

## LA ESTIMACION DEL BANCO DE SEMILLAS DE SUELOS AGRICOLAS. PREMISAS METODOLOGICAS EN EL MUESTREO

J. RECASENS<sup>1</sup>, F. RIBA<sup>1</sup>, A. TABERNER<sup>2</sup> y J. IZQUIERDO

### RESUMEN

La técnica de análisis del banco de semillas de suelos agrícolas tiene interés en malherbología en relación con el estudio de los procesos demográficos de malas hierbas, los cuales tienen una especial significación a la hora de adoptar y planificar estrategias de control. La información que tanto cualitativa como cuantitativamente puede aportar el banco de semillas sobre la flora potencial, no es actualmente del todo aprovechable debido a restricciones de tipo metodológico relacionadas con el muestreo y la fiabilidad de los valores estudiados. La heterogeneidad en la distribución espacial de las semillas del suelo, así como su gran diversidad desde el punto de vista florístico, hace difícil encontrar un método de muestreo y análisis adecuado al conjunto. En este sentido y para una adecuada cuantificación, a menudo los estimadores estadísticos clásicos se revelan insuficientes o bien difíciles de manejo. Desde el año 1988 un grupo de trabajo de la EWRS está investigando con el objetivo de conseguir un método global y rápido de cuantificar el banco de semillas del suelo tanto en el aspecto práctico del análisis de muestras como en el análisis estadístico de los resultados. Las restricciones metodológicas que conlleva este segundo aspecto y su adecuación a dicha técnica de análisis son discutidos en el presente artículo.

**Palabras clave:** Banco de semillas, malas hierbas, muestreo, análisis.

### INTRODUCCION

En el ámbito de la malherbología, los estudios sobre demografía y dinámica de poblaciones de malas hierbas tienen una especial significación a la hora de planificar y adoptar estrategias de control. Los estudios de demografía centran su objetivo en el conocimiento del ciclo vital de las especies, con la intención de parametrizar las diferentes etapas del desarrollo. Los estudios de dinámica de poblaciones, en cambio, centran sus objetivos en conocer la evolución de una población a lo largo de un período de tiempo relativamente amplio.

Una de las etapas del ciclo vital, especialmente para el caso de las especies anuales, que ha sido en los últimos años motivo de un especial interés por parte de diversos autores, es el estudio y evolución del contenido de semillas de una población (uni o pluriespecífica) presente en el suelo. Esta etapa ha sido denominada «banco de semillas». El conocimiento de la composición específica de la flora que potencialmente puede infestar un cultivo así como su posible magnitud puede reflejarse a través del análisis cuantitativo y cualitativo del bando de semillas del suelo. Desde la perspectiva del control de malas hierbas es, por lo tanto, altamente interesante poder disponer de forma puntual y precisa de la información que *a priori* aporta esta técnica de análisis.

Sin embargo, la información que sobre la flora potencial general el banco de semillas, no es del todo precisa debido principalmente a restricciones de tipo metodológico. El método de muestreo a aplicar así como la fiabilidad del mismo son en la actualidad las principales limitaciones que presenta

<sup>1</sup> Unitat de Botànica. Dpt. Hortofructicultura, Botànica i Jardineria. ETSE Agrària. Universitat de Lleida. Avda. Rovira Roure 177. 25198 LLEIDA.

<sup>2</sup> Secció de Malherbologia. Servei de Protecció dels Vegetals de Lleida. Generalitat de Catalunya. Avda. Rovira Roure 177. 25198 LLEIDA.

esta técnica. En el presente trabajo se discuten los problemas metodológicos que presenta el muestreo del banco de semillas y los condicionantes que se deben tener en cuenta en la utilización de la información aportada mediante esta estimación.

## EL BANCO DE SEMILLAS DEL SUELO. CONCEPTO

En un suelo pueden encontrarse semillas con una amplia gama de edades y estados fisiológicos (viables, en dormición, etc.) hecho que condiciona una gran variabilidad. Sin embargo, más importante aún que esta heterogeneidad de estadios biológicos es la dinámica que existe entre estos grupos. Continuamente hay flujos multidireccionales y de diferente magnitud de semillas entre ellos (PAVONE *et al.* 1982; FERNÁNDEZ-QUINTANILLA, 1987; DEBAEKE y BARRALIS, 1988). Así pues, se consideran como integrantes del banco de semillas todas aquellas semillas, independientemente de su estado fisiológico, pertenecientes a especies presentes en el suelo en un momento determinado.

La diversidad florística es precisamente una de las características del banco de semillas. En los campos de cultivo, la composición florística del banco de semillas es reflejo de la acción simultánea de dos factores esenciales: por un lado las diferentes estrategias de dispersión y supervivencia utilizadas por las especies y, por otra, las técnicas agronómicas utilizadas por el agricultor (CAVERS y BENOIT, 1989). Algunas especies producen semillas capaces de mantenerse viables en el suelo durante mucho tiempo y ser más o menos abundantes en cualquier época del año. Otras en cambio, tienen una viabilidad más corta y un período de supervivencia más restringido. GRIME (1982) considera, en base a estos hechos, dos tipos diferentes de bancos de semillas: persistentes y transitorios respectivamente. Por otro lado las parcelas con rotación de cultivos tienen en general una riqueza mayor que las dedicadas a monocultivo. En éstas tiene lugar una selección de las especies más afines al cultivo, hecho que a menudo puede dificultar su control.

Así pues, cabe considerar al banco de semillas como una parte esencial de toda población de malas hierbas y su estudio y análisis será necesario para diversos fines.

## PREMISAS METODOLOGICAS EN EL MUESTREO DEL BANCO DE SEMILLAS

Para utilizar con eficacia y fiabilidad la información que aporta el banco de semillas del suelo es preciso proceder a un análisis detallado del mismo. Este análisis se realizará a partir de un muestreo sobre la población de semillas del campo objeto de estudio.

Como ya se ha comentado anteriormente, la fase de semilla sólo es una etapa del ciclo vital de las especies vegetales y en consecuencia pueden darse fluctuaciones temporales importantes en el número de semillas del suelo. Un primer elemento a tener en cuenta en el proceso del muestreo es el momento de realización del mismo. Este, como se verá más adelante, estará en función del objetivo que se persiga. Un segundo aspecto a considerar es el volumen de suelo necesario en cada extracción. Las semillas se encuentran en el suelo a diferentes profundidades e íntimamente mezcladas con la materia orgánica y la fracción mineral. La profundidad y superficie de la muestra y el método de extracción serán de suma importancia. Finalmente es preciso también prever la distribución de las extracciones en la superficie del terreno.

### Momento de realización del muestreo

Si se pretende utilizar la información procedente del banco de semillas para realizar predicciones de flora arvense en el propio cultivo, será necesario realizar el muestreo en un momento inmediato (anterior o posterior) al establecimiento del cultivo. El muestreo realizado en este período dará una buena información sobre las especies que podrán aparecer en el campo a lo largo de los próximos meses. Por otro lado, los muestreos realizados en la misma época pero en años sucesivos pueden proporcionar datos sobre los cambios ocurridos en el banco de semillas y de hecho en la población. En este segundo caso es preciso tener presente algunos aspectos relacionados con la fenología y la ecología de las especies.

Algunas especies, como muchas crucíferas (IZQUIERDO 1990, SANS 1990) pueden producir semillas y aportarlas al banco durante un período más o menos amplio. Este factor es preciso tener-

lo en cuenta en el momento de querer comparar valores interanuales de la población. Las especies que tienen bancos de semillas transitorios pueden presentar fuertes variaciones en los mismos en intervalos de tiempo cortos, como por ejemplo en diversas especies del género *Bromus* (FROUD-WILLIAMS, 1983; RIBA y RECASENS, 1990). El momento del muestreo, en definitiva, estará en función de los objetivos que se persigan.

### Volumen de las extracciones

El volumen de suelo a extraer es uno de los aspectos más controvertidos del análisis del banco de semillas, dado que diferentes autores han adoptado diferentes criterios. La técnica más utilizada es, sin embargo, la obtención de un volumen de suelo mediante una barrena cilíndrica. En cuanto a sus dimensiones, ROBERTS y CHANCELLOR (1986) utilizan una barrena de 3,2 cm de diámetro y 15 cm de profundidad; LAMBELET-HAUETER (1984), de 3,5 y 25 cm; WILSON *et al.* (1985) de 3,2 y 15 cm y BARRALIS *et al.* (1986) de 4,6 y 30 cm respectivamente. El diámetro de la sonda tiene importancia ya que diámetros demasiados pequeños pueden infravalorar semillas de tamaño relativamente grande (JENSEN, 1969; LAMBELET-HAUETER, 1986). En este sentido FROUD-WILLIAMS (1983), extrae cubos de suelo de 30 x 30 cm de lado y a 20 cm de profundidad para estimar semillas de *Bromus sterilis*.

Respecto a la profundidad de las extracciones se considera mayoritariamente el horizonte que está sometido a la remoción por trabajos mecánicos del suelo como la profundidad idónea. Con la finalidad de unificar la metodología de muestreo y poder comparar resultados, el grupo de trabajo de *Potential Sémencier* de la European Weed Research Society (EWRS) estableció como recomendación para suelos agrícolas, extraer las muestras con una barrena de 4,5 cm de diámetro y de 30 cm de profundidad.

### Número de extracciones a realizar. Precisión del muestreo

La estimación de una población en función de la muestra que de ella se ha obtenido, requiere de una significación estadística. La dimensión de la

muestra será siempre el resultado de un compromiso entre mantener el mínimo esfuerzo posible de muestreo y la necesidad de operar con números satisfactorios desde el punto de vista del método estadístico que se adopte (MARGALEF, 1979).

Las poblaciones naturales suelen presentar principalmente dos tipos de distribución espacial de sus efectivos: agregada y aleatoria. Las semillas de malas hierbas del suelo no escapan de esta generalización y varios autores (GOYEAU y FABLET, 1982; CHAUVEL *et al.*, 1989; ZANIN *et al.*, 1989; IZQUIERDO, 1990; TOMÀS, 1992) han descrito para diferentes especies sendos tipos de distribuciones. Asimismo, las distribuciones espaciales de las poblaciones pueden tener su reflejo en la distribución estadística de los valores de la muestra obtenida. Como norma general, para las poblaciones distribuidas al azar, los valores del número de semillas obtenidos de las extracciones suelen ajustarse a una distribución de Poisson; en cambio los valores procedentes de las poblaciones que tienen una distribución espacial agregada, suelen estar bien interpretados por una distribución de tipo binomial negativa. Sin embargo, el tipo de distribución estadística para una especie no es constante (Tabla I). Puede, incluso, que los valores obtenidos para una determinada especie no se ajusten a ningún tipo de distribución estadística (ZANIN *et al.*, 1989; IZQUIERDO, 1990).

La práctica del análisis del banco de semillas de una parcela y para cualquier finalidad se resume, básicamente, en obtener un valor del número medio de semillas por unidad de área, bien para todo el colectivo de especies, bien para cada especie en particular presente en el campo. En realidad el verdadero valor de este parámetro es desconocido y en la práctica lo que se realiza es una estimación del mismo a partir de la muestra obtenida. Esta estimación, sin embargo, tiene poco valor si se desconoce el grado de precisión con que se ha realizado (GOYEAU y FABLET, 1982; MORIN y WOJEWEDKA, 1984; BARRALIS *et al.*, 1986; LÓPEZ *et al.*, 1988; ZANIN *et al.*, 1989). Es preciso conocer cuál es la precisión de este valor medio que hemos calculado. Por lo tanto, habrá que proveer esta media de un intervalo de confianza.

TABLA I

CUADRO COMPARATIVO DE LAS DISTRIBUCIONES DE LAS SEMILLAS DE NUEVE ESPECIES DE MALAS HIERBAS SEGUN DIFERENTES FUENTES. (1): ZANIN *et al.* (1989); (2): GOYEAU y FABLET (1982); (3): CHAUVEL *et al.* (1989); (4): IZQUIERDO (1990); (5): TOMAS (1992)

<i>Anagallis arvensis</i>	<i>Polygonum aviculare</i>	<i>Amaranthus</i> sp.
(1) Binomial negativa Poisson	(2) Binomial negativa (3) Poisson	(1) Agregada normalizable (2) Binomial negativa
(2) Binomial negativa	Normal	(4) Binomial negativa
(3) Poisson	(4) Binomial negativa	(5) Binomial negativa
Agregada normalizable		
(5) Binomial negativa		
<i>Portulaca oleracea</i>	<i>Capsella bursa-pastoris</i>	<i>Veronica</i> sp.
(1) Binomial negativa Poisson	(1) Binomial negativa Poisson	(1) Binomial negativa Poisson
(4) Binomial negativa	(3) Poisson	(4) Binomial negativa Poisson
(5) Binomial negativa	Agregada normalizable (4) Binomial negativa	(5) Binomial negativa
<i>Chenopodium album</i>	<i>Papaver rhoeas</i>	<i>Verbena officinalis</i>
(2) Binomial negativa (4) Binomial negativa	(1) Binomial negativa Poisson (4) -ninguna-	(1) Binomial negativa Poisson (4) Binomial negativa Poisson

*Cálculo del intervalo de confianza de la media*

El cálculo de los intervalos se efectúa generalmente sobre medias con distribución normal, situación que como hemos visto no es frecuente en poblaciones de semillas. Sin embargo, ZANIN *et al.* (1989) y GOYEAU y FABLET (1982) utilizan las expresiones siguientes para calcular el intervalo de confianza de las distribuciones de Poisson:

Si llamamos «x» al número total de semillas en las «n» extracciones, para un nivel de probabilidad  $\alpha$  tenemos que el límite superior del intervalo es:

$$l_i = \frac{1}{2n} \chi^2 \quad [1]$$

con  $\chi^2$  a un nivel de probabilidad  $1 - \frac{\alpha}{2}$  y  $2(x + 1)$  grados de libertad; y el límite inferior:

$$l_i = \frac{1}{2n} \chi^2 \quad [2]$$

con  $\chi^2$  a un nivel de probabilidad  $\frac{\alpha}{2}$  y  $2x$  grados de libertad.

Para las distribuciones binomiales negativas, estos mismos autores, calculan los límites del intervalo de confianza según las siguientes expresiones:

Sea I la variable aleatoria número de individuos y siendo  $i_j$  y  $i_j$  valores de I tales que:

$$P(I = i_j) = \alpha \quad [3]$$

y

$$P(I = i_j) = (1 - \alpha) \quad [4]$$

entonces las estimaciones de los límites superior e inferior del intervalo de confianza serán, para el límite inferior:

$$l_i = \frac{i_j}{n} \quad [5]$$

para el límite superior:

$$l_i = \frac{i_j - 1}{n} \quad [6]$$

Si la distribución estadística de los valores muestrales no es normal, lo más frecuente es proceder a una transformación para poder normalizar los valores obtenidos. Las transformaciones normalizantes han sido ampliamente usadas por parte de diversos autores que han estudiado el banco de semillas. Así CHAMPNESS (1949) y ROBERTS (1958) utilizan la transformación:

$$y = \sqrt{x + x_0} \quad [7]$$

mientras que GOYEAU y FABLET (1982) aplican la siguiente:

$$y = \log(x + x_0) \quad [8]$$

en estas ecuaciones  $x$  es el valor procedente de la muestra y  $x_0$  es una constante que en la mayoría de los casos vale 1 (MERNY y DEJARDIN, 1970).

El hecho de proceder a realizar una transformación normalizante de los datos obtenidos, supone cometer un determinado error. Este error puede corregirse por medio de la aplicación de un coeficiente «c» de corrección. Según NEYMAN y SCOTT (1960) y para la transformación  $\log(x + x_0)$  este coeficiente es:

$$c = 10^z \quad [9]$$

siendo

$$z = \ln(10) \frac{(n-1)}{2} n^{-1} s_x^2 \quad [10]$$

donde  $n$  es el número de extracciones y  $s_x^2$  la varianza.

Sea cual sea el método utilizado para conseguir una media normalizada, el valor del intervalo de confianza puede ser calculado a partir de la expresión:

$$\bar{x} \pm t \frac{s_x^2}{\sqrt{n}} \quad [11]$$

donde  $\bar{x}$  es la media muestral,  $s_x^2$  la varianza muestral,  $n$  el número de extracciones y  $t$  el valor de la  $t$ -Student para un nivel de confianza  $\alpha$ .

Substituyendo el valor de los diferentes parámetros en esta ecuación obtendremos los valores del intervalo de confianza. Es preciso recordar, sin embargo, que en el caso que se haya hecho una transformación normalizante será preciso desha-

cer esta transformación (realizar la transformación inversa) para obtener los verdaderos valores del intervalo de confianza.

En el caso de la transformación  $\log(x + x_0)$  la transformación inversa será  $x = 10^y - x_0$  y la expresión de los nuevos límites vendrá dada para el límite inferior como:

$$l_i^j = 10^{l_i} - x_0 \quad [12]$$

y para el límite superior:

$$l_s^j = 10^{l_s} - x_0 \quad [13]$$

donde  $l_i$  y  $l_s$  son respectivamente los límites inferior y superior calculados mediante la ecuación (11) y  $l_i^j$  y  $l_s^j$  el valor de los límites transformados.

Será preciso aún aplicar el factor de corrección antes indicado (ecuaciones 9 y 10) y así el valor definitivo de los límites del intervalo de confianza serán:

$$cl_i^j \leq c\bar{x} \leq cl_s^j \quad [14]$$

#### *Cálculo de la precisión del muestreo*

Como hemos comentado anteriormente, un aspecto fundamental en el muestreo es conocer la fiabilidad de los resultados obtenidos. En los estudios sobre bancos de semillas se ha utilizado como indicador de la precisión del muestreo, un intervalo de confianza porcentual que consiste en expresar el valor de la amplitud del intervalo de confianza en porcentaje de la media. Si la distribución es normal, el intervalo de confianza es simétrico respecto al valor de la media, entonces la precisión expresa el porcentaje de la media respecto al valor absoluto de la mitad de la amplitud del intervalo de confianza y tiene la expresión siguiente:

$$\delta(\%) = \frac{\Delta}{\bar{x}} 100 \quad [15]$$

donde  $\delta(\%)$  es la precisión del muestreo,  $\Delta$  la mitad del intervalo de confianza expresado en valor absoluto y  $\bar{x}$  la media muestral.

Para el caso de tener que deshacer una transformación normalizante, según las fórmulas exponenciales antes mencionadas, la media no coincidirá nunca en el centro del intervalo de confianza. En este caso, la caracterización de la precisión

vendrá dada por la desviación máxima relativa (DMR) (LÓPEZ *et al.*, 1988) definida como:

$$\delta(\%) = \frac{\text{Max}(\bar{x} - x_1, \bar{x} - x_2)}{\bar{x}} 100 \quad [16]$$

donde  $x_1$  y  $x_2$  son los extremos del intervalo de confianza. Esta desviación es una medida de la proporción de error maximal al nivel  $\alpha$  y que caracteriza el error de muestreo.

Los resultados de la precisión del muestreo obtenidos por parte de diferentes autores (GOYEAU y FABLET, 1982; MORIN y WOJEWEDKA, 1984; CHAUVEL *et al.*, 1989; LÓPEZ *et al.*, 1988; ZANIN *et al.*, 1989; IZQUIERDO, 1990; TOMÁS, 1992), indican que la precisión mejora a medida que aumenta el número de efectivos de la población y que, para especies débilmente representadas (con un número de semillas muy reducido) es, por el contrario, muy mala.

BARRALIS *et al.*, (1986), basándose en la ley de distribución de la media adoptan la siguiente fórmula para estimar el número de muestras en función de la precisión del muestreo:

$$n = \frac{t^2 s^2}{\Delta^2} \quad [17]$$

donde  $s^2$  es la varianza del muestreo,  $\Delta$  es la mitad del intervalo de confianza en valor absoluto y  $t$  es el valor de la  $t$  de Student con  $n-1$  grados de libertad y para un  $\alpha$  considerado. Según esa ley (SNEDECOR-COCHRAN, 1978) la media de los valores obtenidos de un muestreo tiende de manera asintótica hacia una distribución normal bajo la condición de que el tamaño de muestreo sea suficientemente grande. Si bien es difícil definir un tamaño de muestra a partir del cual la distribución es normal, se admite que esto se cumple con una muestra de tamaño superior a 30 extracciones. En estas condiciones, por lo tanto, no sería necesario calcular la ley de distribución de la variable. Tanto en esta situación como cuando la distribución sea normal puede calcularse el tamaño del muestreo como indicamos a continuación.

A partir de las ecuaciones 11 y 15 podemos relacionar la precisión del muestreo con el número de extracciones realizadas y de esta forma calcu-

lar el número teórico de muestras que hubiera sido necesario extraer para obtener una precisión determinada, suponiendo que se conserven los valores de  $\alpha$  y  $s_x^2$ . A partir de esa ecuación y substituyendo  $\Delta$  por su valor  $\frac{t_s}{\sqrt{n}}$  podemos calcular el valor de  $n$ .

$$\begin{aligned} \delta(\%) &= \frac{t_s}{\sqrt{n} \bar{x}} 100 \Leftrightarrow \sqrt{n} = \frac{t_s}{\delta \bar{x}} 100 \Leftrightarrow \\ &\Leftrightarrow n = \frac{t_s^2 s^2}{(\delta \bar{x})^2} 10000 \quad [18] \end{aligned}$$

La relación existente entre el número de muestras y la precisión del muestreo permite predecir cuál será el número de muestras necesario para alcanzar un determinado valor de precisión. La Tabla II nos ilustra la relación que hay entre la media, la varianza y la precisión del muestreo. En general todos los autores que han estudiado la fiabilidad del muestreo en relación con el número de muestras, señalan que las especies menos representadas (con menos de 0,5 semillas/muestra), requieren un número muy elevado de muestras (más de 300) para obtener una buena precisión (que sitúan alrededor del 20%). En cambio, ZANIN *et al.*, (1989), indican que para las especies bien representadas con densidades superiores a 1 ó 2 semillas/muestra pueden obtener precisiones muy buenas de entre el 10 y el 20%. IZQUIERDO (1990), en cambio, no consigue para densidades similares precisiones inferiores al 25%. Estas diferencias son debidas a la influencia determinante que tiene la varianza del muestreo. Así en la Tabla II podemos comprobar que *Amaranthus retroflexus* y *Anagallis arvensis* presentan unos valores para la media muestral muy similares (2,56 y 2,44 respectivamente), pero en cambio difieren notablemente en el valor de la varianza (5,97 y 12,11 respectivamente), por lo que el número de muestras a obtener para un determinado nivel de precisión variará también notablemente.

La Tabla III compara los resultados de diferentes autores y refleja el desigual número de extracciones que es necesario realizar para obtener una precisión determinada.

#### Distribución espacial de las extracciones

La metodología de muestreo expuesta hasta el momento se ha centrado básicamente en el estu-

TABLA II  
 NUMERO DE EXTRACCIONES NECESARIAS PARA LAS DIFERENTES ESPECIES DE UNA PARCELA MUESTREADA EN FUNCION DE LA MITAD DEL INTERVALO DE CONFIANZA DESEADO Y PARA UN NIVEL DE SIGNIFICACION DEL 5%. LAS MEDIDAS Y LAS VARIANZAS DEL MUESTREO HAN SIDO ESTIMADAS A PARTIR DE UNA SERIE DE EXTRACCIONES OBTENIDAS POR BARRALIS *et al.* (1986)

Especies	X	S <sup>2</sup>	Mitad del intervalo de confianza deseado (en valor absoluto)																				
			0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50	0,55	0,60	0,65	0,70	0,75	0,80	0,85	0,90	0,95	1,00	
<i>Aethusa cynapium</i> L.	0,98	2,65	4314	1079	480	270	173	120	89	68	54	49	36	30	26								
<i>Alopecurus myosuroides</i> Huds.	0,4	0,38	620	155	69	39	25																
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.	2,56	5,97	9704	2426	1079	607	389	270	199	152	120	98	81	68	58	50	44	38	34	30	27		
<i>Anagallis arvensis</i> L.	2,44	12,11	19661	4916	218	1229	787	547	402	308	243	197	163	137	117	101	88	77	69	61	55	50	
<i>Bilderdykia convolvulus</i> (L.) Dumort	2,89	8,73	14178	3545	1576	887	568	394	290	222	176	142	118	99	84	73	64	56	50	44	40	36	
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medicus	0,75	1,32	2151	538	239	135	87	60	44	34	27												
<i>Chaenorhinum minus</i> (L.) Lange	0,13	0,11	192	48																			
<i>Chenopodium album</i>	2,29	4,7	7717	1930	585	483	309	215	158	121	96	78	64	54	46	40	35	31	27				
<i>Chenopodium polyspermum</i> L.	0,07	0,1	178	45																			
<i>Euphorbia exigua</i> L.	1,98	4,74	7707	1927	587	482	309	215	158	121	96	78	64	54	46	40	35	31	27				
<i>Galium aparine</i> L.	0,07	0,06	104	26																			
<i>Kickxia spuria</i> (L.) Dumort	1,2	2,29	3880	970	432	243	156	108	80	61	48	39	33	27	30	26							
<i>Polygonum aviculare</i> L.	1,18	3,1	5037	1260	560	315	202	140	103	79	63	51	42	35									
<i>Polygonum persicaria</i> L.	0,2	0,34	561	141	63	36																	
<i>Sonchus asper</i> (L.) Hill	1,49	2,8	4545	1137	506	285	182	127	93	72	57	46	38	32	27								
<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	1,69	5,62	9133	2284	1015	571	366	254	187	143	113	92	76	64	55	47	41	36	32	29			
<i>Thlaspi arvense</i> L.	0,15	0,13	218	55																			
<i>Veronica hederifolia</i> L.	0,18	0,24	391	98	44																		

TABLA III

CUADRO COMPARATIVO, A PARTIR DE DIFERENTES FUENTES BIBLIOGRAFICAS, DEL NUMERO DE MUESTRAS NECESARIAS PARA ESTIMAR EL BANCO DE SEMILLAS CON UNA PRECISION DETERMINADA

Autor	Año	Localidad	Semillas por muestra	Núm. muestras necesarias	Precisión (%)
BARRALIS <i>et al.</i>	1986	Francia	0,1 - 5 60 - 300 sem/m <sup>2</sup>	90	20 - 70
GOYAU y FABLET	1982	Francia	>40	10-20	20
			5 - 40	50	20
			1 - 5	100 - 200	20
			<1	>200	20
LÓPEZ <i>et al.</i>	1988	Francia	>10 (>5000 sem/m <sup>2</sup> )	>50	20
			5 - 10 (2500 - 5000 sem/m <sup>2</sup> )	50 - 100	20
			1 - 5 (500 - 2500 sem/m <sup>2</sup> )	100 - 200	20
			1 (<500 sem/m <sup>2</sup> )	200 - 300	20
			MORIN y WOJEWEDKA	1984	Francia
ZANIN <i>et al.</i>	1989	Italia	>1,2	200	10 - 20
IZQUIERDO	1990	España	>5 (2000 - 4000 sem/m <sup>2</sup> )	50 - 200	20
			1 - 5 (500 - 2000 sem/m <sup>2</sup> )	200 - 300	20
			>5 (>3000 sem/m <sup>2</sup> )	33	20
TOMAS	1992	España	1 - 5 (600 - 3000 sem/m <sup>2</sup> )	225 - 275	20
			<1 (<600 sem/m <sup>2</sup> )	>200	20

dio del número de extracciones a realizar para obtener una buena precisión. Los trabajos reseñados hasta ahora no abordan de forma definitiva el problema que supone para el muestreo la distribución espacial de las semillas en el suelo, siendo éste un problema intrínseco que se pone de manifiesto a la hora de realizar los ajustes a las diferentes distribuciones estadísticas.

Sin embargo, el problema de cómo distribuir las extracciones en la superficie de las parcelas no ha sido resuelto aún definitivamente. Algunos autores recomiendan tomar las muestras siguiendo una W a lo largo del campo, otros realizando un transecto y otros al azar.

Actualmente, con el fin de minimizar los efectos de la heterogeneidad en la distribución horizon-

tal de las semillas, se tiende a realizar muestreos sistemáticos dividiendo una superficie concreta del campo en cuadrículas y obtener una muestra para un número determinado de ellas, de forma que la superficie quede muestreada.

Sin embargo, DESSAINT (1991) indica que el ajuste de los valores de las muestras a distribuciones estadísticas, tal como se ha venido haciendo de forma clásica, aporta en general muy poca información sobre la repartición espacial de las semillas en el suelo. Según este autor, el hecho de encontrar una distribución de Poisson, significa simplemente que el tipo de muestreo utilizado no ha permitido descubrir la distribución que realmente existe, sea o no al azar. La existencia de una distribución al azar depende de la densidad y



de la talla del muestreo. Si ésta es mucho más pequeña o mucho más grande que la talla media de los agregados poblacionales, se obtiene una distribución al azar. El hecho de que unos valores obtenidos puedan ajustarse a una distribución binomial negativa no prueba que haya realmente contagio. Los índices de agregación utilizados con más frecuencia y basados en la media y la varianza del muestreo presentan también las mismas limitaciones; son igualmente sensibles a la talla y número de extracciones. Según este autor, parece ser que los únicos métodos que permiten determinar el tipo de repartición espacial son aquéllos que tienen en cuenta la posición espacial dentro del campo de cada una de las extracciones.

Por lo que respecta al banco de semillas parece ser que uno de los coeficientes de autocorrelación espacial más útil es la I de Moran (SOKAL y ODEN, 1978), que tiene como expresión:

$$I = \frac{N \sum_i \sum_j w_{ij} (Y_i - Y_m)(Y_j - Y_m)}{W \sum_i (Y_i - Y_m)^2} \quad [19]$$

donde N es el número de puntos (extracciones en este caso),  $Y_m$  la media general,  $Y_i$  y  $Y_j$  son los valores de la variable en los puntos j y i,  $w_{ij}$  es un valor de conexión entre dos puntos establecido mediante un diagrama de relación y W la suma de todos los valores de conexión. Sin embargo, es necesario remarcar que, a menudo,  $w_{ij} \neq w_{ji}$ , es decir, que no hay una simetría en el grado de conexión entre dos puntos.

Se puede utilizar una nomenclatura binaria para asignar valores de conexión w a un par (i, j). Así se puede considerar  $w_{ij} = 0$  si los puntos no están conectados y  $w_{ij} = 1$  si por el contrario sí lo están. Evidentemente, pueden utilizarse otras nomenclaturas para cuantificar más adecuadamente una conexión, siempre que haya los elementos suficientes para hacerlo.

El valor de I oscila entre -1 y 1. Un valor nulo indica la ausencia de correlación espacial y es indicativo de una distribución al azar. Un valor de I positivo indica que la variable media en i y en j varía en el mismo sentido (repartición agregada). Un valor negativo de I indica lo inverso, que la variable estimada en dos puntos vecinos i y j varía en un sentido inverso (repartición regular).

La información que suministra esta técnica, aparte de ser utilizada como dato ecológico, puede también, por ejemplo, ayudar a determinar el tamaño de la malla del muestreo a aplicar para que las diferentes extracciones sean independientes unas de las otras y permitan la utilización de las estadísticas clásicas. Estas técnicas, en resumen, deben aportar importantes respuestas al delicado problema de la repartición de las semillas de las malas hierbas en el suelo.

### ESTADO ACTUAL DEL ESTUDIO DEL BANCO DE SEMILLAS

Hemos visto en los apartados anteriores que en los suelos cultivados, es necesario realizar un elevado número de extracciones con el fin de poder obtener una precisión de muestreo satisfactoria.

BARRALIS *et al.* (1986), proponen algunas novedades metodológicas con el fin de agilizar al máximo los procesos de análisis del banco de semillas. La primera de estas novedades es considerar normalidad en la distribución de los valores obtenidos de la muestra, de acuerdo con la ley de distribución de la media. Esto conlleva ahorrarse el determinar la ley de distribución de la variable aleatoria y calcular el número de muestras a obtener según la fórmula de la ecuación 17 (sin embargo, presenta grandes inconvenientes en determinados casos).

Esta expresión, a pesar de permitir simplificar la elaboración de los datos, obliga a analizar el conjunto de las extracciones de la muestra de forma individualizada, análisis que es tedioso y poco práctico. Buscando una solución a este problema, muchos autores han comprobado que para semillas del suelo se cumple la ley de Taylor, la cual demuestra la existencia de una relación lineal entre medias y varianzas procedentes del muestreo de poblaciones naturales (TAYLOR, 1961). BARRALIS *et al.* (1986), verifican esta relación para los resultados obtenidos del muestreo de suelos en tres localidades diferentes, mediante una ecuación del tipo:

$$\log S^2 = a + b \log \bar{x} \quad [20]$$

donde  $S^2$  es la varianza y  $\bar{x}$  la media muestral.

Expresando ahora la fórmula anterior en función de  $S^2$ , se obtiene

$$S^2 = 10^a (\bar{x})^b \quad [21]$$

y substituyendo en la ecuación 17 la varianza por su valor y despejando n, obtenemos

$$n = \frac{t^2 10^a (\bar{x})^b}{\Delta^2} \quad [22]$$

expresión que nos permite calcular la precisión del muestreo o bien el número de extracciones que es necesario realizar sin conocer la varianza. Desde un punto de vista práctico, esto significa que se pueden analizar todas las extracciones conjuntamente o al menos agrupadas en lo que DESSAINT *et al.* (1990) llama agrupamientos (*composites*), dado que sólo se necesita conocer la media muestral, con el consiguiente ahorro de trabajo y tiempo.

La gran limitación que este método tiene es la variabilidad que pueden presentar, en el espacio y en el tiempo, los valores de los parámetros a y b en la ecuación 20. En la Tabla IV se muestran los valores de los parámetros de regresión obtenidos por parte de diversos autores.

Sin embargo, este procedimiento de unificar y analizar conjuntamente todas las extracciones, conlleva ciertas limitaciones que no están aún lo suficientemente estudiadas. ¿Qué generalización en el espacio y en el tiempo pueden tener los valores de los parámetros a y b de la recta?

Para intentar dar respuesta a estas preguntas los diferentes equipos de investigación del grupo de trabajo de la EWRS planearon en una reunión

celebrada en Changins (Suiza) el año 1987, el estudio de estos problemas mediante un plan de trabajo conjunto entre los equipos asistentes, con el fin de poder comparar con posterioridad los datos obtenidos. En una reunión posterior celebrada en Dijon (Francia) el año 1989, se aportaron los primeros resultados de un año de experimentación, y se llegaron a las siguientes conclusiones:

1. La ley de Taylor se ha podido verificar para los resultados de los laboratorios de cinco países diferentes.

2. Las pendientes de las cinco rectas de regresión (una de cada país) no son iguales; la hipótesis de igualdad de la pendiente se ha despreciado a un nivel de significación del 1%, es decir, que la relación no es única o suficientemente estable en todos los campos estudiados.

3. La unificación de las muestras en grupos, en lugar de analizarlas individualmente, permite estimar fácilmente el número de especies en la parcela, pero no estima con suficiente precisión los parámetros de la regresión; en este caso los valores obtenidos tienden a los valores esperados, pero presentan una fuerte variabilidad para un mismo número de muestras agrupadas y un mismo número de grupos, en función de las muestras consideradas.

Recientemente, (RECASENS *et al.*, 1992) se ha verificado dicha ley de Taylor para dos parcelas distintas dentro de una misma área agrícola (Fig. 1). Las pendientes de ambas rectas es práctica-

TABLA IV

RELACIONES ENTRE LA MEDIA Y LA VARIANZA DEL MUESTREO OBTENIDAS POR DIFERENTES AUTORES

Autor	País	Año	Número de puntos	Ecuación de regresión	r <sup>2</sup>
GOYEAU y FABLET	Francia	1982	624	s <sup>2</sup> = 1,97 (x) <sup>1,29</sup>	0,97
BARRALIS <i>et al.</i>	Francia	1986	36	s <sup>2</sup> = 2,24 (x) <sup>1,19</sup>	0,98
LÓPEZ <i>et al.</i>	Francia	1988	50	s <sup>2</sup> = 2,92 (x) <sup>1,30</sup>	0,99
	Francia	1990	31	s <sup>2</sup> = 1,82 (x) <sup>1,11</sup>	0,98
DESSAINT <i>et al.</i>	Holanda	1990	12	s <sup>2</sup> = 2,82 (x) <sup>1,18</sup>	0,98
(grupo EWRS)	Italia	1990	34	s <sup>2</sup> = 3,47 (x) <sup>1,28</sup>	0,99
	Portugal	1990	29	s <sup>2</sup> = 4,36 (x) <sup>1,29</sup>	0,98
	Suiza	1990	51	s <sup>2</sup> = 2,19 (x) <sup>1,17</sup>	0,99
IZQUIERDO	España	1990	46	s <sup>2</sup> = 3,98 (x) <sup>1,33</sup>	0,98
TOMAS	España	1992	23	s <sup>2</sup> = 4,40 (x) <sup>1,35</sup>	0,97

mente idéntica aún presentando dichas parcelas una flora arvense y cultivos diferentes y habiendo aplicado una malla de muestreo distinta. Sin embargo su proximidad al punto de origen es significativamente distinta. Estos datos reflejan un claro paralelismo entre ambas rectas lo cual puede hacer pensar en la posibilidad de búsqueda de una única relación, promedio de diversas regresiones determinadas previamente, para el conjunto de parcelas de una misma área agrícola. Sería necesario, sin embargo, obtener mayor información al respecto. La similitud en los procesos de dispersión de las semillas dentro de un mismo territorio y la aplicación de unas mismas prácticas agrícolas parecen amortiguar en una escala espacial relativamente pequeña, la posible heterogeneidad presente.

### CONCLUSIONES

La técnica de estimación del banco de semillas de malas hierbas del suelo es un método adecuado para apreciar la evolución de la flora arvense de los cultivos. En este sentido el análisis del banco de semillas puede ser una herramienta importante para alcanzar una doble finalidad: seguir la evolución de una comunidad o población de malas hierbas y establecer previsiones de infestación.

Si la finalidad es precedir de forma cuantitativa futuras infestaciones de malas hierbas, se necesitará la obtención de valores con alta precisión; sin embargo, en estudios de tipo florístico, como

el conocimiento cualitativo de la flora arvense potencial de un campo o sus cambios en el tiempo puede no ser necesaria tan alta significación de los valores estimados.

Algunos aspectos metodológicos como el momento óptimo del muestreo, tipo de muestreo (azar o sistemático), tamaño de la malla, profundidad y volumen de las extracciones a realizar no están aún estandarizadas, aunque cada vez hay una mayor tendencia a seguir las pautas de muestreo recomendadas por el grupo de trabajo *Potentiel sémencier des sols* de la EWRS.

El valor de la medida poblacional, calculado a partir de los valores de las extracciones individuales, ya sea referido al número de semillas de una especie o al número total de semillas del suelo, se revela como un buen estimador del tamaño de las poblaciones para el conjunto de las especies medianamente abundantes. Faltaría el estudio del comportamiento de este parámetro para especies con bajas densidades de semillas o escasamente representadas en la muestra. De momento las expectativas no parecen demasiado satisfactorias. En general cuanto mayor sea el número de muestras, mayor será la precisión pero supondrá también un mayor esfuerzo de análisis y éste no será siempre proporcional al incremento de precisión que se obtendrá. Uno de los aspectos sobre el que será necesario profundizar en un futuro es en la consecución de un método de análisis que sea fiel reflejo de la flora potencial

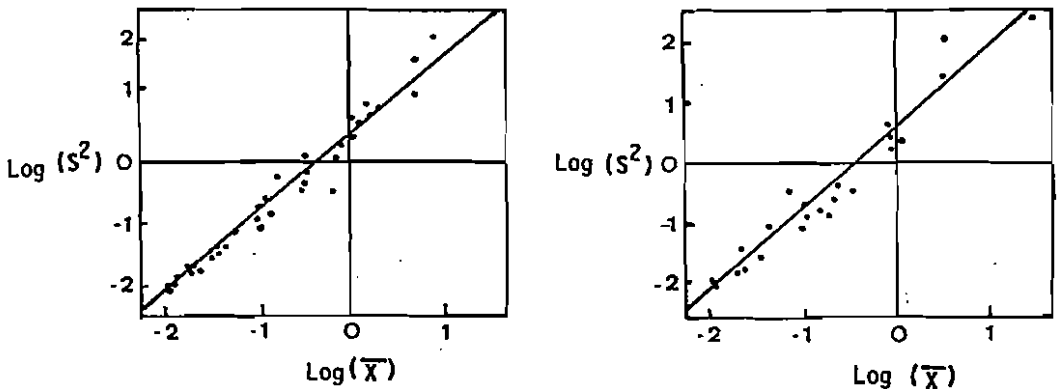


Fig. 1. Representación gráfica de la relación entre la media y la varianza en dos parcelas agrícolas de un mismo territorio. (Datos obtenidos a partir de RECASENS et al. 1992).

existente en el suelo con la finalidad de obtener unos resultados rápidos y fidedignos.

### AGRADECIMIENTOS

El presente artículo se enmarca dentro de un trabajo de investigación amplio llevado a cabo por

los autores mediante un convenio de colaboración (CTT CO943) con el Servei de Protecció Dels Vegetals de la Generalitat de Catalunya y que, asimismo, ha sido subvencionado por la CIRIT (JI002) de dicho ente autonómico y por la Fundació Caixa de Barcelona.

### SUMMARY

The analysis technique of weed seed banks in arable soils, is important in weed science related to demographic processes in weeds, which have special interest in control management strategies. Nowadays, quantitative and qualitative information that the weed seed bank could show about weed population size is non profitable enough due to methodological limitations related with the reliability of values found. Both, spatial distribution in soil and species diversity, are the greatest difficulties in obtaining sampling and analysis methods for all species. In this situation classic sampling and statistic methods are not adequate enough. Since 1988 a EWRS work group is trying to obtain a new method of sampling and seeds soil analysis. In this paper the above mentioned aspects are presented and discussed.

**Key words:** soil seed banks, weeds, sampling, analysis.

### BIBLIOGRAFIA

- BARRALIS G., CHADOEUF R. & GOUET J. P. 1986: «Essai de détermination de la taille de l'échantillon pour l'étude du potentiel semencier d'un sol». *Weed Research* 26, 291-297.
- CAVERS P. B. & BENOIT D. L. 1989: «Seed banks in arable lands». In: M. A. LECK, V. T. PARKER & R. L. SIMPSON Ed. *Ecology of soil seed banks*. 309-328. Academic Press. San Diego CA.
- CHAMPNESS S. S. 1949: «Note on the techniques of sampling soil to determine the content of buried viable seeds». *Journal Brit. Grassl. Soc.*, 4, 115-118.
- CHAUVEL B., GASQUEZ J. & DARMENCY H. 1989: «Changes of the weed seed bank parameters according to species, time and environment». *Weed Research*, 29, 213-219.
- DEBAEKE PH. & BARRALIS G. 1988: «Essai de la modelisation de l'évolution du stock semencier: Application a une dicotyledone adventice *Anagallis arvensis* L. sur trois sites pedo-climatiques». *VIII<sup>ème</sup> Colloque International sur la Biologie, l'Ecologie et la Systematique des Mauvaises Herbes*, 1(2), 91-102.
- DESSAINT F., BARRALIS G., BEURET E., CAIXINHAS M. L., POST B. J. & ZANIN G. 1990: «Étude cooperative EWRS: la détermination du potentiel semencier: I. Recherche d'une relation entre la moyenne et la variance d'échantillonnage». *Weed Research*, 30(6), 421-429.
- DESSAINT F. 1991: «La répartition spatiale du stock semencier: comparasion de techniques statistiques». *Weed Research*, 31(1), 41-48.
- FERNÁNDEZ-QUINTANILLA C. 1987: «The population dynamics of weeds». *EWRS Workshop Methodology and Methods in Weed Science*, Wageningen 1987.
- FROUD-WILLIAMS R. J. 1983: «The influence of straw disposal and cultivation regime on the population dynamics of *Bromus sterilis*». *Ann. appl. Biol.*, 103, 139-148.
- GOYBAU H. & FABLET G. 1982: «Étude du stock de semences de mauvaises herbes dans le sol: le probleme de l'échantillonnage». *Agronomie*, 2(6), 545-552.

- GRIME J. P. 1982: *Estrategias de adaptación de las plantas y procesos que controlan la vegetación*. Ed. Limusa. México. 115 pp.
- IZQUIERDO J. 1990: *Posada a punt de la tècnica d'anàlisi del banc de llavors d'un sòl agrícola*. Projecte Final de Carrera. ETSEA Lleida, 211 pp.
- JENSEN H. A. 1969: «Content of buried seeds in arable soil in Denmark and its relation to weed population». *Danish Bot. Ark.*, 1(2), 1-56.
- LAMBELET-HAUETER C. 1984: «Premiers résultats sur une étude floristique des mauvaises herbes du canton de Genève: étude de la flore d'une parcelle sous différents régimes». *Recherche Agronomique en Suisse*, 23(1/2), 109-120.
- LAMBELET-HAUETER C. 1986: Analyse de la flore potentielle en relation avec la flore réelle, en grandes cultures de la région genevoise. *Candollea*, 41, 299-232.
- LÓPEZ C., ABRAMOVSKY P., VERDIER J. L. & MAMAROT J. 1988: «Estimation du stock semencier dans le cadre d'un essai étudiant l'influence de systèmes culturaux sur l'évolution de la flore adventicie». *Weed Research*, 28, 215-221.
- MARGALEF R. 1979: *Ecología*, Ed. Omega. Barcelona. 1054 pp.
- MERNY G. & DEJARDIN J. 1970: «Les nématodes phytoparasites des rizières inondées de Côte-d'Ivoire. II Essai d'estimation de l'importance des populations». *Cab. O.R.S.T.O.M. Serie Biol.*, 11, 45-67.
- MORIN C. & WOJEWEDKA A. 1984: «Évaluation du potentiel semencier d'un sol». VII<sup>ème</sup> Col. Int. sur la Biol., Ecol. et Syst. des Mauvaises Herbes, 55-62.
- NEYMAN J. & SCOTT E. L. 1960: «Correction for bias introduced by transformation of variables». *Annals of Mathematics and Statistics*, 31, 643-655.
- PAVONE L. V. & READER R. J. 1982: «The dynamics of seed bank size and seed state of *Medicago lupulina*». *Journal of Ecology*, 70, 537-547.
- RECASENS J., IZQUIERDO J., TOMÀS J., TABERNER A. & RIBA F. 1992: «Comparaison de le stock semencier en mauvaises herbes de deux parcelles d'une même région. Relation entre la moyenne et la variance d'échantillonnage». *Compte rendu Réunion EWRS Groupe de Travail Potentiel Semencier des Sols*. Lisboa, 1992.
- RIBA F. & RECASENS J. 1990: «Biologia d'algunes espècies anuals del gènere *Bromus* L. d'interès en malherbologia». *Ilerda Ciències*, 48, 45-53.
- ROBERTS H. A. 1958: «Studies on the weeds of vegetable crops. I Initial effects of cropping on the weed seeds in the soil». *J. Ecol.*, 46(3), 759-768.
- ROBERTS H. A. & CHANCELLOR R. J. 1986: «Seed banks of some arable soils in the English midlands». *Weed Research*, 26, 251-257.
- SANS X. 1990: *La dinàmica de la vegetació a partir dels conreus abandonats a la comarca de les Garrigues*. Ed. Institut d'Estudis Ilerdencs, 121 pp.
- SNEDECOR G. & COCHRAN W. 1978: *Métodos estadísticos*. Ed. C.E.C.S.A. México, 704 pp. 704.
- SOKAL R. R. & ODEN L. 1978: «Spatial autocorrelation in biology. 1 Methodology». *Biological Journal of the Linnean Society*, 10, 199-228.
- TAYLOR L. R. 1961: «Aggregation, variance and the mean» *Nature*, 189, 732-735.
- TOMAS J. 1992: *Anàlisi de la flora arvensè potencial d'un conreu a partir de l'estudi del banc de llavors del sòl*. Projecte Final de Carrera. ETSEA Lleida, 133 pp.
- WILSON R. G., KERR E. D. & NELSON L. A. 1985: «Potential for using weed seeds content in the soil to predict future weed problems». *Weed Science*, 33, 171-175.
- ZANIN G., BERTI A. & ZUIN M. C. 1989: «Estimation du stock semencier d'un sol labouré ou en semis direct». *Weed Research*, 29(6), 407-418.