

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL

GRAU D'ENGINYERIA AGROALIMENTÀRIA I DEL MEDI RURAL



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

SENSIBILITAT DE DIFERENTS BIOTIPS D'*Echinochloa* ALS HERBICIDES PROPANIL I PENOXSULAM

Treball final de Grau

Curs 2016/2017

Autor: **Miquel Matoses Meseguer**

Tutor: **Jose María Osca Lluch**

València, desembre de 2016





UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



EAMN
I AM NATURAL

SENSIBILITAT DE DIFERENTS BIOTIPS D'*Echinochloa* ALS HERBICIDES PROPANIL I PENOXSULAM

ABSTRACT

Rice farming is characteristic of the south of Valencia city area, largely coinciding with Albufera Natural Park. One of the biggest challenges of this crop is weed control. Barnyard grass (*Echinochloa spp.*) is a major weed of Valencian rice paddies and its control is based on the use of herbicides. Propanil has been used for weed control in this area but lately seems to have a decreasing effectiveness. Recently penoxsulam, introduced in Spain in 2007, has become important too. Other rice regions around the world have confirmed the presence of *Echinochloa spp.* biotypes showing resistance against these herbicides. With this background, this paper evaluates, by laboratory tests with 18 *Echinochloa spp.* biotypes from Valencia, if the development of propanil and penoxsulam resistance may be involved in the control failures identified on the paddies. A double test has been used: a first one in which the seeds are germinated on Petri dishes placed inside a germination chamber with a dose of herbicide added, and a second test with seedbed polystyrene trays, in which the herbicide is sprayed when seeds have germinated and plants have 1 to 3 leaves. Knowledge about multiple herbicide sensitivity of these *Echinochloa spp.* biotypes is important in order to plan weeds management and control program in paddy fields.

RESUM

El cultiu de l'arròs és un tret d'identitat de l'agricultura del sud de la ciutat de València, coincidint en gran part amb el terme del Parc Natural de l'Albufera. Un dels reptes més importants d'aquest cultiu és el control d'herbes adventícies. El serreig (*Echinochloa spp.*) és una de les herbes adventícies més importants al cultiu de l'arròs a València i el seu control es basa principalment en la utilització d'herbicides. El propanil va ser el primer herbicida d'alta efectivitat utilitzat a la zona valenciana però darrerament té una efectivitat que sembla decreixent. Recentment el penoxsulam, introduït a Espanya des de l'any 2007, ha cobrat importància. Altres regions arrosseres del món han confirmat la presència de biotips



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



EAMN
I AM NATURAL

d'*Echinochloa spp.* que mostren resistència front a aquestes matèries actives. Amb aquests antecedents aquest treball avalua, mitjançant bio-assajos de laboratori amb 18 poblacions valencianes d'*Echinochloa*, si el desenvolupament de resistència al propanil i penoxsulam pot estar implicat en les fallades de control detectades en camp. La metodologia utilitzada serà amb un doble assaig per separat: una primera prova en què les llavors es fan germinar sobre placa petri dins d'una cambra de germinació, directament amb la dosi d'herbicida incorporada, i una segona, sobre planter amb safates de poliestirè, en què l'herbicida s'aplica amb una polvorització quan les llavors ja han germinat i les plantes tenen entre 1 i 3 fulles. El coneixement de la sensibilitat a diferents herbicides dels diferents biotips d'*Echinochloa spp.* és important per a planificar el programa de maneig i control de les brosses als arrossars.

KEYWORDS

Rice, *Echinochloa*, propanil, penoxsulam, herbicide-resistance.

PARAULES CLAU

Arròs, *Echinochloa*, propanil, penoxsulam, resistència a herbicides.

Autor: En Miquel Matoses Meseguer

Tutor acadèmic: Prof En Jose María Osa Lluch

València, desembre de 2016

*Més lluny, sempre aneu més lluny,
més lluny de l'avui que ara us encadena.
I quan sereu deslliurats
torneu a començar els nous passos.
Més lluny, sempre molt més lluny,
més lluny del demà que ara ja s'acosta.
I quan creieu que arribeu, sapigueu trobar noves sendes.*

Lluís Llach, *Viatge a Ítaca*, 1975

En el punt final d'aquesta ruta que vaig començar ara fa 5 anys no puc més que recordar-me'n de totes aquelles persones que pel camí han anat fent possible que un dia hi arribara a la destinació esperada.

Gràcies a la meua família, amb el seu origen arrosser, que em va donar un punt de partida. Gràcies als companys i companyes que he anat trobant pel camí i m'han ajudat o s'han deixat ajudar durant el nostre aprenentatge conjunt. Gràcies al Voluntariat Lingüístic de la UPV, pel qual no he deixat de tindre sempre en ment l'Ítaca a què he volgut dirigir-me. Gràcies a la Universitat Politècnica de València i a l'ETSEAMN, perquè m'han mostrat fins a quin punt podia sentir-me part d'una institució, podia fer-la meua i sentir com a propis els seus reptes i oportunitats. Gràcies també a José M^a Osca per la confiança i per donar-me l'oportunitat d'aprendre, amb aquest treball, més del que mai no havera après dels llibres. Gràcies al meu poble, Sueca, al que crec que pertoca fer realitat els versos de Llach i *anar més lluny*. Però sobretot, gràcies a qui ha compartit amb mi tot el temps que he estat fent créixer la llavor d'aquest treball. No sempre ha sigut fàcil mantenir el ritme i així i tot ací està el fruit. Estic convençut que sense tu difícilment havera arribat a temps per a aquesta collita. Gràcies Teresa.

*Els qui sembraven amb llàgrimes als ulls
criden de goig a la sega*

Salms, 126:5

ÍNDIX

1. Introducció	1
1.1. Cultiu de l'arròs i herbes adventícies.....	1
1.1.1. <i>Echinochloa spp</i>	2
1.2. Control químic d'herbes adventícies.....	2
1.2.1. Herbicides estudiats	3
2. Objectius.....	5
3. Material i mètodes.....	6
3.1. Material.....	6
3.1.1. Material vegetal.....	6
3.1.2. Herbicida.....	6
3.1.3. Altres materials.....	6
3.2. Metodologia	7
3.2.1. Assaig sobre placa petri.....	7
3.2.2. Assaig sobre planter	8
3.3. Anàlisi estadístic	10
4. Resultats i discussió dels mateixos.....	11
4.1. Resposta al propanil	11
4.1.1. Sobre placa petri.....	11
4.1.2. Sobre planter.....	13
4.2. Resposta al penoxsulam.....	14
4.2.1. Sobre placa petri.....	14
4.2.2. Sobre planter.....	15
4.3. Resum de resultats i discussió.....	17
5. Conclusions.....	19
6. Bibliografia	20

Índex de figures

Figura 3-1 Distribució de les poblacions als alvèols de les safates	9
Figura 4-1 Efecte del propanil sobre la germinació de les poblacions.....	12
Figura 4-2 Efecte del propanil sobre la longitud de les plàntules	12
Figura 4-3 Efecte de l'aplicació de propanil sobre el planter	13
Figura 4-4 Efecte del penoxsulam sobre la germinació de les poblacions.....	14
Figura 4-5 Efecte del penoxsulam sobre la longitud de les plàntules.....	15
Figura 4-6 Efecte de l'aplicació de penoxsulam sobre el planter	16

Índex de taules

Taula 1-1: Herbicides autoritzats al cultiu de l'arròs a l'Estat espanyol.....	3
Taula 4-1 Resum de resultats per població estudiada	17

1. INTRODUCCIÓ

1.1. Cultiu de l'arròs i herbes adventícies

L'arròs (*Oryza sativa*) és un cereal d'estiu conreat al llarg de les zones tropicals i subtropicals de tot el món. Per la seua alta necessitat d'aigua el seu cultiu es realitza sobretot en aiguamolls i riberes de rius. El cultiu de l'arròs és tradicional de la zona del sud de la ciutat de València, especialment, però no exclusivament, al terme de l'actual Parc Natural de l'Albufera. Històricament l'arròs se sembrava en planters i després es trasplantava manualment al camp, perquè cresquera i donara fruit fins que avanços tecnològics van possibilitar la sembra directa a eixams, coneguda a la zona com a *barrejat*.

Aquest avanç, que estalvia una considerable càrrega de mà d'obra, té com a conseqüència que la flora adventícia present al camp afecte més negativament a la germinació i creixement de l'arròs.

Igual que a la majoria de cultius, el control de la flora adventícia és fonamental perquè competeix per l'espai, llum i nutrients, especialment durant les etapes de plàntula i afillament de l'arròs.

La flora adventícia considerada actualment més preocupant pels productors arrossers de l'Estat és l'*Echinochloa spp.* i el *Cyperus difformis*, (les dues de fulla estreta) especialment la primera, que és considerada la principal brossa per un 60% dels productors enquestats (Ortiz et al., 2015)¹. Dins del grup d'*Echinochloa spp.* principalment destaca *E. crus-galli*, *E. hysspidula* i *E. oryzicola*. Altres brosses de fulla estreta importants són del grup de *Leptochloa* (*L. fascicularis* i *L. uninervia*), l'arròs salvatge (*Oryza sativa* var. *sylvatica*) (Osuna et al., 2012) i recentment *Leersia oryzoides* (Osca and Seguí, 2015). Pel que fa a brosses de fulla ampla destaca el grup d'*Heteranthera*.

¹ Cal assenyalar que aquest estudi no contempla l'arròs salvatge o rebordonit, que s'ha incrementat notablement per ser de la mateixa espècie i suposar una dificultat afegida a l'hora de trobar herbicides selectius.

El control d'aquestes espècies és principalment químic i també mitjançant pràctiques culturals, com el llaurat, control del reg i birbat manual.

1.1.1. *Echinochloa spp.*

Les espècies del gènere *Echinochloa* són les brosses que més mesures de control requereixen (Osuna et al., 2012) perquè es tracta d'espècies gramínies molt similars a l'arròs cultivat, amb gran diversitat genètica, germinació escalonada i gran capacitat d'afillament (Vidotto and Ferrero, 2013).

A més, la taxonomia del gènere provoca discussió dins la botànica. Les espècies d'*Echinochloa* mostren un elevat grau de polimorfisme i, tot i ser autògames la seua hibridació interespecífica és freqüent i, per tant, la seua classificació esdevé molt complicada (Pardo et al., 2015).

Segons Carretero (1981), a les zones arrosseres de l'Estat espanyol existeixen 5 espècies: *E. crus-galli*, *E. colonum*, *E. hispídula*, *E. oryzoides* i *E. oryzicola*.

1.2. Control químic d'herbes adventícies

Els herbicides juguen un paper molt important en el control d'herbes adventícies a l'agricultura moderna i en el cas de l'arròs, que és una agricultura amb força mecanització a València, el seu ús (i abús) està molt estès. A la taula 1-1 es resumeixen els herbicides autoritzats en aquest cultiu.

D'altra banda, tal com diuen Pardo et al (2015):

El conreu de l'arròs és una situació particularment vulnerable a l'aparició de resistències segons els criteris del CPRH (2000) perquè:

- *sol ser un monocultiu.*
- *en una mateixa campanya es poden donar fins a tres aplicacions d'herbicida (moltes vegades amb mescles) per tal d'abastar tot l'espectre de flora que sol aparèixer.*
- *dels 18 herbicides autoritzats a Espanya, 14 d'ells pertanyen als grups A o B, pel que no existeixen moltes possibilitats a l'hora de rotar el seu ús (Taula 1-1).*
- *la major part d'aquestes matèries actives son inhibidores ALS, el mode d'acció més propens a generar resistències.*

Taula 1-1: Herbicides autoritzats al cultiu de l'arròs a l'Estat espanyol

Materia activa	Registrada	Registrada	Registrada	Mode d'acció
	<i>Echinochloa spp.</i>	<i>Cyperus spp.</i>	<i>Scirpus spp.</i>	
azimsulfuron	X	X	X	Inhibidor ALS
bensulfuron-	-	X	-	Inhibidor ALS
bentazona	-	X	-	Inhibidor PSII
bispiribac-sodio	X	X	-	Inhibidor ALS
cletodim ¹	-	-	-	Inhibidor ACCasa
cicloxdim ¹	X	-	-	Inhibidor ACCasa
cihalofop-butil	X	-	-	Inhibidor ACCasa
clomazona	X	-	-	Inhibidor HPPD
halosulfuron-	-	X	-	Inhibidor ALS
Imazamox ^{2,3}	X	X ⁴	X	Inhibidor ALS
imazosulfuron	-	X	-	Inhibidor ALS
MCPA	-	-	-	Auxina sintètica
molinato	X	-	-	Inhibidor síntesi lípids
ortosulfamuron	-	X	-	Inhibidor ALS
oxadiazon ¹	X ⁵	-	-	Inhibidor PPO
penoxsulam	X	X	-	Inhibidor ALS
profoxidim	X	-	-	Inhibidor ACCasa
propaquizafof ¹	X	-	-	Inhibidor ACCasa

Taula elaborada a partir del Registre de Productes Fitosanitaris del MARM.

¹En pre-sembra; ²Només en varietats *Clearfield*; ³Només controla bé *E. crus-galli*;

⁴Mitjanament sensible; ⁵Certa acció complementària.

1.2.1. Herbicides estudiats

1.2.1.1. Propanil

El propanil es va introduir a l'Estat al 1960 i des d'aleshores s'ha utilitzat per al control especialment d'*Echinochloa spp.*, convertint-se en un *company inseparable del conreu de l'arròs*. (Valverde, Riches and Caseley, 2000). Tot i que als últims anys es tracta d'un producte d'autorització excepcional a la UE, és a dir, que cada Estat o regió pot autoritzar el seu ús en casos excepcionals només si es considera imprescindible. Tot i això, i en absència d'evidències publicades, no és agosarat afirmar que, fins i tot quan no ha estat autoritzat s'ha continuat utilitzant.

1.2.1.1.1. Mecanisme d'acció

El propanil és de la família química de les amides i el seu mecanisme d'acció és mitjançant la inhibició de la fotosíntesi en el fotosistema II. És a dir, inhibeixen el procés fotosintètic interferint a la reacció de Hill, al transport d'electrons en el fotosistema II.

Usualment es provoca un canvi a la seqüència d'aminoàcids de serina per glicina i té com a conseqüència la destrucció dels carotenoides.

Si s'apliquen al sòl són absorbits pel sistema radical i transportats fins a les fulles mentre que si s'apliquen a les fulles actuen com a herbicides de contacte perquè no es poden mobilitzar pel floema (Acuña, 2000).

1.2.1.1.2. Casos de resistència

En 1986 es va confirmar el primer cas d'*Echinochloa spp.* resistent a propanil (Giannopolitis and Vassiliou, 1989) a Grècia i en 1989 a Arkansas (Baltazar and Smith, 1994). A l'estat espanyol aquest problema s'ha descrit a Andalusia (López-Martínez and Prado, 1998), la conca del riu Ebre (Prado and Ruiz-Santaella, 2005) i Extremadura (Tapia et al., 2007).

Els mecanismes de resistència enumerats Ruiz-Santaella i Prado (2005) són:

- Reducció de la concentració d'herbicida en el lloc d'acció.
- Metabolització a espècies no tòxiques.
- Mutació en el lloc d'acció objectiu (*target site*).

1.2.1.2. **Penoxsulam**

És un herbicida de la família de les triazolopirimidines sulfonamides. Va ser descobert per primera vegada en 1997 i registrat per al cultiu de l'arròs en 2004.

1.2.1.2.1. Mecanisme d'acció

Actua en la planta per inhibició de l'enzim acetolactat sintetasa (ALS). Es tracta d'un herbicida sistèmic que penetra en la planta principalment per via foliar (fulles i tija) i en menor mesura per via radicular, sent translocat pel floema i el xilema fins als teixits meristemàtics (Sorribas et al., 2006).

1.2.1.2.2. Casos de resistència

Segons l'enquesta internacional de brosses resistents a herbicides (Heap, 2016) s'han reportat casos d'*Echinochloa spp.* resistent al penoxsulam a Itàlia (2005 i 2009), Brasil (2009), Xina (2011), Turquia (2009), França (2013), Japó (2010) i Grècia (2009).

2. OBJECTIUS

L'objectiu d'aquest Treball Final de Grau és, a partir de poblacions d'*Echinochloa spp.* existents a la zona arrossera valenciana:

- Confirmar que la seua supervivència després de la collita és probablement conseqüència d'una evolució cap a la resistència o tolerància als herbicides propanil i penoxsulam.
- Classificar les poblacions segons la seua resistència front als herbicides propanil i penoxsulam.
- Servir de base per a futura experimentació que clarifique quin mecanisme de resistència han desenvolupat els biotips estudiats.

3. MATERIAL I MÈTODES

3.1. Material

3.1.1. Material vegetal

Les 17 poblacions d'*Echinochloa spp.* sospitoses de ser resistents als herbicides es van recollir durant els anys 2014 i 2015 de camps d'arròs del Parc Natural de l'Albufera on, després de la collita, hi estaven presents. La raó de seleccionar aquestes poblacions és perquè s'espera que, durant el cicle de conreu de l'arròs, s'hagen utilitzat mesures de control front a aquestes brosses així que la seua persistència al camp pot ser indicativa d'una possible resistència o de defectes a l'hora d'aplicar el control.

Les llavors es van recollir d'una o diverses plantes de cada camp i van ser emmagatzemades durant 6 mesos, les recollides en 2015, o un any i 6 mesos, les recollides en 2014, fins que van ser utilitzades directament als experiments.

Es va utilitzar també una població recollida en l'any 2013 que havia mostrat signes de susceptibilitat als herbicides perquè servira de control.

3.1.2. Herbicida

El propanil utilitzat és de la marca *Stam* i es tracta d'un concentrat emulsionable amb un 48% de matèria activa.

El penoxsulam utilitzat té com a nom comercial *Viper*. Es tracta d'una dispersió oliosa (OD) que té com a matèria activa el penoxsulam en un 2,04% p/v.

3.1.3. Altres materials

3.1.3.1. Assaig sobre placa Petri

3.1.3.1.1. Plaques Petri

S'utilitzaren plaques Petri de 9 cm de diàmetre, en què es van posar dos papers de filtre cobrint tota la base de la placa, sobre els quals es col·locaren les llavors posteriorment regades amb aigua de l'aixeta (les del control) o amb herbicida i aigua de l'aixeta (propanil o penoxsulam) com a caldo de cultiu.

Les plaques es van col·locar dins de contenidors de plàstic per a evitar que s'assecara el seu interior, i aquests contenidors dins de la cambra de germinació.

3.1.3.1.2. Cambra de germinació

Cambra de germinació d'ambient controlat (*fitotron*), amb alternança de llum/fosc i climatització construït per l'empresa *Tratavent*.

Les condicions a què estava configurada eren de 12 hores de llum i 12 de fosc amb una temperatura de 27,4° C i una humitat del 66%.

3.1.3.2. Assaig sobre planter

3.1.3.2.1. Safates d'alvèols

La sembra es va realitzar sobre 9 safates de poliestirè (3 per al control, 3 per al propanil i 3 per al penoxsulam) de 150 alvèols (15 x 10) cada una de 69 cm x 47 cm x 7,5 cm. Els alvèols tenien unes mesures de 3,5 cm x 3 cm.

Es van preparar per a la sembra utilitzant substrat barrejat amb terra natural a parts iguals.

3.1.3.2.2. Equip de polvorització

Es va utilitzar una motxilla de polvorització a motor amb 16 litres de capacitat de la marca *Whale Best*.

3.2. Metodologia

3.2.1. Assaig sobre placa petri

3.2.1.1. Sembra

Es van fer tres repeticions per tractament (control, propanil i penoxsulam), donant un total de nou plaques Petri amb cada població de llavors. Com que hi havia 18 poblacions diferents el total de plaques utilitzades va ser de 162.

A cada placa es va col·locar dos papers de filtre i 25 llavors de la població corresponent, donant, per tant, un total de 225 llavors per població (75 llavors per tractament) donant un total de 4050 llavors.

3.2.1.2. *Aplicació de l'herbicida*

A les poblacions control se'ls va posar un reg inicial de 50 ml. d'aigua de l'aixeta a cada placa mentre que als assajos amb herbicida se'ls va incorporar aigua amb la dosi comercial de cada herbicida (caldo) proporcional a la superfície interna de la placa Petri. Així doncs:

- Als assajos amb propanil se'ls va incorporar la dosi corresponent a $6 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$.
- Als assajos amb penoxsulam se'ls va incorporar la dosi corresponent a $2 \text{ L}\cdot\text{ha}^{-1}$.

Després de l'aplicació de l'aigua (o caldo herbicida) els contenidors de plàstic amb les plaques es van deixar dins la cambra de germinació durant una setmana amb les condicions abans esmentades.

3.2.1.3. *Avaluació*

En passar una setmana es van avaluar totes les poblacions a partir de dues variables:

- Recompte de llavors germinades.
- Longitud del coleòptil (o coleòptil més fulla en cas que ja l'havera traspasat) amb l'ajuda d'un paper mil·limetrat plastificat.

3.2.2. *Assaig sobre planter*

3.2.2.1. *Sembra*

Els alvèols de les safates de poliestirè es van omplir de la mescla de substrat i terra i a cada alvèol es van sembrar tres llavors de la població a estudiar. Cada població es va sembrar d'aquesta manera a 8 alvèols per safata, situats en diagonal respecte als eixos llarg i ample de la safata seguint l'esquema de la figura 3-1. La població 2015-X, utilitzada per a l'anterior assaig, es va retirar d'aquest per ser la mateixa que la 2015-33.

Les safates es van col·locar a l'interior d'un hivernacle ombrejat amb reg per aspersió. Quan les llavors ja havien germinat (entre una setmana o dos després de la sembra) es van aclarir les plàntules deixant només una planta per alvèol.

J	15-55	15-53	15-52	15-51	15-50	15-54	15-49	15-48	15-33	15-30	15-24	14-33	14-30	14-24	13-5
I	15-53	15-52	15-51	15-50	15-54	15-49	15-48	15-33	15-30	15-24	14-33	14-30	14-24	13-5	15-56
H	15-52	15-51	15-50	15-54	15-49	15-48	15-33	15-30	15-24	14-33	14-30	14-24	13-5	15-56	15-58
G	15-51	15-50	15-54	15-49	15-48	15-33	15-30	15-24	14-33	14-30	14-24	13-5	15-56	15-58	15-55
F	15-50	15-54	15-49	15-48	15-33	15-30	15-24	14-33	14-30	14-24	13-5	15-56	15-58	15-55	15-53
E	15-54	15-49	15-48	15-33	15-30	15-24	14-33	14-30	14-24	13-5	15-56	15-58	15-55	15-53	15-52
D	15-49	15-48	15-33	15-30	15-24	14-33	14-30	14-24	13-5	15-56	15-58	15-55	15-53	15-52	15-51
C	15-48	15-33	15-30	15-24	14-33	14-30	14-24	13-5	15-56	15-58	15-55	15-53	15-52	15-51	15-50
B								15-56	15-58	15-55	15-53	15-52	15-51	15-50	15-54
A								15-58	15-55	15-53	15-52	15-51	15-50	15-54	15-49
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15

Figura 3-1 Distribució de les poblacions als alvèols de les safates

3.2.2.2. Aplicació de l'herbicida

Quan les plantes tenien d'una a dues fulles es va aplicar l'herbicida mitjançant la motxilla de polvorització a motor. Les dosis utilitzades van ser de nou les comercials: $6\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ de propanil i $2\text{L}\cdot\text{ha}^{-1}$ de penoxsulam.

Després d'aplicar el tractament les safates es van tornar a col·locar a l'hivernacle amb reg per aspersió.

3.2.2.3. Avaluació

Una setmana després de l'aplicació del tractament es van quantificar les plantes establint tres categories:

- Nombre de plantes en perfecte estat.
- Nombre de plantes afectades lleugerament (podrien sobreviure): aquelles que, tot i mostrar símptomes de feblesa es mantenen més o menys erectes respecte al sòl.
- Nombre de plantes afectades dràsticament (amb poca o nul·la probabilitat de sobreviure): aquelles on la tija ha caigut i estan completament arran de terra o directament s'han assecat. Als dos casos la planta no sobreviuria a un camp negat.

3.3. Anàlisi estadístic

Després de cada assaig experimental les dades obtingudes en funció dels paràmetres avaluats es van organitzar en taules i es van representar amb gràfiques per a poder comparar uns resultats amb altres.

També es va realitzar un test ANOVA d'una única variable (població tractada o control) per a detectar si la diferència era significativa.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ DELS MATEIXOS

4.1. Resposta al propanil

4.1.1. Sobre placa Petri

Per a analitzar els efectes del propanil sobre les poblacions d'*Echinochloa* en aquest assaig cal tenir en compte per separat els efectes sobre la germinació i sobre la longitud de les plantes, a partir de les figures 4-1 i 4-2.

Com es pot observar l'efecte del propanil sobre la germinació de les poblacions estudiades (figura 4-1) és bastant dissemblant. Algunes poblacions augmenten el percentatge de germinació amb l'herbicida, encara que de forma discreta, mentre que altres sí que mostren una clara disminució del percentatge amb un màxim del 30% (etiqueta 2015-50).

D'altra banda, si es té en compte l'efecte sobre la longitud de les plàntules (figura 4-2) sí que trobem un efecte més o menys fort d'inhibició del creixement. Aquests valors disminueixen des d'un 13% (etiqueta 2015-49) fins al 70% (etiqueta 2015-54) amb una mitjana del 34%, on se situa la població control (etiqueta 2013-5).

Prenent aquests dos resultats en conjunt es poden establir cinc grups diferents en funció de la seua resposta al tractament (classificació A):

- Un primer grup format per poblacions que no van mostrar cap efecte en la germinació (menys d'1 % de diferència) i molt lleu en la longitud (menys del 20%). Etiquetes: 2015-33, 2015-49 i 2015-X.
- Un segon grup on l'efecte no es va mostrar a la germinació (valors negatius o menors del 5%) però sí que va afectar fortament a la longitud (més d'un 20%). Etiquetes: 2015-30, 2015-52, 2015-53, 2015-54, 2015-56, i 2015-58.
- Un tercer grup al qual l'herbicida va afectar lleument respecte a la germinació (del 5% al 15%) i fortament pel que fa a la longitud (més del 20%). Etiquetes: 2014-24, 2014-30, 2014-33 i 2015-51.
- Un quart grup, format per una única població, al qual l'efecte va ser fort a la germinació però feble a la longitud (16% i 17% respectivament). Etiqueta 2015-48.

- Un cinquè i últim grup on l'efecte va ser considerable tant pel que fa a la longitud (més d'un 20%) com a la germinació (més d'un 15%). Etiquetes: 2013-5, 2015-24, 2015-50 i 2015-55.

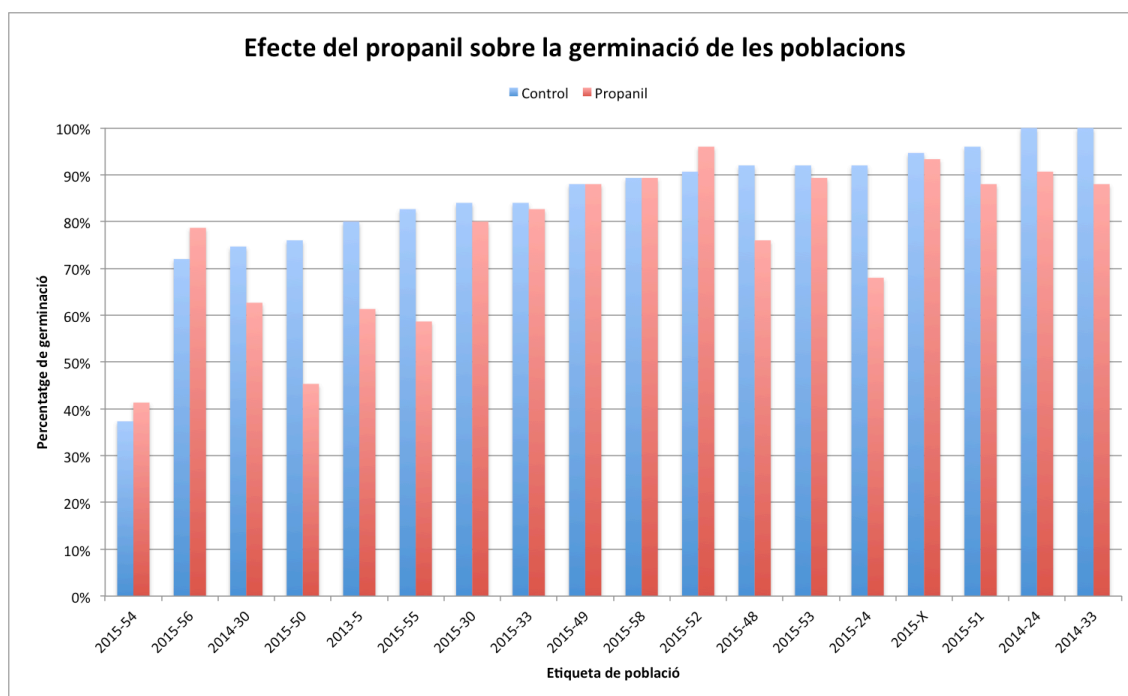


Figura 4-1 Efecte del propanil sobre la germinació de les poblacions

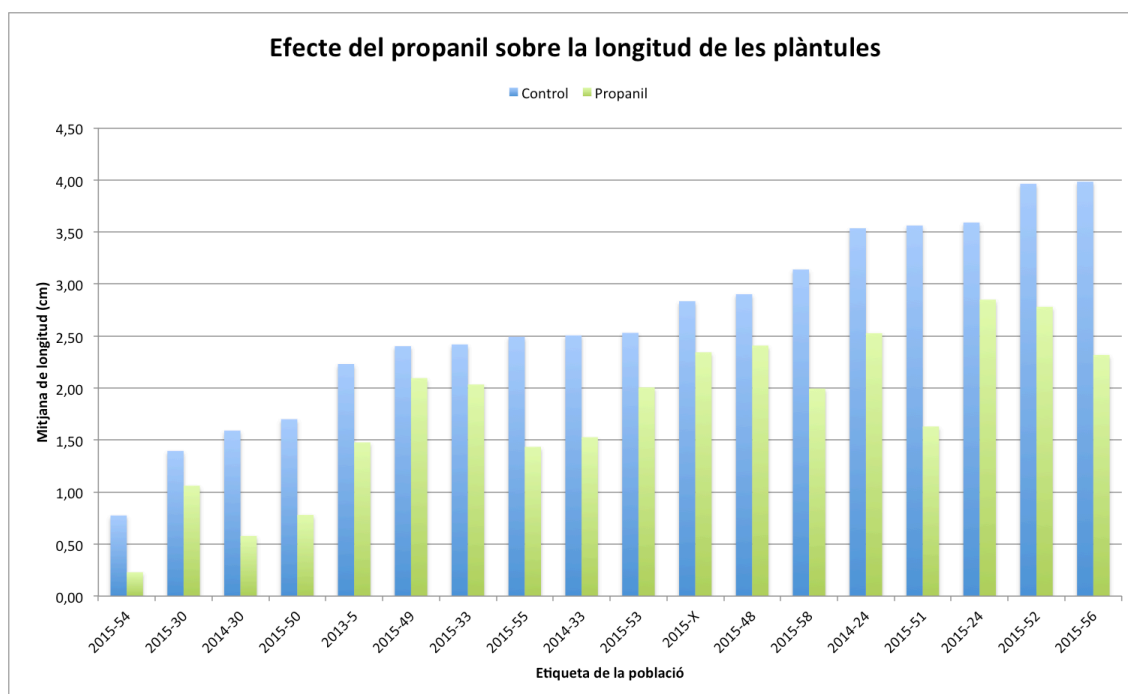


Figura 4-2 Efecte del propanil sobre la longitud de les plàntules

4.1.2. Sobre planter

Els efectes del propanil al segon assaig, sobre planter de poliestirè, van ser molt més importants tal i com es pot observar a la figura 4-3.

La població control no està representada perquè gràcies a la sembra de tres llavors i un aclarit posterior la germinació va ser del 100% dels alvèols en tots els casos.

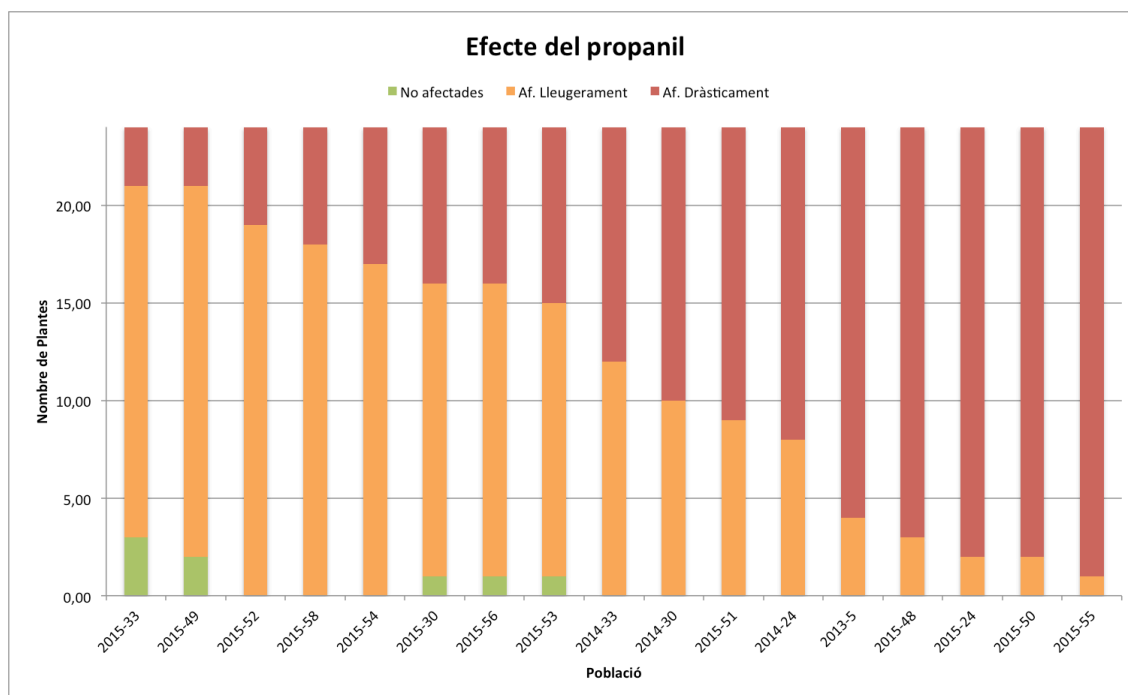


Figura 4-3 Efecte de l'aplicació de propanil sobre el planter

Prenent com a referència la classificació sorgida de l'assaig anterior es poden classificar en tres grups (classificació B):

- Un primer grup format per les poblacions que a la classificació anterior estaven al primer i segon grup dins del qual el percentatge de plantes afectades dràsticament és menor del 30% i pot aparèixer alguna planta que no es mostre afectada.
- Un segon grup, que es correspon amb el tercer de la classificació anterior, al qual les plantes afectades dràsticament estan entre un 50% i un 80% i no hi ha cap planta que no es mostre afectada.
- Un tercer i últim grup, amb les mateixes poblacions que el quart i cinquè grups de l'assaig anterior, on més d'un 80% de les plantes estan afectades dràsticament.

4.2. Resposta al penoxsulam

4.2.1. Sobre placa Petri

Per a analitzar els efectes del penoxsulam utilitzarem els mateixos passos que amb el propanil, és a dir, es tenen en compte separatament els efectes sobre la germinació i sobre la longitud de les plàntules (Figures 4-4 i 4-5).

Els efectes del penoxsulam han sigut igualment dissemblants en aquest cas tant pel que fa a la germinació com a la longitud. Respecte a la germinació, en cap cas apareix un efecte pronunciat i, més bé al contrari, hi ha molts que tenen valors negatius, és a dir, la germinació es va millorar amb l'aplicació de l'herbicida. Situació que també es donava, en menor mesura, amb el propanil.

Si és té en compte la longitud els resultats són encara més sorprenents. Tot i que algunes poblacions sí mostren un efecte important de reducció de longitud, ens trobem de nou amb algunes poblacions que semblen no afectades considerablement però, a diferència dels resultats del propanil, hi apareixen dues poblacions que augmenten la seua longitud fins arribar a doblar-la. Aquesta situació anòmala, que es podria considerar com un error, es troba a dues poblacions del mateix origen però de diferent any (2014-30 i 2015-30).

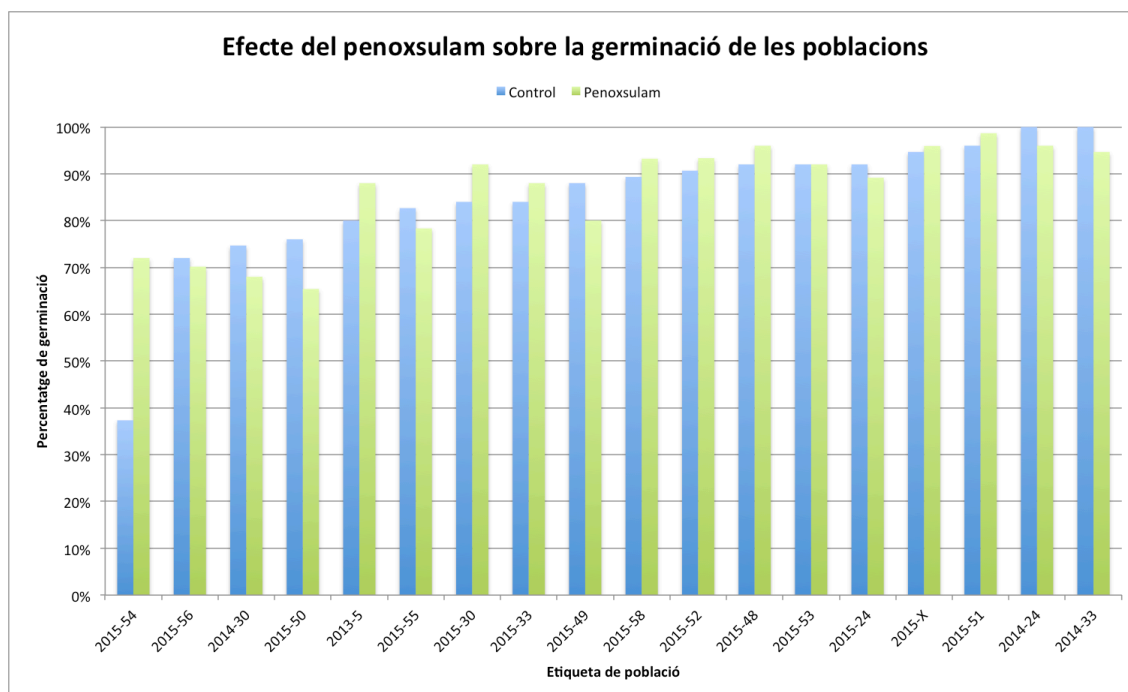


Figura 4-4 Efecte del penoxsulam sobre la germinació de les poblacions

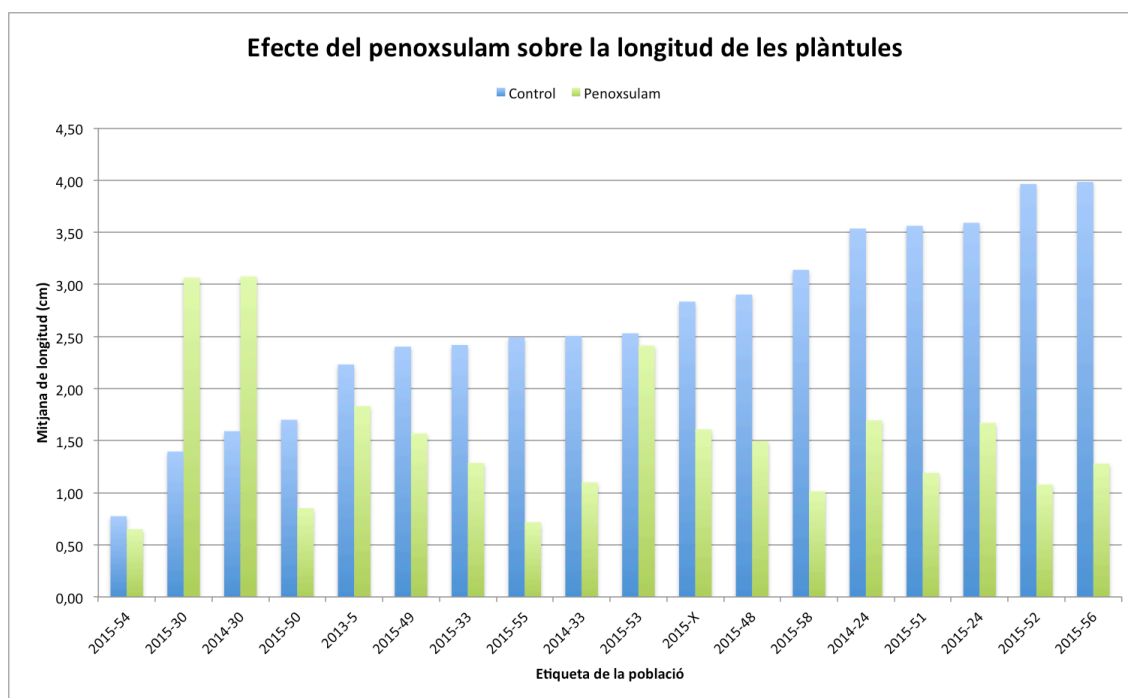


Figura 4-5 Efecte del penoxsulam sobre la longitud de les plàntules

Repetint la classificació realitzada amb el propanil en aquest cas els grups resultants serien quatre (classificació C):

- Un primer grup amb els resultats anòmals, als quals la germinació es veu poc o gens afectada però la longitud augmenta fins a doblar-se respecte a la població control. Etiquetes 2014-30 i 2015-30.
- Un segon grup format per poblacions que no van mostrar cap efecte en la germinació (valors negatius o del 0 % de diferència) i molt lleu en la longitud (menys del 20%). Etiquetes: 2013-5, 2015-53 i 2015-54.
- Un tercer grup de nou sense efecte sobre la germinació (valors negatius) però amb efecte superior al 30% respecte a la longitud. Etiquetes: 2015-X, 2015-33, 2015-48, 2015-51, 2015-52 i 2015-58.
- Un últim grup amb valors discrets respecte a la disminució de la germinació (del 0% al 10%) però també amb disminució de la longitud superior al 30%. Etiquetes: 2014-24, 2014-33, 2015-24, 2015-49, 2015-50, 2015-55 i 2015-56.

4.2.2. Sobre planter

Els efectes del penoxsulam al segon assaig van ser, igual que amb el propanil, molt més forts que respecte al primer assaig sobre placa Petri. Tot i això, respecte al propanil,

l'efecte del penoxsulam és més feble, sent en aquest cas la classificació dels resultats de només tres grups (classificació D):

- Un primer grup, on estan les poblacions que es corresponien amb el primer i segon grup de la classificació C, al qual la majoria de plantes estan afectades lleument i el nombre de plantes afectades dràsticament és molt baix (menys del 20%). Fins i tot el nombre de plantes no afectades el supera en alguns casos (de 0% a 25%).
- Un segon grup, on es troben les poblacions del tercer grup de la classificació C, amb l'excepció de la població 2013-5, al qual les plantes afectades dràsticament són entre un 20% i un 30%.
- Un tercer i últim grup, que es correspon amb l'últim grup de la classificació C i la població 2013-5, al qual les plantes afectades dràsticament suposen entre un 50% i un 80% de cada població.

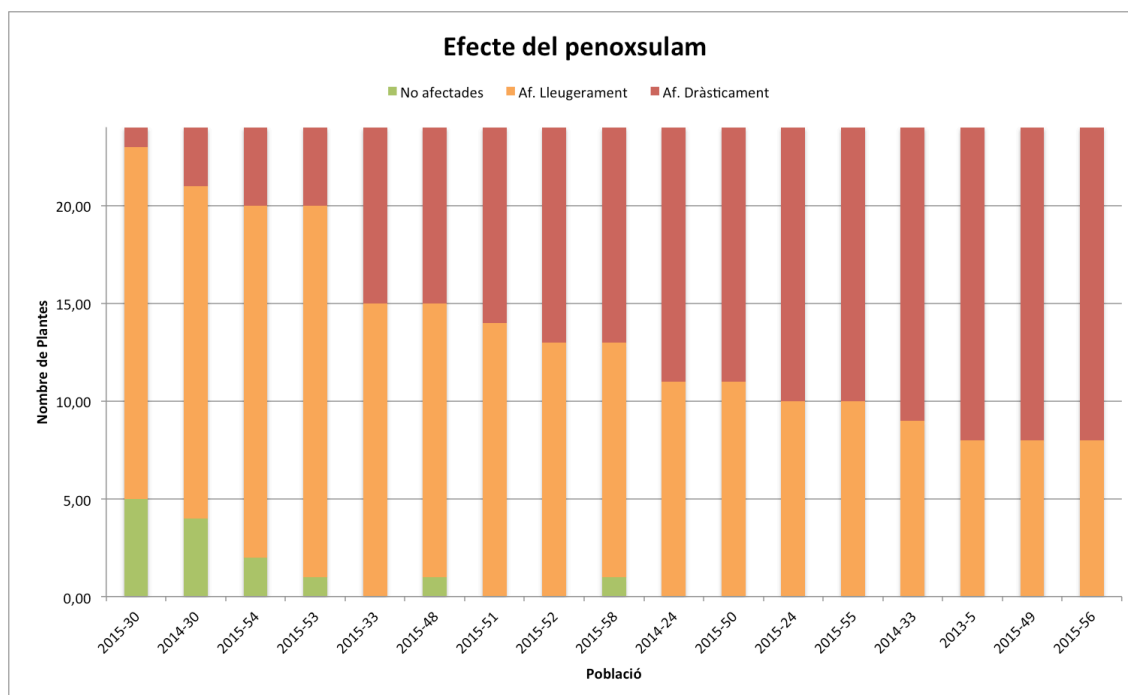


Figura 4-6 Efecte de l'aplicació de penoxsulam sobre el planter

4.3. Resum de resultats i discussió

Taula 4-1 Resum de resultats per població estudiada

Població	Propanil		Penoxsulam	
	Classificació A	Classificació B	Classificació C	Classificació D
2013-5	5é: molt sensible	3r: sensible	2n: poc sensible	3r: sensible
2014-24	3r: sensible	2n: poc sensible	4t: molt sensible	3r: sensible
2014-30	3r: sensible	2n: poc sensible	1r: poc resistent	1r: poc resistent
2014-33	3r: sensible	2n: poc sensible	4t: molt sensible	3r: sensible
2015-24	5é: molt sensible	3r: sensible	4t: molt sensible	3r: sensible
2015-30	2n: poc sensible	1r: poc resistent	1r: poc resistent	1r: poc resistent
2015-33	1r: poc resistent	1r: poc resistent	3r: sensible	2n: poc sensible
2015-48	4t: molt sensible	3r: sensible	3r: sensible	2n: poc sensible
2015-49	1r: poc resistent	1r: poc resistent	4t: molt sensible	3r: sensible
2015-50	5é: molt sensible	3r: sensible	4t: molt sensible	3r: sensible
2015-51	3r: sensible	2n: poc sensible	3r: sensible	2n: poc sensible
2015-52	2n: poc sensible	1r: poc resistent	3r: sensible	2n: poc sensible
2015-53	2n: poc sensible	1r: poc resistent	2n: poc sensible	1r: poc resistent
2015-54	2n: poc sensible	1r: poc resistent	2n: poc sensible	1r: poc resistent
2015-55	5é: molt sensible	3r: sensible	4t: molt sensible	3r: sensible
2015-56	2n: poc sensible	1r: poc resistent	4t: molt sensible	3r: sensible
2015-58	2n: poc sensible	1r: poc resistent	3r: sensible	2n: poc sensible
2015-X	1r: poc resistent		3r: sensible	

Al primer assaig, sobre placa Petri, els resultats obtinguts són molt febles en els dos casos. Açò pot estar relacionat amb el fet que els dos herbicides funcionen millor si s'apliquen per contacte, quan la planta ja ha emergit. El penoxsulam és, comparant els resultats, especialment exigent respecte al moment d'aplicació.

Tot i això, l'efecte del propanil reduint el creixement de la brossa es fa visible des del primer assaig, reduint, en tots els casos, la longitud de les plàntules estudiades. El penoxsulam té un efecte molt més divergent i depèn molt de la població sobre la qual s'aplica i caldria estudiar amb profunditat el motiu que fa que augmente el creixement d'algunes poblacions.

Al segon assaig, amb motxilla polvoritzadora sobre planter, l'efecte dels dos herbicides millora, com a signe inequívoc que el moment d'aplicació és l'adequat, tot i això es troben considerables mancances sobre certes poblacions, on apareixen plantes que no mostren cap efecte i continuen creixent com les del control.

Encara que cap població ha mostrat una resistència completa caldria estudiar aquelles que mostren una resistència parcial i experimentar, si és possible amb diferent dosi, per esbrinar quin mecanisme de resistència han desenvolupat. Les poblacions que haurien de ser estudiades són les corresponents al primer grup de la classificació B en el cas del propanil i les del primer grup de la classificació D en el cas del penoxsulam, és a dir, aquelles que estan etiquetades com a *poc resistents* a la taula 4-1.

Novament, l'efecte del propanil és molt més clar, el que explica la preferència dels llauradors per l'ús d'aquest herbicida front a altres, fins i tot quan no sempre està autoritzat. Així i tot en tots dos casos es fa palès la necessitat d'acompanyar l'ús d'herbicides amb tècniques culturals com el control del nivell d'aigua, la data d'inundació dels camps, etc. algunes condicions que no sempre estan a disposició del llaurador per qüestions climatològiques o culturals.

La tendència de la brossa és clarament la de generar resistències que, a un cultiu com l'arrosset, resulten molt complicades de combatre (manca de matèries que es poden utilitzar, entorns protegits, etc.) Per tant, el camí a seguir per a assegurar el futur de la producció d'arròs està probablement més enllà de mètodes de control químic i cal una transformació completa i ambiciosa del sistema de producció.

En tot cas, als biotips en què s'ha detectat menys susceptibilitat cap aquests herbicides caldria utilitzar altres herbicides amb mètodes d'acció diferents. És una qüestió complexa per l'efecte d'aquestes matèries sobre el medi ambient i l'entorn natural però es podria justificar per l'excepcionalitat del cas.

5. CONCLUSIONS

A partir dels resultats es poden extraure les següents conclusions:

El moment d'aplicació més adequat és quan les plantes ja tenen entre una i tres fulles. Com demostra el primer assaig, una aplicació massa d'hora no té prou efectivitat com per a poder justificar els seus inconvenients.

Les línies que han mostrat certa resistència cap a un sol herbicida, que són 2014-30 (penoxsulam), 2015-33, 2015-49, 2015-52, 2015-56, i 2015-58 (propanil) poden tractar-se alternant amb l'altre herbicida perquè a l'experiment sí que han mostrat susceptibilitat.

Les línies 2015-30, 2015-53 i 2015-54 han mostrat resistència cap als dos herbicides i, per tant, necessitaran un mètode de control diferent.

6. BIBLIOGRAFIA

Acuña, A. (2000) *Uso de Herbicidas*, San José: Imprenta Nacional.

Baltazar, A.M. and Smith, R.J. (1994) 'Propanil-resistant barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) control in rice (*Oryza sativa*)', *Weed Technology*, pp. 576-581.

Carretero, J.L. (1981) 'El género *Echinochloa* Beauv. en el suroeste de Europa', *Anales Jardín Botánico de Madrid*, vol. 38, pp. 91-108.

Giannopolitis, C.N. and Vassiliou, G. (1989) 'Propanil tolerance i *Echinochloa crus-galli*', *International Journal of Pest Management*, vol. 35.1, pp. 6-7.

Heap, I.M. (2016) *International survey of herbicide-resistant weeds*, [Online], Available: <http://www.weedscience.org> [17 novembre 2016].

López-Martínez, N. and Prado, R. (1998) 'Comparison of three propanil-resistant biotypes of *Echinochloa* spp.', *Proceedings of the 50th International Symposium on Crop Protection*, vol. III.

Ortiz, R., Contreras, J.M., Ruiz, A., Sanz, M.A., Romero, M., Gordillo, M., Taberner, A. and Urbano, J.M. (2015) 'Malas hierbas preocupantes en España', *XV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología: La Malherbología y la transferencia tecnológica*, octubre, pp. 497-503.

Osca, J.M. and Seguí, J.V. (2015) 'El problema de Leersia Oryzoides en los arrozales valencianos', *XV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología: La Malherbología y la transferencia tecnológica*, octubre, pp. 405-410.

Osuna, M.D., Romano, Y., González, J., Palmerín, J.A. and Quiles, J.M. (2012) 'Principales malas hierbas y métodos de control en el cultivo del arroz en España', *Vida Rural*, Febrer, pp. 74-77.

Pardo, G., Marí, A., Fernández-Cavada, S., García-Floria, C., Hernández, S., Zaragoza, C. and Cirujeda, A. (2015) 'Alternativas al penoxsulam para control de *Echinochloa* spp. y ciperáceas en cultivo de arroz en el nordeste de España', *ITEA-Información Técnica Económica Agraria*, vol. 111, pp. 295-309.

Prado, R. and Ruiz-Santaella, J.P. (2005) 'Caracterización y control de *Echinochloa* spp. resistente a herbicidas en arroz', *Phytoma España*, vol. 173, pp. 108-114.

Sorribas, M., Romero, M., Bernes, R. and Larelle, D. (2006) 'Penoxsulam, el nuevo herbicida para el cultivo del arroz', *Phytoma España*, vol. 182, pp. 106-109.

Tapia, J., Torres-Vila, L.M., Ponce, F. and Sánchez-González, A. (2007) 'Evaluación de la resistencia herbicida al propanil de *Echinochloa spp.* en arrozales extremeños', *Phytoma España*, vol. 186, pp. 31-35.

Valverde, B.E., Riches, C.R. and Caseley, J.C. (2000) *Prevención y manejo de malezas resistentes a herbicidas en arroz*, San José: Cámara de Insumos Agropecuarios.

Vidotto, F. and Ferrero, A. (2013) 'Weed management in Italian Rice', *XIV Congreso de la Sociedad Española de Malherbología*, noviembre, pp. 139-144.