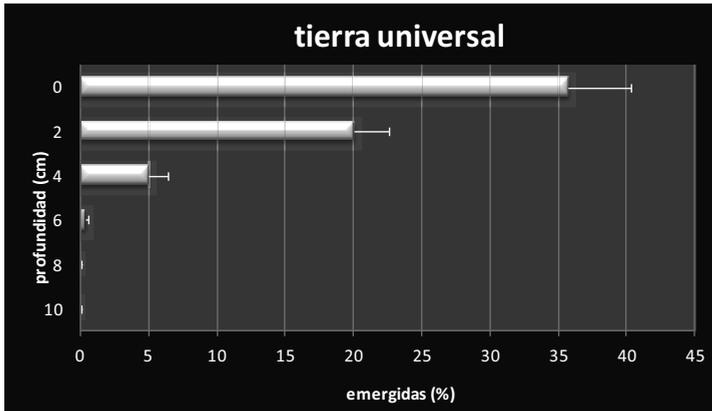
En la Figura 1 se muestran los resultados del nivel de emergencia de plántulas de *D. sanguinalis* en función de la profundidad a la que fueron enterradas. En ambos medios (TU y SIC), este nivel decreció al incrementar la profundidad. En TU, donde se probó un rango de 0 a 10 cm, la profundidad que representa el límite de inhibición para emerger se situó por debajo de 6 cm. Benvenuti *et al.* (2001) observaron unos resultados similares para *D. sanguinalis*, aunque no iguales, ya que no utilizaron la misma metodología.

Combinando los resultados obtenidos en los dos experimentos con tres profundidades: 0, 2 y 4 cm, el análisis de la varianza no detectó diferencias significativas en el nivel de emergencias entre los substratos TU y SIC ( $p > 0,05$ ). En cambio sí se detectaron diferencias significativas entre los niveles de emergencia registrados en las tres profundidades ( $p < 0,05$ ).

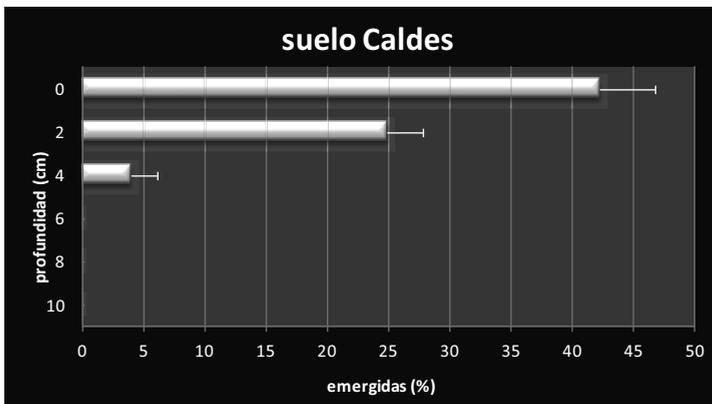
La regresión polinómica permitió estimar que a una profundidad de 2,1 cm la inhibición que comporta ese grosor de suelo es capaz de reducir la emergencia en un 50%. Benvenuti *et al.* (2001) obtuvieron una estimación de 4,1 cm en un suelo Xerofluent para ese mismo porcentaje de reducción.

En E1 y en las profundidades 8 y 10 cm se registraron unos valores medios del 17,6% y del 20,7% de carióspsides vacías. Estos resultados ponen de manifiesto que a estas profundidades hay semillas que germinan y las plántulas no pueden alcanzar la superficie (Figura 2). Además se comprobó que, por término medio, el 77,3% (8 cm) y el 68,3% (10 cm) de las carióspsides con pericarpio entraron en latencia en el periodo de tiempo que duró el experimento. El análisis de la varianza no detectó diferencias significativas desde el punto de vista estadístico entre los valores medios mencionados ( $p > 0,05$ ).

En la prueba para comprobar la capacidad de elongación del mesocótilo se observó que las plántulas, al cabo de 168 horas de haber germinado y de haberse desarrollado en régimen de oscuridad y en un medio enriquecido con nutrientes, presentaban una longitud media de 36.3 mm (error estándar 1.1; 123 plántulas). Los valores mínimos y máximos registrados fueron 9 y 60 mm, respectivamente. Parecería que la longitud del mesocótilo, el órgano que actúa como lanzadera para trasladar al coleóptilo hacia la superficie del suelo, tiene una longitud variable (el tamaño de la semilla es un factor decisivo) pero limitada. El valor máximo en el rango observado pondría de manifiesto que, si las carióspsides se encontraran enterradas a profundidades por debajo de los 6 cm y germinaran no alcanzarían la superficie del suelo resultando en una germinación fatal.



1A



1B

Figura 1. Emergencia de plántulas de *Digitaria sanguinalis* situadas a diversas profundidades de la superficie, utilizando en 1A un sustrato comercial (tierra universal Bauhaus) y en 1B suelo Inceptisol de Caldes de Montbui (Barcelona).

En la prueba para comprobar la capacidad de elongación del mesocótilo se observó que las plántulas, al cabo de 168 horas de haber germinado y de haberse desarrollado en régimen de oscuridad y en un medio enriquecido con nutrientes, presentaban una longitud media de 36.3 mm (error estándar 1.1; 123 plántulas). Los valores mínimos y máximos registrados fueron 9 y 60 mm, respectivamente. Parecería que la longitud del mesocótilo, el órgano que actúa como lanzadera para trasladar al coleótilo hacia la superficie del suelo, tiene una longitud variable (el tamaño de la semilla es un factor decisivo) pero limitada. El valor máximo en el rango observado pondría de manifiesto que, si las carióspsides se encontraran enterradas a profundidades por debajo de los 6 cm y germinaran no alcanzarían la superficie del suelo resultando en una germinación fatal.

Los resultados obtenidos pueden ser de interés desde el punto de vista del control de malezas. Benvenuti & Macchia (2006) observaron una reducción (37,2%) del banco de semillas del suelo (0-10 cm) de *D. sanguinalis* cuando ensayaron una técnica de retraso de siembra consistente en un trabajo del suelo con cultivador (mensual) y riego semanal en un periodo de 4 meses (abril-septiembre).

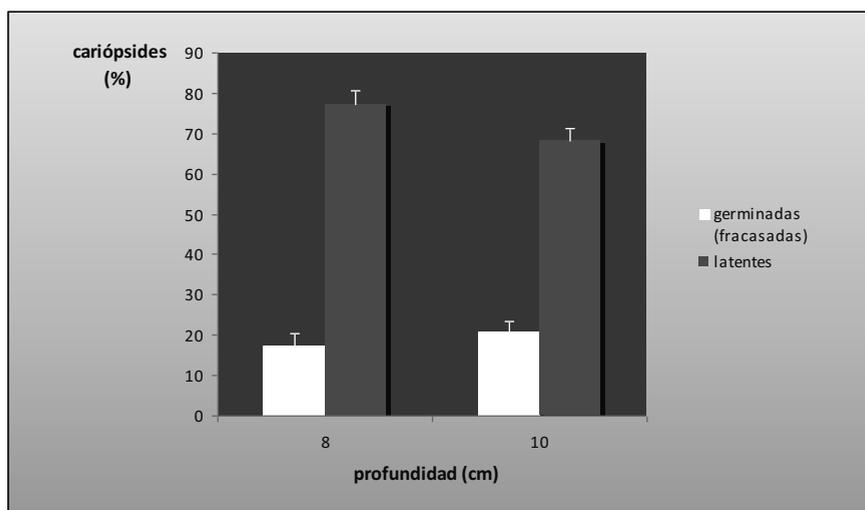


Figura 2. Niveles de germinación fatal, y de latencia en las cariópsides de *Digitaria sanguinalis* enterradas en un sustrato Tierra Universal a 8 y 10 cm de profundidad.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha contado con la asistencia técnica de Maria Julià y Sheila Alcalá. Nuestro agradecimiento al Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA) por facilitar nos la recolección de muestras de suelo y de semillas en Torre Marimon (Caldes de Montbui).

#### 5. REFERENCIAS

- Agyuoh JN & Masiunas JB (2003). Interference of large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*) with snap beans. *Weed Science*, 51, 171–176.
- Arnon DI & Hoagland DR (1940). Crop production in artificial solutions and in soils with special reference to factors affecting yields and absorption of inorganic nutrients. *Soil Science*, 50, 463–484.
- Benvenuti S, Macchia M and Miele S (2001). Quantitative analysis of emergence of seedlings from buried weed seeds with increasing soil depth. *Weed Science*, 49, 528-535.
- Benvenuti S, Macchia M (2006). Seedbank reduction after different stale seedbed techniques in organic agricultural systems. *Ital. J. Agron. / Riv. Agron*, 1, 11-21.
- Davis AS & Renner KA (2007). Influence of seed depth and pathogens on fatal germination of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) and giant foxtail (*Setaria faberi*). *Weed Science*, 55, 30-35.
- 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 (2010). Demography of *Digitaria sanguinalis*: Effect of the emergence time on survival, reproduction, and biomass. *Weed Biology and Management*, 10, 132–140.

- Gulshan AB & Dasti AA (2012). Role of soil texture and depths on the emergence of buried weed seeds. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 7(4), 223-228.
- Pons TL (2000). Seed responses to light. *Seeds. The ecology of regeneration in plant communities* (2nd edition). Ed. by Fenner M, pp. 237-260. CABI Publishing.
- Reuss SA, Buhler DD and Gunsolus JL (2001). Effects of soil depth and aggregate size on weed seed distribution and viability in a silt loam soil. *Applied Soil Ecology*, 16, 209–217.
- SAS Institute Inc. (1999). *SAS OnlineDoc®*, Version 8. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.

Summary: Influence of soil type and depths on the seed germination and seedling emergence of *Digitaria sanguinalis*. Two glasshouse pot experiments (E1, June 2012; E2 September 2012) were performed to test the effects of soil type and soil depth on the seed germination and seedling emergence of *D. sanguinalis*. Caryopses were sown at several depths in a substrate (E1) and in an Inceptisol soil (E2). In E1, caryopses were collected in pots where any seedling emergence was observed, to differentiate the empty ones (germinated and failed to reach soil surface) from those that were dormant. The most relevant results showed that: i) there were no significant differences between substrates ( $p > 0.05$ ); ii) emergence significantly decreased with increasing burial depth ( $p < 0.05$ ); fatal germination was detected. The obtained burial depth that limits or prevents seedling emergences is in agreement with that observed by other authors. The results of unsuccessful germination (related with the capacity of mesocotyle elongation) represent an interesting contribution from the point of view of weed control.

Keywords: caryopsis, mesocotyle, dormancy, unsuccessful germination, fatal germination, large crabgrass.

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

### **Factores asociados al anidamiento existente en las comunidades ruderales de márgenes de cultivo en Andalucía**

M.López \*, A.Pujadas-Salvá\*\*, J.L. González\*, F.Bastida\*\*\*, E.Hernández\*<sup>a</sup>

\*Instituto de Agricultura Sostenible (IAS-CSIC), Apdo 4084, 14080-Córdoba  
<sup>a</sup>[mehernan@ias.csic.es](mailto:mehernan@ias.csic.es)

\*\*Universidad de Córdoba, Apdo 14071-Córdoba

\*\*\* Universidad de Huelva, 21819, Palos de la Frontera, Huelva

***Resumen:** Las comunidades ruderales de 74 márgenes de cultivo muestreados en el Valle del Guadalquivir muestran un grado de anidamiento significativamente mayor que el esperado por azar. Esto implica que los márgenes más pobres en especies son un subconjunto ordenado de aquellos más ricos, y que las comunidades más depauperadas están constituidas preferentemente por las especies más frecuentes en la zona. Se analizaron tres factores como posibles responsables del patrón de anidamiento observado: la diversidad del paisaje alrededor de cada margen, la anchura del margen y las características físico-químicas del suelo. En todos los casos, el paisaje que rodeaba los márgenes estudiados era bastante homogéneo, configurado mayormente por otros campos de cereal. Esto pudo determinar la ausencia de relación entre la diversidad del paisaje y el patrón de anidamiento de los márgenes. A excepción del potasio ninguna de las características físico-químicas analizadas mostró una relación con el patrón de anidamiento de los márgenes. En concreto, los márgenes con menor contenido en potasio fueron aquellos con un mayor número de especies menos frecuentes. Finalmente, encontramos que el ordenamiento de los márgenes se relacionó con su anchura, siendo los márgenes más anchos aquellos constituidos tanto por especies comunes a todos los márgenes muestreados como por las especies más raras.*

**Palabras clave:** patrón anidado, NODF, diversidad del paisaje, anchura del margen.

## **1. INTRODUCCIÓN**

Los márgenes de cultivo o linderos son franjas de vegetación que bordean los campos de cultivo y que les separan de los elementos adyacentes del paisaje. La vegetación de los márgenes de los cultivos está constituida por especies ruderales, aquellas que aparecen en hábitats muy alterados por la actividad humana. Una buena parte de este conjunto de plantas coincide con la flora arvensis, es decir, plantas que aparecen de forma espontánea en los campos de cultivo. En función de la composición de especies, el manejo al que es sometido y el paisaje en el que se encuentra, los márgenes de cultivo pueden representar hábitats muy importantes para las poblaciones de aves, mamíferos y diversas especies de artrópodos (Guerrero *et al.*, 2010; Butet *et al.*, 2006; Vickery *et al.*, 2009; Ekroos *et al.*, 2008; Kells *et al.*, 2001).

La intensificación de la agricultura convencional, tanto a escala de parcela como a escala de paisaje (Tscharntke *et al.*, 2012) ha afectado a estos hábitats, simplificando su estructura y reduciendo su diversidad (José-María *et al.*, 2010). A escala de paisaje la intensificación agrícola ha conllevado la agregación de campos de cultivo, la reducción en tamaño y superficie de muchos de los márgenes existentes y ha dado lugar a paisajes simples formados casi exclusivamente por áreas cultivadas, donde los elementos naturales o semi-naturales son prácticamente inexistentes (Tscharntke *et al.*, 2005). A escala de campo o de parcela la intensificación viene dada por las prácticas de manejo. En el caso de los márgenes, la

reducción en la anchura de los mismos como consecuencia del laboreo en la zona o su perturbación por la aplicación de herbicidas, puede dar lugar a una disminución significativa en la abundancia y riqueza de las especies vegetales contenidas en ellos (Tarmi *et al.*, 2009; Kleijn & Verbeek, 2000).

Las diferencias en la intensificación a escala de paisaje o de parcela en una región, pueden ser mecanismos que determinen la aparición de patrones anidados en las comunidades de especies ruderales de los márgenes de cultivo. Este tipo de patrones implica que las comunidades más pobres en especies representan un subconjunto de las más diversas, y que las especies menos frecuentes y las comunes no se estructuran de manera diferencial en diferentes comunidades, sino que las especies menos frecuentes sólo aparecen en aquellas comunidades donde hay también especies comunes (Atmar & Patterson, 1993; Wright *et al.*, 1998; Ulrich *et al.*, 2009). Los patrones anidados implican necesariamente diferencias entre ensamblajes en la riqueza de especies así como diferencias en la frecuencia de aparición de las especies a lo largo del espacio.

La intensificación agrícola a escala de paisaje y de parcela se relacionan con algunos de los factores que se han propuesto en la literatura como responsables de los patrones anidados en las comunidades: la colonización selectiva, el anidamiento del hábitat y la tolerancia ambiental selectiva (Ulrich *et al.*, 2009). La diversidad del paisaje puede condicionar una colonización selectiva de las comunidades ruderales de los márgenes de cultivo. Una mayor diversidad de paisaje incrementa las probabilidades de colonización del margen por un mayor número de especies (Gabriel *et al.*, 2005). Por otra parte, diferencias en las condiciones ambientales del hábitat y en la tolerancia de las especies a las mismas, pueden determinar la ocupación diferencial de los márgenes y un patrón de anidamiento a lo largo del espacio. En otros estudios en otras regiones se ha encontrado una relación positiva entre la anchura del margen y la riqueza de especies vegetales (Deckers *et al.*, 2004), posiblemente por una menor influencia sobre el margen de las perturbaciones derivadas del manejo agrícola. También es posible que los márgenes más anchos aparezcan en campos donde la gestión por parte de los agricultores no sea muy intensiva y permita el establecimiento de una buena cobertura vegetal en el margen del cultivo.

En este trabajo 1) analizamos la existencia de un patrón anidado en las comunidades ruderales de 74 márgenes de cultivos de cereal del Valle del Guadalquivir 2) y la relación entre este patrón y la diversidad del paisaje, el grado de perturbación al que está sometido el margen (medido como anchura del margen) y las condiciones ambientales del mismo (medido como características físico-químicas del suelo).

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. Zona de estudio.

En Mayo de 2009 se seleccionaron 74 campos de cultivo de cereal (72 de trigo, 2 de cebada y 1 de avena) a lo largo del Valle del Guadalquivir: 39 campos situados en la provincia de Sevilla, 19 en Córdoba, 6 en Huelva, 5 en Cádiz y 5 en Jaén. La elección de los campos pretendía reflejar la variabilidad existente en los campos de cereal en la zona. En cada campo de cultivo se seleccionó el margen adyacente a un camino.

### 2.2. Variables registradas.

En cada margen se seleccionaron 20 metros donde se registró la presencia de especies ruderales. Se midió la anchura del margen y se clasificó como grande ( $> 2$  metro), mediana (2 metro-1 metros) y pequeña ( $< 1$  metros). A lo largo de los 20 metros se tomaron tres muestras de suelo de unos 500g cada una hasta una profundidad de 20 cm. Las tres muestras se homogeneizaron y se utilizaron para determinar variables indicativas de la estructura y las características químicas del suelo: el contenido en materia orgánica, nitrógeno, fósforo y potasio y los porcentajes de arcilla, arena y limo. Finalmente, se anotaron las coordenadas de cada margen con el uso de un GPS. Cada margen se localizó en el SIGPAC (Sistema de Información Geográfica de Parcelas Agrícolas) y se determinó la diversidad del paisaje circundante. Para ello se registró la superficie ocupada por tierra arable, olivar, cítricos, pasto, bosques y otros usos del suelo, dentro de una circunferencia de 500 metros de radio centrada en cada margen seleccionado. Los porcentajes de uso del suelo obtenidos se utilizaron para calcular el índice de diversidad de Shannon como medida de diversidad del paisaje ( $H'$ paisaje). El índice de Shannon se calculó como  $H' = -\sum p_i \ln p_i$  siendo  $p_i$  la proporción de superficie ocupada por cada uno de los usos de suelo definidos previamente.

### 2.3. Métodos numéricos y análisis estadísticos.

El grado de anidamiento de las comunidades de plantas ruderales en los márgenes de cultivo seleccionados se calculó mediante la métrica NODF (Almeida-Neto *et al.*, 2008) dentro del software Aninhado (Guimarães & Guimarães (2006)). A partir de nuestra matriz de presencia de especies en cada comunidad, Aninhado construye una matriz de unos y ceros (presencias-ausencias). En nuestro caso, las 74 filas de la matriz se correspondían a cada uno de los márgenes, mientras que las columnas se correspondían con el total de especies encontradas en los mismos. La forma más ordenada de esta matriz permite obtener un ranking de los márgenes, así como el grado de anidamiento de la matriz dado por la métrica NODF (0, matriz no anidada -100, matriz perfectamente anidada). Además Aninhado permite determinar si el grado de anidamiento encontrado difiere del que podría producirse por azar, comparando la máxima ordenación de la matriz con la que se obtendría a partir de dos modelos nulos: Er y Ce. En el modelo aleatorio absoluto (Er) las presencias son asignadas al azar a cualquier celda dentro de la matriz (el conjunto de los márgenes de muestreo), mientras que en el modelo de probabilidad fila-columna (Ce) las presencias se asignan en cada celda en función del grado de ocupación de la fila y la columna en que la celda se sitúa.

Para determinar si la diversidad del paisaje, las características físico-químicas del suelo o la anchura del margen eran responsables del patrón de anidamiento observado, se relacionaron estas variables con el ranking de los márgenes obtenido de la ordenación de la matriz. Se realizaron correlaciones de rango de Spearman entre el ranking de los márgenes, el índice de diversidad del paisaje ( $H'$ paisaje) y cada una de las variables de contenido en nutrientes y textura del suelo. La relación entre el ranking de los márgenes y su anchura se analizó mediante un test de Kruskal-Wallis.

Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el software R. versión 2.15.2 (R Development Team 2012).

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se registraron 236 especies en el conjunto de los 74 márgenes muestreados. Las familias con mayor número de especies fueron las compuestas (23% de las especies) y las gramíneas (15 % de las especies). Sólo 5 especies fueron encontradas en más de la mitad de los

márgenes: *Lolium rigidum* (66% de los márgenes), *Avena sterilis* (55% de los márgenes), *Bromus matritensis* (54%) y *Hordeum murinum* (también en el 54% de los márgenes). Un total de 177 especies estuvieron presentes en menos del 10% de los márgenes. Entre estas, 80 especies, tales como, *Carduncellus caeruleus*, *Centaurea calcitrapa*, *Conium maculatum*, *Cynara cardunculus*, *Datura stramonium*, *Parapholis incurva*,... especies típicamente ruderales, u *Osyris alba* y *Teucrium capitatum*, especies que no suelen encontrarse en ámbitos ruderales, fueron registradas en sólo uno de los márgenes muestreados. Esto muestra la gran diversidad de especies existentes en los márgenes de cultivo.

Las comunidades de especies presentes en el conjunto de los 74 márgenes estudiados presentan un cierto anidamiento y éste es significativamente mayor que el esperable por azar ( $NODF_{DATOS} = 19,7$ ;  $NODF_{E_r} = 9,8$   $p < 0,0001$ ;  $NODF_{C_e} = 12,9$   $p < 0,0001$ ). Este resultado indica que las especies que habitan los márgenes de escasa riqueza representan un subconjunto de aquellas que aparecen en los márgenes más ricos. Es decir, los márgenes pobres en especies contendrán preferentemente especies comunes. El incremento en especies viene dado de manera ordenada, de forma que sólo los márgenes más ricos contendrán las especies menos frecuentes. Este ordenamiento puede verse como un ranking de los márgenes estudiados. Los márgenes que ocupan las primeras posiciones en el ranking son aquellos más ricos en especies (con especies comunes y raras), mientras que los márgenes que ocupan las últimas posiciones son aquellos con menor número de especies y donde sólo aparecen las especies comunes.

En cuanto a las características de los márgenes, 18 de estos tenían una anchura mayor a 2 metros, mientras que 32 eran márgenes estrechos (anchura menor a 1 metro). El paisaje circundante a los márgenes estudiados era bastante homogéneo (tabla 1) y la diversidad del mismo ( $H'$  paisaje) estaba dada fundamentalmente por la presencia de otros cultivos. Los valores medios encontrados en el conjunto de los 74 márgenes para las variables de suelo analizadas se recogen en la tabla 1.

Tabla 1. Valor medio y valores máximo y mínimo (entre paréntesis) de las variables analizadas como posibles determinantes de la distribución anidada de las comunidades ruderales en los 74 márgenes estudiados.

| <b>H'</b><br><b>Paisaje</b> | <b>P</b><br><b>(ppm)</b> | <b>M.org.</b><br><b>(%)</b> | <b>N.org.</b><br><b>(%)</b> | <b>K</b><br><b>(ppm)</b> | <b>Arcilla</b><br><b>(%)</b> | <b>Arena</b><br><b>(%)</b> | <b>Limo</b><br><b>(%)</b> |
|-----------------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------------|----------------------------|---------------------------|
| 0,36<br>(1,1-0)             | 18,75<br>(64,7 -3,7)     | 1,78<br>(4,1-0,2)           | 0,10<br>(0,2-0)             | 482,07<br>(1360-27,5)    | 32,55<br>(55,8-9,6)          | 39,01<br>(76,3-14,3)       | 28,44<br>(45,8-7,5)       |

$H'$  paisaje representa la diversidad del paisaje y M.org. y N.org. expresan la cantidad de materia orgánica y de nitrógeno orgánico contenido en el suelo de los márgenes estudiados.

Nuestros resultados muestran que no existe una relación entre el ranking de ordenación de los márgenes y la diversidad del paisaje ( $H'$  paisaje; tabla 2). Esto sugiere que en nuestro caso la colonización selectiva no parece ser un factor que explique el patrón de anidamiento observado en las comunidades de especies ruderales de los márgenes analizados. La ausencia de relación entre la diversidad del paisaje, como indicadora del mayor o menor grado de aislamiento de la comunidad respecto a otras fuentes de diversidad, y el ranking de los márgenes podría venir dada por la escasa diversidad del paisaje en la zona de estudio. Aproximadamente un 80% de los márgenes estudiados estaban rodeados mayoritariamente por otros campos de cereales. Y aquellos márgenes situados en zonas con mayor diversidad de paisaje, ésta venía determinada sobre todo por la presencia de otros cultivos,

fundamentalmente campos de olivo, y no por zonas naturales o semi-naturales. A excepción del contenido en potasio del suelo, ninguna de las variables físico-químicas se correlacionó con el ranking de los márgenes ( $r_s \leq |0,15|$  en todos los casos; tabla 2). El contenido en potasio del suelo se correlacionó positivamente con el ordenamiento de los márgenes ( $r_s=0,32$ ; tabla 2). Es decir, los márgenes con menor contenido en potasio fueron aquellos con un mayor número de especies menos frecuentes. Es posible que otras características físico-químicas del suelo no analizadas en este trabajo puedan ser de importancia para explicar el patrón de anidamiento encontrado. Finalmente, este patrón de anidamiento se relacionó con la anchura del margen (Kruskal-Wallis=30,2,  $p<0,0001$ ). Es decir, existe una ocupación ordenada de los márgenes en función de su tamaño. Los márgenes más anchos son los más ricos en especies, albergando no sólo aquellas especies comunes a la mayor parte de los márgenes, sino también aquellas menos frecuentes.

Tabla 2. Valores de correlación de Spearman obtenidos entre el orden de los márgenes y las variables estudiadas.

|                         | H' paisaje | P (ppm) | M.org (%) | N.org (%) | K (ppm)      | Arcilla (%) | Arena (%) | Limo (%) |
|-------------------------|------------|---------|-----------|-----------|--------------|-------------|-----------|----------|
| <b>Ranking márgenes</b> | -0,10      | 0,0     | 0,06      | 0,14      | <b>0,32*</b> | 0,12        | -0,10     | 0,0      |

Las variables se corresponden con las indicadas en la tabla 1.\* indica  $p<0,01$

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Plan Nacional I+D+I y fondos FEDER: proyecto AGL2009-7883.

#### 5. REFERENCIAS

- Almeida-Neto M, Guimarães P, Guimarães PR, Loyola RD and Ulrich W (2008). A consistent metric for nestedness analysis in ecological systems: reconciling concept and measurement. *Oikos*, 117, 1227-1239.
- Atmar W & Patterson BD (1993). The measure of order and disorder in the distribution of species in fragmented habitat. *Oecologia*, 96, 373-382.
- Butet A, Paillat G and Delettre Y (2006). Seasonal changes in small mammal assemblages from field boundaries in an agricultural landscape of western France. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 113, 364-369.
- Deckers B, Hermy M and Muys B (2004). Factors affecting plant species composition of hedgerows: relative importance and hierarchy. *Acta Oecologica*, 26, 23-37.
- Ekroos J, Piha M and Tiainen J (2008). Role of organic and conventional field boundaries on boreal bumblebees and butterflies. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 124, 155-159.
- Gabriel D, Thies C and Tschamtkte T (2005). Local diversity of arable weeds increases with landscape complexity. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 7 (2), 85-93.
- Guerrero I, Martínez P, Morales MB and Oñate JJ (2010). Influence of agricultural factors on weed, carabid and bird richness in a Mediterranean cereal cropping system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 138, 103-108.
- Guimarães PR & Guimarães P (2006). Improving the analyses of nestedness for large sets of matrices. *Environmental Modelling and Software*, 21, 1512-1513.

- Jose-Maria L, Armengot L, Blanco-Moreno JM, Bassa M and Sans FX (2010). Effects of agricultural intensification on plant diversity in Mediterranean dryland cereal fields. *Journal of Applied Ecology*, 47, 832-840.
- Kells AR, Holland JM and Goulson D (2001). The value of uncropped field margins for foraging bumblebees. *Journal of Insect Conservation*, 5, 283-291.
- Kleijn D & Verbeek M (2000). Factors affecting the species composition of arable field boundary vegetation. *Journal of Applied Ecology*, 37, 256-266.
- R Development Core Team (2010). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, URL <http://www.Rproject.org/>.
- SIGPAC (Sistema de Información Geográfica de Parcelas Agrícolas) <http://sigpac.es/feqa/visor>
- Tarmi S, Helenius J and Hyvönen T (2009). Importance of edaphic, spatial, and management factors for plant communities of field boundaries. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 131, 201-206.
- Tscharntke T, Clough Y, Wanger TC, Jackson L, Motzke I, Perfecto I, Vandermeer J and Whitbread A (2012). Global food security, biodiversity conservation and the future of agricultural intensification. *Biological Conservation*, 151, 53-59.
- Tscharntke T, Klein AM, Kruess A, Steffan-Dewenter I and Thies C (2005). Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity-ecosystem service management. *Ecology Letters*, 8 (8), 857-874.
- Ulrich W, Almeida-Neto M and Gotelli NJ (2009). A consumer's guide to nestedness analysis. *Oikos*, 118, 3-17.
- Vickery JA, Feber RE and Fuller RJ (2009). Arable field margins managed for biodiversity conservation: A review of food resource provision for farmland birds. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 133, 1-13.
- Wright DH, Patterson BD, Mikkelsen GM, Cutler A and Atmar W (1998). A comparative analysis of nested subset patterns of species composition. *Oecologia*, 113, 1-20.

Factors related to nestedness in ruderal communities of field boundaries in Andalusia.

Summary: We found a nested pattern on ruderal communities from 74 crop boundaries in the Valle del Guadalquivir, Andalusia. A nested pattern implies that boundaries with less species are an ordered subset of those boundaries with higher number of species, and that depauperated ruderal communities are mostly constituted by the most frequent species in the area. The width of the boundary, the soil characteristics and the heterogeneity of the landscape around each boundary were analyzed as explanatory factors of the observed nested pattern. Most of the analyzed boundaries were embedded in a fairly homogeneous landscape, consisting mostly of other cereal fields. This could determine the absence of a relationship between landscape heterogeneity and the observed nested pattern. None of the analyzed soil physico-chemical properties were related to the nested pattern, except potassium. Specifically, boundaries with lower potassium content were those with a higher number of rare species. Finally, we observed that the order of the boundaries was related to their width, with wider boundaries constituted by the common species as well as by the rarest species in the boundaries considered.

Keywords: nested pattern, NODF, landscape heterogeneity, boundary width.

---

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Viabilidad y emergencia de diferentes especies mesícolas en regresión**

E. Edo-Tena <sup>a</sup>, N. Moix, L. Mateu, A. Baños, M. Julià, A. Royo-Esnal, J. Torra, J. Recasens  
Grupo de Malherbología. Dpt. HBJ. ETSEA - Agrotecnio. <sup>a</sup>[evaedotena@hbj.udl.cat](mailto:evaedotena@hbj.udl.cat)  
Universitat de Lleida. Av. Rovira Roure 191, 25198-Lleida

*Resumen:* La intensificación de los sistemas cerealistas ha comportado un gran declive de la diversidad de flora mesícola. Las causas de esta erosión genética pueden residir en una baja viabilidad de las semillas recién formadas o en unas reducidas tasas de germinación, emergencia y/o persistencia de las semillas en el suelo. Al realizar el análisis de viabilidad de las semillas de diferentes especies mesícolas, mediante el test de tetrazolio, se observaron valores superiores al 60%, pero en cambio, en cuanto a su emergencia en campo, se obtuvieron valores relativamente bajos, inferior a 40%, para la mayoría de ellas. Estos resultados nos permiten deducir que una de las causas de esta pérdida de diversidad debe encontrarse en la baja persistencia y emergencia de las semillas en el suelo y en la dificultad de establecer una recarga del banco de semillas.

**Palabras clave:** cereales de invierno, germinación, especies segetales, test de tetrazolio, persistencia de semillas.

## 1. INTRODUCCIÓN

Varias especies de las denominadas mesícolas (aquéllas que crecen de forma exclusiva en campos de cereal, las mieses) se encuentran en clara regresión debido a su menor adaptación a la intensificación agrícola. No obstante, existe un interés creciente por su estudio por estar asociada su presencia a un buen equilibrio ecológico, un manejo sostenible del sistema e incluso como indicador de una mayor diversidad biológica (Storkey & Westbury, 2007). Como estas especies no pueden habitar en ningún otro medio que los cultivos cerealistas, su supervivencia está íntimamente ligada al manejo de estos sistemas agrícolas.

Aparte de causas de tipo cultural (alta sensibilidad a herbicidas y a niveles de fertilización inorgánica del suelo) pueden ser también determinantes en su reducción poblacional, características de índole biológica. Entre estas últimas podría tener cierta significación una baja viabilidad de semillas recién formadas, unas tasas de germinación y emergencia reducidas y/o una baja persistencia de las semillas en el suelo. Sin embargo no existen estudios que verifiquen esta hipótesis. Con este objetivo se ha planteado un estudio con 24 especies que en la actualidad podemos considerar de frecuencia rara o muy rara en nuestros campos de cereal con el fin de verificar si existe algún patrón en el comportamiento biológico de las semillas que permita dar respuesta a esa regresión.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. Recolección de semillas

Durante los meses de junio, julio y agosto de 2011 se recogieron semillas de 24 especies mesícolas cuya presencia y distribución podemos considerar en regresión en distintas zonas geográficas de Aragón y Cataluña (Cirujeda *et al.*, 2011). En estas dos regiones geográficas se recolectaron las especies mesícolas necesarias para el ensayo, *Adonis aestivalis*, *Adonis flammea*, *Agrostemma githago*, *Asperula arvensis*, *Bifora radians*, *Biscutella auriculata*,

*Camelina microcarpa*, *Conringia orientalis*, *Consolida orientale*, *Consolida pubescens*, *Delphinium graciles*, *Delphinium halteratum*, *Galeopsis ladanum*, *Iberis amara*, *Lathyrus aphaca*, *Legousia hybrida*, *Neslia paniculata*, *Papaver argemone*, *Papaver dubium*, *Ranunculus arvensis*, *Roemeria hybrida*, *Silene conoidea*, *Turgenia latifolia* y *Vaccaria hispanica*. En el laboratorio se procedió a la limpieza de las semillas y a la preparación de éstas para su siembra en campo; paralelamente se procedió a realizar el test de viabilidad en laboratorio.

### 2.2. Diseño experimental en campo de ensayo

En el mes de noviembre de 2011 se sembraron distintas cantidades de semillas de cada especie (entre 400 a 2000 semillas/m<sup>2</sup>, según su disponibilidad) en parcelas de ensayo en un campo experimental en la localidad de Almenar (Lleida). El espacio destinado para el estudio, corresponde a un diseño en bloques completamente aleatorizados con cuatro repeticiones. El campo se dejó libre de cultivo. Cada bloque estaba formado por 24 parcelas de 0,5 x 0,5 m. Las semillas de cada especie se sembraron en cada parcela a mano y a una profundidad máxima de 1-2 cm. Durante el ensayo se mantuvieron las parcelas libres de otras malas hierbas. La emergencia se siguió de forma semanal mediante recuentos destructivos desde la siembra hasta finales del mes de abril (fecha a partir de la cual ya no se registraron nuevas emergencias para ninguna de las especies).

### 2.3. Test de tetrazolio en laboratorio

En otoño de 2012, al cabo de un año de su recolección, se realizó en laboratorio el análisis de viabilidad de las semillas de las especies seleccionadas. Se seccionaron 50 semillas de cada especie con el fin que el embrión quedara al descubierto y pudiera teñirse con el tetrazolio. Las semillas se colocaron en una placa de Petri a las que se les añadió una solución del 0.1% de la sal 2,3,5-cloruro de trifeníl tetrazolio (ISTA 1985). Tras 48 horas en condiciones de laboratorio se observó si los embriones estaban teñidos (Figuras 1-4). Según el número de embriones teñidos se calculó el porcentaje de semillas viables para cada especie.

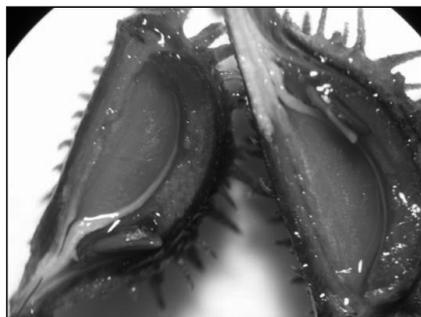


Figura 1. Embrión de *Turgenia latifolia* teñido después del tratamiento con tetrazolio.

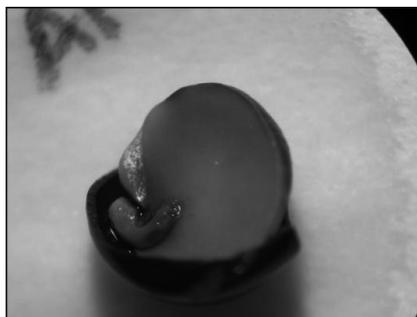


Figura 2. Embrión de *Lathyrus aphaca* teñido después del tratamiento con tetrazolio.



Figura 3. Embrión de *Conringia orientalis* teñido después del tratamiento con tetrazolio.



Figura 4. Embrión de *Vaccaria hispanica* teñido después del tratamiento con tetrazolio.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio realizado en campo se obtuvieron valores de emergencia relativamente bajos (<40%) para 21 de las especies estudiadas (e incluso <10% para 15 de ellas), mientras que las que mostraron valores mayores fueron *Agrostemma githago* (70,7%), *Consolida pubescens* (57,5%), *Lathyrus aphaca* (40,8%) y *Vaccaria hispanica* (44,7%) (Tabla 1). En conjunto la emergencia media obtenida para las especies estudiadas fue del 21%.

En el estudio de viabilidad de semillas realizado en laboratorio se obtuvieron unos valores en general medio-altos, siendo superiores al 85% para muchas especies: *Agrostemma githago*, *Asperula arvensis*, *Bifora radians*, *Biscutella auriculata*, *Consolida orientalis*, *Consolida pubescens*, *Lathyrus aphaca*, *Neslia paniculata*, *Ranunculus arvensis*, *Silene conoidea*, *Turgenia latifolia* y *Vaccaria hispanica* (Tabla 1). Los nulos valores de viabilidad observados para las Papaveráceas (*Papaver argemone*, *P. dubium* y *Roemeria hybrida*) debe atribuirse a causas de tipo metodológico posiblemente derivadas del tamaño de sus semillas y en la dificultad en realizar un correcto corte de la semilla que permitiera exponer de forma adecuada el embrión y facilitar su tinción. Excluyendo estos casos, se ha estimado una viabilidad media para el conjunto de especies del 65%.

Los valores medios de viabilidad (65%) obtenidos en el presente estudio no distan –aunque son ligeramente inferiores- de los observados por Saatkamp *et al.* (2011) en Francia con 25 especies segetales (14 coincidentes con las de nuestro ensayo). En ese trabajo obtuvieron una viabilidad media de las semillas del 75% -después de un año de enterramiento-. En nuestro caso debe considerarse que el test de viabilidad de las semillas se realizó varios meses después de su recolección y conservación en laboratorio. Por lo que respecta a la tasa de germinación, el valor observado en el estudio francés (30%) es mayor que la tasa de emergencia observada en nuestro ensayo en campo (21%).

Los resultados obtenidos permiten deducir dos posibles causas de tipo intrínseco que expliquen la regresión poblacional de estas especies en los sistemas cerealistas. Para aquéllas con altos valores de emergencia, el rápido declive de la carga de semillas del suelo reduce el tamaño de la población si no existe un nuevo y significativo aporte de forma anual. Para aquéllas con una tasa de emergencia media –baja, la causa debe encontrarse en la baja persistencia en el suelo de aquellas semillas que, siendo viables, no llegan a emerger. Estas causas de tipo intrínseco, añadidas a las ya conocidas referentes a su sensibilidad y difícil

adaptación a la intensificación agrícola, explican la regresión a la que se han visto sometidas estas especies en las últimas décadas (Meyer *et al.*, 2013).

Datos como los aportados en este estudio de estas especies, junto con otros que puedan establecerse acerca de su capacidad de persistencia y de respuesta a técnicas de manejo menos intensivo (p.e. dentro de programas de ayudas agroambientales o en sistemas de agricultura ecológica), permitirán planificar estrategias para su posible conservación e incluso reintroducción dentro de escenarios donde se desee mantener la riqueza y diversidad de las comunidades segetales.

Tabla 1. Porcentaje de viabilidad y de emergencia in campo de diferentes especies mesícolas.

| Especie                      | Localidad                                | Fecha recolección | Viabilidad (%) | Emergencia (%) $\pm$ e.e.* |
|------------------------------|--|-------------------|----------------|----------------------------|
| <i>Adonis aestivalis</i>     | Almenar (Lleida)                         | 21/06/11          | 45.8           | 7.9 $\pm$ 0.9              |
| <i>Adonis flammea</i>        | Teruel (Teruel)                          | 13/07/11          | 67.4           | 12.7 $\pm$ 3.4             |
| <i>Agrostemma githago</i>    | Puerto de Bañón (Teruel)                 | 13/07/11          | 96.0           | 70.7 $\pm$ 1.9             |
| <i>Asperula arvensis</i>     | Puerto de Bañón (Teruel)                 | 13/07/11          | 89.6           | 37.9 $\pm$ 6.2             |
| <i>Bifora radians</i>        | La Cañadilla (Teruel)                    | 13/07/10          | 100.0          | 22.1 $\pm$ 2.1             |
| <i>Biscutella auriculata</i> | Puerto de Bañón (Teruel)                 | 13/07/11          | 96.0           | 15.3 $\pm$ 4.5             |
| <i>Camelina microcarpa</i>   | Fuentes Calientes (Teruel)               | 13/07/11          | 74.0           | 13.5 $\pm$ 1.7             |
| <i>Conringia orientalis</i>  | Fuentes Calientes (Teruel)               | 29/06/11          | 62.0           | 13.4 $\pm$ 2.8             |
| <i>Consolida orientale</i>   | Camarillas (Teruel)                      | 13/07/11          | 92.0           | 24.3 $\pm$ 2.9             |
| <i>Consolida pubescens</i>   | Almenar (Lleida)                         | 21/06/11          | 86.0           | 57.5 $\pm$ 1.3             |
| <i>Delphinium gracile</i>    | La Sentiu de Sió (Lleida)                | 09/08/11          | 42.3           | 36.5 $\pm$ 2.0             |
| <i>Delphinium halteratum</i> | Áger (Lleida)                            | 14/09/11          | 62.0           | 27.7 $\pm$ 3.4             |
| <i>Galeopsis ladanum</i>     | Camarillas (Teruel)                      | 13/07/11          | 28.0           | 0.2 $\pm$ 0.1              |
| <i>Iberis amara</i>          | Fuentes Calientes (Teruel)               | 13/07/11          | 66.0           | 13.8 $\pm$ 0.5             |
| <i>Lathyrus aphaca</i>       | La Cañadilla (Teruel)                    | 13/08/11          | 87.5           | 40.8 $\pm$ 11.6            |
| <i>Legousia hybrida</i>      | Áger (Lleida)                            | 29/06/11          | 25.0           | 7.1 $\pm$ 1.4              |
| <i>Neslia paniculata</i>     | Fuentes Calientes (Teruel)               | 29/06/11          | 96.0           | 15.1 $\pm$ 2.6             |
| <i>Papaver argemone</i>      | Puerto de Bañón<br>La Cañadilla (Teruel) | 13/07/11          | 0.0            | 10.3 $\pm$ 2.1             |
| <i>Papaver dubium</i>        | Puerto de Bañón (Teruel)                 | 07/07/10          | 0.0            | 3.7 $\pm$ 0.5              |
| <i>Ranunculus arvensis</i>   | La Cañadilla (Teruel)                    | 29/06/11          | 98.0           | 13.4 $\pm$ 1.3             |
| <i>Roemeria hybrida</i>      | Fuentes Calientes (Teruel)               | 29/06/11          | 0.0            | 2.3 $\pm$ 0.3              |
| <i>Silene conoidea</i>       | Hinojosa de Jarque (Teruel)              | 13/07/11          | 96.0           | 26.0 $\pm$ 2.1             |
| <i>Turgenia latifolia</i>    | Fuentes Calientes (Teruel)               | 29/06/11          | 98.0           | 7.0 $\pm$ 1.5              |
| <i>Vaccaria hispanica</i>    | Fuentes Calientes (Teruel)               | 13/07/11          | 95.6           | 44.7 $\pm$ 6.3             |

\* e. e. Error estándar.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Este estudio se enmarca dentro de un proyecto del Plan Nacional I+D+i (AGL2010-22084-C02-01) financiado por el Ministerio de Educación y Ciencia. Las parcelas experimentales se han instalado en campos cedidos por parte de IGREMAP y Acció Natura dentro de su actividad de gestión de la zona ZEPa de Almenar (Lleida).

#### 5. REFERENCIAS

Cirujeda A, Aibar J, Zaragoza C (2011). Remarkable changes of weed species in Spanish cereal fields from 1976 to 2007. *Agronomy for Sustainable Development*, 31, 675-688.

- [ITSA] International Seed Testing Association (1985). International rules for seed testing. *Seed Science and Technology*, 13, 299-355.
- Meyer S, Wesche K, Krause B, Jeuschner Ch (2013). Dramatic losses of specialist arable plants in Central Germany since the 1950s/60s—a cross regional analysis. *Diversity and Distributions*. DOI/10.1111/ddi.12102.
- Saatkamp A, Affre L, Dutoit T & Poschod P (2011). Germination traits explain soil seed persistence across species: the case of Mediterranean annual plants in cereal fields. *Annals of Botany*, 107, 415–426.
- Storkey J & Westbury DB (2007). Managing arable weeds for biodiversity. *Pest Management Science*, 63, 517-523.

Summary: *Viability and emergence of different segetal species in regression. Some species of the segetal flora (those from winter cereals) are in regression, due to their poor adaptation to the farming intensification. The causes could be the low viability, germination or emergence of seeds, or the low levels of persistence of seed banks. The analysis of seed viability with tetrazolium test showed values above 60% for main species, whereas the emergency on field was low, less than 40%, for the majority of them. From these results it can be deduced that one cause of loss of diversity in this agroecosystem could be the low persistence of seeds in the soil and the difficulties to recruit new seeds to the seed bank.*

Keywords: Winter cereals, germination, arable weeds, tetrazolium test, germination, seed persistence.



---

 XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Las malas hierbas en el mundo de la cultura**

C. Fernández-Quintanilla\*

\* Instituto de Ciencias Agrarias, c/ Serrano 115 bis, 28002-Madrid (Spain)

*Resumen:* Las malas hierbas están muy presentes en muchos otros ámbitos de la cultura. Dentro del mundo de la literatura han sido citadas por escritores de la categoría de Cervantes y Shakespeare. Asimismo, y dado el indudable atractivo estético de los campos infestados por algunas especies de malas hierbas, estas han sido un objeto de gran interés para muchos pintores. Las operaciones asociadas a la eliminación de estas plantas también han sido recogidas en numerosos lienzos. Dentro del ámbito de la ecología, a pesar de que las malas hierbas han sido consideradas por muchos especialistas como objetos de interés menor, existen honrosas excepciones que merecen ser citadas.

**Palabras clave:** malas hierbas, literatura, pintura, ecología.

**1. INTRODUCCIÓN**

Aparentemente, ciertas personas consideran que el estudio de las malas hierbas y de su control no es una profesión particularmente respetable. Por un lado, el término “mala hierba” les parece muy poco apropiado. Tampoco ayuda el hecho de que los beneficiarios de dichos trabajos no sean más que unos cuantos labriegos perdidos en un lejano mundo rural. Ni que los métodos utilizados para su control recurran tanto al empleo de productos químicos “no naturales”. Para darle una mayor respetabilidad a esta disciplina, a estas personas les gustaría realizar unos cuantos cambios en ella. Empezando por modificar la forma en la que nos referimos a estas plantas. Asimismo, les gustaría que los beneficiarios de nuestros trabajos fueran no solo los agricultores sino también las aves, las abejas y otros organismos del ecosistema. Y, ya de paso, no vendría mal el adosarle a nuestra disciplina algún adjetivo de moda (p. ej. eco-disherbología o manejo natural de plantas acompañantes).

En este trabajo voy a tratar de refutar algunas de las falsas concepciones que existen sobre las malas hierbas, mostrando con unas breves pinceladas como estas plantas infestantes han sido, desde hace mucho tiempo y hasta la actualidad, objeto de atención y de apreciación por parte de eminentes escritores, pintores, músicos, cineastas e, incluso, prominentes ecólogos.

**2. EJEMPLOS CONCRETOS**

*Literatura.* En el ámbito de la literatura, William Shakespeare citó con bastante frecuencia a las malas hierbas (obviamente, “weeds” en su versión original). En su obra Enrique IV da muestras de conocer bien sus características y sus efectos: “¡Es primavera y las malas hierbas tienen corta raíz; déjalas crecer y cubrirán el huerto y ahogaran a las otras plantas.....!”. En Hamlet, compara al mundo con un huerto sin escardar, lleno de porquería: “¡Que fastidiosas, rancias, vanas e inútiles me parecen las prácticas de este mundo! ¡Es un jardín de malas hierbas sin escardar, que crece para semilla; productos de naturaleza grosera y amarga lo ocupan únicamente! Miguel de Cervantes, en su relato de la lucha de Don Quijote contra los molinos de viento, parece bendecir de alguna forma nuestra profesión: “¡Buena es la guerra que está al servicio de Dios para arrancar las malas hierbas que hay sobre la faz de la tierra!” Posteriormente, Pio Baroja utilizó a las malas hierbas para dar título a una de sus

novelas en las que los protagonistas tienen un notable parecido con estas plantas. Y John Steinbeck, en una de sus obras maestras, “Las uvas de la ira”, localiza una parte importante de la historia en un campamento de inmigrantes situado en una localidad llamada Weedpatch (rodal de malas hierbas).

*Cine.* En el ámbito del cine, quizás lo más significativo sea la película “Las malas hierbas” del gran cineasta francés Alan Resnais, candidata a la Palma de Oro de Cannes en 2009. En este film, el comportamiento de todos sus personajes presenta enormes similitudes con el comportamiento de las plantas que le dan título: erráticas, incomprensibles; de alguna forma, indeseables.

*Música.* En el ámbito musical nos encontramos con un grupo madrileño, “Realidades Métricas”, que acaba de sacar un álbum con el título genérico “Creciendo entre malas hierbas” en el que se encuentra su canción: “Mala hierba nunca muere”. Aparentemente, estas plantas invaden incluso la movida madrileña.

*Pintura.* Pero es dentro de la pintura donde las malas hierbas han encontrado una mejor acogida. El enorme valor estético de los campos de cultivo salpicados por los colores rojos de las amapolas ha inspirado a Claude Monet en numerosas de sus obras, cómo es el caso del conocido “Campo de amapolas en Argenteuil” (Figura 1). Otro pintor impresionista, Vincent



Figura 1. Ejemplos de obras pictóricas inspiradas en las malas hierbas o en su control

Van Gogh, recogió los bellos colores azules del aciano (*Centaurea cyanus*) en el cuadro “Campo de trigo con acianos”. Por otra parte, las operaciones relacionadas con la gestión de las malas hierbas han sido recogidas en numerosas obras. La dureza de la escarda manual, aparentemente siempre realizada por mujeres, puede verse reflejada en las obras de Van Gogh, Camille Pissarro, Laureano Barrau o Jules Breton (Figura 1). Otros métodos de control también se encuentran reflejados en la pintura, como es el caso de “Campesino quemando malas hierbas” de Van Gogh o el más moderno “Barra escardadora jubilada” del norteamericano Larry Kasell.

*Ecología.* En el mundo de la ecología, las malas hierbas han sido frecuentemente ninguneadas por la mayor parte de los ecólogos de pata negra. Para estos científicos, el trabajo con este tipo de plantas es menos digno de atención que el realizado con plantas que viven en entornos naturales. Pero existen muy honrosas excepciones. Una de ellas es el eminente ecólogo de poblaciones John L. Harper. Aunque este investigador inició su carrera profesional como agrónomo, pronto se dio cuenta de las estrechas relaciones existentes entre agronomía y ecología, explotando estas relaciones en ambos sentidos. Por un lado, exploró las posibles implicaciones de los conocimientos ecológicos para la gestión de las malas hierbas. Por otro lado, muchos de sus principios ecológicos desarrollados por Harper los derivó de estudios realizados con especies de malas hierbas. Ramón Margalef, el padre de la ecología en España, tuvo un enfoque igualmente pragmático frente a las malas hierbas, no teniendo ningún reparo en utilizar este término y mostrando siempre una visión positiva ante las mismas: “*Es una ilusión, o una tontería, o las dos cosas, hablar de uso de la Naturaleza que no represente explotación. Mantener reservas para preservar el precioso patrimonio genético existente en la Naturaleza no se justifica demasiado desde un punto de vista utilitario porque, de la misma forma que muchas plantas cultivadas tuvieron su origen en malas hierbas acompañantes a los primitivos cultivos, las especies que actualmente ofrecen mayores perspectivas de utilización futura para el hombre son también del tipo de malas hierbas, es decir, especies que se encuentran adaptadas a un ambiente humanizado y no requieren cuidados especiales para su propagación*” .

Summary: *Weeds in the cultural world.* The weeds are not only an object of practical interest for farmers. They are also an element present in the daily life of many persons far away from the rural world. In fact, they have been cited for writers as famous as Cervantes and Shakespeare. Although the weeds are present in many cultural areas, probably the most significant is the painting art. Due to the natural esthetic attraction of crop fields infested by some weed species, these landscapes have been an object of interest for many painters. The operations associated with Weed control have also been reproduced in numerous canvases. Within the Ecology world, weeds have often been considered as objects of minor interest. However, there are some honorable exceptions that should be mentioned.

Keywords: weeds, literature, painting, Ecology.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

## El acolchado con papel controla la emergencia y la reproducción de *Cyperus rotundus* en pimiento

A. Mari\*<sup>a</sup>, A. Cirujeda\*, J. Aibar\*\*, C. Zaragoza\*

\* Unidad de Sanidad Vegetal, CITA, Avda. Montañana 930, 50018 Zaragoza  
<sup>a</sup>aimari@aragon.es

\*\* EPS. Universidad de Zaragoza, Ctra. de Cuarte, km 67, 22071 Huesca

**Resumen:** La juncia (*Cyperus rotundus* L.) es una especie de muy difícil control en cultivos hortícolas de verano. Atraviesa el acolchado de plástico pero se controla con acolchado de papel, aunque se desconoce el efecto de dicho control sobre la capacidad reproductiva de la especie. Se sembraron un número conocido de tubérculos de juncia dentro de cajas de mallas colocadas dentro de las filas en un ensayo de campo realizado en Montañana (Zaragoza) en 2012 con diferentes materiales de acolchado en pimiento: polietileno (PE), plástico biodegradable, hidromulch y papel biodegradable. Se registró una elevada mortalidad de tubérculos bajo los acolchados salvo el hidromulch que se comportó como el testigo, aunque no hubo diferencias significativas entre PE y los acolchados biodegradables. El PE y los papeles ensayados produjeron menos bulbos basales y tubérculos gruesos que los demás materiales.

**Palabras clave:** Polietileno, PE, plástico biodegradable, hidromulch, pimiento.

### 1. INTRODUCCIÓN

La juncia (*Cyperus rotundus* L.) es una mala hierba que tiene una enorme importancia a nivel mundial, estando presente en 92 países y en 52 cultivos (Holm *et al.*, 1997). Es capaz de competir debido a su elevada capacidad de reproducción vegetativa y afecta a cultivos muy diversos siendo la reducción de la cosecha en pimiento del 32% a una densidad de 200 tubérculos/m<sup>2</sup> (Morales-Payan, 1997). El control de esta mala hierba se ha realizado generalmente empleando el herbicida glifosato, minimizando la producción de tubérculos (Webster *et al.*, 2008). El herbicida halosulfurón también consigue una eficacia cercana al 70% cuando se aplica en pre y post-trasplante en tomate bajo plástico (Bangarwa *et al.*, 2009) pero siempre combinado con otras actuaciones culturales y mecánicas. El control con materiales de acolchado hasta ahora ha dado como resultado un control parcial (polietileno y plásticos biodegradables negros) o total (papel biodegradable negro) (Cirujeda *et al.*, 2012) pero se desconoce cómo se ve disminuida la población en cada caso. Los objetivos de este trabajo son: 1) estudiar la eficacia del control de *C. rotundus* a través del uso de materiales acolchados biodegradables y de hidromulch en ensayo de campo sobre pimiento para consumo fresco; y 2) conocer el comportamiento de los tubérculos caulinareos de *C. rotundus* debajo de los acolchados al final del ciclo.

### 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se llevó a cabo en 2012 en la finca del CITA en San Bruno, Montañana (Zaragoza). Se estudiaron 6 tratamientos dispuestos en 4 bloques al azar: testigo, polietileno (PE), papel biodegradable Verso, papel biodegradable Mimgreen, plástico biodegradable Mater-Bi e hidromulch (Tabla 1). El hidromulch consiste en una aplicación de pasta de papel diluida en agua que se incorpora de forma líquida sobre las mesas de cultivo. Una vez

endurecida, impedirá el paso de las malas hierbas. El pimiento se plantó al tresbolillo a una densidad de 27.778 plantas/ha en mesas de plantación de 0,7 m × 20 m.

Tabla 1. Descripción de los materiales empleados en el ensayo de *Cyperus rotundus*.

|                              | <b>Mater-Bi®</b> | <b>PE</b>                        | <b>Verso®</b>       | <b>Mimgreen®</b>    | <b>Hidromulch</b>          |
|------------------------------|------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------|----------------------------|
| <b>Tipo de material</b>      | Plástico negro   | Plástico negro                   | Papel gris oscuro   | Papel negro         | Pasta de papel color pardo |
| <b>Procedencia</b>           | Almidón de maíz  | Derivado de combustibles fósiles | Celulosa de madera  | Celulosa de madera  | Celulosa de madera         |
| <b>Espesor/concentración</b> | 15 micras        | 15 micras                        | 72 g/m <sup>2</sup> | 85 g/m <sup>2</sup> | 1,5-2,5%                   |

Antes de plantar, se instalaron unas mallas de 40 cm × 40 cm × 40 cm y 1 mm de luz en las mesas de los tratamientos en las que se sembraron 246 tubérculos/m<sup>2</sup> de *C. rotundus* en cada una a 8 cm de profundidad, los cuales se rellenaron con tierra libre de otros tubérculos. Una vez instaladas se acolcharon las mesas. A lo largo de la campaña se determinó el número de plantas emergidas de *C. rotundus* en las zonas de las mallas a los 21, 42 y 63 días después de la plantación (DDP) y al final del cultivo se desenterraron los tubérculos de las mallas y se contabilizaron teniendo en cuenta la profundidad en la que se encontraron. Se anotó si el tubérculo estaba en buen estado o no, siendo los tubérculos blandos y de color amarillento o anaranjado en el interior considerados no viables. Además se hizo una clasificación según el peso de éstos (< 0,5 g y > 0,5 g).

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**3.1. Número de plantas emergidas en cada material y promedio de tubérculos.** Todos los tratamientos acolchados redujeron el número de emergencias de la juncia de forma similar entre ellos aunque ligeramente menos en Mater-Bi, pero sin diferencias significativas. Este efecto no se observó en el hidromulch (Figura 1). Las emergencias registradas en los acolchados con papel fueron únicamente en los agujeros realizados en el trasplante mientras que los plásticos fueron atravesados por la juncia en numerosos puntos. En cuanto a la generación de nuevos tubérculos, el testigo fue el tratamiento que más tubérculos generó suponiendo un aumento del 248% sobre el número inicial de tubérculos seguido del hidromulch, que tuvo un incremento de población de tubérculos del 196%. El mínimo incremento de población fue del 44% en el PE (Figura 1).

**3.2. Producción de tubérculos según su peso.** Se observaron tres comportamientos para los diferentes tratamientos: por un lado, bajo el hidromulch y el Mater-Bi se produjeron tubérculos de los tres tipos estudiados (pequeños, grandes y bulbos basales) en cantidades similares; bajo el resto de materiales se produjeron más tubérculos pequeños llegando a alcanzar en PE, Verso y Mimgreen más del 75% de la producción total; finalmente, en el testigo se generaron más tubérculos pequeños que grandes que a la vez fueron más numerosos que los bulbos basales (Figura 2). En los tratamientos en los que hubo mayor crecimiento aéreo de juncia (testigo, hidromulch y Mater-Bi) se encontró también un mayor número de bulbos basales.

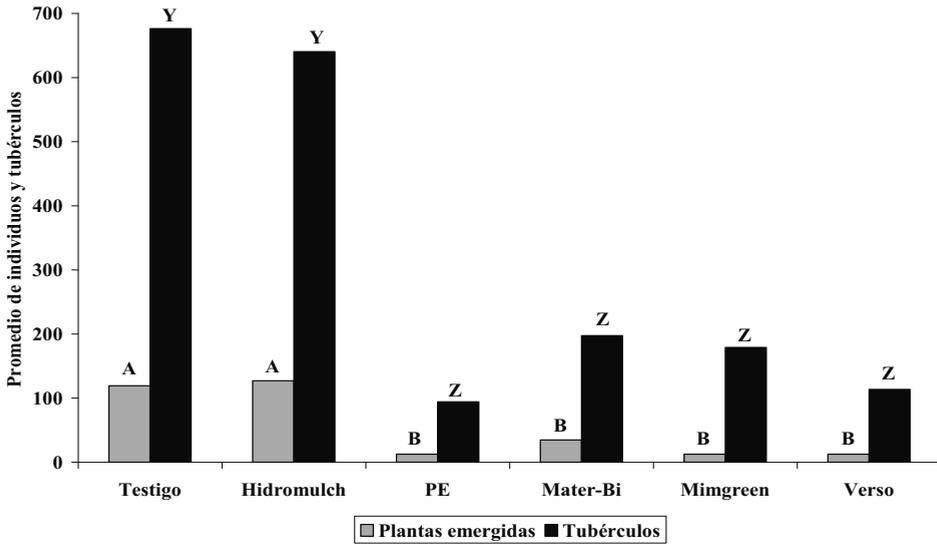


Figura 1. Plantas de *C. rotundus* emergidas a lo largo del ciclo y tubérculos extraídos al final de la campaña de los distintos materiales por m<sup>2</sup>. Cifras con letras distintas entre los tratamientos indican diferencias significativas bien para las plantas emergidas o bien para los tubérculos generados según la prueba de medias de t de Student ( $p < 0,05$ ).

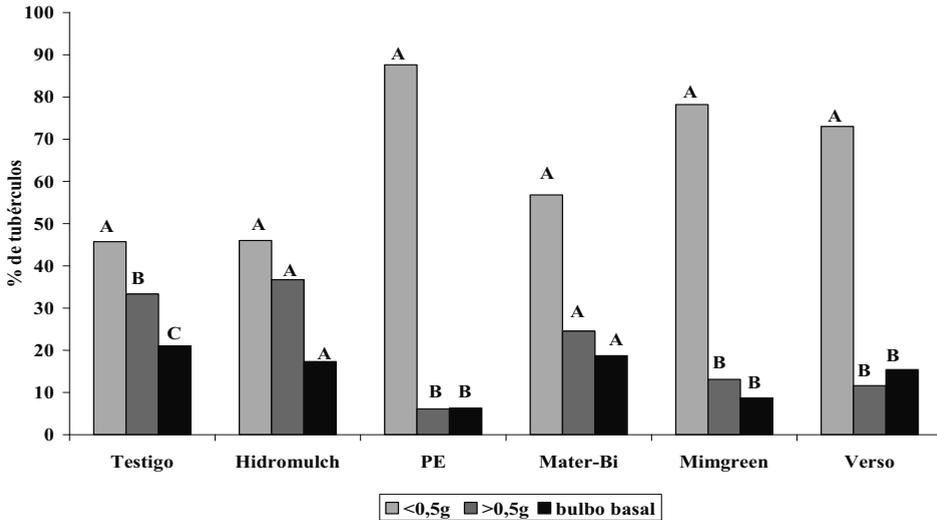


Figura 2. Proporción de tubérculos producidos clasificados por tamaños. Letras distintas indican diferencias significativas en cada tratamiento según la prueba de medias de t de Student ( $p < 0,05$ ).

3.3. *Distinción de tubérculos según estado sanitario.* En cuanto al estado sanitario de los tubérculos producidos podemos ver que el testigo y el hidromulch produjeron un mayor porcentaje de tubérculos sanos que los materiales biodegradables o el PE (Figura 3). No hubo diferencias entre el promedio de tubérculos podridos generado por cada material pero se observó una tendencia en los papeles y el Mater-Bi a generar un mayor número de tubérculos

no viables (más del 25% de los tubérculos producidos). El PE generó tubérculos sanos y podridos en una proporción similar y el testigo y el hidromulch generaron más del 90% de sus tubérculos viables.

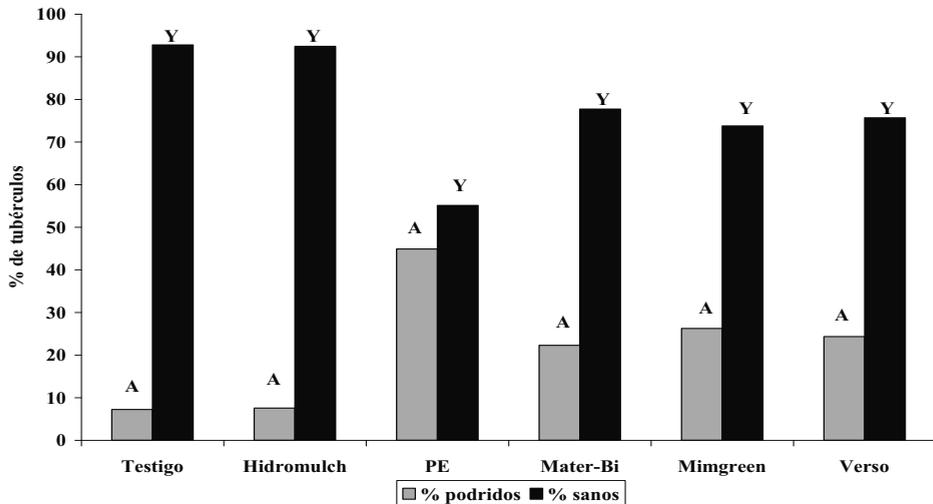


Figura 3. Porcentaje de tubérculos podridos y sanos al final del ciclo con respecto al número de tubérculos iniciales de cada tratamiento. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos para cada clase según la prueba de medias de t de Student ( $p < 0,05$ ).

#### 4. CONCLUSIONES

Contrariamente a lo referido en ensayos anteriores, las cubiertas de papel no controlaron la emergencia de juncia mejor que el PE y, como se ha observado en otros ensayos, fue menos eficaz para su control el plástico biodegradable Mater-Bi. No obstante, cabe remarcar que la nascencia observada en las cubiertas de papel ocurrió exclusivamente en los agujeros de plantación. En todos los materiales de acolchado, excepto en el hidromulch, disminuyó el número de plántulas nacidas y se redujo la producción de tubérculos en comparación con el testigo. Los tubérculos producidos en tratamientos con baja emergencia de juncia (papeles y PE) tuvieron un peso inferior a 1 g, probablemente debido a la dificultad de las plántulas para atravesar las cubiertas y, por tanto, a acumular reservas. Por último, se observa una tendencia a generar más tubérculos podridos bajo los papeles y los plásticos, pero sin diferencias significativas.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto INIA RTA2005-00189-C05 y por la beca SEMh 2012 para estudiantes y posgraduados. Agradecemos también la asistencia técnica recibida de Fernando Arrieta, José Ángel Alins y José María Royo, y también a Blanca Martínez y María José Reina por su eficaz y desinteresada ayuda.

#### 6. REFERENCIAS

Bangarwa SK, Norsworthy JK and Gbur EE (2009). Integration of Brassicaceae cover crop with herbicides in plasticulture tomato. *Weed Technology*, 23, 280-286.

- Cirujeda A, Anzalone A, Aibar J, Moreno MM and Zaragoza C (2012). Purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.) control with paper mulch in processing tomato. *Crop Protection*, 39, 66-71.
- Cirujeda A, Aibar J, Marí A, Anzalone, A and Zaragoza C (2012). Resultados preliminares de la aplicación de hidromulch en cultivo de pimiento. *X Congreso SEAE, 20 años impulsando la producción ecológica*. Ed por Imprenta Diputación de Albacete, p. 161. Albacete.
- Holm LG, Plucknett DL, Pancho JV and Herberger JP (1977). *The World's Worst Weeds. Distribution and Biology*. Ed. by University Press of Hawaii, pp 8-24. Honolulu.
- Morales-Payan JP, Stall WM, Shilling DG, Dusky JA and Bewick TA (1997). Influence of nitrogen on the interference of purple nutsedge and yellow nutsedge (*Cyperus rotundus* and *Cyperus esculentus*) with tomato (*Lycopersicon esculentus*). *Horticultural Science*, 32, 3, 431.
- Webster TM, Grey TL, Davis JW and Culpepper AS (2008). Glyphosate hinders purple nutsedge (*C. rotundus*) and yellow nutsedge (*C. esculentus*) tuber production. *Weed Science*, 56, 735-742.

Summary: Paper mulching controls the emergency and reproduction of *Cyperus rotundus*.

*Purple nutsedge is a weed very difficult to control. It can pierce the plastic mulch but is controlled with paper mulching, although it is unknown the effect of this control on the fertility of the species. In a field trial a known number of nutsedge tubers were sown within net boxes placed within the rows in a pepper field trial conducted in Montañana (Zaragoza, Spain) under different materials: polyethylene (PE), biodegradable plastic, biodegradable paper and hydromulch. High mortality of tubers was recorded under all mulching materials except hidromulch, which behaved like the unmulched control, although no significant differences between PE and biodegradable mulching were recorded. Polyethylene and tested papers produced less basal bulbs and heavy tubers than the other materials.*

Keywords: Polyethylene, PE, biodegradable plastic, hidromulch, pepper.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

### Potencial fitotóxico de extractos acuosos de *Santolina chamaecyparissus* L.

M. Verdeguer<sup>a</sup>, P. Raga, D. García-Rellán, H. Boira

\*Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n 46022-Valencia, <sup>a</sup>[merversa@doctor.upv.es](mailto:merversa@doctor.upv.es)

*Resumen:* El potencial herbicida de los extractos acuosos de hojas y flores de *Santolina chamaecyparissus* L. fue estudiado in vitro frente a las arvenses *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L., *Conyza canadensis* (L.) Cronquist y *Setaria adhaerens* (Forssk.) Chiov para comparar su actividad y plantear su posible uso como herbicidas naturales. El extracto de hojas resultó ser mucho más efectivo que el de flores, inhibiendo la germinación y el crecimiento de todas las especies ensayadas, logrando incluso el 100% de inhibición en la germinación de *C. canadensis*, mientras que el extracto de flores no mostró actividad sobre la germinación de *P. oleracea* y *C. canadensis*, pero sí disminuyó el crecimiento de todas las arvenses testadas. Ambos extractos mostraron una actividad similar solamente en cuanto a la inhibición de la germinación de *A. hybridus*, logrando una gran reducción de la misma, del 98,8 y 95,4% el extracto de hojas y flores, respectivamente, sin diferencias significativas entre ellos.

**Palabras clave:** extracto acuoso, herbicidas naturales, fitotoxicidad, germinación, crecimiento, inhibición, *Santolina chamaecyparissus*

## 1. INTRODUCCIÓN

Las sociedades más avanzadas están concienciadas de la necesidad de conservar el medio ambiente para poder desarrollarse de modo sostenible, asegurando la supervivencia de las generaciones futuras. Existen numerosas evidencias de los efectos nocivos del uso abusivo de los productos fitosanitarios y, en particular, de los herbicidas sintéticos sobre el medio ambiente y la salud de las personas (Tayeb *et al.*, 2010; Pesce *et al.*, 2011; Boxall *et al.*, 2013). Además, la legislación europea sobre productos fitosanitarios es cada vez más restrictiva en cuanto al uso de materias activas. Por ello surge la necesidad de buscar alternativas para el control de las plantas arvenses, siendo una de ellas los productos naturales con actividad herbicida.

*Santolina chamaecyparissus* L. es una planta perenne, muy aromática, originaria de Europa meridional y frecuente en la parte oriental de la Península Ibérica. Se desarrolla en collados y laderas pedregosas y arcillosas, en suelos calcáreos y silíceos, desde el nivel del mar hasta los 2000 m de altura. Alcanza su óptimo en los pisos de vegetación Termomediterráneo y Mesomediterráneo. Crece silvestre en la región mediterránea, sobre todo en campos de cultivo de secano y especialmente cuando se dejan de labrar (Pons & Cañavate, 2000). El aceite esencial de *S. chamaecyparissus* podría ser una alternativa a los herbicidas naturales al haber mostrado actividad herbicida sobre *Portulaca oleracea* y *Vicia sativa* y causar poco daño a los cultivos sobre los que se ensayó (Grosso *et al.*, 2010).

El objetivo del presente trabajo fue estudiar el potencial herbicida de los extractos acuosos de hojas y flores de *Santolina chamaecyparissus* L. sobre las arvenses *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L., *Conyza canadensis* (L.) Cronquist y *Setaria adhaerens* (Forssk.) Chiov para comparar su actividad y plantear su posible uso como herbicidas naturales.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. *Material vegetal.* Con objeto de obtener semillas para la realización de ensayos, se recogieron plantas en estado de fructificación de *Amaranthus hybridus* L., *Portulaca oleracea* L., *Conyza canadensis* (L.) Cronquist y *Setaria adhaerens* (Forssk.) Chiov. en campos de la provincia de Valencia. Durante 15 días las plantas se secaron en laboratorio, a temperatura ambiente. Posteriormente se extrajeron las semillas, que fueron seleccionadas, eliminando las que tuvieron un tamaño, color, forma o estado de maduración anómalo.

Para la obtención de extractos acuosos se recogieron partes aéreas de *Santolina chamaecyparissus* L. de una población espontánea de Picassent (provincia de Valencia) en estado de floración. Los extractos acuosos se obtuvieron de forma inmediata a partir de planta fresca.

2.2. *Obtención de extractos acuosos.* Se obtuvieron los extractos acuosos de hojas y flores siguiendo el método descrito por Pérez *et al.* (2002), macerando cada vez 20 g de hojas o de flores de *S. chamaecyparissus* con 200 ml de agua destilada e introduciéndolos a continuación en un baño a 80°C durante 15 minutos. A continuación se filtró la solución acuosa obtenida, extrayéndose de nuevo el marco con 100 ml de agua destilada en baño maría a 80°C durante otros 15 minutos. Se volvió a filtrar y se reunieron los filtrados obtenidos. Los extractos se conservaron en congelador a -40°C hasta el momento de su aplicación en los ensayos.

2.3. *Evaluación del potencial de inhibición de la germinación y el crecimiento.* Se sembraron 20 semillas de cada especie arvense (*A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. canadensis* y *S. adhaerens*) en placas Petri de 9 cm de diámetro. Como sustrato se utilizaron dos discos de papel de filtro de 9 cm de diámetro y 50 g/m<sup>2</sup> de espesor, y otros dos cubrieron las semillas, siendo impregnados con 4 ml de agua destilada (control) o 4 ml de los extractos acuosos de *S. chamaecyparissus*. Las placas se sellaron con Parafilm. Se realizaron 5 repeticiones (100 semillas) por cada concentración de los diferentes extractos, para cada una de las 4 especies arvenses.

Para evaluar la actividad herbicida de los extractos acuosos, se hicieron lecturas de las placas, a los 3 (sólo en *A. hybridus* y *P. oleracea*, al iniciar la germinación antes que las demás especies arvenses), 5, 7, 10 y 14 días de incubación. Se registró el número de semillas germinadas y se obtuvieron imágenes digitales de las plántulas crecidas, para posteriormente medir su longitud (coleoptilo más radícula), procesando las imágenes mediante el programa Image Tool. Cada vez que se leyeron las placas se sellaron de nuevo con Parafilm, no añadiéndose agua ni extractos acuosos durante el ensayo.

2.4. *Tratamiento y análisis estadístico de datos.* Los datos se procesaron mediante el paquete estadístico Statgraphics Plus 5.1. Se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) a los resultados obtenidos, verificando previamente la homocedasticidad de los mismos mediante los test de Cochran, Bartlett y Levene.

Los porcentajes de germinación fueron transformados antes de proceder a realizar el ANOVA mediante la fórmula  $y = \arccos \sqrt{x}$ , donde x era el porcentaje de germinación en tanto por uno, para satisfacer los requerimientos de homocedasticidad. En algunos casos fue necesario transformar los datos de longitud de plántulas a  $y = \log(x+1)$ , para cumplir con este requisito.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto de hojas resultó ser mucho más efectivo que el de flores tanto frente a la germinación como al crecimiento de todas las especies ensayadas (Tablas 1 y 2), salvo en la inhibición de la germinación de *A. hybridus*, que no mostraron diferencias significativas, logrando ambos una gran reducción, del 98,8 y 95,4% respectivamente, extracto de hojas y flores (Tabla 1). El extracto de flores no tuvo efecto sobre la germinación de *P. oleracea* y *C. canadensis* (Tabla 1), mientras que el de hojas fue efectivo frente a la germinación de todas las especies, llegando a inhibir al 100% la germinación de *C. canadensis*.

**Tabla 1.** Efecto de los extractos acuosos de hoja y flores de *Santolina chamaecyparissus* L. sobre la germinación de semillas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. canadensis* y *S. adhaerens*.

| Especie arvense            | Germinación (% ± e.s.) |                       |                        |
|----------------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|
|                            | CONTROL                | EXTRACTO ACUOSO HOJAS | EXTRACTO ACUOSO FLORES |
| <i>Amaranthus hybridus</i> | 82,0 ± 3,0 a           | 1,0 ± 1,0 b           | 3,8 ± 2,4 b            |
| <i>Portulaca oleracea</i>  | 53,0 ± 6,0 a           | 7,0 ± 3,0 b           | 34,0 ± 6,0 a           |
| <i>Conyza canadensis</i>   | 83,0 ± 4,9 a           | 0,0 ± 0,0 b           | 80,0 ± 6,1 a           |
| <i>Setaria adhaerens</i>   | 91,0 ± 2,4 a           | 13,0 ± 4,4 c          | 46,0 ± 5,3 b           |

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas para el test de comparación múltiple de Fisher, intervalos LSD, con un nivel de confianza del 95% ( $P \leq 0,05$ ).

**Tabla 2.** Efecto de los extractos acuosos de hoja y flores de *Santolina chamaecyparissus* L. sobre el crecimiento de plántulas de *A. hybridus*, *P. oleracea*, *C. canadensis* y *S. adhaerens*.

| Especie arvense            | Longitud (mm ± e.s.) |                       |                        |
|----------------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|
|                            | CONTROL              | EXTRACTO ACUOSO HOJAS | EXTRACTO ACUOSO FLORES |
| <i>Amaranthus hybridus</i> | 23,71 ± 0,43 a       | 6,73 c                | 15,9 ± 1,84 b          |
| <i>Portulaca oleracea</i>  | 8,65 ± 0,15 a        | 2,59 ± 0,73 c         | 5,39 ± 0,68 b          |
| <i>Conyza canadensis</i>   | 5,86 ± 0,25 a        | -                     | 4,48 ± 0,38 b          |
| <i>Setaria adhaerens</i>   | 43,75 ± 2,43 a       | 7,51 ± 1,48 c         | 29,26 ± 4,49 b         |

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas para el test de comparación múltiple de Fisher, intervalos LSD, con un nivel de confianza del 95% ( $P \leq 0,05$ ).

### 4. REFERENCIAS

- Boxall A, Fogg LA, Ashauer R, Bowles T, Sinclair CJ, Colyer A and Brain RA (2013). Effects of repeated pulsed herbicide exposures on the growth of aquatic macrophytes. *Environmental toxicology and chemistry*, 32(1), 193-200.
- Grosso C, Coelho JA, Urieta J.S, Palavra AM and Barroso JG (2010). Herbicidal activity of volatiles from coriander, winter savory, cotton lavender, and thyme isolated by hydrodistillation and supercritical fluid extraction. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(20), 11007-11013.
- Pérez JG, Torres S, Puente M, Aguilar R (2002). Efecto alelopático del extracto acuoso de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) sobre ocho cultivos económicos. Documento online. <http://www.ucf.edu.cu/URBES/CD/ALELOPATIA%20DEL%20TABACO.htm>
- Pesce S, Bouchez A and Montuelle B (2011). Effects of organic herbicides on phototrophic microbial communities in freshwater ecosystems, in: *Reviews of environmental contamination and toxicology*, pp. 87-124, Springer, New York.

Pons RMG & Cañavate JLR (2000). *Santolina chamaecyparissus*. *Revista de fitoterapia*, 1, 27-34.

Tayeb W, Nakbi A, Trabelsi M, Attia N, Miled A and Hammami M (2010). Hepatotoxicity induced by sub-acute exposure of rats to 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid based herbicide “Désormone lourde”. *Journal of hazardous materials*, 180, 225–233.

Summary: *Phytotoxic potential of Santolina chamaecyparissus L. aqueous extracts. The herbicidal potential of aqueous extracts from leaves and flowers of Santolina chamaecyparissus L. was tested in vitro against germination and seedling growth of Amaranthus hybridus L., Portulaca oleracea L., Conyza canadensis (L.) Cronq. and Setaria adhaerens (Forssk.) Chiov to compare their activity and evaluate their potential use as natural herbicides. Leaves extract was more effective than flowers extract in all species tested, except in the germination of A. hybridus, in which both extracts showed no significant differences, achieving a reduction of 98.8 and 95.4% respectively. In the other species, leaves extract demonstrated greater inhibitory effects than flowers extract, both on germination and seedling growth, blocking completely C. canadensis germination and reducing S. adhaerens germination 85.7%.*

Keywords: aqueous extract, natural herbicides, phytotoxicity, germination, growth, inhibition, *Santolina chamaecyparissus*

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Implicaciones de la Directiva de uso sostenible de plaguicidas en el control de las malas hierbas. Discusión en la remolacha azucarera**

J. Ayala<sup>\*a</sup>, A. Pérez\*, J.M. Hernández\*, M. Rodríguez\* y J.M. Omaña\*

<sup>\*</sup>AIMCRA, Apdo 855, 47080-Valladolid, <sup>a</sup>[j.ayala@aimcra.com](mailto:j.ayala@aimcra.com)

*Resumen:* La Directiva 2009/128/CE traspuesta a la legislación española en el Real Decreto 1311/2012 sobre el uso sostenible de los productos fitosanitarios es una de las cuatro leyes incluidas en La Estrategia temática sobre el uso sostenible de los productos fitosanitarios de la UE.

*Entre sus objetivos tiene reducir la cantidad total de materia activa aplicada y reducir la dependencia de la producción agrícola de los productos fitosanitarios.*

*En esta comunicación se presentan resultados de eficacia y selectividad de los herbicidas de remolacha con estrategias de manejo sostenible. Los datos demuestran que hay aún margen de reducción – en torno al 25%- de la cantidad total de materia activa herbicida combinando la acción herbicida con el manejo del riego y, por tanto, hay margen para la aplicación de este Real Decreto.*

**Palabras clave:** uso sostenible, materia activa herbicida, eficacia, mala hierba, manejo del riego.

## 1. INTRODUCCIÓN

La tecnificación del cultivo de la remolacha azucarera ha sido posible gracias a la utilización de semillas monogérmes genéticas. Su uso se implantó de forma generalizada, en nuestro país, a principios de los años 90. Las plantas emergidas llegarán a la recolección, 10 a 12 plantas.m<sup>-2</sup>. En las primeras fases de desarrollo, las plántulas de remolacha compiten con poblaciones de malas hierbas (mh), que oscilan entre 50 y 500 mh.m<sup>-2</sup> (Ayala *et al.*, 2004). Desde el comienzo de su desarrollo, la competencia tiene efectos negativos en la rentabilidad (Gutiérrez *et al.*, 2007), estimándose que las pérdidas comienzan, con poblaciones altas de mh, en la primera semana después de la emergencia.

Para paliar las pérdidas producidas por las mh es necesario utilizar herbicidas. Su repercusión económica en los costes totales del cultivo oscila entre un 10 y un 15%. La cantidad total de materia activa (ma) que se está aplicando es de 3.700 a 4.000 g ma.ha<sup>-1</sup>.

Las demandas sociales hacia el sector agrícola se incrementan continuamente (Ayala *et al.* 2010). La Directiva 2009/128/CE, que establece el marco de actuación comunitaria para conseguir un uso sostenible de los plaguicidas, define como Objeto, en su Artículo 1º: “conseguir un uso sostenible de los plaguicidas mediante la reducción de los riesgos y los efectos del uso de los plaguicidas en la salud humana y en el medio ambiente, y el fomento de la gestión integrada de plagas y de planteamientos o técnicas alternativos, como las alternativas no químicas a los plaguicidas”.

Siguiendo las directrices de la Directiva 2009/128/CE, se plantea la reducción de la cantidad total de ma herbicida por hectárea, tomando como referencia la buena práctica agrícola actual, y manteniendo la eficacia y la selectividad. Se estudiará la viabilidad de un manejo integrado de los herbicidas, en combinación con otras técnicas culturales, en concreto el manejo del riego, para así obtener una mayor rentabilidad del cultivo.

Otros hechos relacionados con el manejo de herbicidas en remolacha que ayudan a entender mejor el planteamiento de este estudio son: a) no hay ningún herbicida que, por sí sólo, solucione el control de las malas hierbas, por lo que se adaptan programas de tratamientos en los que se realizan varias aplicaciones combinando diferentes materias activas (mmaa) a pequeñas dosis; b) durante los últimos 35 años no han llegado al mercado remolachero nuevas mmaa de amplio espectro contra mh de hoja ancha; c) se han logrado nuevas formulaciones para las mmaa ya existentes, apareciendo productos con mezclas de hasta 4 mmaa, con coadyuvantes más compatibles con el medio ambiente y aditivos que aceleran la absorción y reducen las pérdidas por lavado (Ayala y Pérez, 2011).

Los objetivos principales de este trabajo son: 1) Evaluar la eficacia y selectividad de varias mezclas de materia activa aplicadas a diferentes dosis y estadios fenológicos de la remolacha azucarera de siembra primaveral, 2) Disminuir el coste y la cantidad de materia activa aplicada por hectárea, combinando la aplicación de los herbicidas con manejo del riego.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. *Localización de los ensayos.* Se han elegido parcelas en comarcas representativas del cultivo. Las labores culturales se han realizado según las buenas prácticas agrícolas de la zona. Se han realizado 4 ensayos en 2010 y 5 ensayos en 2011. En 6 de los 9 ensayos, señalados con R, se ha manejado el riego como práctica complementaria para mejorar la acción de los herbicidas, y se ha regado en las 48 h posteriores a la aplicación. Los ensayos se han nombrado como: Berceo R 2010, Villalar R 2010, Alaejos R 2010, Valladolid 2010, Valladolid R 2011, Toro R 2011, Villavieja R 2011, Villalar 2011 y Alaejos 2011. Se ha comparado la eficacia obtenida en los ensayos regados y no regados.

2.2. *Tratamientos ensayados.* Se han ensayado cinco programas herbicidas, compuestos por una aplicación de preemergencia y tres aplicaciones de postemergencia temprana espaciadas entre 7 y 15 días. Como referencia se ha tomado la recomendación general de AIMCRA para la zona Norte, “Programa A”, consolidada y ampliamente utilizada en la práctica por su eficacia y selectividad (AIMCRA, 2010). Esta recomendación consiste en realizar una “Secuencia de aplicaciones a dosis reducidas”: una aplicación de preemergencia y tres en postemergencia. El “Programa B” (PrePost) ha consistido en dividir la preemergencia en dos y aplicar el 50% en preemergencia y el otro 50% en la 1º postemergencia. En el “Programa C” (Reducción pre 75%) se ha reducido el 75 % de la preemergencia y el resto de aplicaciones de postemergencia han sido igual que en el Programa A. En el “Programa D” (Reducción total 25%) se ha reducido el 25 % de la cantidad de materia activa en todas las aplicaciones, y en el “Programa E” (Reducción total 50%) se ha reducido el 50% de la cantidad de materia activa en todas las aplicaciones.

Las cantidades totales de ma aplicadas por programa y su coste han sido:

| Momento de aplicación <sup>a</sup> | <u>ma</u> <sup>b</sup> | Programas (dosis producto comercial (p.c) .ha <sup>-1</sup> , expresada en L ó kg) |                 |                 |                 |                 |
|------------------------------------|------------------------|--|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                    |                        | A  | B               | C               | D               | E               |
| Pre/<br>Post1/<br>Post2/<br>Post3  | m                      | 1,0/0,3/0,3/0,3  | 0,5/0,5/0,3/0,3 | 0,3/0,3/0,3/0,3 | 0,8/0,2/0,2/0,2 | 0,5/0,2/0,2/0,2 |
|                                    | c                      | 1,0/-/-/-  | 0,5/0,5/-/-/-   | 0,3/-/-/-       | 0,8/-/-/-       | 0,5/-/-/-       |
|                                    | e                      | 0,50,2/0,2/0,2   | 0,3/0,3/0,2/0,2 | 0,1/0,2/0,2/0,2 | 0,4/0,2/0,2/0,2 | 0,3/0,1/0,1/0,1 |
|                                    | fd                     | -/0,3/0,3/0,3  | -/-/0,3/0,3     | -/0,3/0,3/0,3   | -/0,2/0,2/0,2   | -/0,1/0,1/0,1   |
|                                    | l                      | -/-/0,3/0,3  | -/-/0,3/0,3     | -/-/0,3/0,3     | -/-/0,2/0,2     | -/-/0,2/0,2     |

|                                 |         |         |         |         |         |
|---------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Dosis p.c.ha <sup>-1</sup>      | 5,4     | 4,6     | 3,5     | 4,0     | 2,7     |
| Total g.m.a.ha <sup>-1</sup>    | 3.070,0 | 2.680,0 | 1.870,0 | 2.302,5 | 1.535,0 |
| Coste Total €·ha <sup>-1c</sup> | 240,7   | 208,9   | 186,6   | 192,5   | 144,4   |

<sup>a</sup> Pre: preemergencia; PostX: Postemergencias

<sup>b</sup> ma: materia activa; m: metamitrona; c: cloridazona; e: etofumesato; fd: fenmedifam+desmedifam; l: lenacilo

<sup>c</sup> incluye 48 €·ha<sup>-1</sup> como coste de las 4 aplicaciones

2.3. *Diseño experimental y maquinaria de aplicación.* Bloques al azar, testigos no tratados intercalados entre los bloques y 4 repeticiones. Pulverizador de precisión, 8 boquillas de abanico separadas 33 cm. Presión de trabajo de 2 bar y el volumen de caldo 250 L·ha<sup>-1</sup>.

2.4. *Valoraciones de eficacia y selectividad.* Para la eficacia se han contado las malas hierbas en cada parcela elemental y se ha comparado con la población en el testigo. También se ha realizado una estimación visual de la eficacia, integrando población, vigor y desarrollo. La selectividad se ha valorado como la incidencia de los tratamientos en la población de remolacha.

2.5. *Tratamiento de los datos.* Se ha realizado el análisis de la varianza de los datos brutos de: eficacias respecto a los testigos adjuntos, poblaciones de malas hierbas, valoraciones visuales de la eficacia, número de remolachas y escala EWRS de selectividad. La comparación de medias se ha realizado con el test LSD al 5% y se indican los casos en que la significación es al 1%.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La frecuencia (ensayos con presencia/total ensayos) de las especies predominantes en los ensayos (Tabla 1) ha sido *Chenopodium album* (7/9) y *Polygonum aviculare* (6/9). La flora de dicotiledóneas ha sido mayor de 50 plantas·m<sup>-2</sup> en 5 de 9 ensayos. *P. aviculare* se ha analizado a parte por su dificultad de control, y ha estado presente en 4 de los 6 ensayos regados y en 2 de los 3 no regados. La población media de mmhh en los ensayos regados ha sido de 55 mh·m<sup>-2</sup> y en los no regados de 64 mh·m<sup>-2</sup>.

Tabla 1. Poblaciones de las principales especies de malas hierbas en los testigos no tratados, expresadas en plantas·m<sup>-2</sup>, en los ensayos de eficacia de los Programas herbicidas sobre las malas hierbas

| Ensayo <sup>b</sup> | Poblaciones de malas hierbas en los testigos no tratados·m <sup>-2a</sup> |       |       |       |       |       |        |
|---------------------|---|-------|-------|-------|-------|-------|--------|
|                     | Cheal   | Polav | Paprh | Solni | Amare | Verhe | Tdicot |
| Bercero R 2010      | 10  |       | 55    |       |       |       | 65     |
| Villalar R 2010     | 52  | 57    |       |       |       |       | 125    |
| Alaejos R 2010      |   | 21    |       |       |       |       | 30     |
| Valladolid 2010     | 21  | 17    |       |       |       |       | 45     |
| Valladolid R 2011   | 22  | 15    |       |       |       |       | 50     |
| Toro R 2011         | 5   |       |       | 6     |       |       | 12     |
| Villavieja R 2011   | 26  | 9     |       |       |       |       | 45     |
| Villalar 2011       | 22  | 13    |       |       | 35    |       | 73     |
| Alaejos 2011        |   |       | 30    |       |       | 25    | 73     |

<sup>a</sup>Cheal: *Chenopodium album*; Polav: *Polygonum aviculare*; Paprh: *Papaver rhoeas*; Solni: *Solanum nigrum*; Amare: *Amaranthus retroflexus*; Verhe: *Veronica hederifolia* y Tdicot: total dicotiledóneas, excluidas las resistentes

<sup>b</sup>Localidad año; R: regado en las 48 h después de la aplicación

La eficacia sobre dicotiledóneas, valorada 13 días después de la última aplicación (Tabla 2), ha oscilado entre 99,9% y 98,9% en los ensayos regados y entre 99,8% y 94,0% en los ensayos no regados. En los ensayos regados, la eficacia ha disminuido un 1% con el Programa E (50% de reducción de ma), mientras que en los no regados, la disminución de eficacia con este programa ha sido del 6%.

Tabla 2. Eficacia de los Programas herbicidas sobre las malas hierbas dicotiledóneas y sobre *P. aviculare*, según manejo del riego, 13 días después de la última aplicación. Valoración visual de la eficacia sobre las malas hierbas dicotiledóneas y sobre *P. aviculare*, según manejo del riego, 26 días después de la última aplicación. Selectividad, expresada como porcentaje de plantas de remolacha en los Programas herbicidas, respecto al testigo adjunto, según manejo del riego, 13 días después de la última aplicación

| Tratamiento  | Eficacia ( $n^{\circ}$ plantas.m <sup>-2</sup> ) |                    |                       |         | valoración visual <sup>a</sup> |          | Selectividad (% plantas de remolacha) |          |
|--------------|--|--------------------|-----------------------|---------|--------------------------------|----------|---------------------------------------|----------|
|              | Riego <sup>b</sup>                               |                    | No riego <sup>b</sup> |         | Riego                          | No riego | Riego                                 | No riego |
|              | Tdicot <sup>c</sup>                              | Polav <sup>c</sup> | Tdicot                | Polav   |                                |          |                                       |          |
| Programa A   | 99,9 a   | 99,9 a             | 99,8 a                | 99,7 a  | 9,8 a                          | 9,6 a    | 100,5                                 | 100,8    |
| Programa B   | 99,8 a   | 98,9 ab            | 99,5 a                | 99,3 a  | 9,8 a                          | 8,7 ab   | 100,1                                 | 98,9     |
| Programa C   | 99,4 ab  | 99,6 ab            | 98,3 a                | 98,0 a  | 9,3 a                          | 7,5 b    | 101,7                                 | 101,2    |
| Programa D   | 99,7 a   | 99,2 ab            | 98,4 a                | 97,0 ab | 9,6 a                          | 7,5 b    | 100,3                                 | 98,5     |
| Programa E   | 98,9 b   | 97,4 b             | 94,0 b                | 94,7 b  | 8,3 b                          | 5,5 c    | 100,5                                 | 100,2    |
| CV %         | 0,6  | 1,6                | 1,6                   | 1,0     | 8,6                            | 12,2     | 2,2                                   | 2,6      |
| F. Calculada | *  | *                  | *                     | *       | *                              | **       | ns                                    | ns       |

<sup>a</sup>Escala: 10: eficacia total; 9: excelente; 8: buena; 7: aceptable, límite práctico de aceptabilidad; 5-6: media; 0-4: baja, hasta nula

<sup>b</sup>Riego: 5 ensayos con riego en las 48 h posteriores a las aplicaciones; No riego después de las aplicaciones

<sup>c</sup>Tdicot: total dicotiledóneas sin incluir las resistentes; Polav: *P. aviculare*

Letras distintas dentro de la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) según el test LSD

ns: no significativo; \*: significativo al 5%; \*\*: significativo al 1%

n= 4 repeticiones

La especie que marca las diferencias de control entre Programas es *P. aviculare* (AIMCRA 2010), ya que la eficacia que se consigue con los herbicidas es menor que sobre el resto de especies, y, una vez que ha alcanzado el estadio de 2 hojas verdaderas, la eficacia disminuye sensiblemente. A los 13 días de la última aplicación, la eficacia sobre esta especie ha oscilado entre 99,9% y 97,4% en los ensayos regados y entre 99,7% y 94,7% en los ensayos no regados. En los ensayos regados, la eficacia ha disminuido un 2,5% con el Programa E (50% de reducción de ma), mientras que en los no regados, la disminución de eficacia con este programa ha sido del 5,3%.

En la valoración visual de la eficacia en los ensayos regados, donde se tienen en cuenta población, vigor y desarrollo, los Programas A, B, C y D han tenido un control excelente y, el Programa E, un control bueno. En los ensayos no regados, sólo el Programa A ha tenido un control excelente, B ha tenido un control bueno, los Programas C y D han tenido un control aceptable y el Programa D ha tenido un control medio, por debajo de lo aceptable.

Estos datos sugieren que, con estrategias de manejo sostenible, en este estudio manejando el riego para mejorar la acción de los herbicidas, se puede reducir la cantidad de ma un 25% respecto al Programa de referencia. Con esta reducción se puede controlar incluso *P. aviculare*, considerada, dentro de las habituales del cultivo, como la más difícil. Este margen de reducción se reduce cuando no se riega, y la disminución del 25% de ma disminuye la eficacia un 3%, próximo al límite de aceptabilidad en la valoración visual. En este cultivo, la

práctica generalizada es realizar riegos de nascencia hasta el establecimiento definitivo de las plantas. Este período coincide con el de las aplicaciones de post emergencia, pero con distinta cadencia. En definitiva, acoplar los riegos a las aplicaciones de herbicidas, no supone un gasto añadido, es aplicable con los medios actuales, no requiere instalaciones adicionales y permite reducir la cantidad de ma un 25% y el coste del control de malas hierbas en un 20%. Esta reducción es compatible con otras que se pueden lograr con métodos mecánicos (Ayala y Pérez, 2011).

No se ha detectado ningún efecto negativo en el número de plantas de remolacha relacionado con el manejo de los herbicidas y del riego.

#### 4. REFERENCIAS

- AIMCRA (2010). Memoria de resultados. Siembra de primavera 2010.
- Ayala J y Pérez A. (2011). Is there nothing more to say about weeds control? Advances in combined weed control. Projects to reduce the use of herbicides. Institut International de Recherches Betteravieres. Seminar, Sancourt (France).
- Ayala J, Omaña JM y Ortíz A. (2010). El sector remolachero ante la Directiva de uso sostenible de plaguicidas. XV Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Vitoria (España).
- Ayala J, Gutiérrez M, Omaña JM y Torres JA (2004). El control de las malas hierbas en la remolacha azucarera. Valladolid. Caja España.
- Gutiérrez M, Urbano JM, Tejero C, Maestre A. (2007). Competencia de las Malas Hierbas en Remolacha Azucarera de Siembra Otoñal. Aimcra. Vol. 95. Pag. 32-35.

Summary: Implications of the Directive on the sustainable use of pesticides to control weeds. Discussion in sugar beet. The Directive on the sustainable use of pesticides is one of the four laws included in the Thematic Strategy on the sustainable use of pesticides in the EU.

Among its objectives have to reduce the total amount of active ingredient applied and reduce dependence on agricultural production of pesticides.

In this paper we present results of efficacy and selectivity of beet herbicides according to sustainable management strategies. The data show that there is still scope for reduction - about 25% - of the total amount of active ingredient when combined application with irrigation management.

Keywords: sustainable use, herbicide active ingredient, effectiveness, weed, irrigation management.



XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Control Integrado de *Bromus diandrus*. Segundo año de ensayos**

JM Montull<sup>a</sup>, A. Taberner<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Universidad de Lleida-Agrotecnio, <sup>b</sup> Servicio de Sanidad Vegetal  
Rovira Roure 191. 25198, Lleida  
[josemontull@hbj.udl.cat](mailto:josemontull@hbj.udl.cat)

*Resumen:* En el presente trabajo se aportan los resultados obtenidos en el segundo año de ensayos sobre estrategias de control de *Bromus diandrus* en una zona en la que se cultivan principalmente cereales en siembra directa. Para ello se combinan en rotación tres cultivos diferentes con diversos herbicidas para cada cultivo. En ausencia de herbicidas, se incrementan las infestaciones de bromo en trigo y en cebada mientras que en guisante se reducen las poblaciones debido al retraso de siembra. La eficacia de los herbicidas selectivos utilizados en guisante sobre bromo es significativamente superior a la de los autorizados en trigo. Se trata, por tanto, de un ejemplo de gestión integrada de la mala hierba gramínea que presenta dificultades de control con herbicidas en el cultivo de cebada.

**Palabras clave:** *Bromus diandrus*, rotación, guisante proteaginoso, control integrado

## 1. INTRODUCCIÓN

La reducción de la dependencia de los fitosanitarios es un tema de actualidad. De hecho, a nivel legal, con la entrada en vigor de la Directiva 2009/128/CE de Uso Sostenible de Fitosanitarios se establece la obligatoriedad de la adopción de la gestión integrada de plagas, enfermedades y malas hierbas. Para ello, promueve, entre otros aspectos el empleo de métodos no químicos de control en detrimento del control químico con herbicidas.

Entre estos métodos no químicos, bien pueden considerarse las técnicas agronómicas como: rotaciones de cultivo, retrasos en la fecha de siembra, laboreo profundo o la realización de falsas siembras.

La eficacia de las técnicas agronómicas no siempre es suficiente para conseguir un control satisfactorio de malas hierbas. Por esta razón, no podemos dejar de lado el uso de herbicidas.

Por ejemplo, en el caso de la gramínea *Alopecurus myosuroides* que es problemática en zonas del centro y norte de Europa, se citan eficacias del 85% utilizando una adecuada rotación de cultivos, 90% para el barbecho o alrededor del 90% con la utilización de herbicidas selectivos (BayerCropScience 2009) (Moss 2011). El reto es “convencer al agricultor” de la bondad de estas técnicas. Suelen ser necesarios varios años de demostraciones prácticas y en diferentes condiciones para convencerlo y no llegar a que sea necesaria la implementación obligatoria de estas técnicas para poder producir (Moss 2011).

Las especies de malas hierbas gramíneas son las que causan los mayores problemas en el cultivo de los cereales. Varias son las razones para ello y la principal es que son fisiológicamente muy similares al cultivo. Están plenamente adaptadas porque tienen un ciclo de cultivo similar al de los cereales y es muy complicado el desarrollo de herbicidas activos contra estas malas hierbas porque también afectan al cultivo. Para el caso del bromo, en la actualidad los únicos herbicidas capaces de controlarlos son los inhibidores de la ALS y

únicamente pueden ser utilizados en el cultivo de trigo. El aumento de técnicas de mínimo laboreo junto con el difícil control con herbicidas ha provocado que aumente su importancia.

No obstante, el bromo presenta una nacencia muy agrupada con las primeras lluvias de otoño (Torra *et al.*, 2009), lo que ofrece la posibilidad de control con un manejo agronómico adecuado dentro de una perspectiva de control integrado.

El objetivo del presente trabajo es evaluar el segundo año de ensayos sobre estrategias de control de *Bromus diandrus* en una zona en la que se cultivan principalmente cereales en siembra directa. Para ello se combinan tres cultivos diferentes (trigo, cebada y guisante) con diversos herbicidas para cada cultivo.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 Diseño experimental

El ensayo se diseña como split-plot con cuatro parcelas principales: trigo en monocultivo (TM), trigo en rotación (TR), cebada (C) y guisante proteaginoso (G). Dentro de cada parcela principal se establecen 3 bloques con 4 parcelas de 10x9m cada una. En estas parcelas se llevan a cabo diferentes tratamientos herbicidas. Estos tratamientos, con sus dosis y momentos de aplicación pueden verse en la Tabla 1.

El trigo de otoño se sembró el 20-X-2011; la cebada el 15-XII-2011 y el guisante proteaginoso de ciclo primaveral se sembraron el 10-II-2012, según los usos de la zona.

Antes de la siembra de cada cultivo se realiza un tratamiento herbicida no selectivo con 2l/ha de Roundup (glifosato 36%).

### 2.2 Aplicación de herbicidas

Para realizar la aplicación, se utiliza un pulverizador de ensayos de presión constante impulsado por nitrógeno comprimido. La barra portaboquillas dispone de cuatro boquillas Hardi ISO LD-110-02 de abanico plano y 110° de apertura. El tratamiento se realiza a una velocidad de avance de 0,9 m/s, con un gasto de caldo de 300l/ha. La altura de la barra es de 50 cm sobre el objetivo.

Tabla 1. Herbicidas ensayados por cultivo, con la indicación de las materias activas que los componen, dosis y momento de aplicación respecto el cultivo y la mala hierba objetivo.

| Cultivo  | Herbicida      | Materia activa                             | Dosis<br>(kg o l pc/ha) | Momento de aplicación<br>(BBCH) |
|----------|----------------|--|-------------------------|---------------------------------|
| Trigo    |                | Testigo                                    | 0                       |                                 |
|          | Atlantis       | iodosulfuron 0,6% +<br>mesosulfuron 3%     | 0,5                     | 13                              |
|          | Broadway       | florasulam 2,28% + pyroxulam<br>6,83%      | 0,265                   | 13                              |
|          | Caliban<br>duo | iodosulfurón 1%+<br>propoxycarbazona 16,8% | 0,33                    | 13                              |
| Cebada   |                | No tratado                                 |                         |                                 |
| Guisante |                | Testigo                                    | 0                       |                                 |
|          | Mutual         | imazamox 1,67% +<br>pendimetalina 25%      | 3                       | 09                              |
|          | Challenge      | aclonifen 25%                              | 3                       | 09                              |
|          | Aramo 50       | tepraloxidim 5%                            | 1                       | 14                              |

### 2.3 Método de evaluación

Se realiza un conteo previo a la siembra de los cultivos durante el mes de octubre para comprobar el efecto del cultivo anterior en la germinación de *Bromus diandrus*.

La evaluación de la eficacia se realiza mediante conteos de plantas vivas a los 60 días después del tratamiento mediante lanzamiento de 4 cuadros de 0,1m<sup>2</sup> al azar por parcela experimental. La eficacia se expresa en relación a las parcelas sin tratar de cada especie.

Así mismo, la semana previa a la cosecha se evalúa la infestación final de cada parcela experimental siguiendo la misma metodología.

### 2.4 Estudio estadístico

El efecto del cultivo se analiza utilizando un análisis de varianza con los datos de las parcelas en las que no se ha aplicado ningún herbicida.

Por su parte, el efecto combinado del cultivo y del herbicida se analiza mediante análisis de varianza de dos factores, cultivo y herbicida. Se admite que en el efecto “cultivo” se integra la fecha de siembra y la competencia efectuada por el cultivo frente a la mala hierba.

En todos los casos, los test se desarrollan con la utilización del paquete estadístico XLSTAT 2011® de Addinsoft® y, si se detectan diferencias significativas con un nivel de significación  $\alpha=0,05$ , se realiza la separación de medias utilizando el Test de Duncan con el mismo nivel de significación que en el análisis de varianza.

## 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Infestación inicial de *Bromus diandrus*

En el gráfico 1 puede verse que el efecto del cultivo anterior de la rotación está muy relacionado con la infestación de bromo en el inicio de la segunda campaña. El cultivo después del cual la infestación ha sido mayor ha sido la cebada, por la baja eficacia de los herbicidas disponibles.

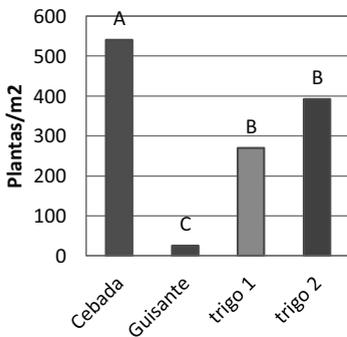


Figura 1. Infestación de *Bromus diandrus* (plantas/m<sup>2</sup>) al inicio de la campaña 2011-2012 (octubre de 2011). Los cultivos corresponden a los sembrados en la campaña 2010-2011.

Le sigue el trigo, en el que a pesar de disponer de herbicidas selectivos y con eficacias bastante aceptables (75-90%), la infestación en el año 1 es similar a la que existía en el año 2. Por esto puede desprenderse la conclusión de que no se pueden controlar, sólo con herbicidas, altas infestaciones de *Bromus* en el cultivo del trigo.

Por el contrario, vemos que tras el cultivo del guisante proteaginoso, la nacencia de bromo es muy baja, alrededor de 25 plantas/m<sup>2</sup>. El efecto combinado del retraso de siembra y la alta eficacia de los herbicidas disponibles en el cultivo (superior al 95%), hace que en un año, la densidad inicial de bromo baje más de un 90%.

### 3.2 Efecto de los diferentes cultivos en la densidad de *B. diandrus*

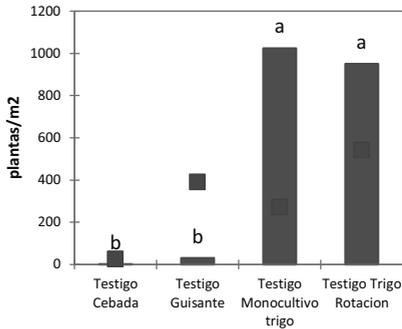


Figura 2, Infestación de Bromus en los testigos sin tratar. Los cuadrados rojos indican la infestación en octubre de 2011 y las barras la infestación en junio de 2012.

El efecto del cultivo del guisante en la reducción de la infestación de bromo es clave porque permite la eliminación de todas las plantas germinadas hasta la fecha que pueden ser hasta un 90% del total de plantas germinadas en la campaña, según trabajos de (García *et al.*, 2013).

En la cebada se parte de una infestación muy baja porque se ha sembrado en las parcelas en las que había guisante durante la campaña 2011. Además, como la siembra se ha llevado a cabo a finales del mes de Noviembre, se ha eliminado todo el bromo antes de la siembra y no ha sido necesario aplicar ningún herbicida para controlarlo, finalizando la campaña 2012 con un promedio inferior a 0,5 plantas/m<sup>2</sup>.

En las parcelas de trigo tras trigo (Trigo MT) y de trigo tras cebada (Trigo TR) ha aumentado la infestación de bromo de forma importante porque por efecto de la sequía invernal, el desarrollo del cultivo ha sido bajo y con las lluvias de la primavera ha germinado una gran cantidad de bromo, llegando a alcanzar las 1000 plantas/m<sup>2</sup> en alguna repetición.

### 3.3 Eficacias de los herbicidas aplicados en el ensayo

El principal inconveniente que tienen los herbicidas para controlar bromo en cereales es la similitud fisiológica entre el cultivo y la mala hierba. El guisante proteaginoso por ser un cultivo muy diferente fisiológicamente al bromo, permite disponer de herbicidas selectivos con una elevada eficacia contra esta mala hierba. Por esto, en promedio, los herbicidas del guisante han alcanzado una eficacia del 89,4% que es significativamente superior ( $P < 0,001$ ) a la alcanzada con los herbicidas en trigo (67,1%).

Además, hay que tener en cuenta que una misma eficacia puede tener como consecuencia diferentes niveles de infestación, ya que los herbicidas en guisante son aplicados sobre una población mucho más reducida por efecto del retraso de siembra. Los resultados en guisante fueron, por ello, especialmente buenos, ya que la eficacia de los herbicidas fue mayor (Figura 3) y, además, se partió de poblaciones menores.

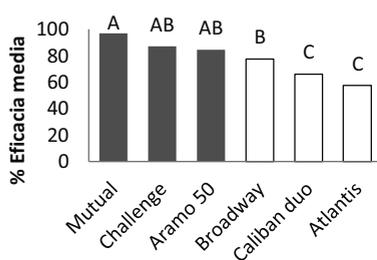


Figura 3. Eficacia media obtenida con los diferentes herbicidas aplicados contra *Bromus diandrus* los herbicidas selectivos en guisante y en blanco los autorizados en trigo.

#### 4. CONCLUSIONES

Las conclusiones que pueden extraerse de este trabajo son las siguientes:

1. En los cultivos de trigo y de cebada se incrementan las infestaciones de bromo cuando no se utilizan herbicidas.
2. En el cultivo de guisante bajan las infestaciones de bromo por el hecho de sembrarlo más tarde.
3. Las eficacias de los herbicidas selectivos del guisante son significativamente superiores a la de los autorizados en trigo.
4. Incorporar guisante en la rotación permite rebajar los niveles de población de bromo a niveles muy bajos debido al efecto combinado del retraso de siembra con la elevada eficacia de los herbicidas utilizados.

#### 5. AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto de Investigación AGL2010-22084-C02-01 titulado "¿Malas hierbas o diversidad vegetal? Su papel como indicador de la eficiencia de ayudas agroambientales y de técnicas de agricultura de conservación en secanos cerealistas".

#### 6. REFERENCIAS

- BayerCropScience (2009). Integrated Weed Management. [http://www.bayercropscience.com/bcsweb/cropprotection.nsf/id/EN\\_Integrated\\_Weed\\_Management/\\$file/Integrated%20Weed%20Management.pdf](http://www.bayercropscience.com/bcsweb/cropprotection.nsf/id/EN_Integrated_Weed_Management/$file/Integrated%20Weed%20Management.pdf) (accessed Julio 20, 2011).
- García, Addy L., Jordi Recasens, Frank Forcella, Joel Torra, and Aritz Royo(2013). Hydrothermal Emergence Model for Ripgut Brome (*Bromus diandrus*) *Weed Science*, no. 61: 146-153.
- Moss, Stephen (2011). Integrated Weed Management: Will it reduce the herbicide use? *International Symposium in Crop Protection*. Ghent.
- Torra, J., A. L. Garcia, C. Majan, A. Royo, C. Cantero, and J. Recasens.(2009) "Weed emergence patterns in winter cereals under zero tillage in dryland areas." *XIIIème colloque international sur la biologie des mauvaises herbes*. Dijon

Summary: *Bromus diandrus* Integrated management. Results from second year of trials. In this paper we provide the results obtained in the second year of trials on Bromus diandrus control strategies in an area where mainly winter cereals are grown under no-till. The management combined three different crops in rotation with various herbicides for each crop. Brome infestation increased in wheat and barley without herbicide treatments but decreased in spring-sown pea. The efficacy of pea selective herbicides is significantly higher than the one obtained wheat. This is therefore an example for integrated grass weed control, which is difficult to control in barley.

Keywords: *Bromus diandrus*, crop rotation, field pea, integrated weed management.

XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología, Valencia, 2013

**Gestión de la vegetación en los ferrocarriles Portugueses – estudio de un caso**

F. Lavrador\*<sup>a</sup>, A. Monteiro\*\* , T. Vasconcelos\*\* , M. Sousa Bastos\*\*\*

\*Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P., Quinta do Marquês, Avenida da República, Oeiras, 2784-505 Oeiras, Portugal. <sup>a</sup> filipe.lavrador@gmail.com

\*\*Centro de Botânica Aplicada à Agricultura, Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

\*\*\* Rua Conselheiro Albino dos Reis, N° 15 – 1.ºEsq. 2330-019 Entroncamento, Portugal.

*Resumen:* La gestión de la vegetación en vías de ferrocarril se hace para mantener las condiciones de drenaje, la visibilidad, la fiabilidad de equipos de seguridad y la prevención de incendios. Su estudio presupone un conocimiento de la flora existente, su distribución y de los métodos de aplicación anteriores y para eso se han efectuado inventarios e encuestas. Los resultados logrados definen la existencia de un gran número de especies, pero solo *Equisetum ramosissimum* con un grado de infestación elevado. El perfil de la vía de ferrocarril influye en 80% en la distribución de las especies, mucho más que de su situación geográfica. Los métodos de gestión, por lo tanto, se deben adaptar a la zona del perfil de la vía de ferrocarril debido a la diferente naturaleza de sus componentes.

**Palabras clave:** ferrocarril; flora; malas hierbas; gestión; vegetación; Portugal.

## 1. INTRODUCCIÓN

El control de la vegetación en las vías de ferrocarril se hace con los objetivos de mantener su drenaje y sus cualidades plásticas, la visibilidad y la fiabilidad de los equipos de señalización y bloqueo y, además, la prevención de incendios. En los ferrocarriles, el control de la vegetación es un enfoque que integra los conocimientos generales de la construcción y mantenimiento de infraestructuras de ferrocarril y las mejores prácticas agronómicas de control de malas hierbas, con la mira puesta en las cuestiones económicas, sociales y medioambientales. En Portugal, REFER EPE es la entidad pública responsable de la gestión de las vías de ferrocarril con una red de 2800 km que conecta el territorio continental portugués de norte a sur y con algunas líneas hacia el interior. Se trata de una realidad muy diferente de la verificada en los cultivos pero el estudio de la vegetación en ambos sistemas presenta aspectos comunes, como el conocimiento de la distribución de la vegetación y su grado de infestación (Michez & Guillerm, 1984).

Los objetivos de este trabajo han sido: 1) el estudio de la vegetación existente en el sistema ferroviario y su caracterización, 2) comprender las necesidades y los métodos de gestión de la vegetación en el sistema ferroviario, y 3) contribuir a implantar las buenas prácticas agronómicas al entorno ferroviario. Para lograr los objetivos se tomó el ejemplo de una vía ferroviaria que transcurre por el centro-litoral de Portugal, denominada “Linha do Oeste”, con 196.947 kilómetros entre las ciudades de Agualva-Cacém y Figueira da Foz. Los trabajos se realizaron en 2011.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se ha basado en la recogida de elementos del medio natural y cultural y en la recogida de elementos florísticos. A este fin, se han seleccionado 29 puntos de la totalidad de la línea del Oeste, teniendo en cuenta su representatividad, facilidad de acceso y de muestreo, disponibilidad de REFER *EPE* y sus empleados, y garantizar el mantenimiento y el cumplimiento de los niveles de seguridad necesarios para el funcionamiento normal de la red. Una visita previa a la infraestructura fue esencial para la selección de los puntos.

**2.1. Área de estudio.** La línea del Oeste es una vía ferroviaria en su mayoría de vía única y utilizada por trenes de media distancia y de mercancías. Sin embargo, en sus extremos da paso a los servicios de cercanías de los núcleos de Lisboa y de Coimbra. Para eso, y también para mejorar la prestación de trenes de mercancías, se encuentra electrificada en 25.349 de sus 196.947 km. Se presenta en perfectas condiciones tras su renovación en los primeros años del siglo XXI. Para la realización de los inventarios se dividió el perfil transversal de la vía férrea en tres zonas (Figura 1), más una zona exterior que fue nombrada “Talud” y se identificó con la letra D. Todos los puntos tenían las tres zonas pero en algunos no ha sido posible acceder a la zona exterior. Cada inventario corresponde a un muestreo en cada zona (A, B, C o D).

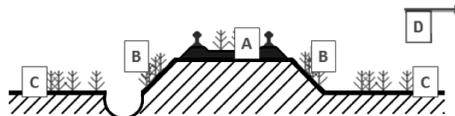


Figura 1. Ubicación de la vegetación en el perfil transversal de la vía férrea. A – Vía, B – Banqueta, C – Paseo, D – Talud.

Para la realización de los inventarios se ha dividido la línea del Oeste en cinco tramos (I, II, III, IV y V). I de Aqualva-Cacém a Feliteira, con 35 kilómetros; II de Feliteira a Bombarral con 33 kilómetros; III de Bombarral a Fanhais con 48 kilómetros; IV de Fanhais a Louriçal con 56 kilómetros y V de Louriçal a Figueira da Foz con 23 kilómetros. La división fue hecha con el objetivo de facilitar el acceso a los locales de muestreo, en cuestiones logísticas e internas a REFER *EPE*. Para cada tramo se ha dedicado un día para su estudio en el terreno.

**2.2. Método aplicado.** El método aplicado es el descrito por Maillet (1981) que es ir cuidadosamente a través del área de estudio, identificando las especies presentes y registrando su coeficiente de abundancia, según la escala de Barralis (1976). Se realizaron 109 inventarios en la primavera de 2011.

La vegetación ha sido identificada en el local del inventario o en Herbario João de Carvalho e Vasconcellos del Instituto Superior de Agronomía (ISA) en Lisboa, Portugal. Posteriormente, el elenco florístico se preparó con los diferentes *taxa*, especie, subespecie y variedad ordenados alfabéticamente, seguido por el clasificador o clasificadores, el código de Bayer, la familia y el tipo fisonómico, según clasificación de Raunkjær presentada por Vasconcellos (1969). A continuación, se examinó la frecuencia de las especies para determinar la nocividad de las principales malas hierbas. A tal efecto, se procedió al cálculo de Abundancia media (AM), Frecuencia absoluta (FA) y Frecuencia relativa (FR) (Barralis, 1976).

La evaluación del grado de infestación se obtiene por la relación entre la FR y su AM, ejes de abscisas y ordenas respectivamente, que identifica las especies más abundantes y más

frecuentes con una alta probabilidad de ser consideradas malas hierbas, sugiriendo su nocividad (Michez & Guillerme, 1984).

Los datos fueron sometidos a un análisis de correspondencia canónica que es un método desarrollado por Ter Braak en 1987 y que ordena y relaciona la distribución de las especies con factores ambientales, ordenándoles juntos en el mismo diagrama mediante el uso de regresión múltiple (Ter Braak & Smilauer, 2002). El análisis ha sido efectuada con el *software Canoco for Windows*, versión 4.5 y se han buscado relaciones entre la distribución de las especies con:

- el perfil de la vía de ferrocarril: las cuatro áreas en las cuales se ha dividido (vía, banqueta, paseo y talud);
- la situación geográfica: los cinco tramos en los cuales se dividió la línea del Oeste (I, II, III, IV y V).

Para el conocimiento de los métodos de gestión anteriores, se ha sometido a REFER EPE a una encuesta sobre los métodos de control y manejo efectuados en años anteriores.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los 109 inventarios realizados, 372 *taxa* han sido identificados, correspondientes a 75 familias. La Tabla 1 expone la distribución, en porcentaje, de los 372 *taxa* identificados de acuerdo con su tipo fisionómico, según la clasificación de Raunkjær, en cada una de las zonas y para el total de la línea del Oeste. Se observa que en cuanto se transita desde la vía (zona A) hasta su periferia (zonas B, C y D), disminuye la influencia de los terófitos, no obstante el número de *taxa* aumenta. Por otra parte, los fanerófitos se ubican preferentemente en la zona D – el talud – donde las intervenciones son menos frecuentes e incluye el mantenimiento de especies para su consolidación, pero que no comprometan la visibilidad.

Tabla 1. Porcentaje de *taxa* por tipo fisionómico y por zona del perfil de la vía de ferrocarril

| Tipo fisionómico      | Zona A - Vía | Zona B - Banqueta | Zona C - Paseo | Zona D - Talud | Línea del Oeste - Total |
|-----------------------|--------------|-------------------|----------------|----------------|-------------------------|
| Terófito              | 62,5 %       | 60,9 %            | 54,4 %         | 42,6 %         | 47,0 %                  |
| Criptófito            | 2,7 %        | 3,2 %             | 6,0 %          | 7,2 %          | 6,5 %                   |
| Hemicriptófito        | 21,4 %       | 20,5 %            | 24,6 %         | 22,1 %         | 22,6 %                  |
| Caméfito              | 5,4 %        | 7,1 %             | 7,1 %          | 9,5 %          | 8,6 %                   |
| Fanerófito            | 8,0 %        | 8,3 %             | 7,9 %          | 18,6 %         | 15,3 %                  |
| Numero de <i>taxa</i> | 112          | 156               | 252            | 264            | 372                     |

En cuanto al grado de infestación, solo la especie *Equisetum ramosissimum* Desf. tiene un grado elevado. Se encuentra presente en todos los tramos de la línea del Oeste (I, II, III, IV y V) y en todas las zonas del perfil de la vía de ferrocarril, especialmente en la vía y en la banqueta, mientras que en el paseo y en el talud se reduce su presencia. Esto indica su elevada capacidad de exploración de hábitats desfavorables en relación a la mayoría de las demás especies, disminuyendo su presencia en suelos de composición más orgánica, donde la competencia, en particular por la luz (Hartzler, 2009), es mayor. *Arundo donax* L. y *Rubus ulmifolius* Schott presentan un grado de infestación elevado en el talud.

El análisis de correspondencias canónicas (CCA) (Figura 2) indica que el 80% de la variación de la distribución de las especies, es explicada por las variables de las zonas del perfil de la vía de ferrocarril (vía, banqueta y paseo, más el talud) (Figura 2a). El análisis ha

identificado tres grandes grupos, vía + banqueta, paseo y talud, a los cuales se asocian determinadas especies. La diferencia del sustrato empleado, con balasto en la vía y en la banqueta, materiales inertes compactados en el paseo y materiales poco alterados respecto del original en el talud, es la principal explicación de estas diferencias.

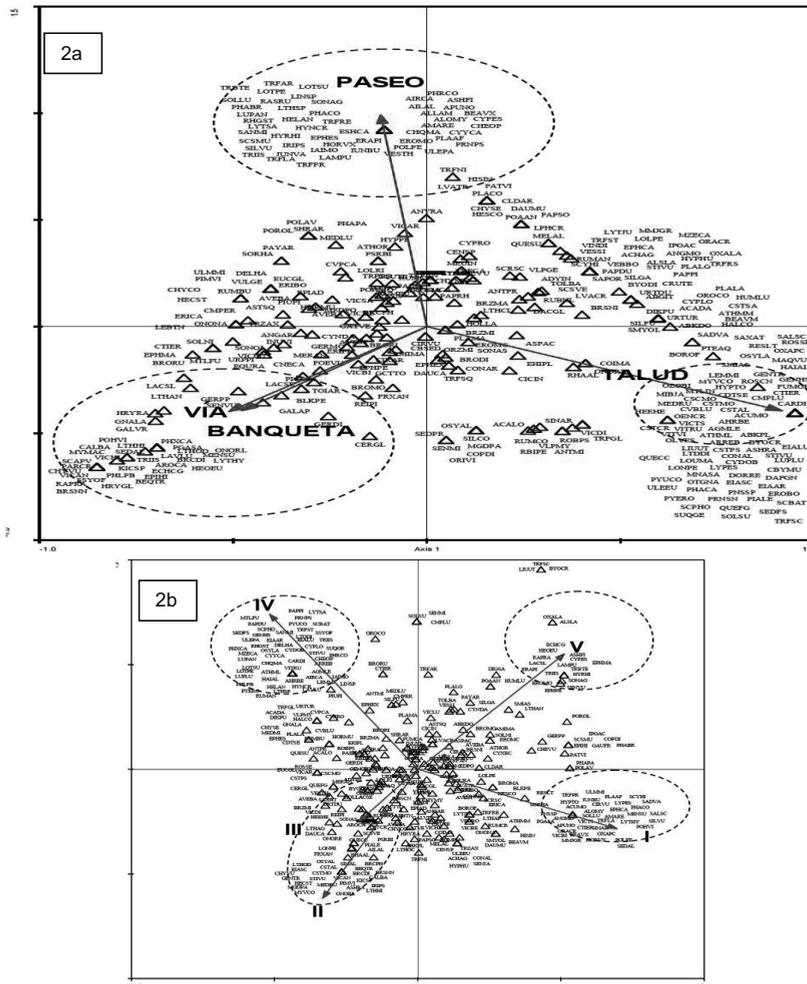


Figura 2. Ordenación (CCA) de las especies y variables. 2a) Variables de las zonas del perfil de la vía de ferrocarril (vía, banqueta y paseo, más el talud). 2b) Variables de la situación geográfica (tramos I, II, III, IV y V). Las especies se representan por sus códigos Bayer.

En cuanto a la situación geográfica, solamente explica el 47% de la variación de la distribución de las especies, existiendo un gran conjunto de especies que aparecen en todos los tramos en los cuales se ha dividido la línea del Oeste. Con este análisis las diferencias entre vía, banqueta, paseo y talud se han diluido, o sea, como las condiciones presentes en la zona de la vía y de la banqueta eran idénticas a lo largo de la línea de ferrocarril, esto ha afectado a la distribución de las especies. La Figura 2b transmite una imagen general de la variación que se explica con el análisis y que ha congregado las especies en cuatro principales manchas que coinciden con las principales naturalezas geológicas según LNEG (2010). Estos

datos, sugieren que una ordenación canónica solo con las especies de la zona de talud y del paseo podrá generar un aumento del porcentaje de varianza explicada por la relación especies-variables. Por lo tanto, los métodos de gestión de malas hierbas en ferrocarril se pueden adaptar más a las diferencias del elenco florístico existente en las diferentes zonas del perfil de la vía de ferrocarril, ya que la situación geográfica no tiene un papel tan importante en la distribución de las especies. En efecto, la actual utilización de herbicidas en REFER emplea boquillas centrales y laterales con diferentes productos y dosis.

Se advierte que los resultados logrados para este estudio de un caso concreto no deberán ser tomados como datos patrón para todas las redes de ferrocarril y administradores de infraestructura ferroviaria. Sin embargo, son un punto de partida posible para continuar el estudio de estas áreas. El tráfico, el trazado, y la tipología de las zonas adyacentes, así como la mayor o menor presencia de poblaciones, son variables importantes que deberán ser consideradas caso a caso.

#### 4. AGRADECIMIENTOS

Para la plena ejecución de este estudio se agradece a REFER EPE por todo el soporte.

#### 5. REFERENCIAS

- Barralis G (1976). Méthode d'étude des groupements adventices des cultures annuelles: application à la Côte d'Or. *V<sup>ème</sup> Coll. Int. Ecol. Biol. Mauvaise Herbes* 1: 59-68.
- Hartzler B (2009). *Equisetum: Biology and Management*. <http://www.weeds.iastate.edu/mgmt/2009/equisetum.pdf> Acceso : 28 abril 2013.
- LNEG (2010). Laboratório Nacional de Energia e Geologia, I.P. *Visualizador de Mapas do GeoPortal do LNEG – Carta Geológica de Portugal Continental 1:500000*. <http://geoportal.lneg.pt/geoportal/mapas/index.html>. Acceso: 14 noviembre 2011.
- Maillet J (1981). Evolution de la flore adventice dans le Montpellierais sous la pression des techniques culturales. *Thèse de 3<sup>ème</sup> cycle*, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier.
- Michez JM & Guillerm JL (1984). Signalment ecologique et degré d'infestation des adventices des cultures d'été en Lauragais. *7<sup>ème</sup> Coll. Int. Ecol. Biol. Mauvaise Herbes*. 1: 155-162.
- Ter Braak CJF & Smilauer P (2002). *Canoco reference manual and user's guide to Canoco for Windows: Software for Canonical Community Ordination (version 4.5)*. Microcomputer Power. NY. USA.
- Vasconcellos JC (1969). *Noções de morfologia externa das plantas superiores*. 3<sup>a</sup> ed. Direcção Geral dos Serviços Agrícolas, Lisboa.

**Summary:** *Weeds on railway tracks in Portugal – a case-study. In order to maintain drainage and plastic capacities of the railroad, weeds should be controlled. The visibility, from and to railroad, the reliability of signalization system and the fire prevention are other principal reasons to maintain the railroad free of weeds. A rational approach to this study includes the knowledge of vegetation distribution and infestation degree. The vegetation's surveying and respective analysis becomes essential to that. The results exhibited a large number of plant taxa, but Equisetum ramosissimum was the single taxon with a high infestation degree. The railway profile influence explains 80% of species variation, which is a prove of substrate influence: if in track and ballast slope the substrate is mainly constituted by inert material, the side-walk is compacted soil and the bank area is a natural space.*

**Keywords:** railway; flora; weeds; management; vegetation; Portugal.

ISBN 978-84-9048-131-8



## XIV CONGRESO DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE MALHERBOLOGÍA

### Editores

José M<sup>º</sup> Osca Lluch, Diego Gómez de Barreda Ferraz,  
Vicente Castell Zeising, Nuria Pascual Seva

La Sociedad Española de Malherbología (SEMh) fomenta y promueve el intercambio de conocimientos, análisis y debate de nuevas ideas y propuestas en el estudio y manejo de las malas hierbas, mediante la utilización racional de métodos de control que respeten al medio ambiente. Desde la segunda mitad del siglo XX hasta nuestros días, los métodos químicos de control, se han erigido como los predominantes en el manejo de las malas hierbas. Sin embargo en los últimos años estamos asistiendo a la desaparición de muchas materias activas herbicidas del mercado, así como a la cada vez más frecuente presencia de malas hierbas resistentes. Estos hechos han dado lugar a que en muchos cultivos o situaciones, resulte difícil la utilización del control químico como herramienta en el manejo de la flora adventicia, a lo que hay que añadir la pérdida de rentabilidad de los últimos años que se da en muchos casos. Esto es especialmente relevante en cultivos, en especial aquellos a los que se dedican menores superficies, en aquellos que se dan en zonas de alto valor ecológico y están especialmente protegidas y en zonas recreativas como parques, campos de golf... En estas situaciones el estudio, manejo y control de las malas hierbas representan todo un reto, en particular en climas mediterráneos.

En este libro se recogen los trabajos presentados al XIV Congreso de la SEMh bajo el lema Malas hierbas en clima mediterráneo: su manejo con recursos que limitados, celebrado en Valencia en la Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y Medio Natural de la Universitat Politècnica de València.



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

EDITORIAL