

Aspectos de la dispersión y viabilidad de las semillas de teosinte (*Zea mays* ssp.) en el Valle del Ebro

J.M. Montull^{1,*}, G. Pardo^{2,3}, J. Aibar³, J.M. Llenes⁴, A.I. Marí⁵, A. Taberner^{1,4} y A. Cirujeda^{2,3}

¹ Grupo de Malherbología y Ecología Vegetal, Agrotecnio, ETSEA, Universitat de Lleida, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España

² Unidad de Sanidad Vegetal, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avda. Montañana 930, 50059, Zaragoza, España

³ Instituto Agroalimentario de Aragón – IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), Calle Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza, España

⁴ Servicio Sanidad Vegetal, Generalitat de Catalunya, Rovira Roure 191, 25198 Lleida, España

⁵ Unidad de Sanidad Vegetal, Grupo de Gestión Integrada, Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España

Resumen

Una de las principales preocupaciones asociadas a la aparición de una nueva mala hierba invasora es la de evitar su expansión. En este trabajo se presentan los resultados de un estudio sobre las posibles vías de dispersión de teosinte (*Zea mays* ssp.) detectado en el Noreste de España en 2014. Se ha estudiado la distribución de los individuos de esta especie dentro de campos de maíz, así como la viabilidad de sus semillas después del proceso de molienda para pienso y en función de su tiempo de permanencia en purines de porcino y vacuno. Después de analizar la distribución de teosinte en 153 campos en Aragón y Cataluña, se ha encontrado que un 66,3 % de las parcelas han sido probablemente infestadas a través de las cosechadoras, confirmando que ésta es la principal vía de dispersión. La viabilidad de las semillas durante la molturación fue nula utilizando molinos con una criba de 5 y de 2,5 mm de diámetro (las comúnmente empleadas para la fabricación de pienso) aunque quedó viable un 2,6 % de las semillas cuando se utilizó una criba de 8 mm. Por último, el ajuste de los datos al modelo log-logístico indica que el tiempo de supervivencia medio de las semillas es de 11,1 y 16,4 días en purín de porcino y vacuno, respectivamente, y su nula viabilidad ocurre a los 15,7 días en porcino y 37,4 días en vacuno. Por tanto, hay que esperar al menos ese tiempo antes de esparcir ambos purines en zonas con infestaciones de teosinte.

Palabras clave: Mala hierba emergente, dispersión de plantas, especie invasora, cosechadora, molturación, purines.

Aspects of the dispersion and viability of the teosinte seeds (*Zea mays* ssp.) in the Ebro valley

Abstract

One of the main concerns associated with the appearance of a new invasive weed species is to prevent its expansion. In this paper we present the results of a study on the possible dispersal routes of teosinte

* Autor para correspondencia: josemaria.montull@udl.cat

(*Zea mays* ssp.) firstly detected in the Ebro valley (NE Spain) in 2014. With this purpose, the patterns of plant distribution within maize fields has been studied as well as the possibility of teosinte seeds remaining viable in the milling process for feeding animals and the viability of the seeds as a function of their residence time in pig and dairy slurry. After analyzing the distribution of teosinte plants in 153 fields in Aragon and Catalonia, it has been found that 66.3 % of the infested plots could have been probably infested by means of harvest combines. Regarding the milling and grinding process of grains of teosinte and corn together, null viability of seeds has been found using mills with an exterior mesh of 5 and 2.5 mm in diameter, which are commonly used for animal fodder but 2.6 % of the seeds remained viable after passing the 8 mm mesh. Finally, the log-logistic model predicted that the mean survival time of the seeds was 11.1 and 16.4 days in pig and cattle slurry, respectively and that the nil viability occurred at 15.7 and 37.4 days for pig and cattle slurry, respectively. It is, thus, necessary to wait at least during this period of time before spreading the slurry in areas with teosinte infestations.

Keywords: Emergent weed, plant dispersion, invasive species, combine harvester, milling, slurry.

Introducción

En 2014 las autoridades fitosanitarias de Aragón y Cataluña tuvieron conocimiento de la existencia de una planta muy parecida, desde el punto de vista morfológico, al teosinte en el Valle del Ebro, en zonas de Candanos (Huesca) y Miralcamp (Lleida). Esta planta se comporta como mala hierba en cultivo de maíz (Pardo *et al.*, 2014) ocasionando infestaciones muy severas en pocas campañas si se practica el monocultivo. Esto se debe a que, por un lado, es difícil identificarla, ya que en estadios iniciales se parece a *Sorghum halepense* (L.) Pers., además de al propio maíz, no distinguiéndose claramente del cultivo hasta la fase de espigado (Recasens y Conesa, 2015; Pardo *et al.*, 2015; Llenes y Taberner, 2017). Por otro lado, las altas densidades detectadas se deben también a que en la actualidad los agricultores basan el control de malas hierbas en los herbicidas y las materias activas que controlarían el teosinte no son selectivas para el cultivo de maíz dado que se trata de la misma especie. En etapas iniciales del proceso de identificación de esta planta y tras estudiar su morfología, se consideró que las nuevas plantas podían corresponder a la especie *Zea mays* subsp. *mexicana* (Schrad.) Iltis. Sin embargo, después de realizar un estudio molecular se concluyó que se trataba de una especie más

parecida genéticamente a *Zea mays* subsp. *parviglumis* Iltis & Doebley (Díaz *et al.*, 2019) si bien con introgresión de variedades comerciales de maíces híbridos (Trtikova *et al.*, 2017).

Un aspecto importante para contener la infestación de cualquier mala hierba es conocer y cuantificar las vías de dispersión entre parcelas. En el caso del teosinte, al tratarse de una semilla de gran tamaño, mayor de 5 mm, con un peso de mil granos relativamente elevado de $120 \pm 0,2$ g (Cirujeda *et al.*, 2019) y sin vilanos ni estructuras laminares que permitan planear, se considera difícil que pueda dispersarse de forma anemócora (Greene y Johnson, 1993). Sin embargo, hay que tener en cuenta el posible efecto de las máquinas que intervienen en el proceso de cultivo, sobre todo las cosechadoras y remolques que transportan la cosecha, en la dispersión de las semillas de esta especie, tal y como se ha citado para otras malas hierbas como *Avena* spp. (Barroso *et al.*, 2006), *Lolium rigidum* Gaudin (Blanco-Moreno *et al.*, 2004) y *Panicum miliaceum* L. (McCanny y Cavers, 1988).

Otra posible vía de dispersión de una mala hierba podría ser a través del ganado, bien directamente en el caso del pastoreo o indirectamente con el esparcido de los estiércoles y purines en el caso de estabulación total. En ese sentido, Cirujeda *et al.* (2019) mues-

tran que el pastoreo de los rastrojos de maíz mediante ganado ovino puede ser una vía potencial de dispersión de teosinte, ya que entre el 0,1 % y 3 % de las semillas ingeridas por este tipo de ganado fueron excretadas en estado viable, hasta 4 días después de su ingesta. Aparte de que el pastoreo de los rastrojos es una práctica habitual, hay que tener en cuenta que el maíz de la región del Valle del Ebro se utiliza principalmente para la producción de piensos y que éstos se utilizan sobre todo para la cría y engorde de ganado porcino y vacuno. El maíz suele molerse de forma previa a su incorporación al pienso y con él se pueden mezclar semillas de malas hierbas. El efecto de esta molienda puede afectar a la viabilidad de las posibles semillas de malas hierbas que acompañen a este cultivo. De hecho, el triturado de semillas de las malas hierbas es un método de control que está cobrando gran interés a nivel mundial para evitar el retorno al suelo de semillas de malas hierbas (Norsworthy et al., 2012). Sin embargo, preocupa que la destrucción de las semillas de teosinte no sea completa durante el proceso de molienda y la incorporación al suelo en forma de deyecciones de estiércol o purín después de la ingesta por ganado pueda ser una fuente de dispersión posterior. Las deyecciones de los animales se suelen esparcir de forma directa como fertilizante orgánico por lo que, potencialmente, si las semillas de teosinte continúan viables en los estiércoles o purines, pueden infestar las parcelas donde se apliquen como fertilizante dado que existen especies de malas hierbas capaces de soportar hasta 70 días cuando se composta el estiércol (Larney y Blackshaw, 2003). Lešnik (2001) encontró que semillas de otras gramíneas como *S. halepense* puestas en ensilado y posteriormente en purín de vacuno, fueron capaces de sobrevivir de 2 a 8 meses y las de *Panicum dichotomiflorum* Michx. entre 1 y 4 meses. Estos datos muestran la necesidad de estudiar el comportamiento en las deyecciones ganaderas de las semillas de cualquier mala hierba susceptible de ser ingerida por ganado.

Objetivos

Los objetivos del trabajo son el estudio de: a) las cosechadoras como vía de dispersión del teosinte en el Valle del Ebro y b) la viabilidad de las semillas de teosinte (i) cuando son molituradas a través de diferentes tamices y (ii) tras permanecer distintos periodos de tiempo en purines de origen porcino y vacuno previos a su distribución en campo como fertilizantes.

Material y métodos

Las cosechadoras como fuente de dispersión del teosinte

El estudio de la posible dispersión del teosinte debida a las cosechadoras se basó en los datos recogidos durante las prospecciones realizadas para localizar las parcelas infestadas por teosinte durante las campañas agrícolas de los años 2017 (Tabla 1).

Tabla 1. Número de parcelas por año en las que se localizó teosinte.

Table 1. Number of fields per year where teosinte was found.

Año	Aragón	Cataluña
2014	42	4
2015	29	20
2016	14	19
2017	13	12
Total	98	55

Se utilizaron los informes realizados por los prospectores contratados por el Centro de Sanidad y Certificación Vegetal de Aragón (CSCV) y los técnicos de la Unidad de Buenas Prácticas Fitosanitarias del Servei de Sanitat Vegetal (SSV) de la Generalitat de Cataluña.

En ellos, los prospectores anotaron el grado de infestación de la parcelas por teosinte considerando la presencia de plantas aisladas como afección baja mientras que la presencia de teosinte en rodales o de forma homogénea fue considerada afección alta. Para poder determinar si la cosechadora había sido o no la posible responsable de la dispersión de teosinte en las parcelas, se estableció una escala con 8 categorías diferentes según la localización del teosinte en la parcela, definiendo los tipos de infestación asociadas o no a la dispersión por cosechadora (Tabla 2). Si la dispersión de teosinte observada era al azar o en el centro de la parcela se consideraba que la cosechadora posiblemente no había

influido en su distribución inicial y, si por el contrario la infestación se localizaba en la entrada o en los bordes de la parcela, los cuales se cosechan al principio, se consideraba que la introducción del teosinte podía estar asociada al efecto de la cosechadora. Lamentablemente, en Aragón hubo muchas parcelas sin categorizar porque en los primeros años no se les requirió detallar la infestación a los prospectores.

Se asignó un valor de la escala a cada uno de los campos prospectados en estos años en Aragón y Cataluña para cuantificar la proporción de casos (parcelas) en los que las cosechadoras podrían haber sido las responsables de la dispersión de teosinte.

Tabla 2. Tipos de infestación observados y su asociación con el traslado por las cosechadoras.
Table 2. Observed infestation classes and their relationship with combine harvester transfer.

Categoría	Tipo infestación	Asociada a cosechadoras
1	Baja densidad. Plantas en la entrada de la parcela	Si
2	Baja densidad. Plantas en el perímetro	Si
3	Baja densidad. Focos aislados dentro de la parcela	No
4	Baja densidad. Plantas aisladas con distribución aleatoria	No
5	Alta densidad. Plantas en la entrada a la parcela	Si
6	Alta densidad. Plantas en el perímetro	Si
7	Alta densidad. Focos aislados dentro de la parcela	No
8	Alta densidad. Distribución homogénea por la parcela	Infestaciones que llevan muchos años sin control por lo que no se puede establecer su origen

Viabilidad de las semillas de teosinte tras la molturación

Para estudiar la posibilidad de que semillas de teosinte viables, mezcladas con el maíz que se utiliza para la elaboración de pienso lleguen a la cadena de alimentación animal,

se ha simulado dicho proceso. Para ello se introdujeron muestras de semillas de maíz con granos de teosinte en molinos de martillos (molino rotatorio, ZM200 Retsch, Germany) con cribas exteriores de diferente luz, simulando el proceso de molienda del maíz de forma previa a su incorporación a las for-

mulaciones de piensos. Los martillos del molino golpean las semillas contra una envoltura que contiene cribas metálicas intercambiables con orificios de diferentes diámetros que permiten la salida del material molido. Dichas cribas, de 8, 5 y 2,5 mm de luz, son seleccionadas en función de la finura deseada del producto molido. La criba de 8 mm se utiliza para incorporar fragmentos de tallos de maíz o de alfalfa al pienso, como fuente de fibra; la de 5 mm se utiliza cuando se desea una molienda gruesa para piensos en forma de gránulos y la de 2,5 mm cuando se desea una molienda fina para piensos en harina.

En el proceso de molturación se utilizaron semillas de teosinte de cuatro tipologías: (i) semillas consideradas puras, de aspecto oscuro, (ii) semillas sueltas, consideradas híbridas, provistas de una protuberancia amarilla, (iii) espigas conteniendo semillas de tipo puro con granos de difícil separación y (iv) espigas conteniendo granos híbridos. Se realizaron tres repeticiones por cada tipología y se utilizaron 100 g de semillas por repetición, lo que equivale a $789 \pm 28,8$ (error estándar) semillas por muestra en los lotes de semillas individuales; en los lotes de espigas se utilizaron $63 \pm 18,2$ espigas por muestra equivalentes a $858 \pm 30,6$ semillas por muestra. Los 100 g de teosinte se mezclaron con 400 g de maíz y constituyeron la muestra a molturar.

Una vez molida la muestra, se separaron los restos de semillas y se determinó el porcentaje de semillas enteras y viables que podrían llegar a la cadena de alimentación animal.

Viabilidad de las semillas de teosinte en purín de porcino y vacuno

El ensayo consistió en sumergir lotes de semillas de teosinte en recipientes con 10 litros de agua (a modo de testigo o control), de purín procedente de porcino de engorde y de purín de vacuno de leche situados a la in-

temperie y protegidos del sol directo mediante una malla que proporciona un sombreado del 70 %. El agua fue recogida en la acequia de Piñana, en el término municipal de Lleida y tiene un pH de 7,2. El purín de porcino provino de una granja de engorde de la localidad de Ballobar (Huesca), su pH fue de 7,4 y su conductividad eléctrica al inicio del ensayo fue de 41,3 mS/cm. El purín fue extraído inmediatamente antes del establecimiento de cada ensayo. El purín de vacuno procedió de una explotación lechera de la localidad de Vallfogona de Balaguer (Lleida), su pH fue de 7,2 y su conductividad eléctrica al inicio del ensayo fue de 16,3 mS/cm. Ambos casos se consideran explotaciones con un manejo estándar en la zona.

Se colocaron grupos de 5 semillas como unidad muestral en bolsas de malla de nylon con una luz de 50 μ m que permite el paso de líquidos. Las bolsas con las semillas fueron introducidas en los fluidos y extraídas a los 5, 10, 15, 20 y 25 días. En cada extracción se analizaron tres repeticiones por cada fluido. Los ensayos fueron iniciados el 1/4/2018, el 12/4/18 y el 25/6/18, denominados primavera 2018 (1), primavera 2018 (2) y verano 2018. En el último de los ensayos, se extrajeron bolsas con semillas adicionalmente a 35 y 40 días de ensayo.

Una vez extraídas, las bolsas fueron lavadas y remitidas al laboratorio. Al día siguiente se realizó la prueba de tinción de tetrazolio cortando las semillas a través del endospermo paralelamente al eje del embrión y sumergiéndolas en una solución en agua destilada de 1 % de cloruro de 2,3,5-trifenil tetrazolio con un pH de 6,5-7,5 durante 2 horas a 30 °C en oscuridad. Sólo las semillas con una coloración roja intensa y completa de todo el embrión fueron consideradas viables, de acuerdo con el protocolo empleado por el CSCV para el análisis de la viabilidad de maíz (adaptación de Porter et al., 1947).

En todos los ensayos se introdujeron sensores de temperatura con almacenamiento de datos (modelo TinytagPlus2, Gemini dataloggers, Chichester, Reino Unido) para determinar si la fermentación de la materia orgánica podía incrementar la temperatura y eso explicar posibles diferencias en la viabilidad de las semillas.

Análisis de los datos

El procesado de datos y los estudios estadísticos se han realizado utilizando la hoja de cálculo Excel 2013 y el programa estadístico XLSTAT v.2014. En el ensayo de molturación se realizó el ANOVA de acuerdo al diseño de experimental, considerando el "tipo de semilla" y el tamaño de criba como variables explicativas. Para la separación de medias se utilizó el test de Duncan ($\alpha < 0,05$).

En los ensayos de purines se realizaron ANCOVAs debido a que coexiste una variable continua (tiempo) con una variable discreta (época del ensayo). Con este análisis se pretenden detectar diferencias entre las épocas de realización del ensayo, en cada uno de los fluidos ensayados por separado. En este caso se ha utilizado el test de separación de medias de Student-Newman-Keuls. Además, los datos de mortalidad de semillas en purines se ajustaron a un modelo log-logístico de 4 parámetros (Seefeldt *et al.*, 1995) para relacionar las variables tiempo (x) y mortalidad (y), y así obtener los parámetros básicos de la curva: asíntotas superior (D) e inferior (C), Tiempo letal 50 % (TL_{50} , tiempo de inmersión en los líquidos que provoca el 50 % de mortalidad) y pendiente en el punto de inflexión (b).

$$y = C + \frac{D - C}{1 + \left(\frac{x}{TL_{50}} \right)^b}$$

Con la función obtenida en cada purín se determinó el tiempo teórico que debe trans-

currir para que todas las semillas dejen de ser viables ($y = 0$). En todos los análisis de varianza se comprobó su homogeneidad y la normalidad de los datos.

Resultados y discusión

Las cosechadoras como fuente de dispersión del teosinte

En cuanto al grado de afección, un 52 % de las parcelas estudiadas y categorizadas presentaron una baja densidad de teosinte mientras que en el 48 % restante esta densidad fue elevada (Tabla 3). Las parcelas con infestaciones altas y homogéneas supusieron, sobre el total, un 10 % en Aragón y un 19 % en Cataluña. Todo indica que en estas parcelas las infestaciones no son recientes y el monocultivo de maíz ha favorecido el incremento de densidad de esta mala hierba. Tanto en Aragón como en Cataluña, las parcelas más numerosas fueron aquellas en las que las plantas de teosinte se encuentran en el perímetro: un 59,5 % sobre las categorizadas en Aragón y un 44,5 % sobre las categorizadas en Cataluña. En cambio, las parcelas con focos aislados y en una posición aparentemente aleatoria fueron las menos frecuentes; en estos casos resulta difícil determinar la vía de dispersión por la cual las semillas iniciales llegaron a dichos campos. Los animales silvestres como aves o jabalíes también pueden estar implicados en la dispersión del teosinte (Howe y Smallwood, 1982; Murray, 1986) aunque su efecto no ha podido ser estimado.

La figura 1 muestra que dentro de las parcelas infestadas categorizadas, el 66,3 % de ellas presentaron infestaciones que podrían estar asociadas directamente al efecto de las cosechadoras. En el 15,2 % de las parcelas que presentaron infestaciones altas y homogéneas, no puede deducirse ninguna con-

Tabla 3. Resultados de las prospecciones realizadas entre los años 2014 y 2017. Los resultados se expresan como número de parcelas.
 Table 3. Results of the surveys carried out between 2014 and 2017. The results are expressed as number of fields.

	Entrada Parcela	Perímetro Parcela	Focos aislados	Plantas aisladas	Distribución homogénea	Infestación sin categorizar	Total
Aragón							
Baja densidad	4	9	2	3			18
Alta densidad	2	13	3		1		19
Total Aragón	6	22	5	3	1	61	98
Cataluña							
Baja densidad	4	16	2	7			29
Alta densidad	4	7	2		10		23
Total Cataluña	8	23	4	7	10	3	55
Total							
Baja densidad	8	25	4	10	0		47
Alta densidad	6	20	5	0	11		42
Total	14	45	9	10	11	64	153

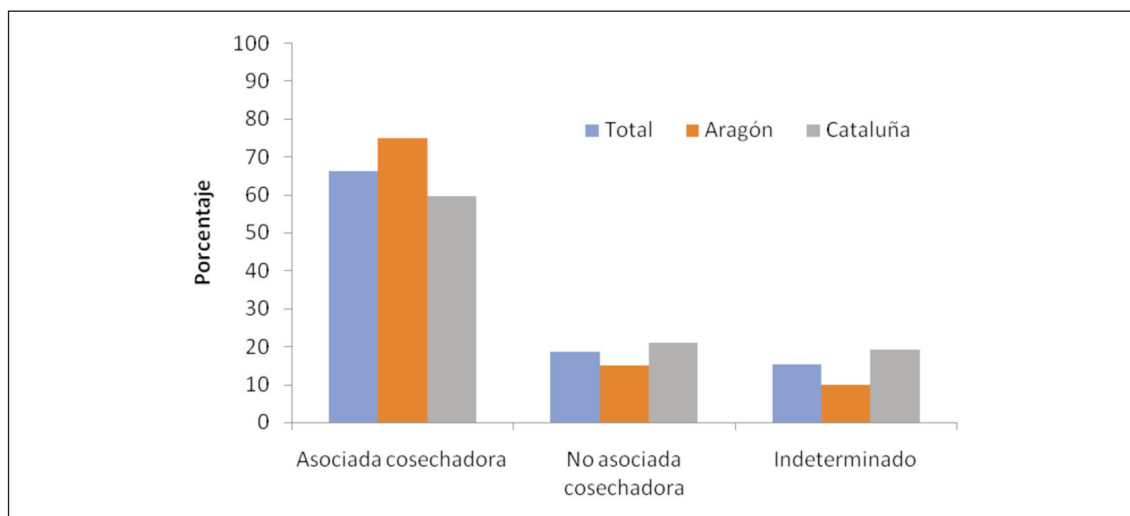


Figura 1. Papel de las cosechadoras en la dispersión del teosinte en las 153 parcelas de maíz con infestación de teosinte prospectadas. Porcentaje de parcelas prospectadas en las que la infestación de teosinte a) se asocia al uso de las cosechadoras, b) no se asocia a dicho uso, o bien c) no se puede determinar si hay una causa-efecto entre ambos factores.

Figure 1. Role of harvesters in teosinte dispersion in 153 surveyed maize plots with teosinte infestation. Percentage of prospected fields in which teosinte infestation a) is associated with the use of harvesters, b) is not associated, or c) cannot be determined if there is a cause-effect between both factors.

clusión al respecto, ya que posiblemente correspondan a parcelas que llevan muchos años infestadas. La tendencia en ambas comunidades autónomas fue similar. Por su parte, solo el 21,3 % de las parcelas presentaron infestaciones que no parecen ser provocadas por el transporte de semillas en las cosechadoras. Los resultados sugieren que el papel en la dispersión de esta mala hierba está muy ligado a las cosechadoras, de forma similar a como se produce en otras especies arvenses como *Avena sterilis* L. (Shirtliffe y Entz, 2005) y *L. rigidum* Gaudin (Blanco-Moreno et al., 2004).

La viabilidad de las semillas de teosinte tras la molturación

Tras la molienda de maíz y teosinte con tamaños de las cribas de paso de molino de 2,5 mm

de luz para producir pienso en harina y en gránulos, no se encontró ninguna semilla de teosinte viable. Estos resultados son más favorables para los agricultores que los obtenidos por Cash et al. (2007) para semillas de *Cardaria draba* (L.) Desv., *Cirsium arvense* (L.) Scop. y *Centaurea maculosa* Lam., entre otras, dado que las semillas de teosinte tienen un tamaño superior a aquellas. Ya que el tamaño de la semilla influye en su capacidad para atravesar el molino de martillos sin perder su capacidad germinativa es lógico pensar que cuanto mayor sea el tamaño de la semilla y menor el diámetro de paso de la criba del molino, más disminuye la probabilidad de que pase una semilla viable al triturar más la muestra.

Después de una molturación con la criba de paso de 8 mm, los porcentajes de semillas vivas en el material cribado dependieron de la tipología de las semillas (Tabla 4). Así, los re-

Tabla 4. Porcentaje medio de semillas de teosinte viables según su tipología tras la molienda con criba de 8 mm de luz. Letras distintas expresan diferencias estadísticamente significativas según test de Duncan ($\alpha < 0,05$).

Table 4. Percentage of viable teosinte seeds according to their type after grinding with 8 mm holes. Distinct letters indicate statistically significant differences following Duncan test ($\alpha < 0.05$).

Categoría	Semillas viables (%)
Semilla individual pura	2,61 A
Semilla individual híbrida	1,67 A
Semillas puras reunidas en espigas	1,34 AB
Semillas híbridas reunidas en espigas	0,21 B

sultados mostraron que las semillas híbridas de teosinte en espiga se trituraron de forma más eficaz que las consideradas puras sueltas. Entre el resto de combinaciones, aunque no hubo diferencias significativas, la tendencia indica que las semillas híbridas se Trituran más fácilmente que las puras (son más blandas) y que las semillas en espiga también se Trituran mejor que las sueltas. Esto posiblemente sea debido a que las espigas pasan más lentamente por todos los conductos del molino, por lo que les da más tiempo a Triturarse y las semillas resultan más dañadas (Tabla 4). En el caso de los trabajos de Zamora y Olivarez (1994), el paso por un molino de martillos con tamaño de 7,9 mm de luz solo disminuyó la viabilidad de las semillas de las malas hierbas en alrededor del 60 % ya que trabajaban con semillas de tamaño pequeño de entre 1 y 3 mm como *Phleum* spp. y *Medicago sativa* L. En la misma línea, Guzzomi et al. (2017) recomiendan usar cribas inferiores a 3 mm para eliminar las semillas de tamaño pequeño como las de *L. rigidum*. En general, cuanto mayor es el tamaño de la semilla, mejores eficacias se obtienen al intentar destruirla mecánicamente

(Schwartz-Lazaro et al., 2017), aunque se requiere más energía mecánica para conseguirlo. Por ello, en caso de disponer de maíz para la producción de pienso con riesgo de estar contaminado con semillas de teosinte, se recomienda utilizar esas partidas para producir pienso directamente, usando un tamaño de criba inferior a 5 mm, para conseguir la destrucción de todas las semillas.

Viabilidad de las semillas de teosinte en purín de porcino y vacuno

En los ensayos realizados en primavera se observó cómo la temperatura de los dos purines sólo de grado inferiores a la del agua (Figura 2), por lo que se descartó un posible efecto del medio en la temperatura del líquido que pudiera influir en la viabilidad de las semillas. En el ensayo de verano las temperaturas en los diferentes medios líquidos ensayados fueron muy similares, 24,8 °C de promedio en el agua, 24,7 °C en el purín de porcino y 24,3 °C en el purín de vacuno (no se muestran los datos horarios). Por ello, en estos ensayos se descartó la hipótesis de que un incremento de temperatura por fermentación haya podido afectar a la viabilidad de las semillas, dado que no se superaron los 25 °C de temperatura media, muy inferior a temperaturas de 35 °C a partir de las cuales se comienzan a observar daños en algunas especies (Grundy et al., 1998).

En cuanto a la época de realización del ensayo, no se pudo demostrar que ésta tuviera influencia en la viabilidad de las semillas cuando se introdujeron en los dos purines (Tabla 5) aunque si la tuvo, lógicamente, el tiempo que permanecieron las semillas en ellos (Tabla 6, Figura 3). Sin embargo, en el caso del agua hubo diferencias estadísticamente significativas entre las épocas de realización del ensayo (Tabla 5) aunque en ningún caso se ha llegado a mortalidades mayores al 50 % en los ensayos llevados a cabo en primavera, que fue cuando ésta fue más elevada.

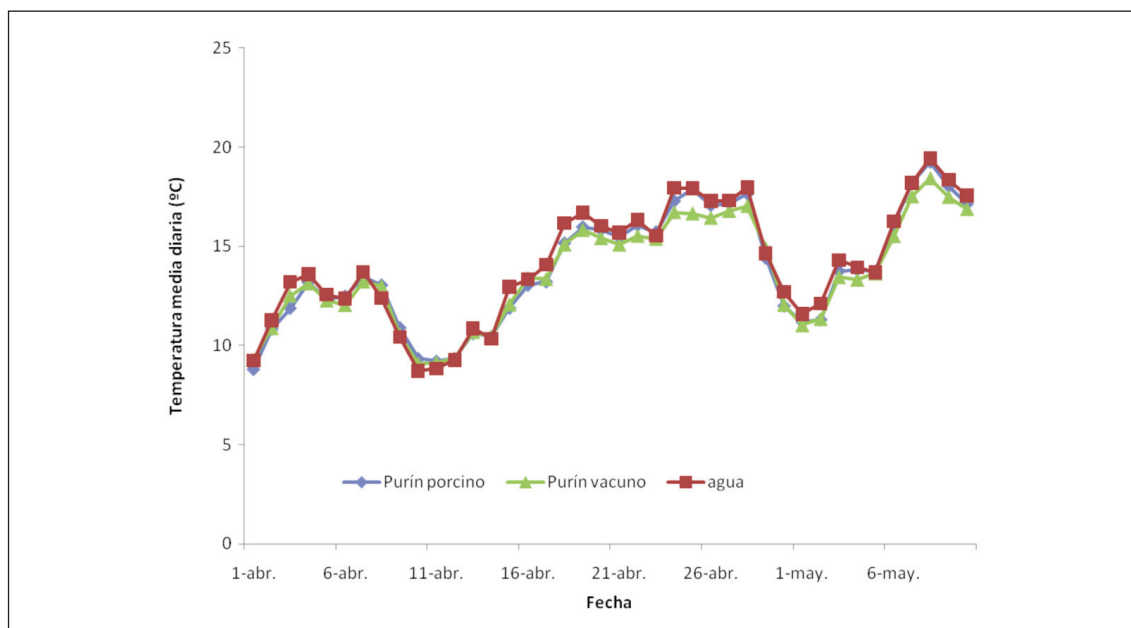


Figura 2. Temperaturas medias diarias en los tres medios líquidos estudiados en los dos ensayos realizados en primavera de 2018.

Figure 2. Average daily temperatures of the three liquid media studied in the two trials conducted in 2018.

Tabla 5. Resultados del ANCOVA realizado para detectar posibles diferencias entre las dos épocas de inmersión de semillas de teosinte en los diferentes fluidos (test de Student-Newman-Keuls, $\alpha < 0,05$).
Table 5. Results of the ANCOVA carried out to detect possible differences between the two seasons of teosinte seed immersion in the different fluids (Student-Newman-Keuls test, $\alpha < 0.05$).

Fluido	Total (Grados de libertad)	Diferencia estandarizada	Valor crítico	Pr > Dif
Purín porcino	47	1,610	2,015	0,115
Purín vacuno	58	1,363	2,004	0,178
Agua	60	4,816	2,002	< 0,0001

Además, como en este fluido no se ha conseguido una mortalidad del 100 % en ninguno de los tiempos de extracción, los parámetros del modelo (TL_{50} , etc.) no tienen utilidad agronómica para este trabajo, aunque si se demuestra que la pérdida de viabilidad de las semillas de teosinte sumergidas en agua es mucho más

lenta que la de aquellas introducidas en purín de vacuno y sobre todo en porcino.

De entre los fluidos ensayados, el purín de porcino ha sido el medio que más rápido ha causado la muerte de las semillas de teosinte, con un TL_{50} de 11,1 días. El purín de vacuno ha provocado una disminución de la via-

Tabla 6. Parámetros de la curva tiempo-mortalidad para cada medio. Se muestra el valor y su desviación estandar (DE). También se muestra el valor calculado cuando la supervivencia es nula.

Table 6. Parameters of the time-mortality curve for each medium. The value and its standard deviation (SD) are shown. The calculated value for zero survival rate is also shown.

Parámetro	Purín de porcino		Purín de vacuno	
	Valor	DE	Valor	DE
Asíntota inferior	-0,01	1,0	-16,3	19,9
Pendiente	28,3	6,7	2,2	0,6
Tiempo letal 50	11,1	0,1	16,4	3,0
Asíntota superior	98,7	1,3	99,4	5,4
Supervivencia nula	15,65		37,38	

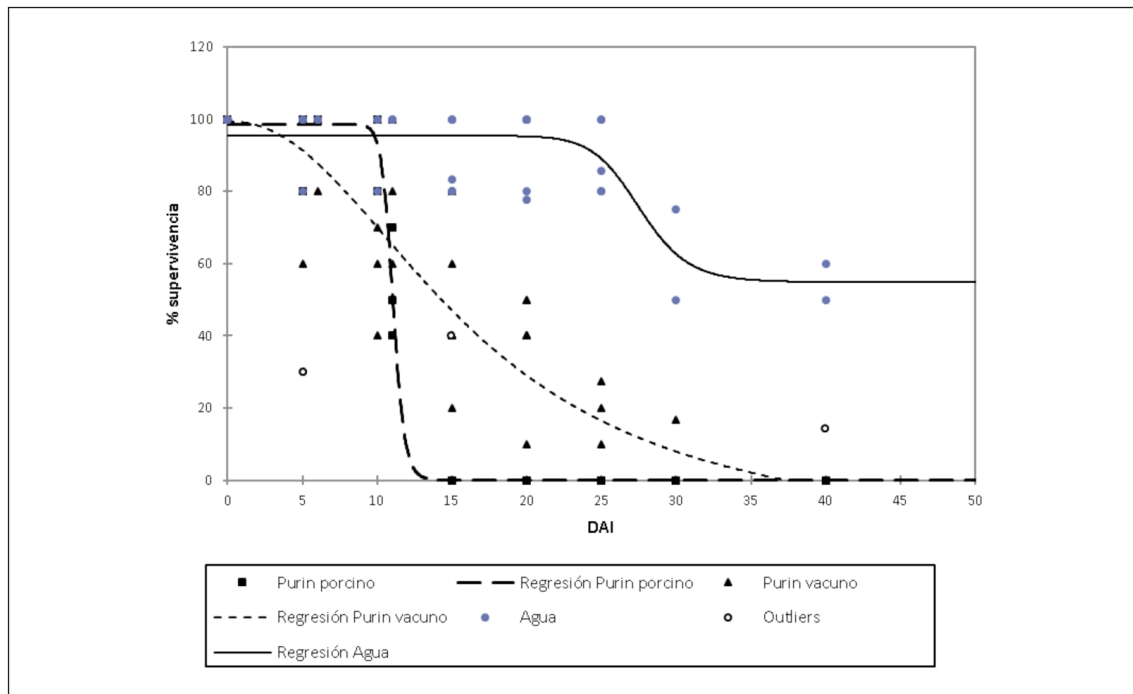


Figura 3. Porcentaje de supervivencia promedio de semillas de teosinte en los diferentes líquidos según los días sumergidos en cada medio (días después de la inmersión, DDI). Los puntos muestran los valores reales y la línea, el ajuste de los datos a la curva del modelo log-logístico.

Figure 3. Percentage of average survival of teosinte seeds in the three liquids related to the days submerged in each media (DAI). The dots show real values and lines show the adjusted log-logistic curve.

bilidad de las semillas de teosinte de una forma más lenta que el purín de porcino, obteniéndose un TL_{50} de 16,4 días, ligeramente superior al obtenido para porcino. En la práctica, en purín de porcino aún se encontraban semillas viables a los 10 días de inmersión, pero no a los 15 días. En purín de vacuno había un pequeño porcentaje de semillas vivas a los 35 días, pero ya no a los 40 días. Esto coincide con las predicciones de los modelos que indican la nula viabilidad de las semillas a los 15,7 días en la caso de estar sumergidas en purín de porcino y de 37,4 días en el de vacuno (Tabla 6). Así, estos datos indican que las semillas de teosinte tienen una viabilidad menor que las de otras gramíneas como *S. halepense* que pueden sobrevivir hasta 8 meses en purín de vacuno o *P. dichotomiflorum* que puede llegar a los 4 meses (Lešnik, 2001).

Por tanto, según los resultados de este ensayo, con un manejo adecuado de los purines, dejándolos en la balsa más de 20 días en caso del purín porcino y más de 40 días en el de vacuno, se reduce totalmente el riesgo de que semillas viables de teosinte lleguen a las parcelas, en caso de que se esparza el purín en éstas.

Conclusiones

Las principales conclusiones a las que se ha llegado tras la realización del presente trabajo son las siguientes:

1. La principal vía de dispersión de teosinte en la zona de estudio es a través de las cosechadoras, aunque no se descartan otras vías de menor relevancia. Es, por lo tanto, de importancia fundamental concienciar a los maquinistas de las cosechadoras y a los propios agricultores de este hecho para limpiar la maquinaria tras trabajar en una parcela infestada y evitar la dispersión de semillas a parcelas limpias que se cosechen posteriormente.

2. A pesar de que las semillas de teosinte no son viables tras su molturación con las cribas de paso de 2 y utilizadas para la elaboración de piensos en harina o en forma de gránulos, respectivamente, un 2,6 % sí lo son en caso de utilizar cribas de diámetros superiores. Éstas se utilizan para triturar materiales vegetales como cama de estabulación o como forraje. Por ello, antes de distribuir el estiércol generado con dicha cama, es necesario extremar las precauciones para evitar reinfestaciones.

3. La viabilidad de las semillas de teosinte en purín ha sido inferior a la de otras especies estudiadas por otros autores, pero aún así es necesario esperar entre 20 y 40 días después de la última entrada de purines en una balsa antes de distribuirlo en los campos.

4. Para evitar la dispersión de teosinte se considera imprescindible tener en cuenta las posibles vías de infestación descritas relacionadas con el manejo de cosechadoras, piensos, purines y estiércoles.

Agradecimientos

Los trabajos presentados en este artículo han sido financiados por el Proyecto INIA E-RTA 2014-00011-C02. Agradecemos la colaboración de Jorge Pueyo en la ayuda en los tests de tetrazolio y en el análisis de los expedientes de las prospecciones, y a Santiago Fuertes y Jesús Pérez el facilitarnos su consulta.

Referencias bibliográficas

Barroso J, Navarrete L, Sánchez del Arco MJ, Fernandez-Quintanilla C, Jull RI, Lutman PJW, Perry NH, Hull RI (2006). Dispersal of *Avena fatua* and *Avena sterilis* patches by natural dissemination, soil tillage and combine harvesters. *Weed Research* 46(2): 118-28. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2006.00500.x>

- Blanco-Moreno JM, Chamorro L, Masalles RM, Recasens J, Sans FX (2004). Spatial Distribution of *Lolium rigidum* seedlings following seed dispersal by combine harvesters. *Weed Research* 44(5): 375-87. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2004.00412.x>
- Cash SD, Zamora DL, Lenssen AW (2007). Viability of weed seeds in feed pellet processing. *Journal of Range Management* 51(2): 181-185. <https://doi.org/10.2307/4003205>
- Cirujeda A, Pardo G, Marí AI, Joy M, Casasús I (2019). Emergence and viability of teosinte seeds (*Zea mays* ssp. *mexicana* ad int.) subjected to sheep digestion. *Weed Research* 59: 145-154. <https://doi.org/10.1111/wre.12349>
- Díaz A, Taberner A, Vilaplana L (2019). The emergence of a new weed in maize plantations: characterization and genetic structure using microsatellite markers. *Genetic Resources and Crop Evolution* 67: 225-239. <https://doi.org/10.1007/s10722-019-00828-z>
- Greene DF, Johnson EA (1993). Seed mass and dispersal capacity in wind-dispersed diaspores. *Oikos* 67(1): 69-74. <https://doi.org/10.2307/3545096>
- Grundy AC, Green JM, Lennartsson M (1998). The effect of temperature on the viability of weed seeds in compost. *Compost Science and Utilization* 6(3): 26-33. <https://doi.org/10.1080/1065657X.1998.10701928>
- Guzzomi AL, Ryan M, Saunders C, Walsh MJ (2017). Reducing the integrated Harrington Seed Destructor power requirements through chaff fraction optimization. *Applied Engineering in Agriculture* 33(5): 695-701. <https://doi.org/10.13031/aea.12154>
- Howe HF, Smallwood J (1982). Ecology of seed dispersal. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13(1): 201-228. <https://doi.org/10.1146/annurev.es.13.110182.001221>
- Larney FJ, Blackshaw RE (2003). Weed seed viability in composted beef cattle feedlot manure. *Journal of Environment Quality* 32(3): 1105-1113. <https://doi.org/10.2134/jeq2003.1105>
- Lešnik M (2001). The changes in germinability of *Ambrosia artemisiifolia*, *Panicum dichotomi-florum* and *Sorghum halepense* seeds stored in maize silage and cattle slurry. *Rostlinná Výroba* 47: 34-39. <https://www.cabi.org/ISC/abstract/20013022942>
- Llenes JM, Taberner A (2017). Estado actual de la infestación por teosinte en Catalunya. En XXVIII Jornadas de Ciencia y Tecnología: Malas hierbas emergentes en el cultivo del maíz, 20 de abril, Huesca, España.
- McCanny SJ, Cavers PB (1988). Spread of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) in Ontario, Canada. II. Dispersal by combines. *Weed Research* 28(2): 67-72. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1988.tb00788.x>
- Murray DR (1986). *Seed Dispersal*. Academic Press, Sydney, Australia. 322 pp.
- Norsworthy JK, Ward SM, Shaw DR, Llewellyn, RS, Nichols RL, Webster TM, Bradley KW, Frisvold G, Powles SB, Burgos NR, Witt WW, Barrett M (2012). Reducing the risks of herbicide resistance: best management practices and recommendations. *Weed Science* 60: 31-62. <https://doi.org/10.1614/WS-D-11-00155.1>
- Pardo G, Cirujeda A, Betrán E, Fernández-Cavada S, Fuertes S, Rodríguez E, Perdiguier A, Aibar J, Zaragoza C (2014). Informaciones fitosanitarias 4/2014. Teosinte (*Zea mays* ssp. *mexicana*). Dirección General de Alimentación y Fomento Agroalimentario, Gobierno de Aragón. Disponible en: https://www.aragon.es/documents/20127/674325/INFORMACIONES_FITOSANITARIAS_20141119_04_TEOSINTE.pdf/526a92a6-2156-87ba-a3cf-3c629c78bf06 (Consultado el 10 septiembre 2019).
- Pardo G, Fuertes S, Fernández-Cavada S, Betrán E, Cirujeda A, Marí AI, Aibar J, Zaragoza C, Perdiguier A, Llenes JM, Montull JM, Taberner A (2015). Presencia de teosinte (*Zea* spp.) como mala hierba en los regadíos del valle del Ebro. *Actas XV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología*, 19 a 22 de octubre, Sevilla, España. 417-424.
- Porter RH, Durrell M, Romm HJ (1947). The use of 2,3,5-triphenyl-tetrazoliumchloride as a measure of seed germinability. *Plant Physiology* 22: 149-159. <https://doi.org/10.1104/pp.22.2.149>

- Recasens J, Conesa JA, (2015). Gramíneas malas hierbas en maíz, su identificación en plántula. *Vida Rural*, 390: 54-64.
- Schwartz-Lazaro LM, Norsworthy JK, Walsh MJ, Bagavathiannan MV (2017). Efficacy of the Integrated Harrington Seed Destructor on weeds of soybean and rice production systems in the Southern United States. *Crop Science* 57(5): 2812-2818. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.03.0210>
- Seefeldt SS, Jensen JE, Fuerst EP (1995). Log-logistic analysis of herbicide dose-response relationships. *Weed Technology*, 9: 218-227. <https://doi.org/10.1017/S0890037X00023253>
- Shirliffe SJ, Entz MH (2005). Chaff collection reduces seed dispersal of wild oat (*Avena fatua*) by a combine harvester. *Weed Science* 53(4): 465-470. <https://doi.org/10.1614/ws-03-109r2>
- Trtikova M, Lohn A, Binimelis R, Chapela I, Oehen B, Zemp N, Widmer A, Hilbeck A (2017). Teosinte in Europe – Searching for the origin of a novel weed. *Scientific Reports* 7 (1): 1-7. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01478-w>
- Zamora DL, Olivarez JP (1994). The viability of seeds in feed pellets. *Weed Technology*. 8: 148-153. <https://doi.org/10.1017/S0890037X0003935X>

(Aceptado para publicación el 3 de mayo de 2020)