

EVALUACIÓN DE BIOMASA Y CONTENIDO DE ALMIDÓN EN YERBA
VENEZOLANA (*Paspalum fasciculatum*)

Por
María Y. Berríos Rivera

Tesis sometida en cumplimiento parcial del grado de
MAESTRO EN CIENCIAS
en
PROTECCIÓN DE CULTIVOS
UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO DE MAYAGÜEZ
2017

Aprobado por:

Wilfredo Robles Vázquez, Ph.D.
Presidente del Comité Graduado

Fecha

Julia O'Hallorans Castillo, Ph.D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Guillermo Ortiz Colón, Ph.D.; P.A.S.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Rebeca Orama Meléndez, Ph.D.
Representante de Escuela Graduada

Fecha

Elvin Román Paoli, Ph.D.
Director de Departamento

Fecha

Abstract

The Mexican crowngrass (*Paspalum fasciculatum*) is considered an invasive species in the humid zones of Puerto Rico. Little is known about its growth and development in colonized ground, information that is important to establish management programs. Two experiments were established at the Agricultural Experiment Stations in Gurabo and Corozal. For the first experiment two naturally colonized grounds were chosen for documentation of the seasonal fluctuations of the aboveground and belowground biomass of this weed and to determine changes in starch content. Each experimental site consisted of approximately one acre naturally colonized by Mexican crowngrass. Ten random samples of the aboveground and belowground biomass were collected monthly during July 2013 to July 2015 using a 0.25 m² quadrant. The amount of aboveground and belowground starch was determined using extraction through the hydrolysis enzyme method. In February 2014, results in Gurabo showed an average maximum aboveground biomass of 2,158 and 1,117 g DM/m², respectively. In Corozal the average maximum aboveground biomass was 1,464 g DM/m², in June 2014. The maximum belowground biomass of 1,326 g DM/m² was achieved in February 2014. In Gurabo the starch content fluctuated between 0.12 % to 18 % in the aboveground tissue, and from 0.19 % to 26 % in the belowground tissue. In Corozal the starch content in the aboveground tissue fluctuated from 0.38 % to 21 % and in the belowground tissue from 0.41 % to 24 %. A second experiment was conducted at the Agricultural Experiment Station in Gurabo during 2014 and 2015. Glyphosate and mechanized cut were evaluated on their own and in combination on Mexican crowngrass. Samples of aboveground and belowground biomass were collected 0 days after treatment (DAT), 56 DAT, and 112 DAT using a 0.09 m² quadrant. The treatments that appear to be more effective in controlling Mexican crowngrass were those that combined the glyphosate up to twice within 112 DAT (p=0.01) and mechanized cut up 0 DAT, plus glyphosate at 56 DAT (p=0.05). Those combinations reduced aboveground biomass and starch content avoiding futures outbreaks. By understanding these data and considering the life cycle of the plant, we can infer that starch accumulates in greater quantities in the aboveground tissue of the

Mexican crowngrass. This suggests that management practices of this weed should be focused on the removal of aboveground biomass, considering a combination of methods evaluated to obtain more effective management of Mexican crowngrass.

Resumen

La yerba Venezolana es considerada una especie invasora en zonas húmedas de Puerto Rico. Se conoce muy poco sobre el crecimiento y desarrollo de la yerba Venezolana en predios colonizados, lo cual es importante para establecer programas de manejo. Es por esto que se realizaron dos experimentos de campo en las Subestaciones Experimentales Agrícolas (EEA) de Gurabo y Corozal. Para el primer experimento se seleccionaron dos predios colonizados naturalmente por yerba Venezolana en la EEA de Gurabo y Corozal para documentar las fluctuaciones temporales de biomasa aérea y subterránea de yerba Venezolana, y a su vez determinar cambios en el contenido de almidón. Cada localidad consintió de un acre colonizado naturalmente por la yerba Venezolana donde se colectaron 10 muestras al azar de biomasa aérea y subterránea mensualmente desde julio 2013 a julio 2015 utilizando un cuadrante de 0.25 m². El contenido de almidón aéreo y subterráneo se determinó utilizando extracción por un método de hidrólisis enzimática. Los resultados en Gurabo reflejaron una biomasa máxima promedio aérea y subterránea de 2,158 y 1,117 g MS/m², respectivamente, en febrero de 2014. En Corozal, el promedio máximo de biomasa aérea fue de 1,464 g MS/m², en junio 2014. La biomasa subterránea máxima fue de 1,326 g MS/m² alcanzada en febrero 2014. El contenido de almidón en Gurabo fluctuó de 0.12 % a 18 % para el tejido aéreo, y de 0.19 % a 26 % para el tejido subterráneo. En Corozal el contenido de almidón en el tejido aéreo fluctuó de 0.38 % a 21 %, y el tejido subterráneo de 0.41 % a 24 %. Para el segundo experimento se seleccionó un predio en la EEA de Gurabo en el 2014 y 2015, en el cual se estableció un diseño de bloques completamente aleatorio para evaluar el herbicida glifosato y el talado, ambos individualmente y combinados, en la yerba Venezolana. Se colectó una muestra de biomasa aérea y subterránea inicial (0 días), a los 56 días después del tratamiento (DDT) y a los 112 DDT, utilizando un cuadrante de 0.09 m². Los tratamientos que resultaron ser más efectivos para el control de la yerba Venezolana fueron los tratamientos que combinan el uso de glifosato hasta dos veces dentro de 112 DDT (p=0.01) y la combinación de talado inicial y aplicación de glifosato a los 56 DDT (p=0.05). Reduciendo de esta manera la biomasa aérea producida por la

planta y su contenido de almidón de reserva para evitar futuros brotes. Conociendo estos datos y tomando en cuenta el ciclo de vida de la planta, podemos inferir que el almidón se acumula en mayor cantidad en el tejido aéreo de la yerba Venezolana. Lo que sugiere que las prácticas de manejo deben estar enfocadas en la remoción de la biomasa aérea considerando integrar ambos métodos de control para el manejo efectivo de la yerba Venezolana.

©Derechos de Autor Reservados por María Y. Berríos Rivera, 2017.

Dedicatoria

A Dios por brindarme la sabiduría para luchar y alcanzar mis metas.
A mis padres y hermanos, quienes fueron mi apoyo y fortaleza para continuar adelante con mi meta. Sin su ayuda incondicional esto no hubiese sido posible.

Agradecimientos

Primero agradezco a los miembros del comité, en especial al Dr. Wilfredo Robles Vázquez por aceptar ser mi consejero, por brindarme las herramientas y el conocimiento para crecer a nivel profesional y por confiar en mí. Agradezco al Departamento de Agricultura de Puerto Rico, que bajo el proyecto Z-FIDA 21 del *Fondo de Innovación para el Desarrollo Agrícola*; proveyeron los fondos necesarios para la realización de esta investigación. También agradezco al personal de la Estación Experimental Agrícola en Corozal por brindarme la ayuda con el trabajo de campo y preparación de muestras. En especial al capataz, el Sr. Raúl A. Jiménez Quiles por estar al pendiente de mi investigación y poner a toda mi disposición su ayuda incondicional. De igual manera, agradezco al personal de la Estación Experimental Agrícola en Río Piedras Laboratorio Central Analítico, por brindarme la ayuda y proveerme el espacio y las facilidades para llevar a cabo mi investigación. Especialmente a la química, la Sra. Yamilis Ocasio por ayudarme a desarrollar las destrezas para realizar con éxito los análisis químicos requeridos en mi investigación.

Además agradezco al Agro. Ramón A. Couto quien me ayudó en los muestreos realizados en la Estación Experimental Agrícola en Gurabo. Y por último y no menos importante al Sr. Mario Maceira quien desde el primer día estuvo conmigo mano a mano ayudándome incondicionalmente con todo el trabajo de campo, con la preparación de las muestras y con el trabajo de laboratorio. En fin, estoy sumamente agradecida con todos los que pusieron su granito de arena para que esta investigación fuera posible; familiares, amigos y con Dios por brindarme la sabiduría y fortaleza para llevar a cabo con éxito esta investigación.

Tabla de contenido

	Páginas
Abstract	ii
Resumen	iv
Dedicatoria	vii
Agradecimientos	viii
Tabla de Contenido	ix
Lista de Cuadros	xi
Lista de Figuras	xii
Lista de Apéndices	xiv
1 Introducción	1
2 Revisión de Literatura	4
2.1 Descripción morfológica y fenología de la yerba Venezolana	4
2.2 Control químico y mecánico en malezas	5
2.3 Carbohidratos no estructurales y su uso en el manejo de malezas	6
3 Objetivos	9
4 Materiales y Métodos	10
4.1 Experimento #1: Población natural de yerba Venezolana	10
A. Descripción de la localidad	10
B. Descripción de muestreo y preparación de muestras	12
C. Análisis estadístico	13
4.2 Experimento #2: Yerba Venezolana bajo los efectos del control químico, mecánico y su combinación	14
A. Descripción de la localidad	14
B. Diseño experimental	15
C. Descripción de tratamientos	15
D. Descripción de muestreo y preparación de muestras	16

E. Análisis estadístico y determinación del porcentaje de reducción de biomasa	16
4.3 Análisis para la extracción de almidón en el tejido vegetativo	17
A. Descripción del método de amilasa y amiloglucosidasa	17
B. Hidrólisis enzimática del almidón	18
C. Curva de calibración y determinación de glucosa	19
D. Cálculos para determinar el porcentaje de almidón en el tejido vegetativo	21
5 Resultados	22
5.1 Experimento #1	22
A. Biomasa	22
B. Almidón	25
5.2 Experimento #2	27
A. Biomasa	27
B. Almidón	31
6 Discusión	34
6.1 Experimento #1	34
A. Biomasa	34
B. Almidón	37
6.2 Experimento #2	39
A. Biomasa	39
B. Almidón	41
7 Conclusión	43
8 Literatura Citada	45
9 Apéndices	48

Lista de Cuadros

	Páginas
Cuadro 1: Concentración de glucosa en la curva de calibración.....	19
Cuadro 2: Biomasa promedio por año de estudio en Gurabo y Corozal para cada tejido estudiado de la yerba Venezolana. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) según prueba estadística LSD.....	23
Cuadro 3: Porcentaje de almidón promedio al año detectado en Gurabo y Corozal para cada tejido estudiado de la yerba Venezolana. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) según prueba estadística LSD.....	26
Cuadro 4: Biomasa aérea promedio del tratamiento control (no tratado) según el tiempo de evaluación, evaluados en el año 2014 y 2015.....	28
Cuadro 5: Porcentaje promedio de almidón detectado en el tejido aéreo y el tejido subterráneo de la yerba Venezolana para cada tratamiento aplicado en el año 2014. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) según prueba estadística LSD.....	32
Cuadro 6: Porcentaje promedio de almidón detectado en el tejido aéreo y el tejido subterráneo de la yerba Venezolana para cada tratamiento aplicado en el año 2015. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) según prueba estadística LSD.....	33

Lista de Figuras

	Páginas
Figura 1: Cantidad de cuerdas de pasto disponible por vaca versus cantidad de vacas por cuerdas de pasto, desde el año 1960 al 2009 (ORIL y Ortiz-Colón, 2012).....	1
Figura 2: Localización del predio experimental en la EEA de Gurabo (cuadrante rojo). Imagen tomada de Google Earth©. 2016.....	10
Figura 3: Localización del predio experimental en la EEA de Corozal (cuadrante rojo). Imagen tomada de Google Earth©. 2012.....	11
Figura 4: Descripción del proceso de muestreo. A) Remoción de biomasa aérea contenida en el cuadrante de 0.25 m ² , y B) Remoción del tejido subterráneo utilizando una pala de corte.....	12
Figura 5: Localización del predio experimental para la combinación de tratamientos, químico y mecánico en la EEA de Gurabo (cuadrante rojo). Imagen tomada de Google Earth©. 2016.....	14
Figura 6: Diseño experimental donde se aplicaron los tratamientos, químico y mecánico en la EEA de Gurabo.....	15
Figura 7: Biomasa de tejido aéreo (A), y tejido subterráneo (B) representado por sus medias ($\pm$ EE) de Yerba Venezolana (<i>Paspalum fasciculatum</i>) de Gurabo y Corozal en Puerto Rico colectados durante julio 2013 a julio 2015.....	22
Figura 8: Precipitación promedio mensual en la EEA de Gurabo y Corozal, Puerto Rico durante julio 2013 a julio 2015.....	24
Figura 9: Porcentaje de almidón de tejido aéreo (A), y de tejido subterráneo (B) representado por sus medias ($\pm$ EE) de Yerba Venezolana (<i>Paspalum fasciculatum</i>) de Gurabo y Corozal en Puerto Rico colectados durante julio 2013 a julio 2015.....	25

Figura 10: Porcentaje de reducción de biomasa para cada evaluación con respecto al tratamiento control, en el año 2014. Los tratamientos se describen como: glifosato una vez (1), glifosato + glifosato a los 56 DDT (2), glifosato + talado a los 56 DDT (3), talado una vez (4), talado + talado a los 56 DDT (5), y talado + glifosato a los 56 DDT (6). El análisis estadístico de los 56 DDT y 112 DDT está representado por letras minúsculas y mayúsculas respectivamente. Medias con la misma letra para una misma evaluación no son significativamente diferentes ($p < 0.05$), según prueba estadística LSD.....28

Figura 11: Porcentaje de reducción de biomasa para cada evaluación con respecto al tratamiento control, en el año 2015. Los tratamientos se describen como: glifosato una vez (1), glifosato + glifosato a los 56 DDT (2), glifosato + talado a los 56 DDT (3), talado una vez (4), talado + talado a los 56 DDT (5), y talado + glifosato a los 56 DDT (6). El análisis estadístico de los 56 DDT y 112 DDT está representado por letras minúsculas y mayúsculas respectivamente. Medias con la misma letra para una misma evaluación no son significativamente diferentes ($p < 0.05$), según prueba estadística LSD.....29

Figura 12: Porcentaje promedio de reducción de biomasa dentro de los 112 días de evaluación para cada año estudiando. Los tratamientos se describen como: glifosato una vez (1), glifosato + glifosato a los 56 DDT (2), glifosato + talado a los 56 DDT (3), talado una vez (4), talado + talado a los 56 DDT (5), y talado + glifosato a los 56 DDT (6).....30

Lista de Apéndices

	Páginas
Apéndice 1: Fórmula completa para calcular el porcentaje de almidón en el tejido vegetativo (Sigma Aldrich, Inc. Technical Bulletin).....	48
Apéndice 2: Biomasa promedio de tejido aéreo y tejido subterráneo de yerba Venezolana para cada tratamiento aplicado en el año 2014.....	49
Apéndice 3: Biomasa promedio de tejido aéreo y tejido subterráneo de yerba Venezolana para cada tratamiento aplicado en el año 2015.....	50

1 Introducción

En Puerto Rico, la industria lechera es la principal empresa agrícola y la de mayor importancia económica, ya que aporta \$214.5 millones al ingreso bruto agrícola (**IBA**) del país. La contribución reportada en el informe preliminar del IBA de la Oficina de la Reglamentación de la Industria Lechera de Puerto Rico (ORIL), para el año fiscal 2014-15 representó un 23% del IBA total (ORIL, 2016). La producción de leche en Puerto Rico está dirigida tanto al mercado de la leche fresca, y productos derivados como el queso. En la actualidad esta empresa atraviesa por diversas situaciones que limitan su óptimo desarrollo. Entre estos problemas se encuentra el alto costo del alimento concentrado y la baja disponibilidad de forraje de alta calidad para el ganado. Se ha observado que desde la década del 60', la cantidad de pastos disponibles por vaca se ha reducido (ORIL y Ortiz-Colón, 2012). La Figura 1 muestra que a partir del año 1990 comenzó a aumentar el número de vacas mientras que la cantidad de cuerdas de pasto disponible por vaca comenzó a disminuir hasta el año 2009.

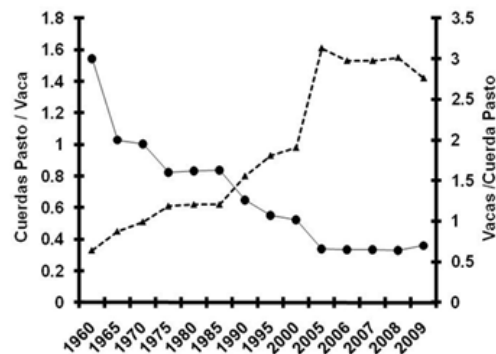


Figura 1. Cantidad de cuerdas de pasto disponible por vaca versus cantidad de vacas por cuerdas de pasto, desde el año 1960 al 2009 (ORIL y Ortiz-Colón, 2012).

El forraje se supe al ganado en forma de pastoreo, heno o ensilaje. Si el ganadero tiene baja disponibilidad de predios para pastoreo, como consecuencia suplementa con alimento concentrado, aumenta el pastoreo en los limitados predios disponibles y/o

comprar heno o ensilaje en otras fincas. Todas estas alternativas llevan a un aumento en los costos de producción de leche y también afectan directamente la salud y nutrición provista al ganado. Esto debido a las siguientes razones: 1) un aumento en el uso de alimento concentrado puede resultar en problemas metabólicos en el ganado, como acidosis ruminal; 2) el sobrepastoreo limita la calidad y cantidad de forraje para el consumo; y 3) el adquirir alimento concentrado, heno o ensilaje aumenta los costos operacionales para la producción de leche (Ortiz-Colón, 2012). Además que la alta presión de pastoreo y el pastoreo de gramíneas de baja calidad hacen que el ganadero dependa principalmente del alimento concentrado para sus animales, los cuales tienen componentes que son importados en su gran mayoría, como el maíz (Ortiz-Colón, 2012). Estas razones hacen necesario que los ganaderos implementen prácticas de manejo efectivas para mejorar sus predios en pastoreo.

Entre las especies de gramíneas forrajeras recomendadas para pastoreo se encuentran *Cynodon nlemfuensis* (yerba estrella), *Digitaria eriantha* (yerba pangola), *Urochloa brizantha* (yerba signal), *Urochloa máxima* (yerba guinea), *Brachiaria ruziziensis* (yerba congo), *Pennisetum purpureum* (yerba elefante) y *Chloris gayana* (yerba rhodes) (Más y García-Molinari 2006; Vicente-Chandler et al., 1983). Por otra parte, la yerba Venezolana es una gramínea perenne invasora perteneciente a la familia Poaceae. Esta especie neotropical fue introducida a Puerto Rico para el año 1940 desde Venezuela, como yerba para pastoreo y control de erosión (González-Miranda, 2011; Más y García-Molinari, 2006). Su utilidad como alimento para ganado no fue efectiva, y por consiguiente se convirtió en una planta no deseada o maleza. Esto debido a que no es preferida como alimento por el ganado (Más y García-Molinari, 2006; Rodríguez-Domínguez, 2006), al ser poco palatable según observaciones de campo. Sin embargo, estudios realizados en la EEA de Isabela demuestran que la proteína cruda de la yerba Venezolana es de 10.4 % (datos no publicados). Este valor es comparable con gramíneas forrajeras como yerba estrella, la cual contiene un 9.9 % de proteína cruda (Vicente-Chandler et al., 1983). Se estima que en Puerto Rico hay alrededor de unas 10,000 cuerdas infectadas, de las cuales hay 7,000 oficialmente identificadas (González-

Miranda, 2011; Rodríguez-Domínguez, 2006). Su alta capacidad reproductiva tanto asexual; por medio de estolones, como sexual; mediante semillas, han favorecido su rápida colonización y dispersión. Su mayor utilidad solo ha sido para el control de erosión en los márgenes de los ríos (González-Miranda, 2011). Es por esta razón que los ganaderos en Puerto Rico han expresado su preocupación e interés en buscar alternativas para el manejo de la yerba Venezolana en sus predios de pastoreo (Ortiz-Colón, 2012).

Aunque en Puerto Rico se reconoce el problema que está causando esta planta invasora, no existen estudios que documenten científicamente las prácticas para su manejo efectivo. Por consiguiente se desarrollaron dos experimentos de campo conducentes a estudiar las fluctuaciones temporales de producción de biomasa y contenido de almidón de la yerba Venezolana en predios colonizados naturalmente y bajo los efectos de una combinación de tratamientos; químico y mecánico. Esto con el propósito de poder establecer un programa de manejo efectivo para el control de la yerba Venezolana en Puerto Rico.

2 Revisión de Literatura

2.1 Descripción morfológica y fenología de la yerba Venezolana

Paspalum fasciculatum Willdenow ex Flüggé, comúnmente conocida en español como yerba Venezolana o gamalote y en inglés como *bamboo grass* y *Mexican crowngrass* pertenece a la familia Poaceae. Su región nativa va desde el sur de México hasta el Ecuador y Argentina (Urbani, 1996). Es una gramínea perenne de crecimiento estolonífero con tallos pubescentes que crece hasta 2 m de altura (González-Miranda, 2011; Rodríguez-Domínguez, 2006). Sus tallos son huecos cuando tiernos, aunque se pueden lignificar fácilmente hasta tornarse leñosos (González-Miranda, 2011). Se propaga por semillas y también vegetativamente mediante estolones que se propagan con rapidez una vez tienen contacto con el suelo para formar una densa vegetación. Cada estolón puede llegar a medir hasta 5 m de largo, crecen de forma horizontal cubriendo toda la superficie del suelo y enraízan en cada nudo para producir un tallo nuevo (González-Miranda, 2011; Rodríguez-Domínguez, 2006). Sus hojas crecen con un arreglo en la parte superior en forma de abanico (Mas y Lugo-Torres, 2013). En Puerto Rico, la yerba Venezolana florece en los meses de julio hasta octubre (observación personal). Su inflorescencia consiste en una panoja de color marrón en forma de abanico con unos 8 a 20 racimos de hasta 15 cm de largo (González-Miranda, 2011; Mas y García-Molinari, 2006). Sus espiguillas son elípticas con márgenes ciliados sedosos de unos 3.5 mm (González-Miranda, 2011). Es típicamente dispersada por el viento y por eventos de inundación. También puede ser transportada por el ganado, equipo y maquinaria agrícola u otro objeto en movimiento (González-Miranda, 2011).

La yerba Venezolana se desarrolla bien en suelos de aluvión, suelos ácidos y neutrales con alta retención de agua, áreas húmedas, borde y orillas de ríos, quebradas y humedales (González-Miranda, 2011; Mas y García-Molinari, 2006). Esta planta se encuentra por lo general en lugares no cultivados como pastizales, huertos, campos en barbecho, parques, bosques, carreteras y áreas naturales (González-Miranda, 2011). En Puerto Rico se encuentra en los llanos húmedos costaneros y del interior. Esta planta

continúa esparciéndose rápidamente a suelos con alta retención de humedad en tierras altas (González-Miranda, 2011).

2.2 Control químico y mecánico en malezas

En estudios realizados en Costa Rica se ha reportado que el uso de los herbicidas selectivos para gramíneas como haloxifop y fluazifop disminuyen significativamente la biomasa de yerba Venezolana (Fernández y Ortiz, 1995). Esta disminución de biomasa también es reportada cuando herbicidas de amplio espectro como el glifosato son utilizados para el control de esta planta (Bogantes y Agüero, 2003). Aunque en Puerto Rico no se ha evaluado científicamente el uso de herbicidas para el control de yerba Venezolana, el uso de glifosato es el comúnmente recomendado (Rodríguez-Domínguez, 2006). Dicho herbicida ha sido evaluado efectivamente para control de malezas en sistemas de producción de yerba guinea y estrella (González-Ibañez, 1984). El uso de herbicidas como sulfometuron, imazapyr, clethodin y glifosato lograron reducir más de 50 % de materia seca producida por otras malezas como yerba cogón (*Imperata cylindrica*) (Burnell, 2005).

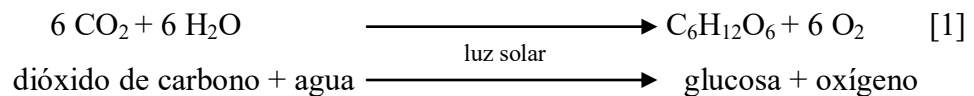
La eficacia de los herbicidas puede ser maximizada mediante su combinación con otros métodos de control. Se ha reportado que la combinación de control químico (herbicidas) y control mecánico (poda, talado) es efectivo para el control de malezas previo al establecimiento de especies forrajeras como práctica de manejo (Vicente-Chandler et al., 1983). En estudios realizados en *Sorghum halepense* se encontró que cada corte al follaje que se realizaba a la planta, redujo el desarrollo de sus rizomas. Además se obtuvo una mayor reducción en el desarrollo de esos rizomas al aumentar la frecuencia con que se realizaban los cortes a la planta (Sturkie, 1930). Estudios realizados con la planta acuática *Myriophyllum spicatum* reportaron que su crecimiento se reduce por medio de la remoción mecánica de la planta (Kimbel y Carpenter, 1981). De la misma forma en estudios realizados con *Imperata cylindrica*, una gramínea invasora en Estados Unidos, se pudo observar un mayor porcentaje de reducción en el peso de las

raíces cuando se cortaba el pasto semanalmente (Burnell, 2005). Esto quiere decir que el peso de las raíces, con una frecuencia de corte semanal, era cada vez menor. Según sugieren Kinsinger y Hopkins (1961), la remoción constantemente la mayor cantidad de tejido fotosintético pueden eventualmente lograr la destrucción de la planta.

Los estudios anteriores ilustran el efecto que puede tener la combinación de control mecánico y químico. Este se fundamenta principalmente en la disminución del material fotosintético y la debilitación de los órganos de reserva de la planta a causa de la reducción en la producción de carbohidratos en la planta.

2.3 Carbohidratos no estructurales y su uso en el manejo de malezas

La fotosíntesis es un proceso bioquímico donde la planta utiliza la energía solar para sintetizar compuestos de carbono como los carbohidratos, a partir del dióxido de carbono y agua, para a su vez producir oxígeno. Los carbohidratos son compuestos orgánicos a base de carbono, hidrógeno y oxígeno ($C_nH_nO_n$). En este proceso fotosintético las plantas atrapan el dióxido de carbono de la atmósfera en combinación con las moléculas de agua. Bajo la acción de la luz solar se producen; azúcar y oxígeno. Reacción química de fotosíntesis (Taiz y Zeiger, 2002) [1]:



Los carbohidratos en las plantas se dividen en estructurales y no estructurales. Los carbohidratos estructurales son aquellos que forman parte de la pared celular, mientras que los no estructurales son aquellos utilizados como alimento (energía) para proveer crecimiento y desarrollo a la planta. Los carbohidratos no estructurales son la fuente primaria de almacenamiento de energía en las plantas forrajeras (Johnson et al., 2003). La glucosa es un monosacárido (forma más simple de los hidratos de carbono) considerado como carbohidrato no estructural que se encuentra en las plantas. Cuando la

glucosa se une forma el almidón, un polisacárido (cadenas ramificadas de monosacáridos). El almidón es un carbohidrato de reserva alimenticia predominante en las plantas, particularmente en las gramíneas de origen tropical (White, 1973). El almidón es sintetizado y almacenado en los cloroplastos de las hojas en gramíneas con metabolismo C₄; las cuales fijan el carbono a bajas concentraciones en forma de compuestos de cuatro carbonos, a partir del compuesto químico gliceraldehído 3 fosfato, que es un producto del Ciclo de Calvin (Taiz & Zeiger, 2002; Watts, 2009). Estos carbohidratos se encuentran almacenados en los órganos vegetativos tales como: raíces, rizomas, estolones, coronas y partes inferiores del tallo. Su función es proporcionar la energía para el rebrote a las especies forrajeras perennes.

Es importante estudiar los carbohidratos no estructurales para conocer el crecimiento y desarrollo de la planta y así establecer un plan de manejo efectivo. Si el área foliar necesaria para llevar a cabo el proceso de fotosíntesis disminuye, por efectos del control mecánico y/o químico, la producción de carbohidratos no estructurales disminuye. Este efecto se evidencia en estudios realizados en *Sorghum halepense* (yerba Johnson) donde el peso seco del rizoma disminuye a causa del aumento en la frecuencia de talados foliares (Sturkie, 1930). En otro estudio realizado con yerba Johnson aplicando herbicidas en invernadero se encontró que los herbicidas redujeron en un 88% la biomasa de la planta y también reducían los niveles de carbohidratos totales no estructurales de los rizomas a las 3 semanas después del tratamiento (Johnson et al. 2003). En estudios con yerba cogón, el porcentaje de reducción de carbohidratos totales no estructurales en los rizomas, aumentaba a medida que se cortaba el pasto con mayor frecuencia (Burnell, 2005). Esto quiere decir que a medida que el pasto se cortaba cada semana, la cantidad de carbohidratos totales no estructurales en los rizomas disminuye. Por otro lado en estudios realizados con *Myriophyllum spicatum*, mostraron que en efecto la remoción mecánica de la planta influye y cambia los patrones de utilización y el almacenamiento de las reservas de carbohidratos (Kimbel y Carpenter, 1981; Perkins y Sytsma, 1987).

La concentración de los carbohidratos no estructurales puede ser afectada por condiciones ambientales y por la etapa de crecimiento y desarrollo de la planta (Kinsinger y Hopkins, 1961; Wersal et. al., 2013; White, 1973). En estudios realizados

con *Cyperus entrerianus* se observó que la concentración de carbohidratos no estructurales en los rizomas de esta planta nunca bajaron del 30% durante la temporada de invierno, por lo que claramente indica que la planta tiene suficiente reserva en su tejido subterráneo para iniciar su rebrote en la primavera o en cualquier momento durante la temporada de crecimiento (King et. al., 2014). También en estudios en Alabama, USA con *Phragmites australis*, una gramínea perenne, se encontró que el almidón almacenado esta predominantemente en el tejido subterráneo. Asimismo se observó que el crecimiento de esta planta está relacionado a la temperatura ambiental tanto para la biomasa como para el contenido de almidón. En este caso particular se ve directamente afectado por las temperaturas más calientes, las que provocaron aumentos en la biomasa y el contenido de almidón; particularmente en el tejido aéreo de la planta (Wersal et al., 2013). En plantas acuáticas como *Eichhornia crassipes* (Jacinto de agua) y *Myriophyllum aquaticum* (pluma de loro), las fluctuaciones temporales de carbohidratos no estructurales y almidón presentes en rizomas y estolones, a causa de la fenología de la planta, son utilizadas para recomendar e implementar métodos de control (Madsen et al., 1993; Wersal et al., 2011). Por otra parte Gesch y colaboradores (2007) estudiando los carbohidratos no estructurales de *Euphorbia esula* lograron determinar que el momento en que la planta acumulaba la mayor cantidad de carbohidratos era durante el desarrollo temprano del crecimiento vegetativo.

Conociendo mejor como varían esas fluctuaciones durante el ciclo anual de la planta se puede sincronizar los métodos de control con los niveles bajos o reducciones de los carbohidratos almacenados en la planta. Esto quiere decir que si la cantidad de carbohidratos totales no estructurales o almidón que está presente en las estructuras vegetativas es más baja temprano en la temporada de crecimiento, se presume que la planta estará más susceptible a los métodos de control. Por lo tanto es importante validar científicamente en qué momento, durante el desarrollo de la planta, podría ser más efectivo para manejar las poblaciones de yerba Venezolana tomando en consideración la fenología de la planta.

3 Objetivos

Con el fin de conocer mejor el comportamiento de la yerba Venezolana en Puerto Rico, se busca conocer: ¿Cómo crece y se desarrolla la yerba Venezolana a través del año?; ¿cuál es su producción de biomasa? Y, ¿Cómo fluctúa el contenido de almidón a través del año? Esto evaluando la planta en una población natural y bajo los efectos de estrategias de control químico, mecánico y su combinación. Es por esto que se establecieron los siguientes objetivos:

1. Documentar las fluctuaciones temporales de biomasa aérea y subterránea y el contenido de almidón en una población natural de la yerba Venezolana.
2. Determinar la biomasa aérea y subterránea de la yerba Venezolana y su contenido de almidón bajo los efectos del control químico, mecánico y su combinación.

4 Materiales y Métodos

4.1 Experimento #1: Población natural de yerba Venezolana

A. Descripción de la localidad

Gurabo

En la Estación Experimental Agrícola de Gurabo (EEA Gurabo) ($18^{\circ}15'19.25''$ N, $65^{\circ}59'25.39''$ O), se estableció un experimento de campo en julio 2013 en un predio de un acre colonizado naturalmente por la yerba Venezolana (Figura 2). Este experimento se extendió hasta julio 2015 para determinar la biomasa y el contenido de almidón en la yerba Venezolana. El suelo del área de estudio es un vertisol de la serie Mabí. Este suelo tiene las siguientes propiedades físico-químicas: CIC de 34.2 meq/100g, pH de 7.0, 16.2 % de arena, 26.3 % de limo, 57.5 % de arcilla, 0.88 % de materia orgánica y una conductividad hidráulica de 0.15 a 0.51 cm/hr. Información obtenida de la página web del *Natural Resources Conservation Service* (NRCS) (2013). La EEA de Gurabo está ubicada en la zona central montañosa de Puerto Rico a unos 122 metros sobre el nivel del mar y con un promedio anual de precipitación de 1,625 mm (NRCS, 2013).



Figura 2. Localización del predio experimental en la EEA de Gurabo (cuadrante rojo). Imagen tomada de Google Earth©. 2016.

Corozal

En la Estación Experimental Agrícola de Corozal (EEA Corozal) ($18^{\circ}19'40.40''$ N, $66^{\circ}21'29.17''$ O), se estableció un experimento de campo en julio 2013 en un predio de un acre colonizado naturalmente por la yerba Venezolana (Figura 3). Este experimento se extendió hasta julio 2015 para determinar la biomasa y el contenido de almidón en la yerba Venezolana. El suelo del área de estudio es un ultisol de la serie Corozal. Este suelo tiene las siguientes propiedades físico-químicas: buen drenaje, CIC de 24.8 meq/100g, pH de 4.8, 23.8 % de arena, 29.3 % de limo, 46.9 % de arcilla, 1.19 % de materia orgánica y una conductividad hidráulica de 0.36 a 3.61 cm/hr (NRCS, 2013). La EEA de Corozal está ubicada en la zona central montañosa de Puerto Rico a unos 244 metros sobre el nivel del mar y con un promedio anual de precipitación de 1,955 mm (NRCS, 2013).



Figura 3. Localización del predio experimental en la EEA de Corozal (cuadrante rojo). Imagen tomada de Google Earth©. 2016.

B. Descripción de muestreo y preparación de muestras

En cada localidad se colectaron 10 muestras de biomasa aérea (hojas, tallos y estolones) y subterránea (raíces y todo material que se encuentre bajo el suelo) mensualmente por un periodo de dos años. Cada muestra fue colectada utilizando un cuadrante de 0.25 m². El cual se colocó sobre el suelo para colectar toda la biomasa aérea. Se utilizó una sierra de mano para cortar todo el material vegetativo que se encontraba dentro del cuadrante. También se removió manualmente y con la ayuda de tijeras, los estolones sobre la superficie del suelo. Luego se utilizó una pala de corte para tomar la biomasa subterránea, la cual se tomó de aproximadamente 10 a 15 cm de profundidad (Figura 4).



Figura 4. Descripción del proceso de muestreo. A) Remoción de biomasa aérea contenida en el cuadrante de 0.25 m², y B) Remoción del tejido subterráneo utilizando una pala de corte.

Una vez colectada e identificada la muestra, se clasificó el material vegetativo entre aéreo y subterráneo. Todo el material muerto y que no era yerba Venezolana fue descartado. A la muestra de tejido subterráneo se le removió el exceso de suelo lavando la muestra con agua. Luego se dejó secando a temperatura ambiente por 24 horas. Las raíces fueron separadas por completo luego de este periodo. Una vez separado el material vegetativo, se colocó en bolsas de papel previamente identificadas y se determinó el peso

fresco. Luego se llevaron al horno para ser secadas por un periodo de 72 horas a una temperatura constante de 70°C. Al completar el tiempo de secado, se removieron las muestras del horno y se les determinó el peso seco y se molieron. Luego se pasaron por un tamiz #40, para obtener el tamaño de partícula de 0.420 mm. Este tamaño es requerido por el método químico a utilizarse para determinar la cantidad de almidón en el tejido. Con el propósito de reducir la cantidad de muestras a ser analizadas se prepararon muestras compuestas. Para esto se tomaron al azar dos muestras por cada muestreo en cada localidad, y se mezclaron hasta obtener cinco muestras compuestas por cada muestreo en cada localidad. Una vez preparadas, se procedió con el análisis químico de determinación del porcentaje de almidón en el tejido vegetativo. El mismo se realizó en duplicado.

C. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de las variables de biomasa y contenido de almidón se analizaron con el paquete estadístico *InfoStat*© (2008). Se determinó el error estándar para cada media de biomasa y contenido de almidón para el periodo de muestreo. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existen diferencias entre medias para cada variable analizada, utilizando una prueba LSD al nivel $p < 0.05$. Esto para determinar si existen diferencias entre cada tejido estudiando en cuanto a la producción de biomasa y el contenido de almidón, entre localidades, y si hay cambios en el comportamiento de la planta con respecto a estos factores, a través de los meses de estudio.

4.2 Experimento #2: Yerba Venezolana bajo los efectos del control químico, mecánico y su combinación.

A. Descripción de la localidad

Gurabo

Se estableció un experimento de campo en la EEA de Gurabo ($18^{\circ}15'11.64''$ N, $65^{\circ}59'29.62''$ O) (Figura 5). El mismo fue establecido en dos temporadas; junio 2014 a octubre 2014 y febrero 2015 a junio 2015. Esto para determinar cambios en la biomasa y contenido de almidón en el tejido vegetativo de la yerba Venezolana, bajo los efectos de tratamiento químico y mecánico individual y en combinación. El suelo del área de estudio es un vertisol de la serie Juncos. Este suelo tiene las siguientes propiedades físico-químicas: CIC de 45.0 meq/100g, pH de 6.3, 22.5 % de arena, 28.0 % de limo, 49.5 % de arcilla, 2 % de materia orgánica y una conductividad hidráulica de 0.15 a 0.51 cm/hr (NRCS, 2013). La EEA de Gurabo está ubicada en la zona central montañosa de Puerto Rico a unos 122 metros sobre el nivel del mar y con un promedio anual de precipitación de 1,625 mm (NRCS 2013).

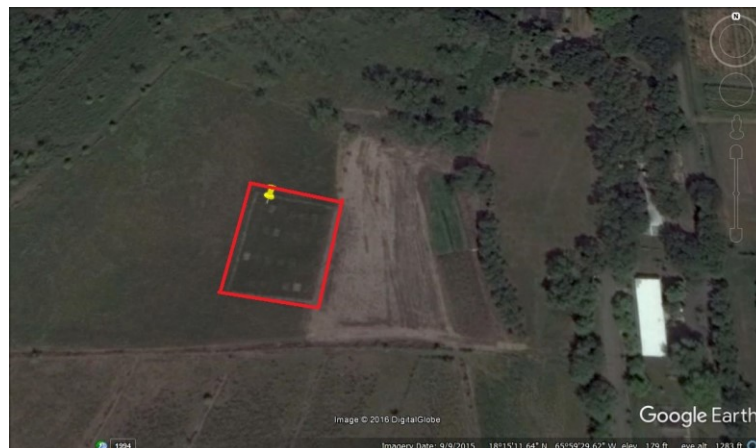


Figura 5. Localización del predio experimental para la combinación de tratamientos, químico y mecánico en la EEA de Gurabo (cuadrante rojo). Imagen tomada de Google Earth©. 2016.

B. Diseño experimental

Se utilizó un diseño de bloques completamente aleatorio (DBCA) para evaluar los diferentes tratamientos con 4 réplicas por tratamiento. La unidad experimental fueron parcelas de 3.6 m x 3.6 m con una distancia entre parcelas de 2.1 m y una distancia entre bloques de 9.1 m (Figura 6).



Figura 6. Diseño experimental donde se aplicaron los tratamientos, químico y mecánico en la EEA de Gurabo.

C. Descripción de tratamientos

Se evaluaron los siguientes tratamientos: (1) glifosato una vez, (2) glifosato + glifosato a los 56 días después de la aplicación de tratamiento (DDT), (3) glifosato + talado a los 56 DDT, (4) talado una vez, (5) talado + talado a los 56 DDT, (6) talado + glifosato a los 56 DDT y (7) control (no fue tratado). La formulación de glifosato utilizado fue RoundUp Ultra®, un herbicida sistémico no selectivo. Este herbicida actúa en la planta mediante la inhibición de una enzima que forma aminoácidos aromáticos. Los síntomas que produce en la planta son: clorosis y marchitez completa de la planta, los cuales pueden observarse hasta los 7 días, en plantas perennes, después de aplicado el

herbicida (RoundUp Ultra®). El herbicida se aplicó en una solución al 2.5 %, utilizando un boom de 3 boquillas 8003 EVS con una distancia de 48 cm entre boquilla. La altura de aplicación fue de 60 cm y se utilizó un tanque de CO₂ para mantener una presión constante de 40 psi a un volumen de aplicación de 30 galones por acre (GPA). Para los tratamientos de talado se utilizó una taladora de tractor de corte, de 1.5 m de ancho y se pasó sobre la yerba Venezolana a una altura de 15 cm de la superficie del suelo.

D. Descripción de muestreo y preparación de muestras

Se colectó una muestra de biomasa aérea y subterránea por cada tratamiento en cada replica. Las muestras fueron colectadas utilizando un cuadrante de hierro con un área de 0.09 m² antes de la aplicación de tratamientos (0 DDT), a 56 DDT y a los 112 DDT. Una vez colectada la muestra se clasificó e identificó todo el material vegetativo, tanto aéreo como subterráneo y se llevó a cabo el mismo procedimiento que se realizó en el experimento #1. Una vez molidas se realizaron muestras compuestas para reducir la cantidad de muestras analizadas. Se tomaron al azar 2 muestras de cada tratamiento y se mezclaron para obtener 2 muestras compuestas por cada tratamiento. Una vez preparadas se procedió a realizarle el análisis químico para la determinación del porcentaje de almidón en el tejido vegetativo.

E. Análisis estadístico y determinación del porcentaje de reducción de biomasa

Los datos se analizaron con el paquete estadístico *InfoStat*© (2008). Para los datos obtenidos de la variable de biomasa se calculó el porcentaje de reducción de biomasa a los 56 DDT y 112 DDT, con la siguiente fórmula [2]:

$$\frac{\text{peso tratamiento control} - \text{peso tratamiento}}{\text{peso tratamiento control}} \times 100 \quad [2]$$

Estos datos fueron sometidos a un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existen diferencias entre medias de cada tratamiento con respecto al tratamiento control, utilizando una prueba LSD al nivel $p < 0.05$. Para los datos obtenidos de la variable del contenido de almidón, cada variable fue evaluada antes de la aplicación de los tratamientos, 56 días DDT y 112 días DDT; en dos temporadas. Esto para determinar si existe un efecto de los tratamientos en cuanto al contenido de almidón de la yerba Venezolana dentro de los 112 días evaluado.

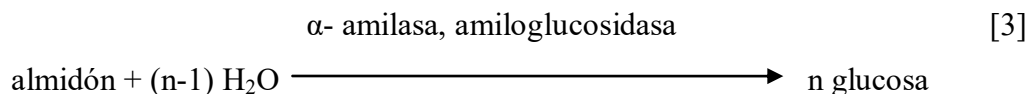
4.3 Análisis para la extracción de almidón en el tejido vegetativo

A. Descripción del método de amilasa y amiloglucosidasa

El contenido de almidón se evaluó en los dos experimentos para determinar en qué etapa de crecimiento, y bajo qué tratamientos se reflejan los mayores y menores contenidos de almidón en el tejido aéreo y subterráneo de la yerba Venezolana. El método que se utilizó para el análisis del contenido de almidón fue el utilizado por Wersal y colaboradores (2011 y 2013) con la planta acuática *Myriophyllum aquaticum* y la gramínea perenne *Phragmites australis*. El método se conoce como *Starch Assay Kit (STA20) (Amylase/Amyloglucosidase Method)* (Sigma-Aldrich, Inc.). Es un método enzimático que consiste en la hidrólisis de almidón, la cual es catalizada por la enzima α -amilasa y amiloglucosidasa. La glucosa se oxida a ácido glucónico y peróxido de hidrógeno por la glucosa oxidasa. El peróxido de hidrógeno producido reacciona con o-dianisidina en presencia de la peroxidasa para formar una solución de color marrón. Luego la o-dianisidina oxidada reacciona con el ácido sulfúrico para formar una solución más estable de color rosa. Finalmente la intensidad del color rosa medido a 540 nm será proporcional a la concentración original de glucosa contenida en la muestra (Sigma-Aldrich, Inc. Technical Bulletin).

B. Hidrólisis enzimática del almidón

La hidrólisis enzimática del almidón se resume en la siguiente reacción química [3]:



Para el análisis químico se pesaron 0.05 g de muestra y se transfirieron a un crisol identificado y se le añadió 5 ml de una solución de etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$) al 80 %. El crisol con la muestra y el etanol se incubó en un horno a una temperatura de 80 a 85° C durante 15 minutos. Luego de la incubación se transfirió la muestra cuantitativamente a un tubo de centrifuga previamente identificado. Se mezcló el contenido del tubo y se le añadió 5 ml de etanol al 80 %.

En una centrífuga *Hermle Labnet Z383K*, las muestras se centrifugaron por 10 minutos a 3,570 rpm, y se descartó el sobrenadante. La muestra precipitada en el tubo se resuspendió en 10 ml de etanol al 80 %, se repitió la centrifugación por 10 minutos a 3,570 rpm y el sobrenadante se descartó. Luego se procedió con la digestión de almidón de la muestra precipitada.

A cada muestra y a un blanco se les añadió 0.2 ml de etanol al 80 % y se mezcló. Luego se le añadieron 3.0 ml de agua y 0.02 ml de la solución enzimática de α -amilasa (Sigma-Aldrich, Inc.). Esta es una enzima proteica que cataliza la degradación del almidón; degradando la amilosa, un componente del almidón, a glucosa y maltosa. Se procedió a mezclar e incubar por 5 minutos en un baño de maría con agua hirviendo. Una vez terminado el periodo de incubación se removieron los tubos del baño de maría y se dejó enfriar a temperatura de salón. Después se le añadió agua hasta llegar a un volumen de 10 ml. Luego se removió 1 ml de cada muestra y del blanco a tubos de centrífuga vacíos identificados y se le añadió 1.0 ml del reactivo de almidón. Este reactivo de almidón consiste en una solución de 200 ml de agua destilada en la cual se disolvió 0.0774 g de amiloglucosidasa proveniente de *Aspergillus niger* (Sigma-Aldrich, Inc.). La

amiloglucosidasa se encarga de degradar lo que queda de la amilosa y la amilopectina, otro componente del almidón, a glucosa. Se mezcló el contenido de cada tubo y se llevó a incubar por 15 minutos a 60° C en un baño de maría, el cual se agitaba ocasionalmente. Una vez completado los 15 minutos de incubación se removieron los tubos y se dejó enfriar a temperatura de salón. Finalmente se tomó 1 ml de cada muestra y del blanco y se diluyeron en 10 ml de agua en tubos de centrifuga previamente identificados. Al tener la muestra y el blanco ya diluidos se procedió con la determinación de glucosa.

C. Curva de calibración y determinación de glucosa

Se realizó una prueba con diferentes concentraciones para determinar el rango de concentración a utilizarse para la curva de calibración a preparar para el análisis de las muestras. Para esto, se utilizó una solución de glucosa (Sigma-Aldrich, Inc.) de 1,000 ppm. En tubos de centrifuga previamente identificados con las siguientes concentraciones; 0 ppm, 1 ppm, 3 ppm, 5 ppm, 7 ppm y 10 ppm, se le añadió la cantidad de glucosa correspondiente; 0 ml, 0.05 ml, 0.15 ml, 0.25 ml, 0.35 ml y 0.50 ml respectivamente (Cuadro 1). Luego se completó con agua desionizada hasta un volumen de 50 ml.

Cuadro 1. Concentración de glucosa en la curva de calibración

Concentración (ppm)	ml de glucosa de 1,000 ppm
0	0.00
1	0.05
3	0.15
5	0.25
7	0.35
10	0.50

Para la determinación de glucosa se transfirió cuantitativamente las siguientes soluciones; blanco estándar, estándar de glucosa y blanco del reactivo de almidón, en tubos de centrífuga identificados apropiadamente. Para preparar el blanco estándar se añadió al tubo 1.0 ml de agua destilada. Para el estándar de glucosa se añadió al tubo 0.950 ml de agua destilada y 0.05 ml del estándar de glucosa. Para preparar el blanco del reactivo de almidón se le añadió al tubo 1.0 ml del blanco de digestión de almidón. También se añadió 1.0 ml de cada muestra de la digestión de almidón a un tubo de centrífuga, previamente identificado para cada muestra. Además se transfirió 1 ml de cada concentración correspondiente a la curva de calibración a un tubo de centrífuga previamente identificado y se procedió a realizar el análisis de glucosa.

Para el análisis de glucosa se utilizó el reactivo de glucosa previamente preparado. El mismo consiste en una solución de glucosa oxidasa/peroxidasa y o-dianisidina. La glucosa oxidasa/peroxidasa (Sigma-Aldrich, Inc.) se preparó en una botella ámbar con 196 ml de agua destilada en la cual se disolvió el contenido de cinco cápsulas de esta enzima. Por otra parte se preparó la solución de o-dianisidina añadiendo 10 ml de agua destilada al envase que contiene 50 mg de o-dianisidina dihidrocloruro (Sigma-Aldrich, Inc.), disolviendo la misma mediante movimientos invertidos al envase. Una vez se tenía preparada cada solución se pasó a añadir 4 ml de la solución de o-dianisidina a la botella ámbar que contenía 196 ml de la solución de glucosa oxidasa/peroxidasa y se invirtió la botella varias veces para mezclar.

A tiempo cero se inició la reacción añadiendo 2.0 ml del reactivo de glucosa a la primera muestra y se mezcló. Se dejaron intervalos de 30 segundos entre adición del reactivo a cada muestra subsiguiente, estándares y curva de calibración. Luego se incubó los tubos por exactamente 30 minutos a 37° C. Terminada la incubación se procedió a añadir 2.0 ml de una solución de ácido sulfúrico 12 N a cada tubo. Se realizó a intervalos de 30 segundos y se mezcló cuidadosamente. Finalmente se midió la absorbancia de las muestras, estándares y curva de calibración a un largo de onda de 540 nm. Para esto se utilizó un espectrofotómetro de luz ultravioleta y visible, modelo *Genesys 10S* de la compañía *Thermo Scientific*.

D. Cálculos para determinar el porcentaje de almidón en el tejido vegetativo

Una vez determinada la absorbancia de cada muestra y estándares se utilizó la siguiente fórmula (simplificada) para calcular el porcentaje de almidón en cada muestra (Sigma Aldrich, Inc. Technical Bulletin) [4]. (Ver apéndice 1 para ecuación completa):

$$\% \text{ Almidón} = \frac{(\Delta A \text{ muestra})(9000)}{(\Delta A \text{ estándar})(50 \text{ mg})} \quad [4]$$

5 Resultados

5.1 Experimento #1

A. Biomasa

Según los resultados obtenidos, en la localidad de Gurabo durante el mes de febrero 2014, se obtuvo una biomasa máxima promedio de 2,158 y 1,117 g MS/m² en el tejido aéreo y subterráneo respectivamente. En la localidad de Corozal, el promedio máximo de biomasa aérea fue de 1,464 g MS/m², el cual se alcanzó en junio 2014. Sin embargo su biomasa subterránea fue de 1,326 g MS/m² alcanzado en el mes de febrero 2014 (Figura 7).

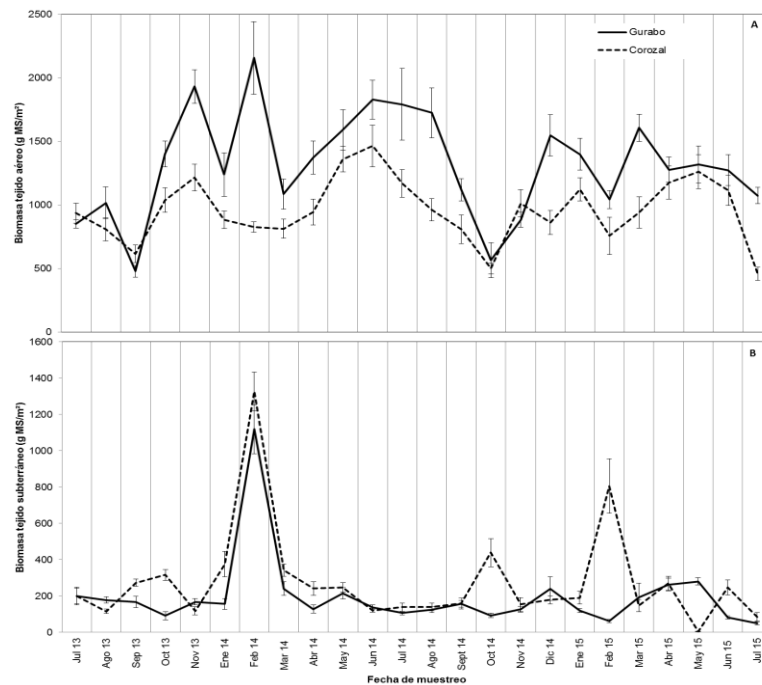


Figura 7. Biomasa de tejido aéreo (A), y tejido subterráneo (B) representada por sus medias ($\pm$ EE) de Yerba Venezolana (*Paspalum fasciculatum*) de Gurabo y Corozal en Puerto Rico, colectados durante julio 2013 a julio 2015.

La mayor producción de biomasa aérea fue de 2,158 g MS/m², alcanzada en Gurabo en el mes de febrero 2014. Mientras que la mayor producción de biomasa para el tejido subterráneo fue de 1,325 g MS/m², reportada en Corozal en febrero 2014 (Figura 7). Por otra parte se pudo observar también que la producción de biomasa aérea promedio en Gurabo fue significativamente diferente ($p < 0.0001$) a la observada en Corozal para ambos años (Cuadro 2). En Gurabo la biomasa aérea promedio para el año 1 alcanzó los 1,395 g MS/m² y para el año 2 fue de 1,237 g MS/m². Mientras que en Corozal fue de 1,006 g MS/m² y 914 g MS/m² para el año 1 y 2 respectivamente (Cuadro 2).

También se calculó el porciento de materia seca promedio para la yerba Venezolana en ambas localidades, el cual fue de 26 %. Además se graficaron los datos de precipitación reportados por las estaciones meteorológicas de EEA Gurabo y EEA Corozal (Figura 8). Esto para observar si existe una relación en cuanto a la producción de biomasa y la precipitación reportada en cada localidad. Al realizar la misma se pudo observar que no existe una relación directa con la precipitación al obtener un r^2 menor de 0.04 en cuanto a la producción de biomasa aérea y subterránea en ambas de las localidades.

Cuadro 2. Biomasa promedio por año de estudio en Gurabo y Corozal para cada tejido estudiado de la yerba Venezolana. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) según prueba estadística LSD.

Localidad	Biomasa promedio por año (g MS/m ²)			
	Tejido aéreo		Tejido subterráneo	
	Año 1	Año 2	Año 1	Año 2
Gurabo	1,395 a	1,237 a	242 a	149 b
Corozal	1,006 b	914 b	317 a	234 a

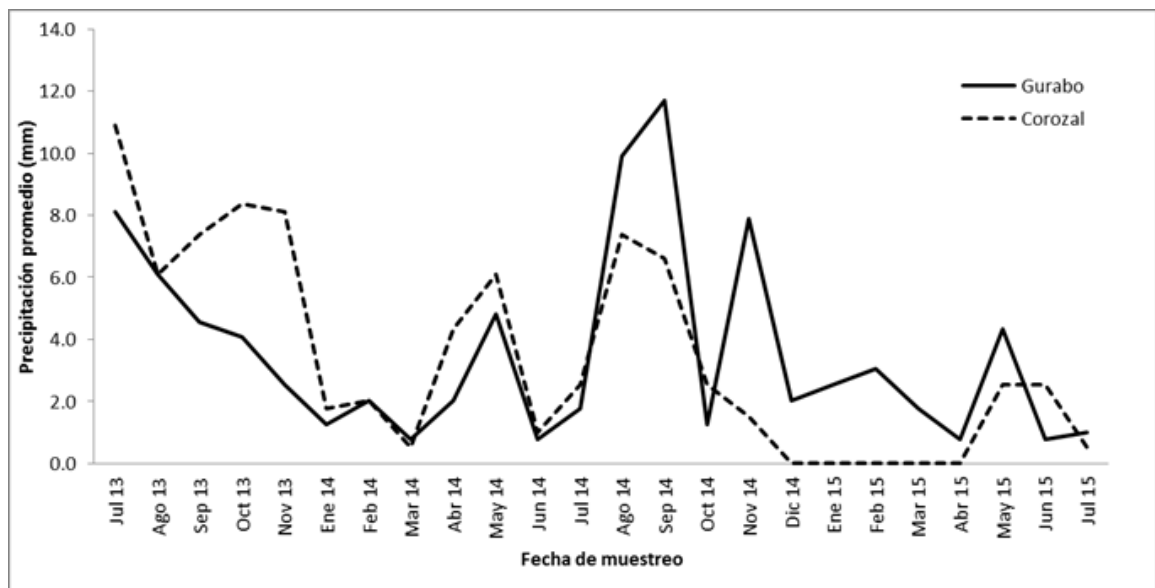


Figura 8. Precipitación promedio mensual en la EEA de Gurabo y Corozal, Puerto Rico durante julio 2013 a julio 2015.

B. Almidón

Según los resultados obtenidos, el contenido de almidón en Gurabo fluctuó entre 0.12 % a 18 % para el tejido aéreo y de 0.19 % a 26 % para el tejido subterráneo. Mientras que en Corozal el contenido de almidón del tejido aéreo fluctuó de 0.38 % a 21 % y en el tejido subterráneo de 0.40 % a 24 % (Figura 9).

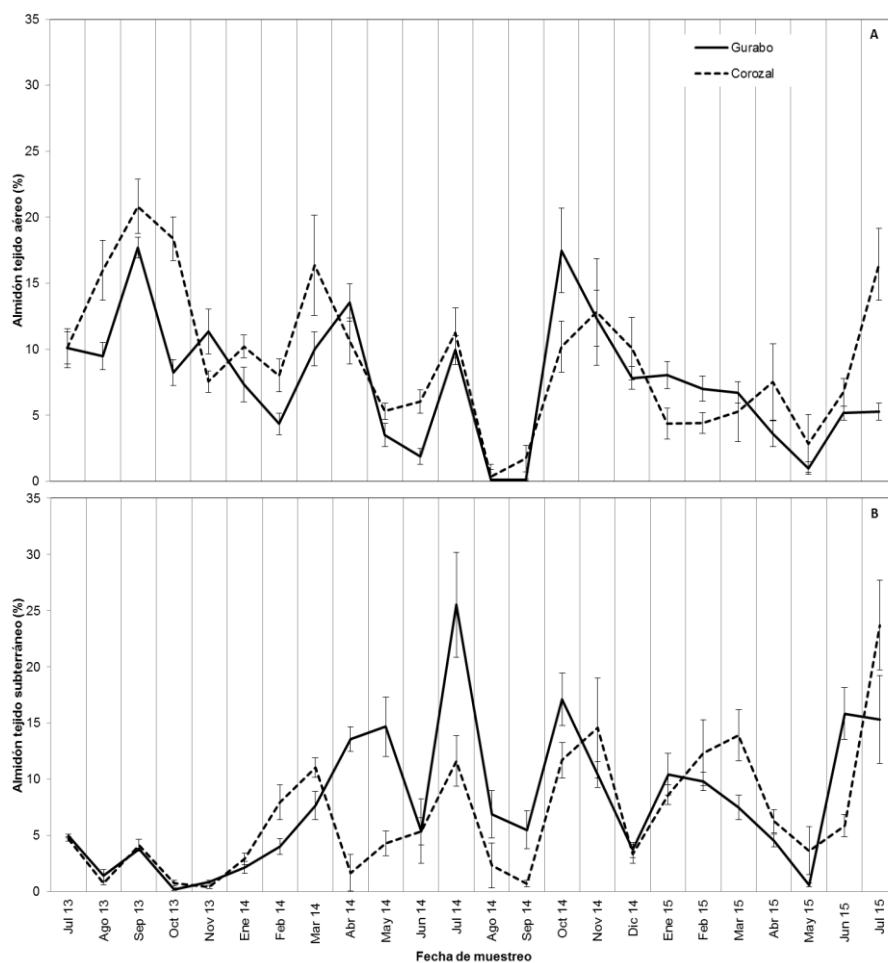


Figura 9. Porcentaje de almidón de tejido aéreo (A), y tejido subterráneo (B) representado por sus medias ($\pm$ EE) de Yerba Venezolana (*Paspalum fasciculatum*) de Gurabo y Corozal en Puerto Rico, colectados durante julio 2013 a julio 2015.

El contenido de almidón máximo en el tejido aéreo fue de 20.83 %, alcanzado en el mes de septiembre 2013, en Corozal. Mientras que para el tejido subterráneo el contenido de almidón fue de 25.53 %, alcanzado en el mes de julio 2014 en Gurabo (Figura 9). Por otra parte, el contenido de almidón mínimo en el tejido aéreo fue de 0.12 %; reportado en Gurabo en los meses de agosto y septiembre 2014. Para el tejido subterráneo, el contenido mínimo de almidón fue de 0.19 %, reportado en Gurabo para el mes de octubre 2013. Al evaluar las localidades se encontró que hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de almidón durante el primer año de estudio en ambos tejidos de la planta (Cuadro 3). En ese primer año el contenido de almidón en el tejido aéreo fue mayor en Corozal, mientras que en el tejido subterráneo el contenido de almidón fue mayor en Gurabo (Cuadro 3).

Cuadro 3. Porcentaje de almidón promedio al año detectado en Gurabo y Corozal para cada tejido estudiado de la yerba Venezolana. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) según prueba estadística LSD.

Localidad	Porcentaje promedio de almidón por año (%)			
	Tejido aéreo		Tejido subterráneo	
	Año 1	Año 2	Año 1	Año 2
Gurabo	8.95 b	6.23 a	7.01 a	8.96 a
Corozal	11.72 a	6.90 a	4.63 b	8.91 a

5.2 Experimento #2

A. Biomasa

Para el año 2014 durante la evaluación de agosto a los 56 días después de tratamiento (DDT), los tratamientos que lograron reducir la biomasa aérea de la yerba Venezolana en un 70 % o más fueron los siguientes; glifosato una vez (1), glifosato + glifosato a los 56 DDT (2) y glifosato + talado a los 56 DDT (3) con 71 %, 74 % y 71 % respectivamente (Figura 10). Esta reducción fue con respecto a una biomasa aérea promedio de 1,111 g MS/m² del tratamiento control (Cuadro 4). Durante la última evaluación tomada en octubre 2014 (112 DDT) los tratamientos que lograron una reducción de biomasa aérea en un 60 % o más fueron; glifosato una vez (1), glifosato + glifosato a los 56 DDT (2), talado + talado a los 56 DDT (5) y talado + glifosato a los 56 DDT (6); con porcentaje de reducción de 66 %, 85 %, 72 % y 77 % respectivamente (Figura 10). Para esta fecha la biomasa aérea promedio del tratamiento control fue de 1,094 g MS/m² (Cuadro 4).

Durante el año 2015 para la evaluación de abril a los 56 DDT, los tratamientos que redujeron la biomasa aérea en un 80 % o más fueron; glifosato una vez (1), glifosato + glifosato a los 56DDT (2) y glifosato + talado a los 56 DDT (3), con un porcentaje de reducción de 86 %, 89 % y 85 % respectivamente (Figura 11). Mientras que para la última evaluación en junio 2015 (112 DDT), solo un tratamiento logró reducir la biomasa de la yerba Venezolana en un 88 % y corresponde a la combinación de talado + glifosato a los 56 DDT (6) (Figura 11). Para esta evaluación la biomasa aérea promedio a los 56 DDT y 112 DDT fue de 532 g MS/m² y 903 g MS/m² respectivamente (Cuadro 4).

Al evaluar los dos años de estudio se pudo ver que los tratamientos: glifosato + glifosato a los 56 DDT (2) y talado + glifosato a los 56 DDT (6), lograron reducir la biomasa aérea de la yerba Venezolana en un 50 % o más (Figura 12).

Cuadro 4. Biomasa aérea promedio del tratamiento control (no tratado) según el tiempo de evaluación, evaluados en el año 2014 y 2015.

Tiempo de evaluación (días después de la aplicación)	Biomasa aérea promedio del tratamiento control (g MS/m ²)	
	Año 2014	Año 2015
54	1,111	532
112	1,904	903

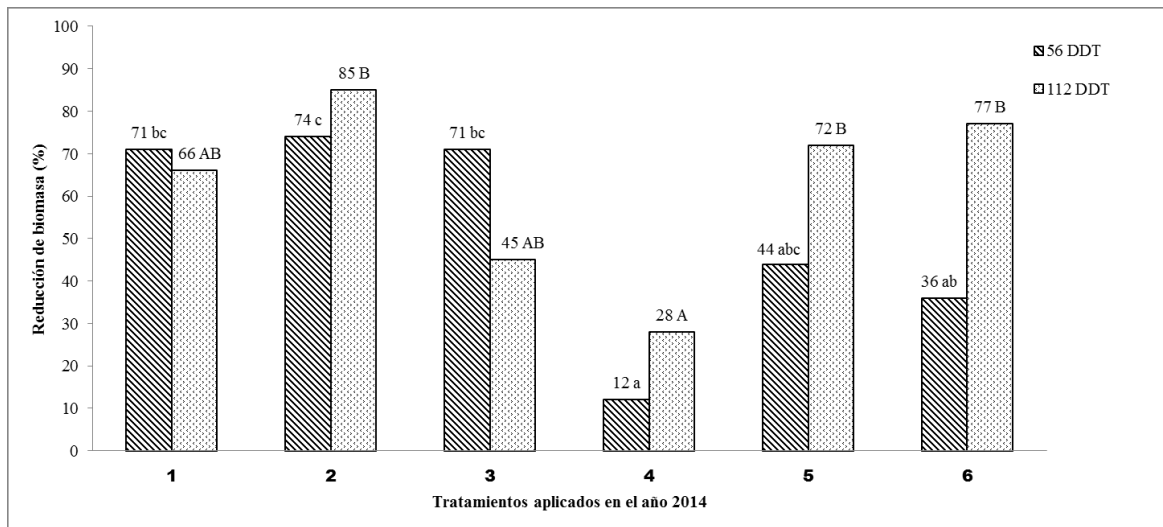


Figura 10. Porcentaje promedio de reducción de biomasa para cada evaluación con respecto al tratamiento control en el año 2014. Los tratamientos se describen como: glifosato una vez (1), glifosato + glifosato a los 56 DDT (2), glifosato + talado a los 56 DDT (3), talado una vez (4), talado + talado a los 56 DDT (5), y talado + glifosato a los 56 DDT (6). El análisis estadístico de los 56 DDT y 112 DDT está representado por letras minúsculas y mayúsculas respectivamente. Medias con la misma letra para una misma evaluación no son significativamente diferentes ($p < 0.05$), según prueba estadística LSD.

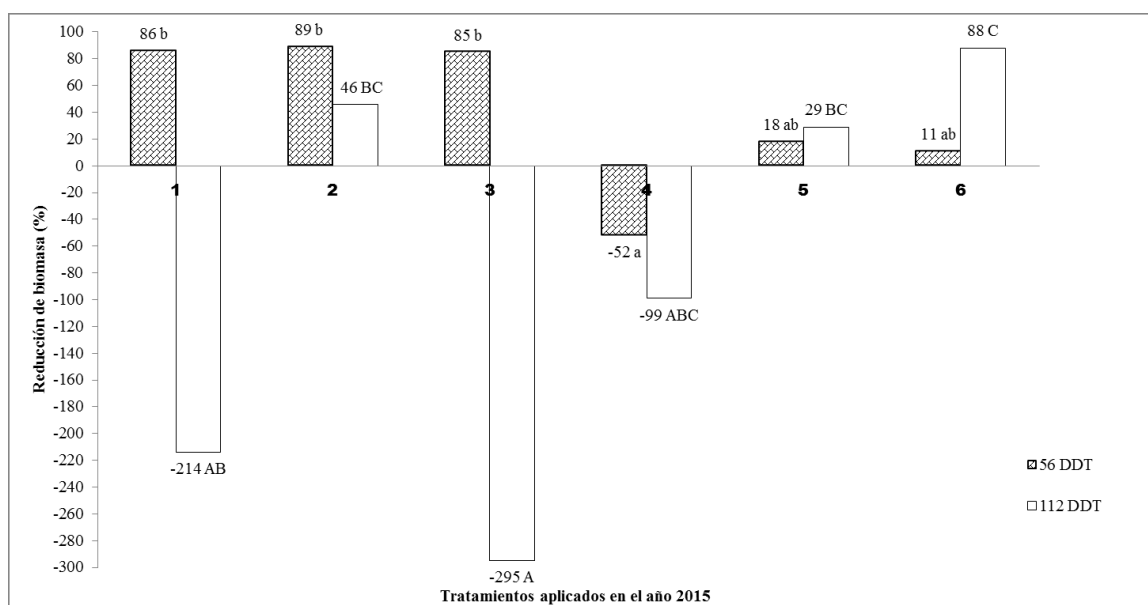


Figura 11. Porcentaje promedio de reducción de biomasa para cada evaluación con respecto al tratamiento control en el año 2015. Los tratamientos se describen como: glifosato una vez (1), glifosato + glifosato a los 56 DDT (2), glifosato + talado a los 56 DDT (3), talado una vez (4), talado + talado a los 56 DDT (5), y talado + glifosato a los 56 DDT (6). El análisis estadístico de los 56 DDT y 112 DDT está representado por letras minúsculas y mayúsculas respectivamente. Medias con la misma letra para una misma evaluación no son significativamente diferentes ($p < 0.05$), según prueba estadística LSD.

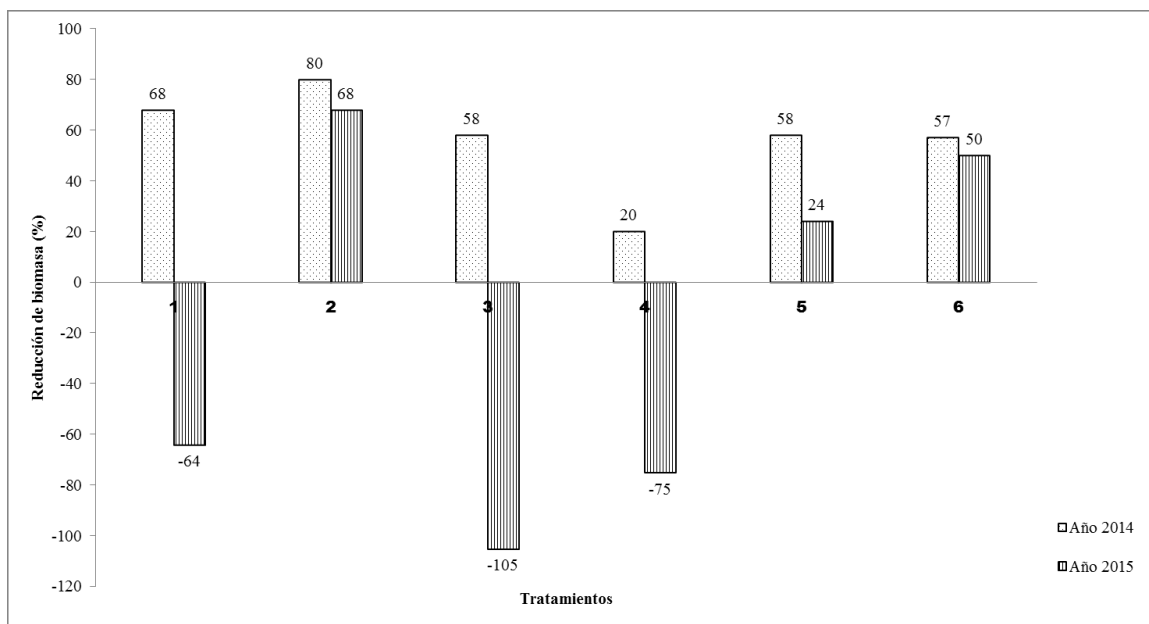


Figura 12. Porcentaje promedio de reducción de biomasa dentro de los 112 días de evaluación para cada año estudiado. Los tratamientos se describen como: glifosato una vez (1), glifosato + glifosato a los 56 DDT (2), glifosato + talado a los 56 DDT (3), talado una vez (4), talado + talado a los 56 DDT (5), y talado + glifosato a los 56 DDT (6).

B. Almidón

En el año 2014 para la evaluación de agosto a los 56 DDT el porcentaje promedio menor para el contenido de almidón en la yerba Venezolana fue para el tratamiento de talado + glifosato a los 56 DDT (6) con un 0.38 %. Mientras que para octubre 2014 a los 112 DDT el menor porcentaje de contenido de almidón promedio fue para el tratamiento de glifosato una vez (1) con 0.80 % (Cuadro 5). Por otra parte, durante las evaluaciones realizadas en el año 2015 en el mes de abril (56 DDT) el menor porcentaje de almidón promedio corresponde al tratamiento de glifosato + glifosato a los 56 DDT (2) con 0.15 %. Para la última evaluación en junio 2015 (112 DDT) el tratamiento de talado una vez (4) resultó tener el contenido de almidón promedio menor con 0.00 % (Cuadro 6).

Cuadro 5. Porcentaje promedio de almidón detectado en el tejido aéreo y el tejido subterráneo de la yerba Venezolana para cada tratamiento aplicado en el año 2014. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) según prueba estadística LSD.

Tratamientos	Parte de la planta					
	Tejido aéreo			Tejido subterráneo		
	Fecha de muestreo					
	Junio (0)	Agosto (56)	Octubre (112)	Junio (0)	Agosto (56)	Octubre (112)
	% promedio de almidón					
Glifosato una vez	3.82 ab	3.77 abc	0.80 a	5.51 ab	2.30 a	2.72 a
Glifosato + glifosato 56 DDT	0.05 a	6.56 c	11.25 b	5.85 ab	2.84 a	3.85 a
Glifosato + talado 56 DDT	1.84 ab	5.92 bc	4.94 ab	6.04 ab	1.47 a	1.96 a
Talado una vez	3.58 ab	2.24 a	9.13 ab	1.98 ab	4.58 a	13.89 a
Talado + talado 56 DDT	4.40 ab	2.08 a	4.08 ab	0.96 a	5.01 a	6.43 a
Talado + glifosato 56 DDT	9.30 b	0.38 a	10.34 b	6.95 b	2.50 a	3.39 a
Control	2.15 ab	2.34 ab	5.30 ab	6.21 b	1.60 a	5.06 a

Nota: Los números que se encuentran en paréntesis representan los días después de la aplicación de los tratamientos (DDT).

Cuadro 6. Porcentaje promedio de almidón detectado en el tejido aéreo y el tejido subterráneo de la yerba Venezolana para cada tratamiento aplicado en el año 2015. Medias con la misma letra dentro de cada columna no son significativamente diferentes ($p < 0.05$) según prueba estadística LSD.

Tratamientos	Parte de la planta					
	Tejido aéreo			Tejido subterráneo		
	Fecha de muestreo					
	Febrero (0)	Abril (56)	Junio (112)	Febrero (0)	Abril (56)	Junio (112)
	% promedio de almidón					
Glifosato una vez	1.34 a	0.25 a	nd*	0.10 a	1.43 a	1.00 a
Glifosato + glifosato 56 DDT	2.63 a	0.15 a	nd	0.45 abc	1.72 a	0.25 a
Glifosato + talado 56 DDT	3.07 a	0.55 a	nd	0.85 bcd	1.10 a	nd
Talado una vez	1.74 a	0.85 a	0.00 a	0.15 ab	3.49 a	4.59 b
Talado + talado 56 DDT	2.46 a	1.10 a	1.15 a	0.84 bcd	2.15 a	0.90 a
Talado + glifosato 56 DDT	1.77 a	1.30 a	5.69 b	0.99 cd	5.13 a	0.76 a
Control	1.57 a	0.65 a	0.26 a	1.23 d	2.30 a	1.58 a

Nota: Los números que se encuentran en paréntesis representan los días después de la aplicación de los tratamientos (DDT).

*nd = no detectable

6 Discusión

6.1 Experimento #1

A. Biomasa

En promedio la producción de biomasa aérea por año en Gurabo fue de 13,160 kg MS/ha y en Corozal fue de 9,600 kg MS/ha. Al comparar esa producción de biomasa con la de otras gramíneas forrajeras, la yerba Venezolana tuvo una menor producción de biomasa. Esto se observa al compararla con la yerba pangola, yerba guinea y yerba estrella abonadas con 16-6-25, las cuales producen una biomasa al año de 25,000 a 28,000 kg MS/ha (Vicente-Chandler et al., 1983). Igualmente con la gramínea invasora *Phragmites australis* que reportó una producción máxima de biomasa de 22,000 kg MS/ha (Wersal et al., 2013), vemos que resulta en una mayor producción de biomasa a la reportada en la yerba Venezolana, pero menor a las gramíneas forrajeras.

La yerba Venezolana por lo general presenta raíces fibrosas y superficiales, por lo cual tiene poca producción de tejido subterráneo, según observado mientras se realizó el experimento. Es por esto que su mayor producción de biomasa se documentó en el tejido aéreo, por lo cual es considerado el tejido de mayor importancia de la planta. Tomando esto en cuenta, es el tejido aéreo a donde deben estar dirigidos los métodos y estrategias de control que se pueden considerar para el manejo de la yerba Venezolana. Sin embargo la planta puede crecer y desarrollarse de manera diferente en lugares que le provean condiciones ambientales un poco distintas; como se pudo observar al comparar la producción de biomasa en Gurabo y Corozal.

Tomando en cuenta el tejido aéreo se observó una mayor producción de biomasa en Gurabo que en Corozal. Esto pudo estar relacionado al tipo de suelo y las condiciones geográficas de cada localidad. En Gurabo, donde se reportó la mayor producción de biomasa aérea, tenemos un vertisol. Estos suelos poseen arcillas 2:1 lo cual es una característica importante para los vertisoles. Estas arcillas le permiten tener una alta capacidad de retención de humedad, tienen pobre drenaje por lo que su permeabilidad es

más lenta y se pueden inundar con facilidad (NRCS, 1999). Además este suelo tiene una conductividad hidráulica de 0.15 a 0.51 cm/hr, en comparación con el ultisol de Corozal que su conductividad hidráulica es de 0.36 a 3.61 cm/hr (NRCS, 2013). Este dato nos indica a qué velocidad fluye el agua por el perfil del suelo. El vertisol, al tener una conductividad hidráulica menor que el ultisol; nos indica que el agua tarda más en bajar por el perfil del suelo. Por lo tanto el vertisol retiene más agua que el ultisol.

Esta característica favorece el crecimiento y desarrollo de la planta ya que la yerba Venezolana prefiere los hábitats donde puede tener mayor cantidad de agua disponible (González-Miranda, 2011; Mas y García-Molinari, 2006). También el predio en Gurabo era llano, con poca o ninguna pendiente y estaba cerca del paso de un flujo de agua intermitente. Es por eso que siempre en Gurabo se observaba la yerba bien abundante y de un color verde intenso. Lo cual podría ser indicativo de que la planta estaba saludable y contaba con todos los requerimientos necesarios para su crecimiento y desarrollo óptimo. Además de que la vegetación natural de estos suelos suelen ser gramíneas y leguminosas.

En cambio en Corozal, donde se observó una menor producción de biomasa aérea, tenemos un ultisol. Estos son suelos viejos, meteorizados con drenaje moderadamente bueno. En Puerto Rico se encuentran generalmente en las faldas de las montañas. Estos suelos se forman en regiones climáticas donde la precipitación excede la evapotranspiración durante un periodo de tiempo en el año (NRCS, 1999). Los ultisoles al tener mejor drenaje que los vertisoles, no retienen agua, lo cual lo pone en desventaja. Y como se mencionó anteriormente, su conductividad hidráulica es mayor que el vertisol. Por lo tanto el agua pasa rápido por el perfil del suelo y no esta tan disponible para la planta como en el vertisol. También este predio en Corozal se encontraba en una pendiente un poco inclinada. Además tuvo un mayor efecto la sequía reportada en Puerto Rico durante los meses de diciembre 2014 hasta aproximadamente julio 2015. Ya que en Corozal se reportó 0 mm de precipitación para los meses de diciembre 2014 hasta abril 2015 (Figura 8).

Siendo estos meses de diciembre hasta abril denominados en Puerto Rico como la estación seca. Además de tener menos lluvia, durante esta estación seca los días son más

cortos, lo que contribuye a que el crecimiento de las yerbas sea más lento (Vicente-Chandler et al., 1983). En estudios reportados con la gramínea *Melenis minutiflora* y *Trachypogon plumosus* en Venezuela, se encontró que ambas especies tuvieron una biomasa total similar entre ambas y que las fluctuaciones de las mismas estuvieron relacionadas al ciclo anual de precipitación (Baruch et al., 1989). Siendo *Melenis minutiflora* una especie introducida, pudo competir de igual manera por los recursos; siendo un factor importante el ciclo anual de precipitación que experimentó la planta durante su desarrollo y crecimiento.

Por lo tanto se puede decir que el predio en Coroza1 no contaba con las condiciones idóneas para el crecimiento y desarrollo óptimo de la planta. Lo cual explica la diferencia que se observó en la biomasa aérea para ambas localidades.

B. Almidón

En cuanto al contenido de almidón en la yerba Venezolana no hubo diferencias significativas entre los tejidos estudiados de la planta. En estudios realizados con una gramínea perenne *Stipa pulchra* se encontró que generalmente son las bases de los tallos, como los estolones, la parte de la planta que almacena en mayor cantidad los carbohidratos (Sampson y McCarty, 1930). Al comparar el comportamiento que tuvo el contenido de almidón en ambas localidades se pudo observar que para Gurabo en los meses de mayo 2014 a septiembre 2014, el almidón almacenado en el tejido subterráneo fue mayor del almacenado en el tejido aéreo. Estas fechas coinciden precisamente con la época en que la yerba Venezolana comienza su florecida, momento en que además de disminuir su contenido de almidón en el tejido aéreo la biomasa fue aumentando. Vicente Chandler y colaboradores (1983) mencionan que en las forrajeras, el contenido de carbohidratos es bajo, cuando están en la etapa de floración. Este efecto también se observa en malezas como *Euphorbia esula* en donde el contenido de carbohidratos no estructurales disminuye drásticamente durante la florecida (Gesch et al., 2007). Esto explica que la planta en su estado reproductivo está utilizando el almidón almacenado, en su mayoría en los estolones (tejido aéreo), para su crecimiento y desarrollo. Sin embargo para Coroza no se pudo observar el mismo comportamiento.

En Coroza, se observó un comportamiento más uniforme en cuanto al contenido de almidón en ambos tejidos de la planta durante esos mismos meses. Ese comportamiento distinto puede estar relacionado a las diferencias en el suelo, que traen consigo la disponibilidad de agua. Al Coroza tener un ultisol, que es un suelo con mejor drenaje que el vertisol de Gurabo; ésta característica no le permite tener la misma retención de agua que puede tener el suelo en Gurabo. Provocando a su vez que la planta sufra una pequeña escasez de ese recurso que le permite un mejor desarrollo. Según White (1973) el grado de estrés hídrico que pueden sufrir las plantas y dependiendo de la etapa de crecimiento en la que se encuentren, puede afectar los niveles de reserva de carbohidratos. Además los niveles de carbohidratos en las forrajeras también pueden ser bajos después de una sequía (Vicente-Chandler et al., 1983). Lo que explica que la planta

no mostró un patrón definido en cuanto a la cantidad de almidón y el lugar de almacenamiento, en Corozal. Wersal y colaboradores (2013), al estudiar la gramínea acuática *Phragmites australis*, mencionan que los cambios en los patrones de almacenamiento de carbohidratos, al igual que la biomasa, pueden estar siendo afectados por la edad de la planta, por el lugar y por la época del año, entre otros factores. También el contenido de carbohidratos puede variar, incluso en la misma planta, si ésta se encuentra en condiciones ambientales distintas (White, 1973). Esto se pudo observar al evaluar el contenido de almidón de la yerba Venezolana en dos localidades, que proveyeron condiciones ambientales variadas al tener suelos diferentes y condiciones de precipitación cambiantes.

6.2 Experimento #2

A. Biomasa

Reducir la biomasa de la yerba Venezolana implica a su vez una reducción en el material fotosintético disponible de la planta. Como se observó en un estudio realizado con yerba Johnson (*Sorghum halepense*) en donde los tratamientos de corte realizados redujeron el desarrollo de los rizomas, y si se aumentaba la frecuencia de corte se reducía aún mas (Sturkie, 1930). Esa efectividad en la reducción del desarrollo de rizomas se puede maximizar aún más, si se combina esa práctica de cortes con la aplicación de herbicidas. Así como documentaron Bogantes y Agüero (2003), donde utilizaron como método de control químico el glifosato, obteniendo 0% de cobertura de *Paspalum fasciculatum* en una siembra de *Bactris gasipaes* en Costa Rica. Estos resultados se observaron a los 6 meses y 14 meses después de la siembra de la palma. Corea (1978) también obtuvo hasta 100 % de control de *Paspalum fasciculatum* a una dosis entre 0.5 y 1.5 kg i.a./ha aplicado en tres épocas, luego de un corte. También en otro estudio el glifosato controló en un 99% la biomasa de la yerba Johnson a 6 semanas después del tratamiento en una siembra de maíz (Johnson et al., 2003).

En nuestro estudio se pudo comprobar en términos generales, que el uso de métodos de control químico solo o en combinación con el método mecánico, resultaron ser efectivos para reducir la biomasa en las poblaciones de la yerba Venezolana en un 50 % o más (Figura 12). Esto al evaluar los métodos de control aplicados para el año 2014. De los tratamientos aplicados durante ese año, el que logró reducir en mayor cantidad la biomasa aérea de la yerba Venezolana fue glifosato + glifosato a los 56 DDT (2), con un 74 % y 85 % a los 56 DDT y 112 DDT respectivamente (Figura 10). Estas evaluaciones en el año 2014 corresponden a la temporada de florecida de la planta, que va desde julio hasta octubre. Por lo que resultó efectivo aplicar métodos de control en esta época para evitar que la planta continuara propagándose.

Por otra parte durante las evaluaciones realizadas en el año 2015, se observó un comportamiento distinto en cuanto a la efectividad de los tratamientos dentro de los 112

DDT. Siendo el tratamiento de talado + glifosato a los 56 DDT (6) el único tratamiento que logró reducir la biomasa de yerba Venezolana en un 88 %, dentro de los 112 días que fueron evaluados (Figura 11). Sin embargo el tratamiento correspondiente a glifosato + glifosato a los 56 DDT (2) que resultó efectivo en el año 2014; durante el 2015 solo logró reducir la biomasa a los 56 DDT en un 89 % (Figura 11). Para la evaluación a los 112 DDT, ese tratamiento no logró ni un 50 % de reducción de la yerba Venezolana como se observó en el 2014. Aunque al momento de ir al campo a tomar las muestras se podía observar el tejido aparentemente seco en las parcelas donde se aplicó glifosato, cuando se tomó la muestra de biomasa aérea no resultó ser así. Puesto que la biomasa aérea colectada podía tener las hojas secas pero los estolones, los cuales estaban cubiertos por esas hojas, se encontraban completamente verdes.

Es importante señalar que durante el año 2015, la precipitación fue baja, la cual coincidió con los meses en los que se realizaron y se evaluaron los métodos de control aplicados en ese año. Esto pudo provocar un estrés adicional a la planta, además del que ya podía tener debido a la aplicación de los tratamientos. También esta temporada en la que se evaluó la planta en este año, correspondía a los meses antes de que comenzara la florecida de la yerba Venezolana. Estos factores pudieron afectar el comportamiento de la yerba Venezolana alterando a su vez la efectividad esperada de los tratamientos.

B. Almidón

Según White (1973) el tema de la reserva de carbohidratos en el control de la tasa de rebrotes luego de una remoción del tejido de la gramínea, resulta debatible. Hay algunos estudios que han mostrado que la tasa de rebrotes, bajo ciertas condiciones, dependen de las reservas de carbohidratos (White, 1973). Un estudio con yerba Johnson que menciona Perkins y Systma (1987), indica que la concentración de carbohidratos y la capacidad de rebrotes, sí guardan relación. Por otra parte hay estudios que dicen que el corte moderado no afecta la reserva de carbohidratos (Kinsinger y Hopkins, 1961). Sin embargo Kinsinger y Hopkins (1961) también mencionan que gramíneas que son cortadas frecuentemente, eliminando gran parte de su tejido fotosintético, eventualmente podría resultar en la destrucción de la planta. Ya que constantemente se le está removiendo el tejido vegetativo, donde la planta no solo produce carbohidratos, sino que también los almacena.

Al realizar el análisis de contenido de almidón a las muestras tratadas de la yerba Venezolana, bajo los efectos de la combinación de tratamientos, químico y mecánico; se observó diferencias significativas para los tratamientos dentro de los 112 de evaluación en el año 2014 para el tejido aéreo. El tratamiento que resultó con el menor contenido de almidón a los 56 DDT fue: talado + glifosato a los 56 DDT (6) con 0.38 %. Mientras que a los 112 DDT el que tuvo menor contenido de almidón fue; glifosato una vez (1) con 0.80 % (Cuadro 5).

A pesar de que se observó diferencias en algunos de los tratamientos durante las fechas evaluadas, no se puede precisar cuál de los tratamientos logró ser más eficiente en cuanto a la reducción de almidón en los tejidos de la yerba Venezolana. Para el año 2015 específicamente no se observó diferencias para los tratamientos aplicados. Esto pudo ser causado por el efecto de la sequía que tuvimos para el año 2015, y correspondiendo en Puerto Rico a la época de baja precipitación. Es en ese momento de sequía donde la gramínea está mucho más susceptible y se afecta su crecimiento (Vicente-Chandler et al., 1983). Además de que los niveles de reservas de carbohidratos pueden verse afectado por el estrés hídrico que sufra la planta (White, 1973). Tomando en cuenta también, el estrés

que sufrió la planta por la aplicación de las estrategias de control utilizadas y la etapa de crecimiento en la que se encontraba la yerba Venezolana cuando se realizó el estudio. Todo esto influye y cambia los patrones de almacenamiento y utilización de las reservas de carbohidratos. Sin embargo al evaluar la planta en dos etapas de crecimiento, si se pudo determinar que, en efecto la combinación de tratamientos químico y mecánico altera el contenido de almidón en la yerba Venezolana.

7 Conclusión

Al estudiar la yerba Venezolana en una población natural se observó que hubo diferencias entre los meses estudiados, tanto para la biomasa como para el contenido de almidón, pero no se pudo definir estadísticamente un patrón o una temporada en específico con mayor o menor producción de biomasa y contenido de almidón. Sin embargo, sí se pudo establecer una tendencia donde se observó que cuando el contenido de almidón es menor, la producción de biomasa va en aumento. Esta tendencia se pudo observar en ambas localidades para los meses de mayo 2014 a septiembre 2014, particularmente en el tejido aéreo. Estas fechas coinciden con la temporada de florecida de la planta, que es cuando está utilizando su alimento (almidón) para su crecimiento y desarrollo. Por lo tanto, produce mayor cantidad de biomasa y su reserva de almidón disminuye. Otro de estos factores lo es la precipitación y su relación con la época del año. La precipitación, la disponibilidad de agua, en combinación con el tipo de suelo, influyeron en el óptimo desarrollo de la yerba Venezolana. A pesar de que no provocó una reducción en la producción de biomasa, si alteró la utilización y el contenido de almidón en los tejidos aéreo y subterráneo durante el periodo de estudio.

Al observarse que el contenido de almidón almacenado comenzó a disminuir, se entiende que la planta está más susceptible y es en ese momento que se debe tomar acción e implementar una estrategia de control; para de esta manera ir disminuyendo la población de yerba Venezolana. Por lo que se debe implementar los métodos de control a la planta, justo cuando esos niveles de almidón son bajos durante el desarrollo de la planta. Por lo tanto, sería recomendable implementar la estrategia de control a finales del mes de abril o durante el mes de mayo antes de que la yerba Venezolana comience su etapa de florecida y cuando está a punto de comenzar la utilización y movimiento de las reservas de almidón. De esta manera se puede evitar que la planta alcance su máxima de producción de biomasa y comience a salir la inflorescencia, evitando a su vez que la planta disperse su semilla.

Por otra parte, al estudiar la yerba Venezolana bajo los efectos de tratamientos; químicos, mecánicos y su combinación en etapas de crecimiento distintas nos permitió observar el comportamiento y la respuesta a esos métodos de control y a los factores ambientales, como la precipitación. Por lo cual es importante considerar la etapa de crecimiento de la planta, para implementar un manejo efectivo de la yerba Venezolana.

De acuerdo a los resultados reportados en este estudio y con un enfoque a eliminar la mayor cantidad de tejido aéreo de la yerba Venezolana; se sugiere que el uso de glifosato, solo o en combinación con talado podrían ser implementados como métodos de control en la yerba Venezolana. Fueron estos dos tratamientos; glifosato + glifosato a los 56 DDT (2) y talado + glifosato a los 56 DDT (6), los que lograron reducir la biomasa aérea de la yerba Venezolana en un 50 % o más (Figura 12). Tomando en cuenta que al realizar la aplicación del glifosato, se debe esperar hasta 7 días para permitir la entrada del ganado al predio asperjado, según indica la etiqueta del producto (RoundUp Ultra®). Estas aplicaciones deberían llevarse a cabo dentro de un periodo de 112 días para que sea efectivo. Estas estrategias de control deben realizarse cuando el contenido de almidón en la planta es bajo, al momento de comenzar su florecida, y la planta esté susceptible a los métodos de control. Logrando de esta manera eliminar gradualmente el tejido fotosintético de la planta, evitando que la misma continúe su crecimiento y desarrollo de manera efectiva, controlando las poblaciones de la yerba Venezolana en los predios de pastoreo en Puerto Rico.

8 Literatura Citada

- Baruch, Z., A. B. Hernández y M. G. Montilla. (1989). Dinámica del crecimiento, fenología y repartición de biomasa gramíneas nativas e introducidas de una sabana neotropical. *Ecotropicos* 2(1): 1-13.
- Bogantes, A. y R. Agüero. (2003). Dinámica y control de malezas para palmito (*Bactris gasipaes* K.). *Agronomía Mesoamericana* 14(1): 41-49.
- Burnell, K. D. (2005). Biology, detection, and management of cogongrass (*Imperata cylindrical*) in Mississippi. Doctoral Dissertation, Mississippi State University. 186 pp.
- Corea, M. M. (1978). Determinación de dosis y épocas de aplicación de glifosato en el control de *Paspalum fasciculatum* Willd. Tesis Ing. Agrónomo. Escuela Nacional de Agricultura y Ganadería. Managua, Nicaragua. pp. 5-26.
- Fernández, O. y R. A. Ortiz. (1995). Evaluación de herbicidas graminicidas para el combate de gamalote (*Paspalum fasciculatum* Wild.) en palma aceitera (*Elaeis guineensis*). *Agronomía Mesoamericana* 6: 15-22.
- Gesch, R. W., Palmquist, D., and Anderson, J. V. (2007). Seasonal Photosynthesis and Partitioning of Nonstructural Carbohydrates in Leafy Spurge (*Euphorbia esula*). *Weed Science* 55:346-351.
- González-Miranda, S. (2011). Atlas de Especies Invasoras de Puerto Rico. Grupo Antillano de Especies Invasoras.
- González-Ibáñez, J. (1984). Glyphosate for weed control in Puerto Rican pastures. *Journal of Agriculture University of Puerto Rico* 68(3): 289-296.
- Johnson, W. G., Li, J., & Wait, J. D. (2003). Johnsongrass Control, Total Nonstructural Carbohydrates in Rhizomes, and Regrowth After Application of Herbicides Used in Herbicide-Resistant Corn (*Zea mays*). *Weed Technology*. 17(1):36-41.
- Kimbel, J. C., and Carpenter, S. R. (1981). Effects of mechanical harvesting on *Myriophyllum spicatum* L. regrowth and carbohydrate allocation to roots and shoots. *Aquatic Botany* 11:121-127.
- King, J. R., Conway, W. C., Rosen, D. J., Oswald, B. P., & Williams, H. M. (2014). Total Nonstructural Carbohydrate Trends in Deeproot Sedge (*Cyperus entrerianus*). *Weed Science*, 62(1), 186–192.

- Kinsinger, F. E., and H. H. Hopkins. (1961). Carbohydrates Content of Underground Parts of Grasses as Affected by Clipping. *Journal of Range Management* 14(1): 9-12. Downloaded from <http://jstor.org/stable/3894824> Acesado en abril 2016.
- Madsen, J. D., K. T. Luu, K. D. Getsinger. (1993). Allocation of biomass and carbohydrates in waterhyacinth (*Eichhornia crassipes*): pond-scale verification. Technical Report A-93. US Army Corps of Engineers, 33 pp.
- Más, E. y O. García-Molinari. (2006). Guía ilustrada de yerbas comunes en Puerto Rico. 2^{da} edición revisada. Servicio de Extensión Agrícola, UPR Mayagüez. 313 pp.
- Más, E. G. & M. de L. Lugo-Torres. (2013). *Malezas Comunes en Puerto Rico & Islas Vírgenes Americanas*. Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez. USDA Servicio de Conservación de Recursos Naturales. Área del Caribe.
- NRCS. (1999). Natural Resources Conservation Service. Soil Taxonomy.
- NRCS. (2013). Natural Resources Conservation Service. Web Soil Survey. <http://websoilsurvey.sc.egov.usda.gov/App/WebSoilSurvey.aspx>. Acesado en noviembre 2015.
- Oficina de la Reglamentación de la Industria Lechera de Puerto Rico (ORIL). (2012). Informe anual año fiscal 2010-11. Estado Libre Asociado de Puerto Rico, Departamento de Agricultura.
- Oficina de la Reglamentación de la Industria Lechera de Puerto Rico (ORIL). (2016). Informe anual año fiscal 2014-15. Estado Libre Asociado de Puerto Rico, Departamento de Agricultura.
- Ortiz-Colón, G. (2012). El cambio climático: Impacto sobre la producción agrícola y prácticas de adaptación. Guía Curricular. Servicio de Extensión Agrícola.
- Perkins, M. A., and Sytsma, M. D. (1987). Harvesting and carbohydrate accumulation in Eurasian watermilfoil. *Journal of Aquatic Plant Management* 25:57-62.
- Rodríguez-Domínguez, P. (2006). Situación actual de la yerba Venezolana en Puerto Rico. Presentación del Servicio de Extensión Agrícola, UPR Mayagüez. <http://academic.uprm.edu/rodriguezp/>. Acesado en noviembre 2013.
- Sampson A, McCarty E. (1930). The carbohydrate metabolism of *Stipa pulchra*. *Hilgardia* 5(4):61-100.

- Sturkie, D. G. (1930). The influence of various top-cutting treatments on rootstocks of Johnson grass (*Sorghum halepense*). *Journal of the American Society of Agronomy* 22(1): 82-93.
- Taiz, L. & E. Zeiger. (2002). *Plant Physiology* Third Edition. Sunderland, Massachusetts. Sinauer Associates, Inc.
- Urbani, M.H. (1996). Estudio sobre citología, sistema reproductivo y compatibilidad polen-pistilo de *Panicum dichotomiflorum* y *Paspalum fasciculatum* (Gramineae, Paniceae). *Darwiniana* 34:193-198.
- Vicente-Chandler, J., R. Caro Costas, F. Abruña, y S. Silva. (1983). Producción y utilización intensiva de forrajeras en Puerto Rico. Boletín 271. EEA, Río Piedras, Puerto Rico.
- Watts, K. (2009). Carbohydrates in Forage: What is a Safe Grass? *Adv. Equine Nutr. IV*, 1–11. Retrieved from <http://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=HLSxAwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA29&dq=Carbohydrates+in+Forage:+What+is+a+Safe+Grass%3F&ots=gkMBigtG0M&sig=x7G0IS2cEtoZiGbl4VtOcP0ko8E>
- Wersal, R. M., J. C. Cheshier, J. D. Madsen, y P. D. Gerard. (2011). Phenology, starch allocation, and environmental effects on *Myriophyllum aquaticum*. *Aquatic Botany* 95: 194-199.
- Wersal, R. M., J. D. Madsen, y J. C. Cheshier. (2013). Seasonal biomass and starch allocation of common reed (*Phragmites australis*) (Haplotype I) in southern Alabama, USA. *Invasive Plant Science and Management* 6: 140-146.
- White, L. (1973). Carbohydrate reserves of grasses: a review. *Journal of Range Management*, 26 (1) 13–18. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/3896873>
- Woolf, T. E., and J. D. Madsen. (2003) Seasonal Biomass and Carbohydrates Allocation Patterns in Southern Minnesota Curlyleaf Pondweed Populations. *Journal of Aquatic Plant Manage* 41: 113-118.

9 Apéndices

Apéndice 1. Fórmula completa para calcular el porcentaje de almidón en el tejido vegetativo (Sigma Aldrich, Inc. Technical Bulletin).

$$\begin{aligned}\% \text{ Almidón} &= \frac{(\Delta A \text{ muestra})(F)(V)(SF)(SDF)(VGA)(MWF)(100)}{(\text{factor de conversión de } \mu\text{g a mg})(\text{peso de muestra en mg})} \\ &= \frac{(\Delta A \text{ muestra})(50/\Delta A \text{ estándar})(10)(2)(10)(1.0)(0.9)(100)}{(1000)(\text{peso de muestra en mg})} \\ &= \frac{(\Delta A \text{ muestra})(9000)}{(\Delta A \text{ estándar})(\text{peso de muestra en mg})}\end{aligned}$$

Leyenda:

$\Delta A \text{ estándar} = A \text{ estándar} - A \text{ blanco del estándar}$

$\Delta A \text{ muestra} = A \text{ muestra} - A \text{ blanco del método}$

$F = \mu\text{g glucosa en el estándar} / \Delta A \text{ estándar a } 540 \text{ nm} = 50 / \Delta A \text{ estándar}$

$V = \text{volumen inicial de la preparación de la muestra} = 10 \text{ ml}$

$SF = \text{volumen total del análisis para el ensayo de almidón} / \text{volumen de la muestra para el ensayo de almidón} = 2/1 = 2 \text{ ml}$

$SDF = \text{factor de dilución final para el ensayo de almidón} = 10 \text{ ml}$

$VGA = \text{volumen inicial de la muestra para el ensayo de glucosa} = 10 \text{ ml}$

$MWF = \text{peso molecular de almidón} / \text{peso molecular de glucosa} = 162/180 = 0.9$

Apéndice 2. Biomasa promedio de tejido aéreo y tejido subterráneo de yerba Venezolana para cada tratamiento aplicado en el año 2014.

Tratamientos	Parte de la planta					
	Tejido aéreo			Tejido subterráneo		
	Fecha de muestreo					
	Junio (0)	Agosto (56)	Octubre (112)	Junio (0)	Agosto (56)	Octubre (112)
	g MS/m ²					
Glifosato una vez	264.1	308.4	344.4	668.9	144.4	369.5
Glifosato + glifosato 56 DDT	198.5	255.6	150.0	1022.9	150.0	427.8
Glifosato + talado 56 DDT	232.2	274.1	514.8	831.0	88.9	796.3
Talado una vez	329.5	922.1	763.9	748.9	163.9	652.8
Talado + talado 56 DDT	260.6	572.2	327.8	552.4	150.0	738.9
Talado + glifosato 56 DDT	283.7	675.0	238.9	564.1	141.7	600.0
Control	284.9	1111.1	1094.5	707.0	294.5	538.9

Nota: Los números que se encuentran en paréntesis representan los días después de la aplicación de los tratamientos (DDT).

Apéndice 3. Biomasa promedio de tejido aéreo y tejido subterráneo de yerba Venezolana para cada tratamiento aplicado en el año 2015.

Tratamientos	Parte de la planta					
	Tejido aéreo			Tejido subterráneo		
	Fecha de muestreo					
	Febrero (0)	Abril (56)	Junio (112)	Febrero (0)	Abril (56)	Junio (112)
	g MS/m ²					
Glifosato una vez	430.5	61.2	1652.8	530.6	219.5	741.7
Glifosato + glifosato 56 DDT	436.1	71.3	458.4	588.9	472.2	402.8
Glifosato + talado 56 DDT	377.8	73.0	2680.6	997.2	141.7	661.1
Talado una vez	516.7	391.4	1375.0	1122.3	677.8	452.8
Talado + talado 56 DDT	488.9	251.4	430.6	247.3	411.1	433.3
Talado + glifosato 56 DDT	436.1	332.5	69.5	675.0	227.8	791.7
Control	400.0	531.7	902.8	752.8	477.8	455.6

Nota: Los números que se encuentran en paréntesis representan los días después de la aplicación de los tratamientos (DDT).

