



Imagen de portada

Fotografía de Antonio M. De Ron Pedreira. Flor de una especie de Leguminosa, *Phaseolus coccineus* L. (judía escarlata), de la variedad "Painted Lady Bi-colour".

Cover page image

Picture by Antonio M. De Ron. Flower of the Legume species *Phaseolus coccineus* L. (scarlet bean), variety "Painted Lady Bi-colour".

COMITÉ EDITORIAL / EDITORIAL BOARD**COORDINADOR DE PUBLICACIONES / PUBLICATIONS COORDINATOR**

Ir Gonzalo Puerto. Forestry. SPAIN

EDITOR JEFE/EDITOR-IN-CHIEF

Prof Dr Antonio M. De Ron. Genetics. SPAIN

EDITORES/EDITORS

Dr Ana Bellón. Science journalism. SPAIN
Dr Manuel L. Casalderrey. Chemistry. SPAIN
Dr Fernando Cobo. Hydrobiology. SPAIN
Dr Marta Galván. Agronomy. ARGENTINA
MSc José M. Gil. Mathematics. SPAIN
Ms Daiva Jackuniene. Education. LITHUANIA
Dr Rouxlene van der Merwe. Plant breeding. SOUTH AFRICA
Prof Eleftheria Papadimitriou. Geophysics. GREECE
Dr José B. Peleteiro. Oceanography. SPAIN
Dr Laureano Simón. Biotechnology. SPAIN
Dr Svetla Sofkova. Horticulture. BULGARIA
Dr Francesca Sparvoli. Nutrition. ITALY

EDITA / PUBLISHER

SOCIEDAD DE CIENCIAS DE GALICIA – SCIENCE SOCIETY OF GALICIA (SCG)
García Camba 3, 6A. 36001 Pontevedra. España / Spain
Correo-e/E-mail: info@scg.org.es
Tel: +34 616632811
Internet: <http://scg.org.es> – <http://sciencesg.org>
Maquetación y diseño/Design: ENCAJA. Pontevedra. España / Spain
ISSN: 1133-3669

Creative Commons:

Reconocimiento (by): Se permite cualquier explotación de la obra, incluyendo una finalidad comercial, así como la creación de obras derivadas, la distribución de las cuales también está permitida sin ninguna restricción.

Recognition (by): Any exploitation of the work, including a commercial purpose, as well as the creation of derivative works, the distribution of which is also allowed without any restriction.



ÍNDICE – INDEX

ESTUDIOS – STUDIES

(AÑO INTERNACIONAL DE LAS LEGUMBRES - INTERNATIONAL YEAR OF PULSES)

SEED YIELD POTENTIAL OF VEGETABLE TYPE SOYBEAN GENOTYPES IN SOUTH AFRICA	7
Rouxléne VAN DER MERWE; Armand SMIT	
GROWTH RESPONSES OF LENTIL (<i>Lens culinaris</i> MEDIK.) VARIETIES TO THE PROPERTIES OF SELECTED SOILS IN BANGLADESH	18
Mohammad Z. HOSSAIN; Md. M. HASAN; Jannatul FERDOUS; Sirajul HOQUE	
SOIL MOISTURE EFFECTS ON THE GROWTH OF LENTIL (<i>Lens culinaris</i> MEDIK.) VARIETIES IN BANGLADESH	30
Mohammad Z. HOSSAIN; Ishaq U. RASEL; Rifat SAMAD	
LEGUMES GERMPLASM AT THE MBG-CSIC, SPAIN: COLLECTION MISSIONS AND SPECIES DIVERSITY	41
Antonio M. DE RON; María del Carmen MENÉNDEZ SEVILLANO; Mariana J. FERREYRA	
UTILIZACIÓN DE PLANTAS LEGUMINOSAS EN RESTAURACIÓN MEDIOAMBIENTAL DE TALUDES Y SUELOS DEGRADADOS	48
Antonio CASTELLANO-HINOJOSA; Valentín CONTRERAS-MEDRANO; Eulogio J. BEDMAR	
AGROBIODIVERSIDAD DE LEGUMBRES EN GALICIA	60
Lucía DE LA ROSA; Rosa María GARCÍA; Teresa MARCOS; Juan FAJARDO	
EL AÑO INTERNACIONAL DE LAS LEGUMBRES	70
Alfonso CLEMENTE	
THE IMPACT OF <i>Rhizobium</i> ON LEGUMES BIOMASS PRODUCTIVITY AND SIMBIOTICAL EFFICIENCY	76
Gintaras ŠIAUDINIS; Danutė KARČAUSKIENĖ; Dalia AMBRAZAITIENĖ; Regina REPŠIENĖ; Regina SKUODIENĖ	

ESTUDIOS – STUDIES

OBSERVACIÓN DEL TRÁNSITO DEL EXOPLANETA HAT-P-11B CON EL TELESCOPIO T150 DEL OSN	87
Roberto MARTÍNEZ MARTÍNEZ; Felipe MEZA; José María RODRÍGUEZ MOZOS; Claudio Patricio ROGEL CÁRDENAS; Carlos VISCASILLAS VAZQUEZ; Federico ZUCCARINO.	
OBSERVACIONES DE LA ESTRELLA VARIABLE TIPO WUMA V1191 CYG CON EL TELESCOPIO T150 DEL OBSERVATORIO DE SIERRA NEVADA (OSN)	104
Carlos VISCASILLAS; Claudio ROGEL; Federico ZUCCARINO; Felipe MEZA; José M. RODRÍGUEZ; Roberto MARTÍNEZ	
FLORACIONES DE CIANOBACTERIAS Y VALORES DE MICROCISTINA-LR SESTÓNICA Y DISUELTA EN EMBALSES DE LA CUENCA HIDROGRÁFICA DEL MIÑO-SIL (NW-ESPAÑA)	113
Lorena LAGO; Sandra BARCA; Rufino VIEIRA-LANERO; Fernando COBO	

INSTRUCCIONES PARA AUTORES

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS	131
---------------------------------	------------

ESTUDIOS – STUDIES

(AÑO INTERNACIONAL DE LAS LEGUMBRES - INTERNATIONAL YEAR OF PULSES)



SEED YIELD POTENTIAL OF VEGETABLE TYPE SOYBEAN GENOTYPES IN SOUTH AFRICA

Rouxléne VAN DER MERWE¹; Armand SMIT^{1,2}

¹Department of Plant Sciences, University of the Free State, Bloemfontein, South Africa

²Edamame Development Program, Hillcrest, Kwa-Zulu Natal, South Africa

Received: September 16, 2016

Accepted: October 09, 2016

Published on-line: November 30, 2016

Abstract

Large-seeded, vegetable type soybean has been introduced to South Africa as a supplementary high quality protein food source that is eaten as a green vegetable and is non-genetically modified. The crop is promoted for small-scale farming and community garden projects with emerging farmers currently producing the crop under contract. However, the newly introduced cultivars need to be characterised for their performance under South African production conditions. The lack of phenological and yield data on introduced cultivars limit commercial production in the country and there is a need to develop cultivars that are adapted to South African production conditions. The aim of this study was to characterise the introduced vegetable type soybean cultivars under different planting environments in order to identify parents that could be used to initiate a breeding programme and to establish breeding objectives. Eighteen cultivars have been planted in cultivar trials at five diverse environments for one season (2013/2014). Combined analysis of variance indicated significant cultivar, location and cultivar by location interaction effects for all morphological traits analysed. Seed yield ranged from 1.19 to 2.70 t ha⁻¹ with a mean seed yield of 1.97 t ha⁻¹. Genotypes AGS418 and AGS354 were the top seed yielding varieties. Correlation and stepwise regression analyses indicated that 100-seed weight contributed positively to seed yield while pod shattering caused yield reduction. Cultivars were characterised with regard to the traits analysed and large phenotypic diversity among cultivars for all traits were observed. Putative parents to be used in the breeding programme for new cultivars have been identified. These provide genes that could be combined in order to develop more ideal cultivars for South Africa. The first breeding objective would be to improve seed yield by breeding for pod shattering resistance.

Resumen

Las variedades hortícolas de soja de grano grande se introdujeron en Sudáfrica como una fuente de alimento rico en proteínas de alta calidad, para consumo en verde y no modificadas genéticamente. El cultivo está destinado a proyectos agrícolas comunitarios y a la producción a pequeña escala por agricultores emergentes que actualmente producen estas variedades de soja bajo contrato. Sin embargo, las variedades de introducción reciente necesitan ser caracterizadas por su rendimiento en las condiciones de producción de Sudáfrica. La falta de datos fenológicos y de rendimiento de las variedades introducidas limita la producción comercial, por lo que hay necesidad de desarrollar variedades adaptadas a las condiciones de producción

de Sudáfrica. El objetivo de este estudio fue caracterizar las variedades hortícolas introducidas de soja en diferentes ambientes, con la finalidad de identificar los progenitores que podrían utilizarse para iniciar un programa de mejora, y establecer los objetivos del mismo. Se utilizaron 18 variedades en ensayos de campo en cinco ambientes diferentes, en la campaña 2013/2014. En el análisis de varianza combinado se encontraron diferencias significativas entre variedades, y ambientes y asimismo en la interacción variedad X ambiente en todos los caracteres morfológicos analizados. El rendimiento de grano varió desde 1,19 hasta 2,70 t ha⁻¹, con una media de 1,97 t ha⁻¹, siendo AGS418 y AGS354 los genotipos más productivos. Los análisis de correlación y regresión indicaron que el peso de 100 granos contribuyó positivamente en el rendimiento, mientras que apertura de las vainas provocó una reducción del rendimiento. En la caracterización morfológica se puso de manifiesto una amplia variación fenotípica entre las variedades estudiadas, identificándose posibles progenitores para un programa de mejora genética que podrían proporcionar los genes adecuados para desarrollar variedades más adaptadas a Sudáfrica. El primer objetivo de mejora sería incrementar el rendimiento de grano mediante la mejora de la resistencia de la vaina a la apertura.

Introduction

Soybean (*Glycine max*[L.] Merrill) has been cultivated in Asia for centuries to prepare a variety of fresh, fermented and dried foods (Probst and Judd 1973). Many people call soybean a miracle crop because of its many uses. Its high oil and protein content is commonly used in both human and animal diets (Ariyo 1995). Soybean seed contain 40 to 44% protein, 20 to 24% oil along with ample mineral elements (Iqbal et al. 2003). Worldwide soybean is a universal food, fodder and industrial crop. It is reported that there are more than 400 different products that are produced from it. Two types of soybean exist; commodity soybeans that are harvested as dry grains and mainly used for livestock feed and vegetable soybeans that are harvested as green (immature) pods and is specifically produced for human consumption.

Vegetable soybean is known as 'edamame' in Japan, 'mao dou' in China and 'poot kong' in Korea (Sharma and Kshattray 2013). It is a group of special cultivars of soybean harvested green at the R6 stage of development, or $\approx 80\%$ pod fill, and is used as a vegetable (Fehr et al. 1971). When harvested at the R6 stage, the flavour of the beans is nutty, sweet, buttery, beany, and is superior to agronomic or field soybeans (Wszelaki et al. 2005). Consumers of vegetable soybean prefer bright green pods, with two or more beans per pod and a large seed size (Montri et al. 2006). The beans are eaten steamed in the pod as an appetiser, hulled as a side dish, or used in salads, stews, soups or stir fried (Konovsky et al. 1994).

Vegetable soybean is mainly popular in Asian countries; however, it is becoming increasingly popular in the Western world (countries in Europe, North America, Latin America and other countries that descended from European culture). The increase in popularity can be attributed to the beneficial phytonutrients, high protein quantity and quality, increased consumer awareness and good taste of the green beans. Experiments have been done with vegetable soybean in nearly all regions of Africa but it is still an unfamiliar crop to the majority of African farmers. The crop has been successfully grown throughout Gambia, Nigeria and Egypt (Shurtleff and Aoyagi 2009).

In South Africa, vegetable type soybean production is in its infant stage and the crop is currently grown in the upland midlands and coastal regions of KwaZulu-Natal. It serves as a supplementary high quality protein food source for health conscious individuals as well as to combat protein deficiency in the diets of low income groups living in the rural communities. There is hope that vegetable type soybean production can generate income, increase jobs, improve nutrition and improve the sustainability of soils (Shanmugasundaram and Yan 2004). Being a new food crop, there is the issue of crop adaptation and a need to develop cultivars for South Africa's climate and latitude. The lack of phenological and yield data of cultivars further limit commercial production in the country. The general aims of this study were to characterise various vegetable type soybean cultivars under South African conditions to 1) identify cultivars that show good seed yield potential for seed production, 2) identify breeding objectives and 3) identify putative parents to be used in the breeding programme. The specific objectives of this study were to determine the genetic variability among cultivars as well as the associations between the morphological traits measured in the cultivar trials.

Material and Methods

Cultivars used in the study were conventional genotypes and included 17 large-seeded vegetable type soybean genotypes (obtained from the World Vegetable Centre in Taiwan) and one locally adapted field soybean cultivar (A5409). Trials were planted in five locations; Pine town, Lady smith, Uniondale, Winterton and Petrusburg in South Africa (Figure 1) and were subjected to rainfed conditions with supplemental irrigation at Petrusburg. These locations are diverse in terms of climate and weather (Figures 2 and 3). Uniondale, Petrusburg and Pinetown received little precipitation (less than 400 mm during the season), while Winterton received almost twice that amount. In addition the rainfall was dispersed throughout the season with less than 20 mm per precipitation for most rainy days. Lady Smith and Petrusburg were the warmest locations with mean season maximum temperatures of above 30°C and with temperatures as high as 40°C reported for some days during January. Weather data was obtained from the Agricultural Research Council-Institute for Soil, Climate and Weather in South Africa.

The trial layout used was a randomised complete block design with three replications. Each plot consisted of four 5 m long rows, planted 0.75 m apart. Seed were sown by hand and inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* (Kirchner 1896) (strain WB74) in the furrow. After planting, normal cultural practises were followed. Traits measured included days to flowering (DR1), days to full seed (DR6), days to full maturity (DR8), plant height (PH) at R1 (flowering), bottom pod height (PODH), number of nodes per plant (NPP), number of branches per plant (BPP), pod shattering percentage (SHT), 100-seed weight in grams (100-SW) and seed yield in tons per hectare (derived from the seed mass and plant population per plot). Data analyses included combined analysis of variance, Spearman's rank correlation, stepwise regression and principal component analysis (PCA) using NCSS and GenStat software.

Rouxléne VAN DER MERWE; Armand SMIT



Figure 1. Map of South Africa indicating the five planting locations. 1 = Pinetown, 2 = Uniondale, 3 = Winterton, 4 = Ladysmith and 5 = Petrusburg.

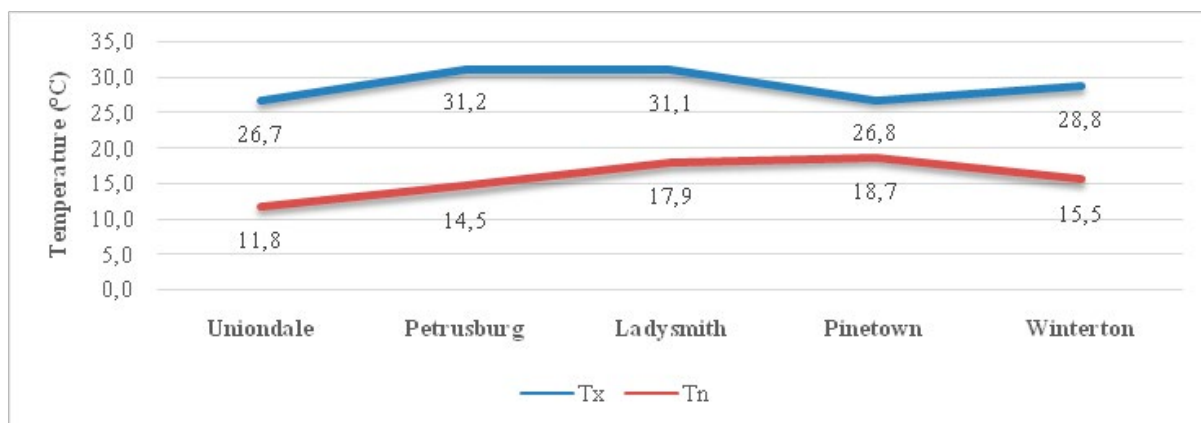


Figure 2. Mean monthly minimum (Tn) and maximum (Tx) temperature for the summer months of 1 November 2013 to 30 March 2014.

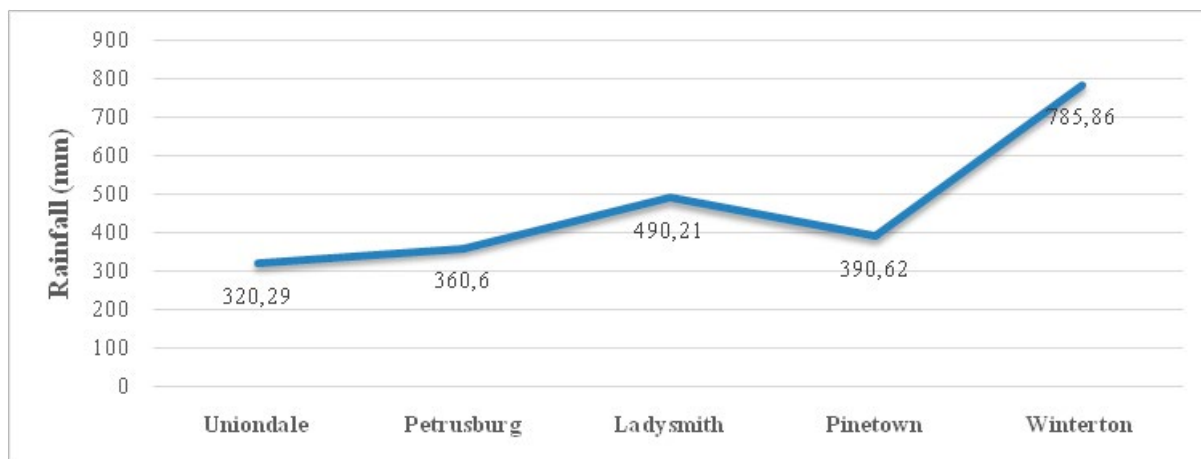


Figure 3. Total rainfall received during the summer months of 1 November 2013 to 30 March 2014.

Results and Discussion

The combined ANOVA for the 2013/2014 season indicated significant ($P < 0.05$) to highly significant ($P < 0.001$) cultivar (C), location (L) and cultivar x location (CxL) variation for all traits analysed (Table 1). Significant CxL resulted in genotype ranking changes across locations, which complicate effective selection of the best genotypes for the trait under consideration. This motivates the need for repeating trials for a second season and stability analyses to be done across years. Location effects contributed greatest to the total variation observed for most traits. The significant differences in temperature, rainfall and relative humidity among the diverse locations mostly contributed to the large and significant location effects observed.

Genotypes AGS292 and AGS329 were early-maturing types while AGS353R, TANBA and A5409 were late-maturing (Table 2). Early- and medium-maturing genotypes are preferred for the central regions of South Africa which are prone to heat and drought spells during summer and early frost at the end of the season. However, plants of the early-maturing genotypes were generally short and showed a high percentage of pod shattering especially in the central region of the country. The late-maturing genotypes were not adapted to the central region and performed poorly in terms of yield. AGS292 is currently grown by contract farmers for the fresh food market. This genotype was the first vegetable soybean cultivar officially released for farmer's production in Taiwan in 1987 (Shanmugasundaram and Yan 2004). It is less sensitive to photoperiod and temperature, has a determinate growth habit and was therefore selected for commercial production in South Africa. However, this cultivar showed poor seed yield (2.0 t ha^{-1}) compared to the top performing genotypes.

The top two genotypes for seed yield were AGS354 (2.70 t ha^{-1}) and AGS418 (2.43 t ha^{-1}), however, these did not differ significantly from each other (Table 2). The mean seed yield was 1.97 t ha^{-1} with only nine of the 18 genotypes that performed better than the mean. The mean value for 100-SW was 38.0 g with a range of 18.0 to 44.4 g. Seed weight generally did not contribute to seed yield. Genotypes AGS354 and AGS418 ranked 3rd and 7th for 100-SW, and were not significantly different from the top seven ranking genotypes for seed weight. The significant genotype by environment interaction (GxE) and location effects observed for seed yield indicated that it would be difficult to identify high yielding genotypes that show wide adaptation. Due to the diversity of the different environments planted, it would be best to identify genotypes that show specific adaptation to these environments.

Genotypes showed large phenotypic variation for pod shattering resistance with A5409 and AGS423 showing the best tolerance to shattering. AGS429 was highly susceptible with almost 50% shattering. However, results for pod shattering obtained from the field are unreliable to be used to characterise genotypes. Genotypes responded differently to the prevailing environmental conditions for this trait. In addition, at some locations harvesting was delayed which promoted pod shattering before harvesting. Significant effects of G x E interaction on pod shattering in soybean have been reported by Bailey et al. (1997) and Tukamuhabwa (2000). Thus, varieties which are tolerant to pod shattering when grown in the eastern part of South Africa may succumb to pod shattering when they are grown in the central region of the country. Apart from field observation a more reliable assessing method for pod shattering, such as the oven-dry method (Tiwari and Bhatnagar, 1997), is considered more reliable to test for this characteristic under controlled environmental conditions.

Table 1. Combined analysis of variance (ANOVA) showing mean square values of selected traits measured on 18 cultivars planted across five locations in South Africa during the season of 2013/2014.

S.O.V.	DR1	DR6	DR8	PH	PODH	NPP	BPP	SHT	100-SW	Seed yield
Cultivar (C)	1433.3**	3326.8**	5114.4**	1646.0**	84.5**	75.5**	25.7**	1820.6**	666.6**	1828965.0**
Location (L)	3856.8**	3633.3**	3206.2**	7418.6**	2206.4**	72.2**	164.4**	7214.5**	933.0**	35469347.0**
CxL	71.3**	58.8**	84.8**	198.1**	21.3*	10.4**	2.8*	493.4**	23.7**	1062602.0**
Residual	12.04	11.35	16.41	74.2	14.3	4.4	1.9	224.9	13.2	275696.0
C.V. (%)	6.3	3.4	3.2	14.8	26.3	16.4	36.2	87.6	9.6	26.6
As (ppm)	6.07±0.78	0.87±0.15	<0.0001							
Fe (ppm)	3076±104.5	926±160.24	<0.0001							
Mn (ppm)	1868±95.17	398±99.089	<0.0001							
Pb (ppm)	6.59±1.07	1.95±0.06	0.0061							

S.O.V. = Source of variation; C.V. = Coefficient of variation; * = Significant at $P < 0.05$, ** = Significant at $P < 0.001$; DR1 = Days to flowering; DR6 = Days to full pod; DR8 = Days to full maturity; PH = Plant height; PODH = Bottom pod height; NPP = Number of nodes per plant; BPP = Number of branches per plant; SHT = pod shattering percentage; 100-SW = 100-seed weight

Table 2. Mean values of selected traits for 18 cultivars planted across five locations in South Africa during the season of 2013/2014.

Cultivar	DR1 (days)	DR6 (days)	DR8 (days)	PH (cm)	PODH (cm)	NPP	BPP	SHT (%)	100-SW (g)	Seed yield
(t ha ⁻¹)	6.80±0.30	4.68±0.12	<0.0001							
AGS292	44.8	77.5	102.8	46.6	11.5	9.7	1.5	21.2	37.7	2.02
AGS329	44.0	77.1	102.5	42.9	9.8	10.1	2.2	20.9	37.7	1.75
AGS335	56.3	102.7	126.1	51.7	15.1	12.6	5.7	37.8	36.4	2.01
AGS352	53.1	103.0	130.8	52.1	13.3	13.3	4.3	14.5	42.8	1.87
AGS353R	73.4	125.3	159.1	68.0	15.7	15.0	4.3	11.6	28.2	2.12
AGS354	56.1	106.5	131.4	62.3	15.1	13.5	3.6	14.4	43.8	2.70
AGS382	50.4	91.5	121.5	57.8	16.1	10.1	2.2	22.9	42.0	1.98
AGS418	49.8	92.3	119.5	60.9	15.3	12.2	3.0	10.3	42.4	2.43
AGS423	51.7	94.7	124.5	49.5	13.8	13.0	4.2	5.2	39.9	1.98
AGS425	50.7	91.7	121.7	56.8	14.3	12.1	3.0	13.2	42.5	2.14
AGS429	59.3	101.1	126.4	52.0	12.6	13.2	5.2	47.8	35.1	1.27
AGS432	66.2	105.7	135.8	64.3	14.4	14.7	5.3	15.9	42.6	1.85
AGS437	45.9	84.7	117.5	53.9	12.3	11.5	2.3	11.9	39.0	1.92
AGS440	47.8	85.5	113.2	56.2	12.7	10.6	3.3	11.0	44.4	1.95
AGS457	49.8	91.40	117.8	59.7	14.7	12.1	3.7	22.6	34.6	2.17
AGS458	50.9	92.7	117.2	55.5	13.9	11.7	3.5	10.7	33.0	2.19
TANBA	71.9	120.8	158.2	73.4	17.8	16.6	4.9	14.7	43.8	1.19
A5409	74.3	128.5	170.8	87.9	20.3	18.1	6.1	1.7	18.0	1.96
Mean	55.0	98.0	128.0	58.0	14.0	13.0	4.0	17.1	38.0	1.97
LSD (0.05)	2.5	2.4	2.9	6.2	2.7	1.5	1.0	10.8	2.6	0.38

LSD = Least significant difference; DR1 = Days to flowering; DR6 = Days to full pod; DR8 = Days to full maturity; PH = Plant height; PODH = Bottom pod height; NPP = Number of nodes per plant; BPP = Number of branches per plant; SHT = pod shattering percentage; 100-SW = 100-seed weight

Correlation analyses indicated that seed yield was positively associated with 100-SW, but negatively associated with pod shattering percentage (SHT) (Table 3). Strong and significant correlations were observed between days to flowering (DR1), days to full pod (DR6) and days to maturity (DR8). This indicated that genotypes that flower early will mature early and vice versa. In addition, genotypes that flowered and matured later were generally taller, had more nodes (NPP) and branches per plant (BPP), and had higher bottom pods (PODH). Pod shattering percentage (SHT) was negatively associated with all traits analysed. However, pod shattering is mainly important as far as seed yield is concerned since pod shattering can contribute to yield losses of up to 50 to 100% at maturity (IITA 1986) or when harvesting is delayed in susceptible varieties.

Table 3. Spearman's rank correlation coefficients of selected traits analysed

	100-SW	BPP	DR1	DR6	DR8	NPP	PH	PODH	SHT	Seed yield
BPP	0.034									
DR1	-0.133*	0.570*								2.02
DR6	-0.056	0.569*	0.839*							1.75
DR8	0.066	0.481*	0.724*	0.865*						2.01
NPP	0.008	0.468*	0.556*	0.632*	0.640*					1.87
PH	0.058	0.438*	0.569*	0.554*	0.546*	0.468*				2.12
PODH	0.096	0.296*	0.559*	0.523*	0.455*	0.358*	0.502*			2.70
SHT	-0.249*	-0.218*	-0.271*	-0.303*	-0.340*	-0.249*	-0.338*	-0.433*		1.98
Seed yield	0.414*	-0.091*	-0.130*	0.027	0.141*	0.119	0.083	0.253*	-0.399*	0.38

* = Significant at $P < 0.05$; DR1 = Days to flowering; DR6 = Days to full pod; DR8 = Days to full maturity; PH = Plant height, PODH = Bottom pod height; NPP = Number of nodes per plant; BPP = Number of branches per plant; SHT = pod shattering percentage; 100-SW = 100-seed weight

The first two principal components, PC1 and PC2 were significant and together contributed 79.68% to the variation (Figure 4). Pod shattering and seed yield explained most of the variation observed for PC2, while the rest of the traits loaded onto PC1. The PCA confirmed correlations observed in the correlations analysis. Strong associations were observed between days to flowering, days to full pod and days to maturity. These traits were positively associated with number of nodes per plant, number of branches per plant, bottom pod height and plant height. Results indicated that late-maturing genotypes were generally taller with more nodes per plant, more branches per plant and they had higher bottom pod heights. However, genotypes that matured later (TANBA, AGS353R and A5409) generally had smaller seeds as seen in the negative association with 100-seed weight. The early-maturing genotypes AGS329 and AGS292 were positively associated with 100-seed weight; however, these two genotypes showed no association with seed yield. AGS418 and AGS354 showed the strongest associations with seed yield and the weakest association with pod shattering percentage. AGS429 showed a strong association with pod shattering percentage and a weak association with seed yield. Seed yield was negatively associated with DR1, BPP and pod shattering percentage. The negative associations indicated that genotypes that flowered earlier, had less branches per plant and showed less pod shattering would show better yield potential and this should be taken into account in breeding for ideal genotypes. Genotypes that grouped in the centre of the biplot were medium-maturing types and were not specifically associated with traits.

Stepwise regression analysis was used to determine the percentage contribution of important traits that had significant associations with seed yield (Golkar et al. 2011). With considering that selection is important in the breeding programme, it is important to identify the relative importance of traits in influencing the seed yield in a desired direction. Stepwise regression results (Table 4) revealed that 100-seed weight had the largest positive effect on seed yield, while pod shattering had the largest negative effect on seed yield. Since 100-seed weight was negatively associated with maturity (similar to Ghodrati et al. 2013), selection for early to medium maturity might be preferred in a breeding programme. Breeding for pod shattering resistance should be a primary objective.

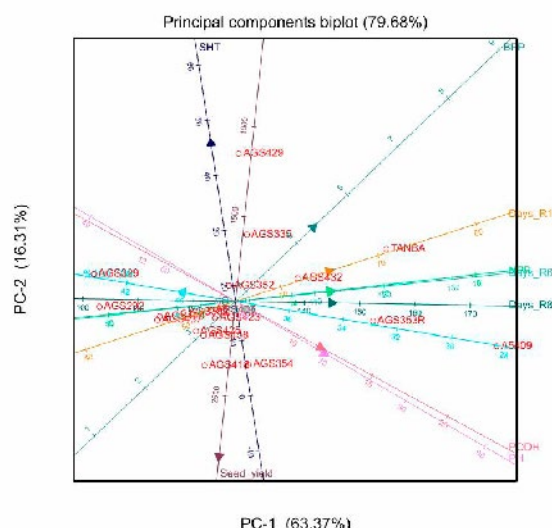


Figure 4. Principal components biplot showing associations among traits analysed as well as associations among genotypes and traits. DR1 = Days to flowering; DR6 = Days to full pod; DR8 = Days to full maturity; PH = Plant height, PODH = Bottom pod height; NPP = Number of nodes per plant; BPP = Number of branches per plant; SHT = pod shattering percentage; 100-SW = 100-seed weight

Table 4. Stepwise regression analysis of seed yield in 18 cultivars planted across five locations in South Africa during the season of 2013/2014

Independent variable	R ²	Pr>F
Pod shattering (%)	0.137	0.000
100-seed weight (g)	0.207	0.034
Days to flowering	0.239	0.097
Bottom pod height (cm)	0.338	0.465
Aborted pods (%)	0.363	0.470
Lodging (%)	0.371	0.493

Conclusions

Significant genotypic variation has been obtained and all cultivars tested were characterised in line with the traits analysed. From this study, cultivars have been identified that could be utilised as a source of traits in the vegetable type soybean breeding programme for South Africa. AGS418 and AGS354 showed the best yield potentials across all environments and produced seed with large seed sizes. AGS292 and AGS329 were early-maturing cultivars and showed determinate growth habits that are preferred for South African production conditions. Indeterminate growth habit complicates seed harvest at maturity due to uneven ripening and contribute to seed loss due to pod shattering. The ideal cultivar should have a high seed yield potential, be an early- to medium-maturing type with a determinate growth habit and medium plant height, and should bear bottom pods not lower than 10 cm above the soil. The principal breeding objectives are improvement in seed yield and reduction of seed loss due to pod shattering. A second year's data needs to be added to the analysis to conduct stability analysis such as additive main effects and multiplicative interaction and GGE-biplot analysis. This will assist in identifying an ideal and stable location for the breeding programme and to identify genotypes that show specific or wide

adaptation for complex traits such as yield. In future cultivar trials, additional yield components such as pod number per plant, seed number per pod and harvest index need to be measured as well since they have shown in literature to be positively correlated with yield. In addition, fresh pod yield should be analysed as the crop is grown for the fresh food market.

Acknowledgements

The authors would like to thank the project funders, the eThekweni Municipality (based in Durban) and the Development Bank of South Africa, the University of the Free State for facilities and assistance provided as well as all persons who assisted with planting of trials, data collection and harvesting of trials.

References

- Agricultural Research Council -Institute for Soil, Climate and Weather (ARC-ISCW), Climate Monitoring Services, Arcadia, Pretoria, South Africa
- Ariyo OJ. 1995. Correlations and path-coefficient analysis of components of seed yield in soybeans. *African Crop Science Journal* 3: 29-33
- Bailey MA, Mian MAR, Carter TE, Ashley DA, Boerma HR. 1997. Pod dehiscence of soybean: Identification of quantitative trait loci. *The Journal of Heredity* 88: 152-154
- Fehr WE, Caviness CE, Burmood DT, Pennington JS. 1971. Stage of development descriptions for soybeans (*Glycine max* [L.] Merrill). *Crop Science* 11: 929-931
- GenStat statistical package. VSN International (VSNi). <http://www.vsnl.co.uk/software/Genstat/>
- Ghodrat GR, Sekhavat R, Mahmoodinezhaddeh SH, Gholami A. 2013. Evaluation of correlations and path analysis of components seed yield in soybean. *International Journal of Agriculture: Research and Review* 3: 795-800
- Golkar P, Arzani A, Rezaei AM. 2011. Determining relationships among seed yield, yield components and morpho-phenological traits using multivariate analyses in safflower (*Carthamus tinctorious* L.). *Annals of Biological Research* 2: 162-169
- International Institute of Tropical Agriculture (IITA). 1986. A laboratory method for evaluating resistance to pod shattering in soybeans. Annual Report. 58-59. Ibadan, Nigeria: IITA
- Iqbal S, Mahmood T, Muhammad T, Anwar M, Sarwar M. 2003. Path coefficient analysis in different genotypes of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Pakistan Journal of Biological Science* 6: 1085-1087
- Konovsky J, Lumpkin TA, McClary D. 1994. Edamame: the vegetable soybean. In: O'Rourke AD (Ed), *Understanding the Japanese Food and Agrimarket: a multifaceted opportunity*. Haworth Press, Binghamton. pp. 173-8.1
- Montri DN, Kelley KM, Sanchez ES. 2006. Consumer interest in fresh, in-shell edamame and acceptance of edamame based patties. *HortScience* 41: 1616-1622
- Number Cruncher Statistical System (NCSS) software package. www.ncss.com
- Probst AH, Judd RW. 1973. Origin, U.S. history and development and world distribution. In: Cladwell BE (Ed), *Soybeans: Improvement, Production and Uses*. Agronomy Monograph 16. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA, pp. 1-15

Shanmugasundaram S, Yan MR. 2004. Global expansion of high value vegetable soybean. In: Proceedings of VII World Soybean Research Conference, VI International Soybean Processing and Utilization Conference, III Congresso Brasileiro de Soja: February 29 to March 5, 2004, Foz Do Iguassu, PR, Brazil, pp. 915-920

Sharma KP, Kshattray I. 2013. Varietal Adaptation Study to Initiate Edamame Production in Richmond, BC. Project Report To: Organic Sector Development Program (I-142), The Sharing Farm Society, Richmond Food Security Society, Nature's Path Foods. <http://www.certifiedorganic.bc.ca/programs/osdp/I-142%20edamame%20Research%20Report.pdf>

Shurtleff W, Aoyagi A. 2009. History of fresh green soybeans and vegetable-type soybeans. In: Shurtleff W and Aoyagi A (Eds), History of Soybeans and Soyfoods. <http://www.soyinfocenter.com>

Tiwari SP, Bhatnagar PS. 1997. Screening methods for pod shattering in soybean. In: proceedings: World soybean research conference V, Chiang Mai, Thailand

Tukamuhabwa P. 2000. Genetics of resistance to pod shattering in soybean. PhD thesis. Makerere University Kampala. Department of Crop Science

Wszelaki AL, Delwiche JF, Walker SD, Liggett RE, Miller SA, Kleinhenz MD. 2005. Consumer liking and descriptive analysis of six varieties of organically grown edamame-type soybean. Food Quality and Preference 16: 651-658

GROWTH RESPONSES OF LENTIL (*Lens culinaris* MEDIK.) VARIETIES TO THE PROPERTIES OF SELECTED SOILS IN BANGLADESH

Mohammad Z. HOSSAIN¹; Md. M. HASAN¹; Jannatul FERDOUS¹; Sirajul HOQUE²

¹Department of Botany, University of Dhaka. Dhaka, Bangladesh

²Department of Soil, Water and Environment, University of Dhaka. Dhaka, Bangladesh

Received: October 06, 2016

Accepted: October 16, 2016

Published on-line: November 30, 2016

Abstract

Legumes are important crops that provide protein rich food for both humans and animals. They also enhance soil fertility and reduce the need for N-fertilizer application. Among the legumes, lentil (*Lens culinaris* Medik.) is considered as an important crop in the developing countries like Bangladesh where it is a source of protein rich diet among poor people. It is, therefore, important to study factors particularly soil properties that influence the growth of lentil. The present study examined the effects of soil properties on the growth parameters of lentil varieties by growing plants on soils collected from different areas of Bangladesh. Soils used in the present study showed large range of variation in physico-chemical properties such as pH, moisture, conductivity, total N, total P, Na, K, organic C, organic matter, chloride, particle size and texture class. Among the various soil properties studied, soil conductivity, chloride and Na contents showed the strongest negative correlation with most of the growth parameters across the seven lentil varieties. It was also found that none of the seven varieties survived till the age of 4 weeks in four soils those were under saline zones indicating that saline soils were not suitable for cultivation of lentil. Results of the present study also suggest that knowledge about the soil properties is important for proper cultivation and optimum production of lentil.

Resumen

Las legumbres son importantes cultivos que proporcionan alimentos ricos en proteínas para la alimentación humana y animal. También mejoran la fertilidad del suelo y reducen la necesidad de la aplicación de fertilizantes de N. Entre las leguminosas, la lenteja (*Lens culinaris* Medik.) se considera como un cultivo importante en los países en desarrollo, como Bangladesh, donde es una fuente de proteína en la dieta de la población más desfavorecida. Es, por lo tanto, importante para estudiar los factores que influyen en el crecimiento de la lenteja, en particular las propiedades del suelo. El presente estudio se examinaron los efectos de las propiedades del suelo en el crecimiento de las variedades de lentejas en diferentes lugares de Bangladesh. Los suelos utilizados en el presente estudio mostraron amplia gama de variación en sus propiedades físico-químicas, tales como pH, humedad, conductividad, N total, P total, Na, K, C orgánico, materia orgánica, cloruro, tamaño de partícula y tipo de textura. Entre las diversas propiedades de los suelos estudiados, la conductividad del suelo, cloruro y contenido de Na mostró la correlación negativa mas importante con la mayoría de los

parámetros de crecimiento, en las siete variedades de lentejas. También se encontró que ninguno de las siete variedades sobrevivió hasta la edad de cuatro semanas en cuatro suelos de zonas salinas, lo que indica que los suelos salinos no son aptos para el cultivo de esta especie. Los resultados del presente estudio también sugieren que el conocimiento de las propiedades del suelo es importante para el correcto cultivo y la producción óptima de lenteja.

Introduction

Legumes are important food crops in the world especially in the tropical and sub tropical regions (Giller 2001). They not only provide protein rich food for both human and animal consumption but also enhance soil fertility and reduce the need for N-fertilizer application (Kurdali et al.1997; Katerji et al. 2001; Martins et al. 2003). Among the legumes, lentil (*Lens culinaris* Medik.) is considered as an important crop in the developing countries like Bangladesh where it provides the poor people with protein rich diet. In Bangladesh, lentil placed second position among the pulses according to area and production while first in terms of usage (Afzal et al.1999). Therefore, due to increased demand for this crop, it is important to understand the factors that influence the growth of this crop for proper cultivation and optimum production.

Growth and development of plants are influenced by a number of physical, chemical and biological factors of soil. Soil mineral nutrients namely N and P are important limiting factors to crop production (Juma and Averbek 2005; Mugwe et al.2004; Abdolzadeh et al. 2010; Shane and Lambers 2005). Soil organic matter (Micheni et al. 2004; Hudson 1994) and conductivity (Lee et al. 2000; Lee et al. 2004) influences the production and yield of crops. Low pH not only adversely affects the growth of legume plants but also negatively affect rhizobial growth, nodulation and nitrogen fixation (Bordeleau et al. 1994; Vassileva et al. 1997; Ferguson et al. 2013; Graham and Parker 1964; Perez-Galdonat and Kahn 1994; Hossain et al. 2015). Soil clay content reduces plant growth through changes in water holding capacity (da Silva and Kay 1997). Salinity causes unfavorable environment and hydrological situation that restrict normal crop production (Islam 2003). Soil salinity has effects on the growth of lentil plants (Zhu 2001; Tavakkoli et al. 2011; Shannon et al.1987). Significant loss of soil productivity due to soil salinity has been reported in various regions of Bangladesh over the decades (SRDI 2010). However, there has been limited study clarifying the importance of soil properties on the growth of lentil cultivars although such information is relevant for the proper cultivation of lentil in Bangladesh. The main objective of this study, therefore, was to examine the effects of soil properties on the growth parameters such as root and shoot biomass, shoot height, root length and leaf chlorophyll content by growing lentil plants on soils collected from the different areas of Bangladesh those are commonly used for cultivation of this crop.

Materials and Methods

Collection of soil: A total of 30 soil samples were collected from different agro-ecological zones namely Ganges Tidal Flood Plain (10), High Ganges River Flood Plain (14), Lower Ganges River Flood Plain (3) and Arial Beel (3) those were under different zones classified

on the basis of salinity (SRDI 2010) such as Very Strong Saline (3), Strong Saline (8), Slightly Saline (10), Very Slightly Saline (2) and Non-saline (7) zones of Bangladesh (figure 1, table 1). The sites covered seven districts namely Bagerhat (22°39'39"N; 89°47'23" E), Khulna (22°45'48.68" N; 89°23'32.56" E), Satkhira (22°18'17.79" N; 88°57'09.52" E), Madaripur (23°17'22" N; 90°11'13" E), Munshiganj (23°30'43" N; 90°24'15" E), Pabna (24°12'51" N; 89°27'09" E) and Rajshahi (24°22'09" N; 88°37'21" E) in the south-western part of the country where lentil is commonly cultivated. The minimum distance between two sites was 50 m. The sites were of different land-use types such as agricultural fields, prawn farms and fallow lands.

Analysis for soil physico-chemical properties: Soil pH, moisture, conductivity, total N, total P, Na, K, organic C, organic matter, chloride, particle size and texture class were determined after collection from the field. Soil moisture content (%) was determined from 10 g fresh soil after oven-drying at 70°C for 24 hours. Soil particles were determined by hydrometer method and texture classes were determined from soil texture triangle. Soil pH was determined from suspension of soil: water (1:2, w:v) using pH meter (Hanna pH meter, pHep). Soil conductivity was determined in suspension with distilled water (5:1, v:w) using conductivity meter (Hanna conductivity meter). Total N was determined by following the Kjeldahl method (Black 1965). Analysis of soil P was done following extraction from 5.0 g finely powered soil with HNO₃ and HClO₄. After the development of color, absorbance was taken using a spectrophotometer at 440 nm wavelength. The digest solution prepared for the determination of P was also used for the determination of Na and K. Absorbance was measured by using a flame photometer. Organic C content of the soil was determined by Walkley and Black method (Black 1965). Soil organic matter was calculated by multiplying organic C content value with 1.724 (Van Bemmelen factor). Soil chloride content was determined by following titration with silver nitrate in addition to potassium dichromate indicator. The color was pale yellow to pink.

Table 1. Distribution and types of sites selected for collection of soil sample used in the study

Sl. No.	Soil ID	Districts	Agroecological zone	Salinity zone	Land-use type
1	R1	Bagerhat	Ganges Tidal Flood Plain	Slightly saline	Agriculture
2	R2	Bagerhat	Ganges Tidal Flood Plain	Slightly saline	Agriculture
3	R3	Bagerhat	Ganges Tidal Flood Plain	Slightly saline	Agriculture
4	R4	Bagerhat	Ganges Tidal Flood Plain	Slightly saline	Agriculture
5	R5	Bagerhat	Ganges Tidal Flood Plain	Slightly saline	Agriculture
6	R6	Bagerhat	Ganges Tidal Flood Plain	Slightly saline	Agriculture
7	R7	Bagerhat	Ganges Tidal Flood Plain	Very strong saline	Prawn farm
8	R8	Bagerhat	Ganges Tidal Flood Plain	Slightly saline	Fallow land
9	R9	Bagerhat	Ganges Tidal Flood Plain	Slightly saline	Prawn farm
10	R10	Bagerhat	Ganges Tidal Flood Plain	Slightly saline	Fallow land
11	K11	Khulna	High Ganges River Flood Plain	Strong saline	Agriculture
12	K12	Khulna	High Ganges River Flood Plain	Slightly saline	Agriculture
13	K13	Khulna	High Ganges River Flood Plain	Very slightly saline	Agriculture
14	K14	Khulna	High Ganges River Flood Plain	Very slightly saline	Agriculture
15	K15	Khulna	High Ganges River Flood Plain	Very strong saline	Fallow land
16	K16	Khulna	High Ganges River Flood Plain	Strong saline	Fallow land
17	K17	Khulna	High Ganges River Flood Plain	Strong saline	Fallow land
18	K18	Khulna	High Ganges River Flood Plain	Strong saline	Agriculture
19	K19	Khulna	High Ganges River Flood Plain	Strong saline	Agriculture
20	K20	Khulna	High Ganges River Flood Plain	Strong saline	Agriculture
21	Sat7	Satkhira	High Ganges River Flood Plain	Strong saline	Fallow land
22	Sat8	Satkhira	High Ganges River Flood Plain	Strong saline	Fallow land
23	Sat10	Satkhira	High Ganges River Flood Plain	Very strong saline	Prawn farm
24	PAB1	Pabna	Lower Ganges River Flood Plain	Non saline	Agriculture
25	PAB2	Pabna	Lower Ganges River Flood Plain	Non saline	Agriculture
26	Raj1	Rajshahi	High Ganges River Flood Plain	Non saline	Agriculture
27	M2	Munshiganj	Arial Beel	Non saline	Fallow land
28	M7	Munshiganj	Arial Beel	Non saline	Fallow land
29	M9	Munshiganj	Arial Beel	Non saline	Fallow land
30	M20	Madaripur	Lower Ganges River Flood Plain	Non saline	Agriculture

Seed collection, surface sterilization and germination: Seeds of seven lentil varieties BARI masur-1, BARI masur-2, BARI masur-3, BARI masur-4, BARI masur-5, BARI masur-6 and BARI masur-7 were collected from Bangladesh Agricultural Research Institute (BARI), Joydebpur, Gazipur. Seeds were surface sterilized with 3% sodium hypochlorite and then kept for germination.

Of the 30 soils collected from the field, 12 soils that showed large range of variation in physico-chemical properties were selected to grow lentil plants. Each of the 7 varieties was grown separately into each of the 12 soils. Thus, a total of 84 pots (12 soils x 7 varieties) were used in the present experiment. Two-days old germinated seeds of lentil plants were transplanted to pots filled with soil. Plants were grown for 4 weeks in growth room maintained with 12 h light and 12 h dark condition.

Height and weight of plant shoot and length and weight of main and lateral roots were determined per plant. Both fresh weight and dry weight were measured. Dry weight was taken after drying root and shoot in oven at 80°C for 24 hours. Leaf chlorophyll content was determined by using a chlorophyll meter (SPAD-502Plus, Minolta, Japan). After harvesting, roots were washed with gentle flow of tap water and checked for nodulation. No nodulation was found in the roots of the plants grown in the present study.

Statistical analysis: Principal Component Analysis (PCA) was done based on the correlation among the soil physical and chemical properties. ANOVA was performed to test the significance of difference between means. Pair-wise correlation analysis was done between soil properties and growth parameters separately for each variety.

Results and Discussion

Physical properties of the 30 soils collected from the different sites of Bangladesh are shown in table 2. Moisture content ranged from the highest value of 31.8% to the lowest of 0.6%. Sand, silt and clay proportions ranged 1.43-61.47%, 7.15-73.68% and 3.21-80.61%, respectively. Texture classes of these soils were of Silty clay loam, Silty clay, Loam, Sandy loam, Clay, Silt loam and Clay. Soil chemical properties also showed large range of variation (table 3). Soil pH, conductivity, chloride content, N, P, Na, K, organic C and organic matter ranged, respectively, 6.2-8.3, 55.8-4010 μ S, 0.21-9.57 mg/g, 0.0-0.013%, 0.002-0.100%, 34.01-546.14%, 59.65-891.07%, 0.15-1.71% and 0.25-2.94%

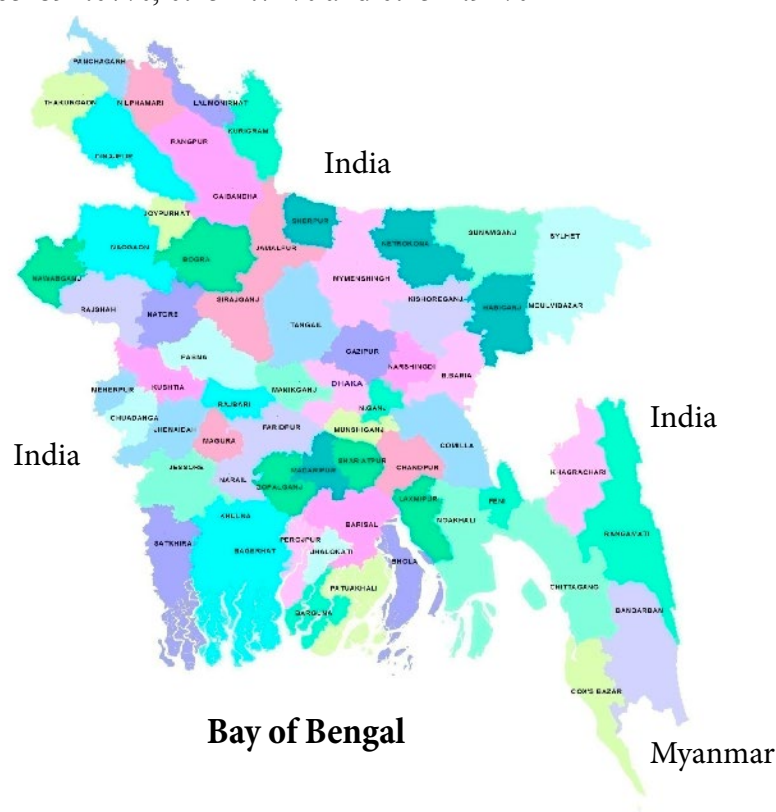


Figure 1. Map of Bangladesh showing the seven districts (marked as circle) selected for collection of soil used in the present study.

Table 2. Physical properties of soil collected from the various sites of Bangladesh
 (Soil Ids are described in table 1)

Soil Id	Moisture (%)	Sand (%)	Clay (%)	Silt (%)	Texture class
R ₁	28.6	8.835	29.915	61.249	Silty Clay Loam
R ₂	25.5	8.514	36.491	54.995	Silty Clay Loam
R ₃	28.3	5.495	39.635	54.870	Silty Clay Loam
R ₄	27.6	5.592	36.370	58.038	Silty Clay Loam
R ₅	20.9	5.942	36.236	57.823	Silty Clay Loam
R ₆	17.5	8.873	36.348	54.779	Silty Clay Loam
R ₇	18.9	2.067	49.451	48.482	Silty Clay
R ₈	13.5	48.222	11.115	40.664	Loam
R ₉	28.0	11.068	43.292	45.639	Silty Clay
R ₁₀	17.1	61.471	7.154	31.376	Sandy Loam
K ₁₁	27.1	2.227	52.568	45.206	Silty Clay
K ₁₂	20.5	5.103	52.764	42.133	Silty Clay
K ₁₃	31.8	1.432	62.760	35.807	Clay
K ₁₄	22.9	9.563	36.072	54.365	Silty Clay Loam
K ₁₅	21.7	12.992	20.030	66.978	Silt Loam
K ₁₆	28.0	1.653	42.705	55.642	Silty Clay
K ₁₇	27.2	8.779	39.611	51.610	Silty Clay Loam
K ₁₈	30.8	7.751	56.367	35.882	Clay
K ₁₉	21.4	4.707	56.238	39.054	Clay
K ₂₀	20.4	5.592	13.800	80.608	Silt Loam
PAB ₁	0.60	36.101	16.636	47.263	Loam
PAB ₂	10.7	23.063	19.900	57.037	Silt Loam
M ₇	14.6	26.381	26.184	47.435	Loam
Sat ₁₀	22.5	6.481	73.677	19.841	Clay
Sat ₈	18.2	8.609	39.685	51.706	Silty Clay Loam
Sat ₇	23.1	2.585	42.300	55.115	Silty clay
M ₂	15.0	30.235	13.402	56.363	Silt Loam
M ₉	10.0	18.841	77.948	3.210	Clay
M ₂₀	6.0	20.539	22.883	56.578	Silt Loam
Raj ₁	1.8	14.235	44.894	40.870	Silty Clay

Table 3. Chemical properties of soil collected from the various sites of Bangladesh (Soil Ids are described in table 1).

Soil Id	pH	Conductivity (μS)	Chloride (mg/g)	N (%)	P (%)	K (%)	Na (%)	OC (%)	OM (%)
R ₁	7.4	2980	6.097	0.004	0.040	565.409	492.159	0.640	1.101
R ₂	7.5	2740	5.743	0.004	0.040	614.230	217.799	0.784	1.348
R ₃	7.4	2350	4.538	0.000	0.035	585.939	332.871	0.642	1.104
R ₄	7.5	2020	4.183	0.004	0.051	667.445	139.971	0.571	0.982
R ₅	7.5	1315	2.340	0.008	0.029	529.885	212.319	0.842	1.448
R ₆	7.5	1709	3.474	0.008	0.046	501.395	262.859	0.674	1.159
R ₇	7.7	1960	3.900	0.005	0.061	810.285	292.221	0.176	0.302
R ₈	7.4	4010	9.572	0.009	0.042	410.421	385.960	0.248	0.427
R ₉	7.5	2900	5.672	0.013	0.035	766.842	546.136	1.008	1.734
R ₁₀	7.7	1545	2.198	0.008	0.002	59.646	39.202	0.147	0.254
K ₁₁	7.5	998	2.198	0.004	0.029	611.948	298.546	0.920	1.582
K ₁₂	7.6	1560	3.261	0.004	0.035	201.866	440.214	0.647	1.113
K ₁₃	7.4	1088	1.134	0.004	0.107	891.069	150.202	1.711	2.943
K ₁₄	7.7	828	1.134	0.000	0.056	650.303	166.778	0.834	1.435
K ₁₅	7.5	3330	5.814	0.004	0.121	382.261	298.512	0.660	1.136
K ₁₆	7.8	1519	2.694	0.005	0.061	358.244	194.363	0.705	1.212
K ₁₇	7.7	1620	2.978	0.004	0.046	617.053	320.127	0.710	1.221
K ₁₈	7.3	1092	2.269	0.009	0.030	741.754	176.052	1.187	2.041
K ₁₉	7.5	398	0.851	0.004	0.029	634.638	142.607	0.688	1.183
K ₂₀	7.3	527	0.355	0.008	0.068	521.104	34.007	1.159	1.994
PAB ₁	7.4	115	0.355	0.012	0.039	479.398	72.480	0.413	0.711
PAB ₂	8.3	279	0.355	0.008	0.034	414.187	37.605	0.618	1.064
M ₇	7.3	228	0.425	0.000	0.066	528.799	49.305	0.416	0.716
Sat ₁₀	6.6	1458	3.261	0.009	0.024	273.733	352.008	1.038	1.785
Sat ₈	6.2	2510	2.127	0.013	0.062	734.402	254.482	1.512	2.601
Sat ₇	7.0	844	2.623	0.010	0.072	663.754	311.638	1.086	1.868
M ₂	7.2	212	0.213	0.004	0.076	446.456	73.906	0.571	0.982
M ₉	6.8	219	0.425	0.004	0.100	459.845	28.828	1.149	1.977
M ₂₀	7.1	196	0.355	0.004	0.071	374.292	41.686	0.444	0.764
Raj ₁	7.0	55.8	0.638	0.000	0.050	447.032	69.817	0.773	1.330

PCA statistics showed that the first three PCs together explained 72.28% of the total variation where PC1 and PC2 explained 33.19% and 23.16% variation, respectively. PCA statistics also revealed that significant difference appeared among the agro-ecological zones along both PC1 ($P < 0.02$) and PC2 ($P < 0.0001$) (figure 2a).

Along PC1, High Ganges River Flood Plain is separated from Ganges Tidal Flood Plain and Lower Ganges River Flood Plain. On the other hand along the PC2, Ganges Tidal Flood Plain was separated from Lower Ganges River Flood Plain and Arial Beel. Although soil zones classified on the basis of salinity did not differ significantly along PC1 ($P < 0.179$) they differed significantly ($P < 0.0001$) along PC2 (figure 2b). Non-saline zone was away from other zones and clearly from the Slightly saline zone.

It was found that except salinity related parameters like chloride content, conductivity and Na, PC1 showed significant correlation with most of the other soil properties like pH ($r=-0.689$, $P<0.0001$), P ($r=-0.688$, $P<0.0001$), organic C ($r=0.905$, $P<0.0001$), sand ($r=-0.596$, $P<0.001$) and clay content ($r=0.748$, $P<0.0001$) (table 4). PC2, on the other hand, correlated significantly with soil chloride ($r=0.909$, $P<0.0001$), conductivity ($r=0.921$, $P<0.0001$) and Na content ($r=0.897$, $P<0.0001$). Results thus indicate that only salinity related factors such as chloride, Na content and conductivity contributed to the classification of saline zones and almost all physico-chemical factors contributed to the classification of agro-ecological zones selected for the present study.

Table 4. Pair-wise correlations of soil properties with PC (Principal Component) 1 and 2

Soil properties	PC1	PC2
pH	-0.689***	0.085 ns
Conductivity (μS)	-0.148 ns	0.921***
Chloride (mg/g)	-0.236ns	0.909***
N (%)	0.163 ns	0.245 ns
P (%)	-0.688***	0.083 ns
K (%)	0.503**	0.292 ns
Na (%)	0.096 ns	0.897***
Organic C (%)	0.905***	0.035 ns
Organic matter (%)	0.905***	0.035 ns
Sand (%)	-0.596***	-0.290 ns
Clay (%)	0.748***	0.048 ns
Silt (%)	-0.339 ns	0.230 ns

** and *** indicate significant at P value 0.01 and 0.0001, respectively and 'ns' indicates non-significant.

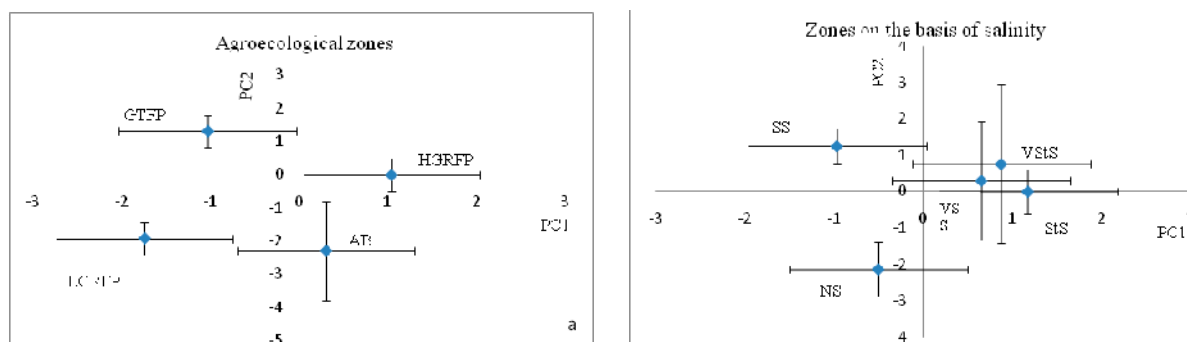


Figure 2. Principal Component Analysis (PCA) on correlation using soil physico-chemical properties of the 30 sites selected from different (a) agroecological zones (GTFP = Ganges Tidal Flood Plain, HGRFP= High Ganges River Flood Plain, LGRFP= Lower Ganges River Flood Plain and AB = Arial Beel) and (b) zones on the basis of salinity (SS= Strong Saline, VStS = Very Strong Saline, StS=Strong Saline, VSS = Very Slightly Saline and NS= Non Saline) of Bangladesh.

Survival rate of seven lentil varieties grown in the 12 selected soil is shown in table 5. Data showed that, in 4 soils those were under Slightly saline to Very strong saline zones, none of the seven varieties survived till four weeks i.e. up to harvesting. On the contrary, all seven lentil varieties survived in five soils (K_{20} , PAB_1 , PAB_2 , M_2 and M_{20}). Of these five soils, except K_{20} under Strong saline zones, the rest of the soils were of Non-saline zones indicating the influence of soil salinity on the growth of lentil plants.

Table 5. Survival rate (%) of seven lentil varieties grown for four weeks in 12 selected soils.

Soil Id	BARI masur 1	BARI masur 2	BARI masur 3	BARI masur 4	BARI masur 5	BARI masur 6	BARI masur 7	PC2
R1	0	0	0	0	0	0	0	0.085 ns
R5	10	10	0	40	20	40	10	0.921***
R8	0	0	0	0	0	0	0	0.909***
K12	0	0	0	30	20	20	0	0.245 ns
K15	0	0	0	0	0	0	0	0.083 ns
K20	50	70	90	80	100	70	80	0.292 ns
PAB1	20	40	60	30	60	60	40	0.897***
PAB2	40	20	40	40	50	70	30	0.035 ns
Sat10	0	0	0	0	0	0	0	0.035 ns
M2	70	40	60	60	90	80	70	-0.290 ns
M20	10	60	90	40	90	30	10	0.048 ns
Raj1	0	0	60	80	60	80	20	0.230 ns

Correlations between soil properties and growth parameters of each of the seven lentil varieties are shown in table 6. Data showed that among the soil properties, chloride content showed significant negative correlation with majority of growth parameters of lentil varieties. Similar trend of negative correlations of soil conductivity and Na content was observed with several growth parameters of most of the lentil varieties. Among the physical properties of soil, clay particle showed significant negative correlations with a number of growth parameters of the 7 lentil varieties. However, such correlation might be attributed to the reason that most of the saline soils were under the clay texture class (table 1).

Significant positive correlations of soil N, P and K were noted with the growth parameters of four lentil varieties. Significant positive correlations of the soil silt proportion were found with growth parameters of 7 lentil varieties. This might be due to the fact that the soils of the non-saline zones were silty or loamy in nature. Soil organic C and soil sand proportion showed both positive and negative correlation with shoot fresh and dry weight and shoot water content of three varieties only. Soil pH also showed few correlations with the growth of the lentil plants. Results thus showed that among the soil properties, chloride content showed the strongest coefficients of correlations with the growth parameters of the seven lentil varieties indicating that soil salinity was the main determining factor for the growth of the lentil varieties used in the present study.

Salinity stress involves changes in various physiological and metabolic processes depending on severity and duration of the stress and ultimately inhibits crop production (James et al.2011; Rahnama et al.2010; Munns 2005; Rozema and Flowers 2008). Initially soil salinity is known to repress plant growth in the form of osmotic stress which is then followed by ion toxicity (James et al.2011). Osmotic stress in the initial stage of salinity effects causes various physiological changes, such as interruption of membranes, nutrient imbalance, impairing the ability to detoxify reactive oxygen species (ROS), differences in the antioxidant enzymes, decreased photosynthetic activity and decrease in stomatal aperture (Munns and Tester 2008). Salinity stress is also considered as a hyper ionic stress such as accumulation of Na⁺ and Cl⁻ ions in tissues of plants causing severe ion imbalance and physiological disorder. High Na⁺ concentration inhibits uptake of K⁺ ions which is an essential element for growth and development that results into

lower productivity and may even lead to death (James et al.2011). In response to salinity stress, the production of ROS, such as singlet oxygen, superoxide, hydroxyl radical and hydrogen peroxide, is enhanced (Apel and Hirt 2004; Mahajan and Tuteja 2005; Ahmad 2010; Ahmad and Prasad 2012; Ahmad and Umar 2011) which lead to oxidative damages in various cellular components such as proteins, lipids, and DNA, interrupting vital cellular functions of plants.

Results of the present study thus suggest that information regarding soil properties is needed for the cultivation of lentil varieties in the soil of Bangladesh. Because, effects of salinity might suppress the growth of plants even the other conditions of the soil are favorable. Soil with diverse morphological, physical, chemical and biological properties may be affected by salinity (Rengasamy 2006).

Table 6. Coefficients of correlation within parentheses between soil properties and growth parameters [shoot height (SH), shoot fresh weight (SFW), shoot dry weight (SDW), shoot water content (SWC), main root length (MRL), lateral root length (LRL), root fresh weight (RFW), root dry weight (RDW), root water content (RWC), root-to-shoot ratio (R/S) and leaf chlorophyll (chl) content] of the 7 varieties of lentil (*Lens culinaris* Medik.) grown separately in 12 selected soils collected from the different parts of Bangladesh. Only the significant correlations are shown.

Soil properties	Chloride (mg/g)	pH	Conductivity (µS)	N %	P %	K %	Na %	OC %	OM %	Sand %	Clay %	Silt %
BARI masur 1 (n = 5)	SH (-0.95**) SDW (-0.88*) R/S (0.97*)	SDW (-0.92*)	SDW (-0.92*) R/S (0.93**)	LRL (0.9*)	SDW (-0.93**) R/S (0.86*)		SH (-0.9*) SDW (-0.87*) R/S (0.96**)				SH (-0.88*) SFW (-0.91*) SWC (-0.87*) MRL (-0.98**)	
BARI masur 2 (n = 6)	MRL (-0.9*)	R/S (0.83*)			RDW (0.8*) R/S (0.83*)		MRL (-0.86*)				MRL (-0.89*)	
BARI masur 3 (n = 5)	SH (-0.97***)	LRL (0.88*)	RWC (0.9*)		LRL (0.9*)		RFW (-0.97*) RWC (-0.93*)	SFW (0.98***) SWC (0.97**)	SFW (0.98***) SWC (0.97**)	SFW (-0.91*) SWC (-0.92*)	SH (-0.95*)	RFW (0.87*) RWC (0.89*)
BARI masur 4 (n = 8)	SH (-0.92***) SDW (-0.88***) MRL (-0.8*) LRL (-0.8*)		SH (-0.86**) SDW (-0.82**) MRL (-0.7*) LRL (-0.79*)				SH (-0.82**) SDW (-0.75*) MRL (-0.78*) LRL (-0.77*)		RDW (-0.76*)	RDW (-0.76*) SDW (0.7*)	SH (-0.7*) SDW (-0.83*) MRL (-0.71*) Chl (-0.72*)	SWC (0.73*) RFW (0.71*)
BARI masur 5 (n = 8)	SH (-0.89**) MRL (-0.85**) RDW (0.77*)		SH (-0.86**) MRL (-0.74*)				SH (-0.76*) MRL (-0.8*)				MRL (-0.73*) Chl (-0.7*)	SH (0.29**) RFW (0.76*)
BARI masur 6 (n = 8)	SH (-0.95***) MRL (-0.85**) LRL (-0.87***) RFW (-0.81**)		SH (-0.85**) RL (-0.85**) LRL (-0.90***) RFW (-0.79*)			SH (0.7*) RWC (0.84**)	SH (-0.98***) MRL (-0.77*) LRL (-0.82**) RFW (-0.78*)			SDW (0.77*) MRL (0.74*)	SH (-0.84**) MRL (-0.7*)	Chl (0.86**)
BARI masur 7 (n = 7)	SH (-0.81*)										SH (-0.9**)	SWC (0.75*) RFW (0.82*)

*, ** and *** indicate significant at P value 0.05, 0.01 and 0.001, respectively.

Acknowledgement

The authors are thankful to the Ministry of Education, Government of the People's Republic of Bangladesh for financial assistance to conduct this research under the program of Grants for Advanced Research (2015-2016). The authors also acknowledge the assistance of Mr. M. A. Kashem in collecting soil samples from the field.

References

- Abdolzadeh, A., Erik, X.W., Veneklaas, J., Lambers, H. 2010. Effects of phosphorus supply on growth, phosphate concentration and cluster-root formation in three *Lupinus* species. *Annals of Botany* 105: 365–374
- Afzal, M.A., Bakr, M.A., Rahman, M.L. 1999. Lentil cultivation in Bangladesh. Lentil, Black gram and Mung Bean Development Pilot Project, Pulses Research Station, BARI, Gazipur.
- Ahmad, P. 2010. Growth and antioxidant responses in mustard (*Brassica juncea* L.) plants subjected to combined effect of gibberellic acid and salinity. *Archives of Agronomy and Soil Science* 56(5): 575–588
- Ahmad, P., Prasad, M.N.V. 2012. Abiotic stress responses in plants: Metabolism, productivity and sustainability, Springer, New York, NY, USA.
- Ahmad, P., Umar, S. 2011. Oxidative Stress: Role of antioxidants in plants, Studium Press, New Delhi, India.
- Apel, K., Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology* 55:373–399
- Black, C.A. 1965. Methods of soil and plant analysis. Part I and II. American Society of Agronomy.
- Bordeleau, L., Prévost, D. 1994. Nodulation and nitrogen fixation in extreme environments. *Plant Soil*. 161: 115–25
- da Silva, A.P., Kay, B.D. 1997. Estimating the least limiting water range of soils from properties and management. *Soil Science Society of America Journal* 61: 877–883
- Ferguson, B.J., Lin, M.H., Gresshoff, P.M. 2013. Regulation of legume nodulation by acidic growth conditions. *Plant Signal Behav.* 8(3): e23426
- Giller, K.E. 2001. Nitrogen fixation in tropical cropping systems, 2nd Edition, CABI, Wallingford. 423pp.
- Graham, P.H., Parker, C.A. 1964. Diagnostic features in the characterization of the root-nodule bacteria of legumes. *Plant Soil* 20: 383–306
- Hossain, M.Z., Jannat, S.N., Jahan, N., Moniruzzaman, M., Hoque, S. 2015. Forest and agricultural soils differ in affecting growth of groundnut plants (*Arachis hypogaea* L.). *Mol* 14-15: 22-29
- Hudson, B.D. 1994. Soil organic matter and available water capacity. *Journal of Soil and Water Conservation* 49(2): 189–194
- Islam, M.S. 2003. Perspectives of the coastal and marine fisheries of the Bay of Bengal, Bangladesh. *Ocean Coast. Management* 46:763-796
- James, R.A., Blake, C., Byrt, C.S., Munns, R. 2011. Major genes for Na⁺ exclusion, Nax1 and Nax2 (wheat HKT1;4 and HKT1;5), decrease Na⁺ accumulation in bread wheat leaves under saline and waterlogged conditions. *Journal of Experimental Botany* 62(8): 2939–2947
- Juma, K.A., Averbek, V. 2005. Response of Muxu to N and P availability in pots. In: Tenywa JS, Adipala E, Nampala P, Tusiime G, Okori P, Kyanmuhangire W (eds.). *Afr. Crop Sci. Proceedings* 7: 1179-1182

- Katerji, N., Hoorn, V.J.W., Hamdy, A., Mastrorilli, M., Oweis, T., Erskine, W. 2001. Response of two varieties of lentil to soil salinity. *Agric. Wat. Manage.* 47: 179–190
- Kurdali, F., Kalifo, K., Al Schamma, M. 1997. Cultivar differences in nitrogen assimilation, partitioning and mobilization in rain-fed grown lentil. *Field Crops Res.* 54: 235–243
- Lee, J.J., Park, R.D., Kim, Y.W., Shim, J.H., Chae, D.H., Rim, Y., Sonhn, B., Kim, T., Kim, K. 2004. Effect of food waste compost on microbial population, soil enzyme activity and lettuce growth. *Bioresource Technology* 93(1): 21–28
- Lee, S.E., Ahn, H.J., Youn, S.K., Kim, S.M., Jung, K.W. 2000. Application effect of food waste compost abundant in NaCl on the growth and cationic balance of rice plant in paddy soil. *Kor. J. Soil Sci. Fert.* 33:100–108
- Mahajan, S., Tuteja, N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: an overview, *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444(2): 139–158
- Martins, L.M.V., Xavier, G.R., Rangel, F.W., Ribeiro, J.R.A., Neves, M.C.P., Morgado, L.B., Rumjalek, N.G. 2003. Contribution of biological nitrogen fixation to cowpea: a strategy for improving grains yield in the semi-arid regions of Brazil. *Biol. Fertil. Soils* 38: 333–339
- Micheni, A., Kihanda, F., Irungu, J. 2004. Soil organic matter (SOM). The basis for improved crop production in arid and semi arid climate of Eastern Kenya. In: *Managing nutrient cycles to sustain soil fertility in Sub-Saharan Africa*, Bationo A (ed.). pp. 608
- Mugwe, J., Mugendi, D., Okoba, B., Tuwei, P., O'Neill, M. 2004. Soil conservation and fertility improvement using leguminous shrubs in central highlands of Kenya: NARFP Case study. In: *Managing nutrient cycles to sustain soil fertility in sub-Saharan Africa*, Bationo A (ed.). pp. 608
- Munns, R., Tester, M. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651–681
- Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. *New Phytologist* 167(3): 645–663
- Perez-Galdonat, R., Kahn, M.L. 1994. Effects of organic acids and low pH on *Rhizobium meliloti* 104A14. *Microbiology* 140: 1231–1235
- Rahnama, A., James, R.A., Poustini, K., Munns, R. 2010. Stomatal conductance as a screen for osmotic stress tolerance in durum wheat growing in saline soil. *Functional Plant Biology* 37(3): 255–263
- Rengasamy, P. 2006. World salinization with emphasis on Australia. *Journal of Experimental Botany* 57: 1017–1023
- Rozema, J., Flowers, T. 2008. Ecology: crops for a salinized world. *Science* 322: 1478–1480
- Shane, M.W., Lambers, H. 2005. Cluster roots: a curiosity in context. *Plant and Soil* 274: 101–125
- Shannon, M.C., Gronwald, J.W., Tal, M. 1987. Effects of salinity on growth and accumulation of organic and inorganic ions in cultivated and wild tomato species. *Journal of American Society of Horticultural Science* 112: 416–42
- SRDI. 2010. Soil salinity in Bangladesh 2000. Soil Resource Development Institute (SRDI), Ministry of Agriculture, Government of the People's Republic of Bangladesh, Dhaka, Bangladesh.
- Tavakkoli, E., Fatehi, F., Coventry, S., Rengasamy, P., McDonald, G.K. 2011. Additive effects of Na⁺ and Cl⁻ ions on barley growth under salinity stress. *Experimental Botany* 62(6): 2189–2203
- Vassileva, V., Milanov, G., Ignatov, G., Nikolov, B. 1997. Effect of low pH on nitrogen fixation of common bean grown at various calcium and nitrate levels. *J Plant Nutr.* 20:279–94
- Zhu, J.K. 2001. Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science* 6 (2): 66–71

SOIL MOISTURE EFFECTS ON THE GROWTH OF LENTIL (*Lens culinaris* MEDIK.) VARIETIES IN BANGLADESH

Mohammad Z. HOSSAIN; Ishaq U. RASEL; Rifat SAMAD

Department of Botany, University of Dhaka. Dhaka, Bangladesh

Received: October 6, 2016

Accepted: October 16, 2016

Published on-line: November 30, 2016

Abstract

Water deficiency in soil is a major cause of yield loss for many important crops including lentil. Therefore, the development and release of drought tolerant varieties that will yield well under a broad range of environmental conditions is an important goal in agriculture. The present experiment compared the growth responses of seven lentil varieties BARIMasur-1, BARIMasur-2, BARIMasur-3, BARIMasur-4, BARIMasur-5, BARIMasur-6 and BARIMasur-7 between 10% and 15% soil moisture conditions. Plants were grown in identical soil in pot with three replicates for each variety in growth room. The lentil varieties showed variation in seed weight, germination rate and length of roots after 2 days of germination. Two-way ANOVA statistics revealed significant effects of both variety and soil moisture treatment at various extent on most of the shoot and root growth parameters. However, no interactions appeared between variety and soil moisture treatment. Low soil moisture (10%) caused significant detrimental effects on majority of the shoot growth parameters compared to root parameters. Leaf proline concentration increased largely under low moisture condition compared to high soil moisture in all varieties. Results also showed that among the varieties, BARI Masur-4 was most affected by low moisture condition while BARI Masur-3 was least affected. Results of the present study suggest that soil moisture condition should be taken under consideration while cultivating lentil varieties in Bangladesh.

Resumen

La deficiencia de agua en el suelo es una causa importante de pérdida de rendimiento de muchos cultivos importantes, como la lenteja. Por lo tanto, el desarrollo y la obtención de variedades tolerantes a la sequía, con buen rendimiento en un amplio intervalo de condiciones ambientales es un objetivo importante en la agricultura. El presente experimento comparó las respuestas de crecimiento de siete variedades de lentejas BARI Masur-1, BARI Masur-2, BARI Masur-3, BARI Masur-4, BARI Masur-5, BARI Masur-6 y BARI Masur-7 entre 10% y 15 % de contenido de humedad del suelo. Las plantas crecieron en macetas con suelos idénticos, con tres repeticiones en cada variedad en la cámara de crecimiento. Las variedades mostraron variación en el peso de semillas, la tasa de germinación y la longitud de las raíces dos días después de la germinación. El análisis de varianza de dos vías mostró un efecto estadísticamente significativo tanto en humedad del suelo como en variedad, en la mayoría de los parámetros de crecimiento de brotes y raíces. Sin embargo, no hubo interacciones entre variedad y humedad del suelo. La humedad del suelo baja (10%) tuvo efectos perjudiciales significativos

en la mayoría de los parámetros de crecimiento de los brotes en comparación con los parámetros de la raíz. La concentración de prolina en las hojas aumentó en gran medida bajo condiciones de baja humedad en comparación con alta humedad del suelo en todas las variedades. Los resultados también mostraron que la variedad Masur BARI-4 fue la más afectada por las condiciones de baja humedad, mientras BARI Masur-3 fue la menos afectada. Los resultados del presente estudio sugieren que las condiciones de humedad del suelo deben ser tenidas en consideración en el cultivo de variedades de lentejas en Bangladesh.

Introduction

Soil moisture is one of the important factors that influence the growth, development and yield of crops (Manjunath 2010). Water shortage hinders the development of vegetative, pre-flowering and pod setting stages ultimately causing loss of total yield. Therefore, to maintain growth and yield of crop under water deficit condition irrigation is often required to provide plants with water which is not economically and environmentally desirable. Extended period of drought, drop of water table due to over extraction of groundwater and the anticipated global climate change are likely to intensify the problem of water deficit in agricultural soil in many parts of the world including Bangladesh. Understanding the responses of crop varieties to different soil moisture conditions is relevant to better management of agricultural practices in regions where there is water shortage.

Pulses are important legume crops in Bangladesh because of their role in food, feed, and cropping systems. These crops contain about twice as much protein as cereals and play important role in sustaining the productivity of soils. They are generally grown without fertilizer since they meet their nitrogen requirement by symbiotic fixation of atmospheric nitrogen in the soil (Senanayake et al. 1987; Zapata et al. 1987; Fried and Middleboe 1977). In Bangladesh, lentil (*Lens culinaris* Medik.) is the principal and popular edible crop among pulses securing second position according to area and production and first in terms of usage (Afzal et al. 1999). Bangladesh Agricultural Research Institute (BARI) has so far developed seven popular varieties of lentil namely BARI masur-1, BARI masur-2, BARI masur-3, BARI masur-4, BARI masur-5, BARI masur-6 and BARI masur-7. However, there has been little information about the responses of these varieties to soil moisture content. The objective of the present study, therefore, was to evaluate the growth responses of these seven lentil varieties under different soil moisture treatments (15% and 10%) and screen lentil varieties that are tolerant to low moisture condition. This study is expected to provide researchers, farmers as well as policy makers with information relevant to widespread cultivation of lentil in Bangladesh.

Materials and Methods

- *Collection of seed and soil:* Seeds of seven lentil varieties (BARI Masur-1, BARI Masur-2, BARI Masur-3, BARI Masur-4, BARI Masur-5, BARI Masur-6 and BARI Masur-7) were collected from BARI, Joydevpur, Gazipur. Soil (pH 7.0, conductivity 53.7 μ S, organic C 0.41%, total N 0.076% and total P 0.06%) used in this experiment to grow plants was collected from the Botanical Garden of the University of Dhaka, Dhaka 1000.

- *Properties of soil and preparation of seed for germination:* Measurement of seed weight per thousand seeds was taken to examine seed quality. Surface sterilization of seed was done by using 5% sodium hypochlorite (NaOCl) (Sauer and Burroughs 1986). Surface sterilized seeds were then allowed to germinate in sterilized filter paper kept in Petri dish. Seeds were then left for 2 days at room temperature. Two-days old germinated seeds were studied for germination rate and root growth rate. The average length (cm) of ten germinated seeds for each lentil variety was measured.
- *Growing plants:* Two-days old seedlings were transferred to pot already filled with about 300g soils already collected. Two different soil moisture conditions, 10% and 15%, were maintained in the pot throughout the period of the experiment to examine the effects of soil moisture on the growth of plants. Light intensity used was about 1650 lux measured by Illumination meter (TOPCON IM-2D, TOPCON, Japan) and temperature maintained was 28°C in the growth room.
- *Measurement of growth parameters of plants:* Shoot height was recorded just before harvesting of the plants. Measurement of shoot height, root length as well as fresh and dry weight of root and shoot were taken. Leaf chlorophyll content was determined with the help of chlorophyll meter (SPAD-502 Plus, Konica, Minolta, Japan). In order to determine chlorophyll content of leaves, 5 fully expanded youngest leaves were selected per plant. Roots were washed with gentle flow of tap water and checked for nodulation.
- *Extraction and determination of proline:* Proline content was determined from fresh leaf of plants grown for two weeks in separate set with the similar treatments. For this, 1.0 g fresh leaf was taken into a clean mortar. Then, the leaf was homogenized with 5 ml 0.1M sulphosalicylic acid. After centrifuging, supernatant was taken and volume was adjusted to 5 ml using distilled water. Then, 5 ml glacial acetic acid and 5 ml acid ninhydrin was added to 2 ml of supernatant in test tube and shaken vigorously. Mixture was boiled for 1 hour in a water bath. After cooling, the mixture was extracted with 10 ml toluene in separating funnel. The upper dark red layer was collected and allowed to stand for some time. The optical density was recorded at 520 nm wavelength where toluene was used as blank and proline content was expressed as µM/g leaf. Due to unavailability of sufficient amount of leaf, analysis of proline was done in single sample without replicates.

Results and Discussion

The seven lentil varieties showed variation in seed weight, germination rate and root length after 2 days of germination. The highest seed weight (21.50 g/ 1000 seeds) was found in BARI Masur-6 and the lowest (14.98g/ 1000 seeds) was in BARI Masur-2. The germination rate varied between 100% in BARI Masur-4, BARI Masur-5, BARI Masur-6 and BARI Masur-7 and 95% in BARI Masur-1, BARI Masur-2 and BARI Masur-3. The root length of the 2-days old germinated seedlings was highest (2.20 cm) in BARI Masur-3 and the lowest (1.54 cm) was in BARI Masur-2.

Table 1. Seed quality of the lentil varieties used in the experiment.

Variety	Seed weight (g per 1000 seeds)	Germination rate (%)	Root length (cm)
BARI Masur – 1	15.60	95	1.93
BARI Masur – 2	14.98	95	1.54
BARI Masur – 3	19.56	95	2.20
BARI Masur– 4	17.87	100	2.11
BARI Masur – 5	19.63	100	1.90
BARI Masur – 6	21.50	100	2.13
BARI Masur – 7	18.14	100	2.03

Two-way ANOVA statistics on the effects of varieties, treatments and their interaction on the shoot growth parameters are shown in table 2. Data showed that soil moisture treatment significantly affected the shoot height, shoot fresh weight and shoot water content. Variety, on the other hand, significantly affected shoot height and shoot dry weight. There was no significant interaction between varieties and soil moisture treatment effects on any of the shoot growth parameters. Since no significant effects of varieties and treatments appeared, leaf chlorophyll data were not shown. Moreover, no nodulation was observed in the present experiment.

Table 2. Two-way ANOVA statistics on the effects of variety (df= 6), soil moisture treatment (df= 1) and their interaction (df= 6) on the growth parameters of shoot of lentil cultivars.

Response	Source of variation	F value	P value
Shoot height	Varieties	16.01	<0.0001
	Treatment	17.94	0.0001
	Varieties × Treatment	1.85	0.1125
Shoot fresh weight	Varieties	1.49	0.2058
	Treatment	53.34	0.0001
	Varieties × Treatment	0.76	0.6082
Shoot dry weight	Varieties	5.16	0.0005
	Treatment	0.15	0.7028
	Varieties × Treatment	0.34	0.9124
Shoot water content	Varieties	0.91	0.4946
	Treatment	62.40	<0.0001
	Varieties × Treatment	0.70	0.6545

Shoot height and fresh weight generally decreased in low soil moisture treatment (10%) compared to that in the high moisture (15%) condition (figures 1, 2 and 3). Although shoot dry weight did not differ significantly between the two soil moisture treatments, BARIMasur 3, BARIMasur 5 and BARIMasur 7 showed comparatively higher shoot dry weight than other cultivars (figure 4). Shoot water content in all cultivars decreased significantly in the low moisture condition (figure 5). Baalbaki et al. (1999) reported similar results that shoot weights of cultivars declined when osmotic potential decreased. There was a general trend among varieties that the shoot height and shoot water content decreased in low moisture (10%) condition indicating positive correlation between soil moisture content and plant growth. Similar result was found by other scientists (Kulkarni and Deshpande 2007).

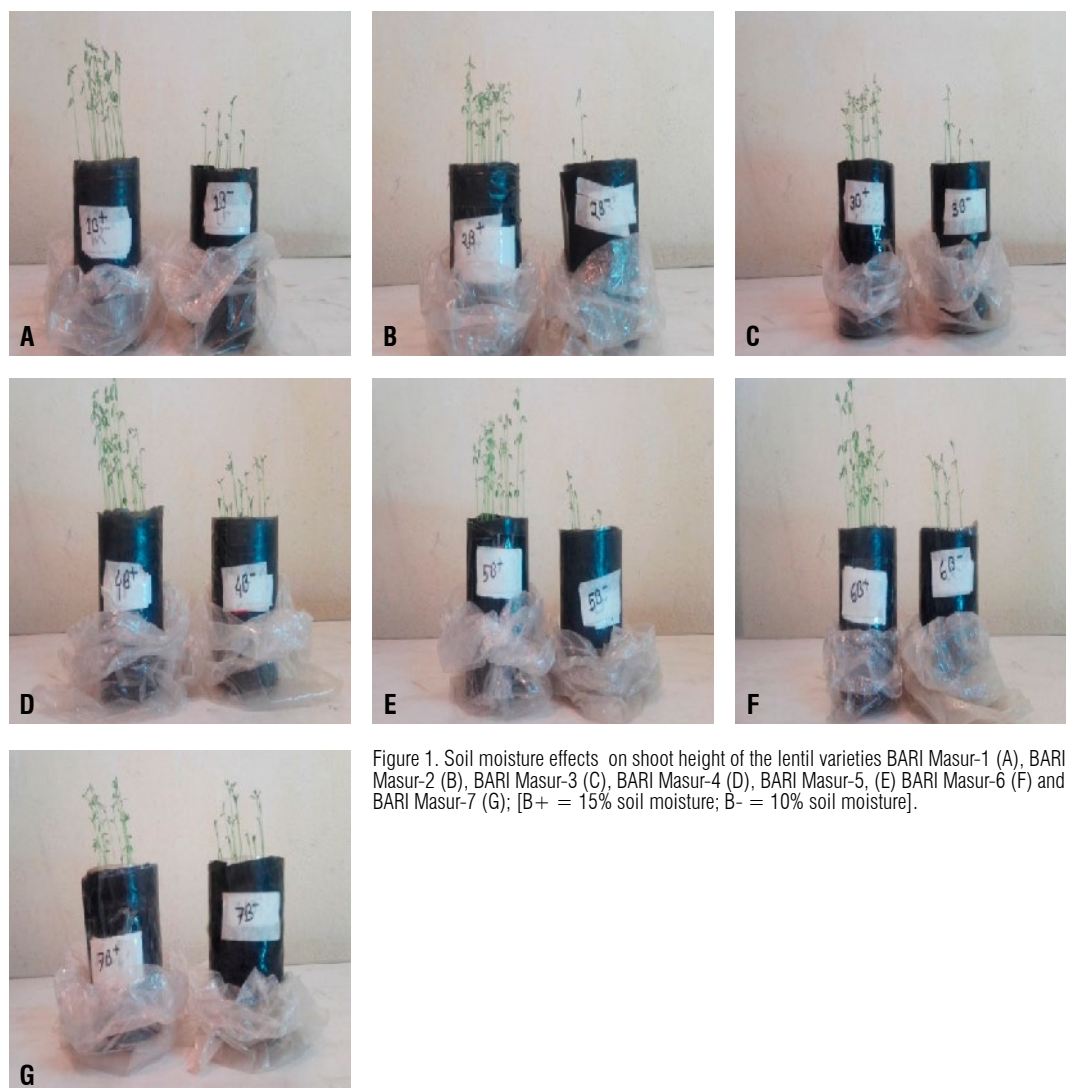


Figure 1. Soil moisture effects on shoot height of the lentil varieties BARI Masur-1 (A), BARI Masur-2 (B), BARI Masur-3 (C), BARI Masur-4 (D), BARI Masur-5 (E), BARI Masur-6 (F) and BARI Masur-7 (G); [B+ = 15% soil moisture; B- = 10% soil moisture].

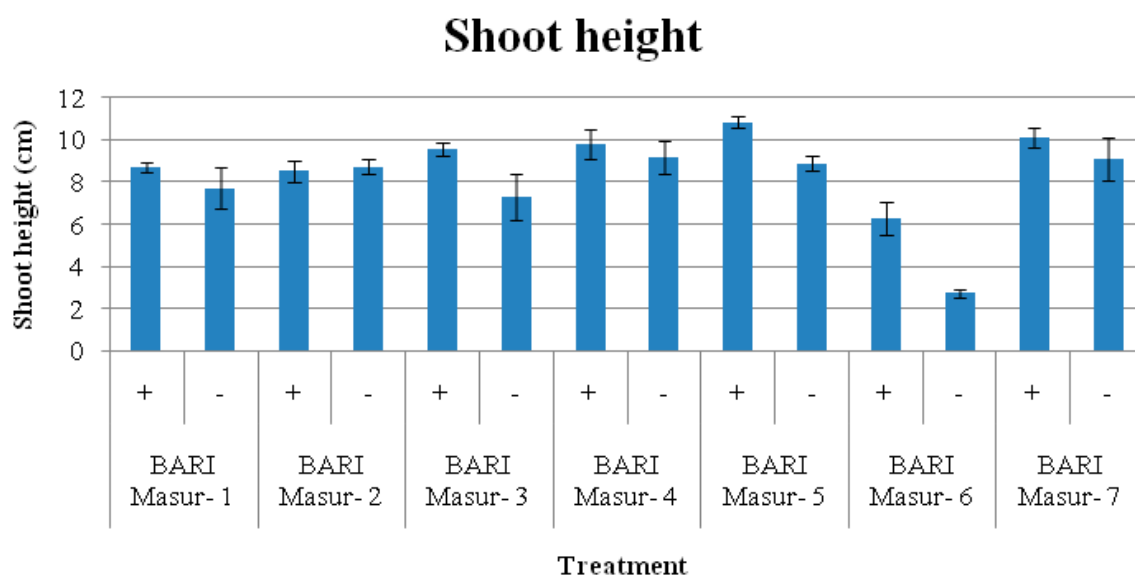


Figure 2. Shoot height (cm) of lentil varieties under 15% (+) and 10% (-) soil moisture conditions.

Shoot fresh weight

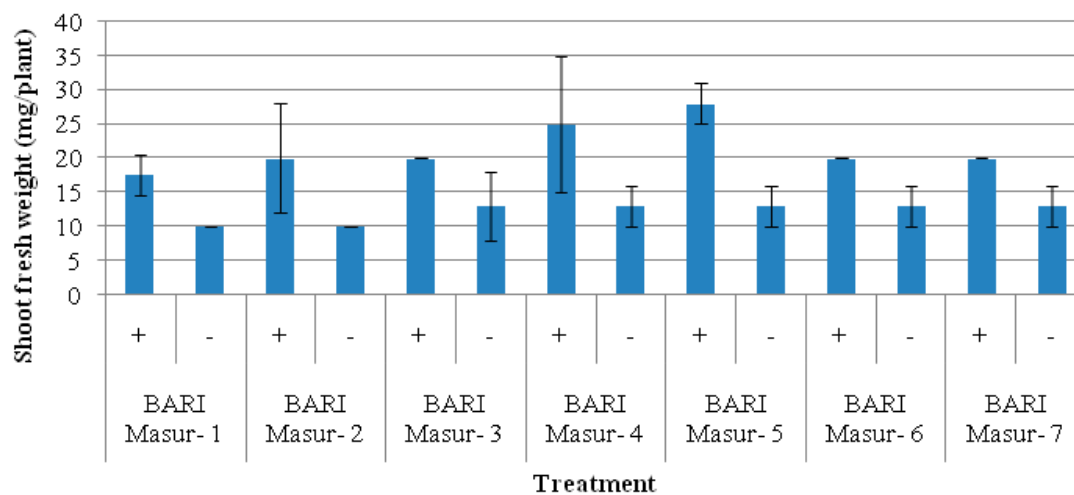


Figure 3. Shoot fresh weight of lentil varieties under 15% (+) and 10% (-) soil moisture conditions.

Shoot dry weight

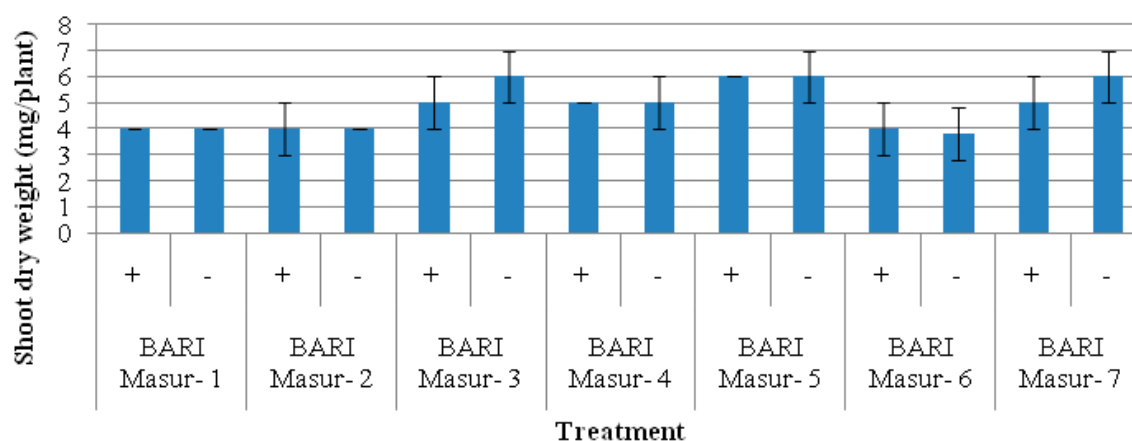


Figure 4. Shoot dry weight of lentil varieties under 15% (+) and 10% (-) soil moisture conditions.

Shoot water content

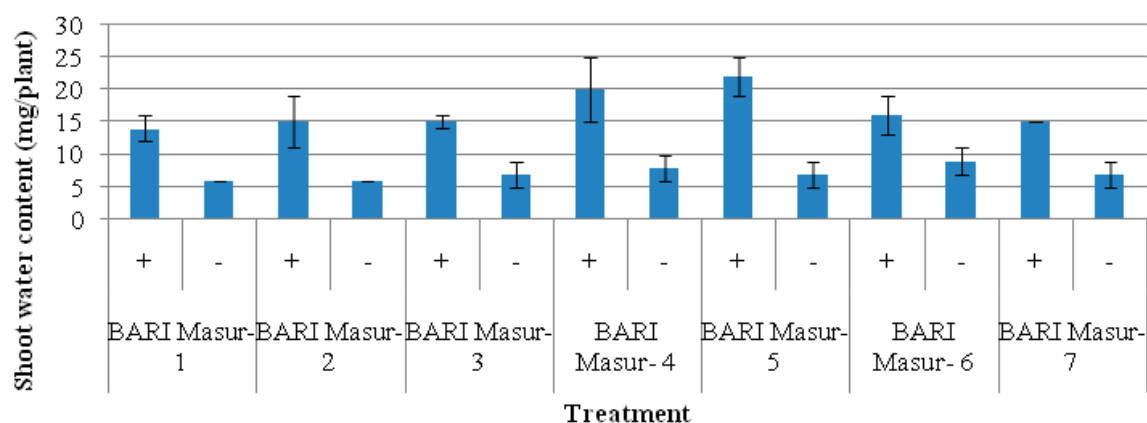


Figure 5. Shoot water content of lentil varieties under 15% (+) and 10% (-) soil moisture conditions.

As shown in table 3, soil moisture treatment did not significantly affect root growth parameters although it affected shoot to root ratio. Varieties significantly affected root fresh weight, root length and shoot to root length ration. BARI Masur 2 and BARI Masur 3 showed relatively higher root fresh and dry weight (figures 6 and 7). BARI Masur 7 showed comparatively higher root length than other varieties (figure 8). A general decline in shoot to root length ration was observed in all varieties of lentil (figure 9) and the highest decline in relative shoot height was observed in BARI Masur 6.

Table 3. Two-way ANOVA statistics on the effects of variety, soil moisture treatment and their interaction on the growth parameters of root of lentil varieties.

Response	Source of variation	F value	P value
Root fresh weight	Varieties	3.21	0.0109
	Treatment	0.00	1.0000
	Varieties × Treatment	0.50	0.8047
Root dry weight	Varieties	3.05	0.4946
	Treatment	7.49	0.4946
	Varieties × Treatment	0.83	0.5572
Root length	Varieties	2.95	0.0172
	Treatment	0.41	0.5258
	Varieties × Treatment	0.80	0.5785
Root water content	Varieties	2.12	0.0716
	Treatment	2.28	0.1390
	Varieties × Treatment	0.45	0.8383
Shoot/root	Varieties	13.24	<0.0001
	Treatment	21.43	<0.0001
	Varieties × Treatment	1.87	0.1094

Root length is an important trait of plant varieties in the drought stress condition and roots play an important role in plant survival during periods of drought (Hoogenboom et al. 1987). Drought resistance is characterized by an extensive root growth and reduction of shoot growth in drought stressed conditions (Guoxiong et al. 2002). In general, variety with longer root growth has resistance ability to drought condition (Leishman and Westoby 1994).

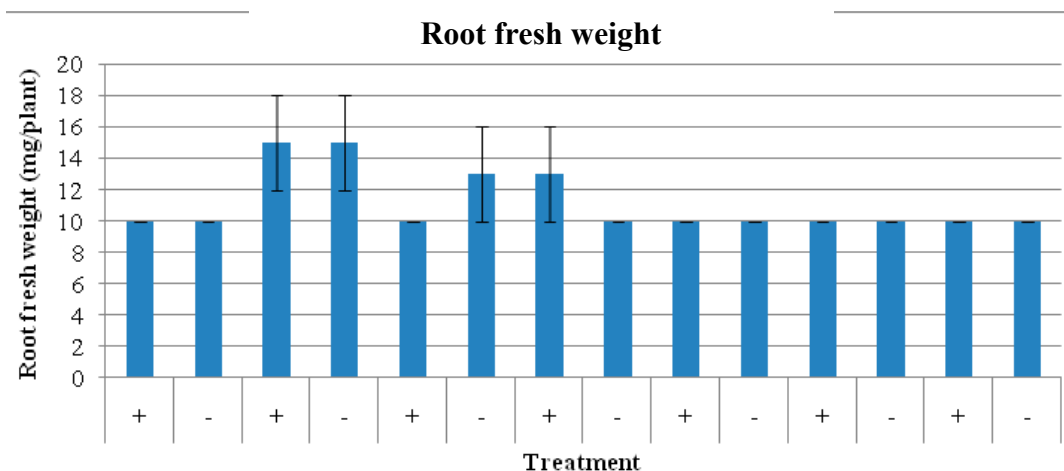


Figure 6. Root fresh weight of lentil varieties under 15% (+) and 10% (-) soil moisture conditions.

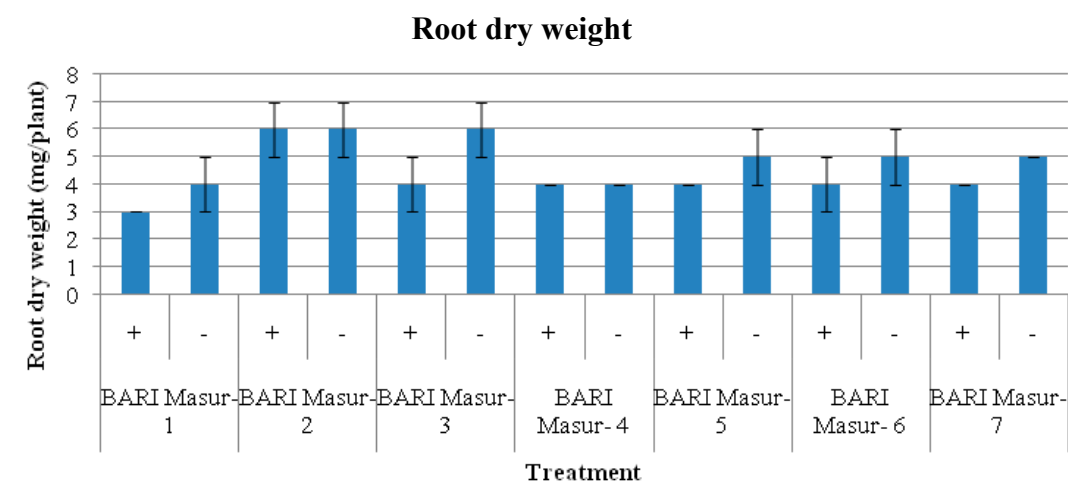


Figure7. Root dry weight of lentil varieties under 15% (+) and 10% (-) soil moisture conditions.

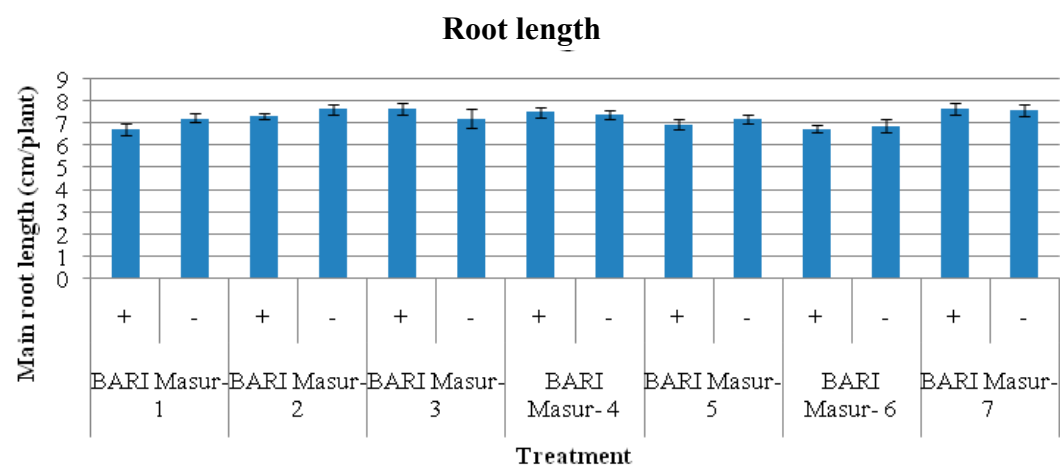


Figure 8. Root length of lentil varieties under 15% (+) and 10% (-) soil moisture conditions.

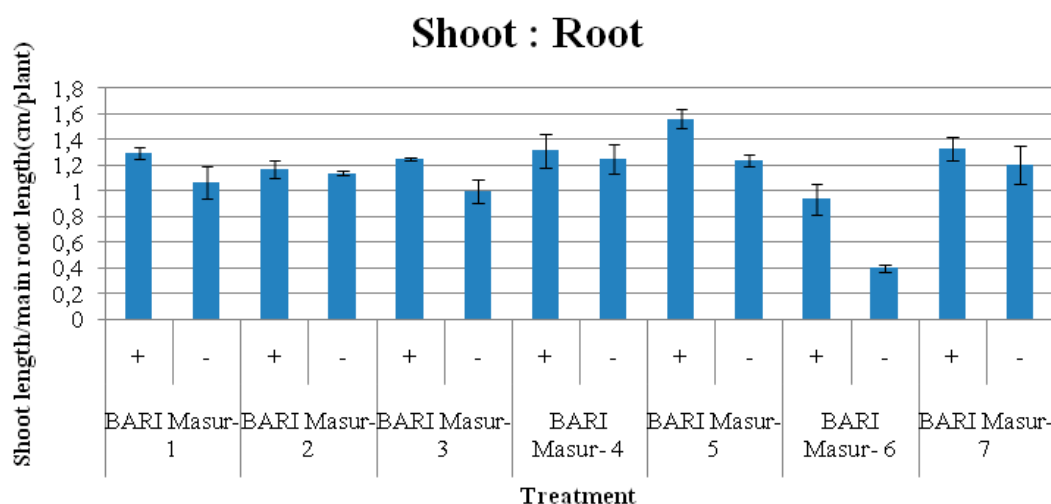


Figure 9. Ratio between shoot and root length of lentil varieties under 15% (+) and 10% (-) soil moisture conditions.

Shoot proline concentration increased under low moisture condition irrespective of cultivars with the highest increase in BARI Masur 2 (figure 10) followed by BARI Masur 6. This result indicates that 10% soil moisture condition acted as stress condition for the growth of lentil varieties. Because, the production of proline is a common response to various abiotic stresses. Several studies have indicated that proline content increases during drought stress and proline accumulation is associated with improvement in drought tolerance in tall fescue and other plants (Seki et al. 2007; Zhang et al. 2009). Proline content in fresh leaves also varied among the lentil cultivars in 15% soil moisture condition; the highest amount of proline was in BARI Masur-1 and lowest was found in both BARI Masur-2 and BARI Masur-4 indicating inter-varietal difference in inherent drought tolerance capacity among the cultivars.

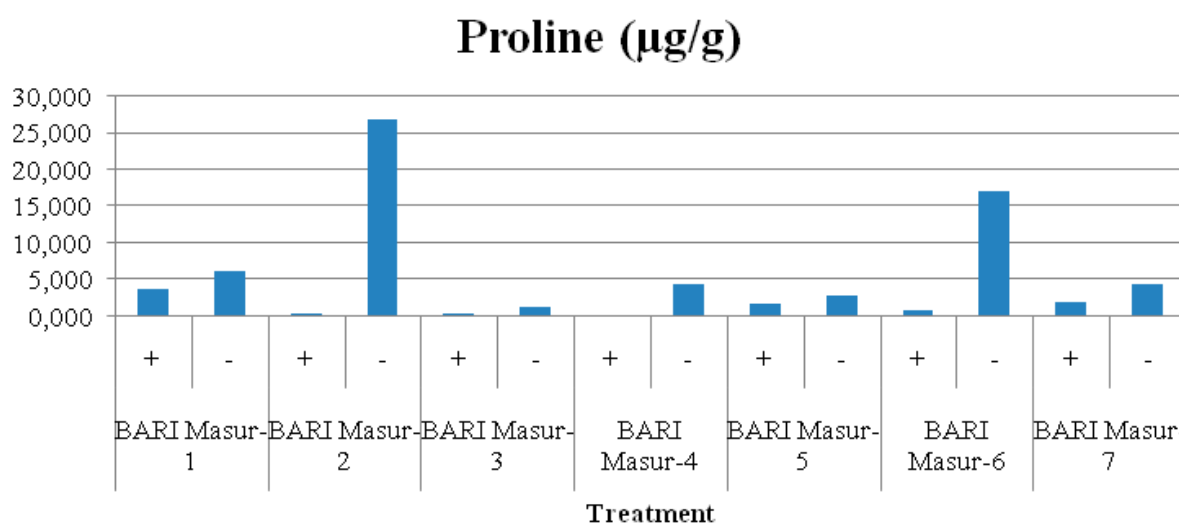


Figure 10. Accumulation of proline in leaves of lentil varieties under 15% (+) and 10% (-) soil moisture conditions.

Data of the present experiment revealed that the seven lentil varieties showed large variation in their growth responses to 10% and 15% soil moisture conditions (table 4). Most of the lentil varieties in generally showed detrimental effects of 10% moisture condition on the growth of plants compared to 15% moisture condition indicating that 10% soil moisture could not be suitable for the growth of lentil varieties available in Bangladesh. However, when compared among themselves, BARI Masur 3 showed the better performance and BARI Masur 4 showed the worst performance under 10% soil moisture condition, nevertheless, further study is needed to confirm this finding. Under water-deficit condition, many of the physiological activities of plants are impaired (Badoni et al.2009). The essential factor in plant water relations is the maintenance of a sufficiently high water content and turgor to permit normal functioning of the processes involved in growth (Bargali and Tewari 2004). The present experiment indicated that BARI Masur-3 was more tolerant to 10% soil moisture condition than other varieties. On the contrary, BARI Masur-2, BARI Masur-4 and BARI Masur-6 were more susceptible to 10% soil moisture condition. Results thus suggest that soil moisture condition should be taken under consideration while cultivating lentil varieties in Bangladesh.

Table 4. Responses of growth parameters of the seven lentil varieties to 10% soil moisture condition compared to 15% soil moisture. '+', '-', and '0' indicate, respectively, 'positive change', 'negative change' and 'no change' between the two soil moisture conditions.

Parameters	Variety						
	BARI Masur-1	BARI Masur-2	BARI Masur-3	BARI Masur-4	BARI Masur-5	BARI Masur-6	BARI Masur-7
Shoot fresh weight	-	-	-	-	-	-	-
Shoot dry weight	0	0	+	0	0	-	+
Shoot height	-	+	-	-	-	-	-
Root fresh weight	0	0	+	-	0	0	0
Root dry weight	+	0	+	0	+	+	+
Root length	+	+	-	-	+	+	-

Acknowledgements

The authors are thankful to the Ministry of Science and Technology, Government of the People's Republic of Bangladesh for financial assistance under the Special Allocation for Science and Technology Program (2015-16) to conduct this research.

References

- Baalbaki, R.Z., Zurayk, R.A., Bleik, M.M., Talhouk, S.N. 1999. Germination and seedling development of drought tolerant and susceptible wheat under moistures tress. Seed Sci. Technol. 27: 291-302
- Badoni, R., Semwal, D.K., Rawat, U. 2009. Altitudinal variation in the volatile constituents of *Artemisia nilagirica*. Int. J. Ess. Oil Therap. 3: 66-68
- Bargali, E.A., Tewari, S.J. 2004. Responses to abiotic stresses. Rockville 21: 1158-1249
- Fride, M., Middelboe, V. 1977. Measurement of amount of nitrogen fixed by legume crop. Plant and soil 47: 713-715

- Guoxiong, C., Krugman, T., Fahima, T., Korol, A.B., Nevo, E. 2002. Comparative study on morphological and physiological traits related to drought resistance between xeric and mesic *Hordeum spontaneum* lines in Israel. *Newslett.* 32: 22-33
- Hoogenboom, G., Huck, M.G., Peterson, C.M. 1987. Root growth rate of soybean as affected by drought stress. *Agron J.* 79: 607-614.
- Kulkarni, M., Deshpande, P. 2007. *In vitro* screening of tomato genotypes for drought resistance using polyethylene glycol. *African Journal of Biotechnology* 6:691-696
- Leishman, M.R., Westoby, M. 1994. The role of seed size in seedling establishment in dry soil conditions -experimental evidence from semi-arid species. *J.Ecol.* 82(2): 249-258
- Manjunath, G., Varsha, H. 2010. Study of the maize α -amylase system. *Plant Physiol.* 150: 325-329
- Sauer, F.H., Burroughs, L., 1986. Disinfection of seed surfaces with sodium hypochloride. *Phytopathology* 76(7): 745-749
- Seki, E., Minicis, D.S., Österreich, C.H., Kluwe, J., Osawa, Y., Brenner, D.A., Schwabe, R.F. 2007. Importance of drought on proline accumulation. *Nature Medicine.* 13(11):1324-32
- Senanayake, L., Knievel, D.P., Stevena, S.E. 1987. Nodulation and symbiotic nitrogen fixation of cowpea (*Vigna unguiculata* L). *Plant Soil* 99: 435-439
- Zapata, F., Danso, S.K.A., Hardarson, G., Fried, M. 1987. Nitrogen fixation and translocation field grown fababean. *Agronomy Journal* 79: 505-509
- Zhang, X., Chen, S., Liu, M., Pei, D., Sun, H. 2005. Improved water use efficiency associated with cultivars and agronomic management in the north China plain. *Agron J.* 97: 783-790

LEGUMES GERMPLASM AT THE MBG-CSIC, SPAIN: COLLECTION MISSIONS AND SPECIES DIVERSITY

Antonio M. DE RON¹; María del Carmen MENÉNDEZ SEVILLANO²; Mariana J. FERREYRA

¹Misión Biológica de Galicia (MBG)-Biology of Agrosystems, National Spanish Research Council (CSIC), Pontevedra, Spain

²National Agricultural Technology Institute (INTA)-Active Bank of Northwestern Argentina (BANOA), EEA-Salta, Salta, Argentina

Received: October 10, 2016

Accepted: October 24, 2016

Published on-line: November 30, 2016

Abstract

In the northern Iberian Peninsula, as well as in other European and American areas, there is still a considerable amount of genetic diversity in many cultivated plants. During years adapted populations of legume crops were grown by farmers but currently new improved varieties have displaced the traditional ones in the most important areas of production as Spain and Argentina in the case of the common bean. For these reasons, the Misión Biológica de Galicia of the National Spanish Research Council (MBG-CSIC), together with other institutions has participated in collection missions and is carrying out a programme for maintaining and regenerating legume germplasm. The current legume collection at the MBG-CSIC includes accessions of beans (wild and cultivated), pea, cowpea, lupin and chickpea. This collection is being used for genetic and evolutionary studies as well as for breeding purposes.

Resumen

En el norte de la Península Ibérica, así como en otras áreas de Europa y América, todavía existe una considerable diversidad genética en las plantas cultivadas. Durante años los agricultores cultivaron variedades adaptadas de diversas especies, pero las nuevas variedades mejoradas han desplazado a las tradicionales en muchas áreas de producción, como España y Argentina en el caso de la judía común. Por estas razones, la Misión Biológica de Galicia, del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (MBG-CSIC), junto con otras instituciones ha participado en expediciones de recolección de germoplasma y en el mantenimiento y regeneración del mismo. La colección actual de germoplasma de leguminosas de la MBG-CSIC incluye entradas de judías (cultivadas y silvestres), guisante, altramuza, caupí y garbanzo. Esta colección se utiliza para estudios genéticos y evolutivos, así como para la mejora genética de estos cultivos.

Introduction

In the northern Iberian Peninsula, as well as in other European and American areas, there is still a considerable amount of genetic diversity in many cultivated plants, owing to the small size of the farms in these areas and the persistence of traditional methods of agriculture. During years landraces or well-adapted populations of legume crops were cultivated by farmers but currently new improved varieties have displaced the traditional ones in the most

important areas of production (Zeven 1999) as Spain and Argentina in the case of the common bean. On the other hand, forsake of lands mainly in marginal areas has contributed also to the genetic erosion in many crops, so that security for food production could be affected by this process. Genetic resources for agricultural development and future food security are constantly threatened; therefore its conservation is imperative. *In situ* conservation ensures continuity of dynamic processes in which species develop under environmental changes and co-evolve with biotic and abiotic factors, so the processes of evolution and adaptation are maintained and the generation of new genotypes is guaranteed. By the other hand, *ex situ* conservation of cultivated plants and their wild relatives in genebanks has some constraints but ensures the long-term conservation of seeds.



Figure 1. Bean collection mission in the NOA
(left: wild beans plants in field, collecting dehiscent pods of wild bean, right: sampling wild beans)

Regarding wild relatives of cultivated species, for wild bean (Brücher and Brücher 1976, Debouck 1990), presence and genetic diversity of populations was evaluated by the National Agricultural Technology Institute (INTA) along its distribution range in northwestern Argentina both in protected and unprotected areas. It was found that most of the populations were found in places modified by human activities, which mean a process of genetic erosion in such populations (Beebe et al. 1997).

For these reasons, the Misión Biológica de Galicia of the National Spanish Research Council (MBG-CSIC), and other Spanish institutions (De Ron et al. 2016) is carrying out a programme for collecting and maintaining landraces and wild populations of different crops, including legumes, and, in the case of beans in cooperation with the Active Bank of Northwestern Argentina (BANOA) from INTA Agricultural Experimental Station EEA Salta (Ferreira et al. 2016).



Figure 2. Provinces in the northwest of Argentina (NOA)

Collection missions

The MBG-CSIC started in 1988 to collect legume germplasm, mainly beans and pea, in the northwest of Spain. Later on, the collection missions were expanded to other countries: Portugal and the northwest of Argentina (“Noroeste Argentino”-NOA), as follows:

- Portugal. 1993 and 2001. Province of Tras-os-Montes e Alto Douro. National participant: University of Tras-Os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real. Collected material: 42 common bean landraces from the north of Portugal.
- Argentina. 1996 and 1997. Provinces of Salta and Jujuy. National participants: University of Buenos Aires (UBA), EEA-Salta (INTA) and National Scientific and Technical Research Council (CONICET). Collected material: 10 wild populations and 109 primitive landraces of common bean from the NOA (Menéndez-Sevillano et al. 1997) (Figures 1 and 2).

Species diversity (Table 1)

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is the most important grain legume for direct human consumption on a global scale. This crop has spread to every continent over the past centuries, which resulted in a complex genetic structure of the bean germplasm outside its areas of origin and domestication (South and Central America) (Gepts and Debouck 1991, Islam et al. 2002, Santalla et al. 2002). The current Spanish landraces, belonging mainly to the Andean genetic pool (Singh et al. 1991, Gil and De Ron 1992) are the result of selective pressure and phenotypic selection by farmers and they are currently well adapted to the agro-ecological conditions under they have been grown for centuries. For these reasons the main legume crop maintained at the MBG-CSIC collection is the common bean.



Figure 3. Primitive (a) and wild (b) beans from the NOA

Table 1. Legume species diversity at the MBG-CSIC germplasm collection.

SPECIES	STATUS
Common bean	The common bean collection is formed by 2014 accessions (44 wild populations) from Europe (17 countries), The Americas (15) (Menéndez Sevillano 2002), Asia (4), Africa (1) and Oceania (1). The genetic stock includes about 500 breeding lines and RILs (Recombinant Inbred Lines) and about 2900 mutant lines. The core collection includes 52 Spanish accessions (Rodríguez et al. 2003)
Runner bean	The runner bean currently has 49 accessions (Santalla et al. 2004a)
Other bean species	<i>P. acutifolius</i> (3 populations), <i>P. parvifolius</i> (1), <i>P. augusti</i> (5 wild)
Pea	The current collection includes 164 accessions, being 123 from Spain (De Ron et al. 1994)
Cowpea	The collection includes 91 accessions: 43 from Spain and 48 from Portugal (De Ron et al. 2003)
Lupins	Mostly of the accessions are wild, collected in field. Currently the collection includes 210 accessions, mainly from Spain: narrow-leaved lupin (<i>Lupinus angustifolius</i> - 90), Spanish lupin (<i>L. hispanicus</i> - 43), yellow lupin (<i>L. luteus</i> - 73) and white lupin (<i>L. albus</i> - 4) (Lema et al. 2005)
Chickpea	The chickpea small collection includes only 14 accessions from the NW of Spain

The common bean collection started in 1987 (De Ron et al. 1991) and comprises accessions from 38 countries, including landraces and wild populations (Figures 3 and 4), and a genetic stock with breeding lines, RILs and mutant lines. A core collection was built in 2003. The runner bean (*Phaseolus coccineus* L.) collection started also in 1987, as well as the cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) collection, which began with the collections of common bean, since in many places these crops grow together in the farmer fields. Pea (*Pisum sativum* L.) collection started in 1988; the main use of pea in Spain is as a vegetable, both for the fresh grain and for the immature pod (Amurrio et al. 2000, De Ron and Santalla 2016) but recently the interest of this crop is being based in its use for animal feed as source of protein. Lupins (*Lupinus* spp.) collection started in 1999, and finally the chickpea (*Cicer arietinum* L.) collection was initiated in 2014.



Figure 4. Spanish landraces of common bean

Uses of the legumes collection

The research by Biology of Agrosystems group (BAS) at the MBG-CSIC was primarily focused in the biodiversity of crops, plant genetics and breeding as well as in the interactions plant-environment. For years were carried out phenotypic and genotypic characterization of the different species of the legume collection (Gil and De Ron 1992, Escribano et al. 1997, Santalla et al. 2001a, De Ron et al. 2004, Lema et al. 2005, Galván et al. 2006, González et al. 2015), including studies about wild and primitive beans to analyse the evolutionary processes of the species (Santalla et al. 2004b, González et al. 2014). In addition, the symbiotic system *Rhizobium*-bean/pea, is being analysed to improve agricultural production and for environmental protection (Santalla et al. 2001b, Rodiño et al. 2011).

Recently, the research is focussed to -omic studies and the genetics of the development of the plant, using common bean as model species. Additionally, the BAS group at the MBG-CSIC has participated in the sequencing of the genome of the common bean (Vlasova et al. 2016).

References

- Amurrio JM, De Ron AM, Hernández-Nistal J. 2000. How to identify edible-pod pea varieties in a germplasm collection. *Pisum Genetics* 32: 56-57.
- Beebe S, Toro Ch O, González AV, Chacón MI, Debouck DG. 1997. Wild-weedy-crop complexes of common bean (*Phaseolus vulgaris* L. Fabaceae) in the Andes of Peru and Colombia and their implications for conservation and breeding. *Genetic Resources Crop Evolution* 44: 73-91.
- Brücher B, Brücher H. 1976. The south American wild bean (*Phaseolus aborigineus* Burk.) as ancestor of the common bean. *Economic Botany* 30:257-272.

- De Ron AM, Lindner R, Malvar RA, Ordás A, Baladrón JJ, Gil J. 1991. Germplasm collecting and characterization in the north of the Iberian Peninsula. *Plant Genetic Resources Newsletter* 87: 17-19.
- De Ron AM, Amurrio JM, Barcala N. 1994. Colección de variedades de guisantes de la MBG-CSIC. *Actas de Horticultura* 12: 157-160
- De Ron AM, González AM, Monteagudo AB, Lema M, Santalla M. 2003. Colección de *Vigna* spp. de la MBG-CSIC. *Actas de la Asociación Española de Leguminosas* 2: 121-123
- De Ron AM, Menéndez-Sevillano MC, Santalla M. 2004. Variation in primitive landraces of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Argentina. *Genetic Resources Crop Evolution* 51: 883-894
- De Ron AM, De la Rosa L, Marcos T, Lázaro A, Casañas F, Casquero PA, Ferreira JJ, Ruiz de Galarreta JI. 2016. Current bean germplasm collections and activities in Spain. *Annual Report Bean Improvement Cooperative* 57: 5-6.
- De Ron AM, Santalla M. 2016. El guisante vaina y el guisante lágrima: tradición e innovación en horticultura. *Horticultura* 325: 44-49.
- Debouck D. 1990. Wild beans as a food resource in the Andes. *Annual Report Bean Improvement Cooperative* 33: 102-103
- Escribano MR, Santalla M, De Ron AM. 1997. Genetic diversity in pod and seed quality traits of common bean populations from northwestern Spain. *Euphytica* 93: 71-81.
- Ferreira MJ, Ibarra L, Menéndez Sevillano MC, De Ron AM, Galván M. 2016. Conservation and characterization of native *Phaseolus vulgaris* germplasm from northwestern Argentina. *Annual Report Bean Improvement Cooperative* 57: 49-50.
- Galván, M. Z., M. C. Menéndez-Sevillano, A. M. De Ron, M. Santalla, P. A. Balatti. 2006. Genetic diversity among wild common beans from Northwestern Argentina based on morphoagronomic and RAPD data. *Genetic Resources Crop Evolution* 53: 891-900
- Gepts P, Debouck DG. 1991. Origin, domestication and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In: van Schoonhoven A, Voysest O (Eds.) *Common beans: Research for crop improvement*: 7-53. C. A. B. Int., Wallingford, UK and CIAT, Cali, Colombia.
- Gil J, De Ron AM. 1992. Variation in *Phaseolus vulgaris* in the northwest of the Iberian Peninsula. *Plant Breeding* 109: 313-319
- González AM, Yuste-Lisbona F, Lores M, De Ron AM, Lozano R, Santalla M. 2014. Dissecting the genetic basis of popping ability in nuña bean, an ancient cultivar of common bean. *Euphytica* 196: 349-363
- González AM, Yuste-Lisbona FJ, Rodiño AP, De Ron AM, Capel C, García-Alcázar M, Lozano R, Santalla M. 2015. Uncovering the genetic architecture of *Colletotrichum lindemuthianum* resistance through QTL mapping and epistatic interaction analysis in common bean. *Frontiers in Plant Science (Topic: Genomics assisted breeding for legume crops)* 6:141.
- Islam F, Basford K, Redden R, Gonzalez A, Kroonenberg P, Beebe S. 2002. Genetic variability in cultivated common bean beyond the two major gene pools. *Genetic Resources Crop Evolution* 49: 271-283.
- Lema, M, M. Santalla, A. P. Rodiño, A. M. De Ron. 2005. Field performance of natural narrow-leaved lupin from the northwestern Spain. *Euphytica* 144: 341-351.
- Menéndez-Sevillano MC, De Ron AM, Neumann R. 1997. Recolección de germoplasma de *Phaseolus* en el Noroeste Argentino. *Actas de Horticultura* 17: 282-287
- Menéndez Sevillano MC. 2002. Estudio y conservación del germoplasma silvestre y primitivo de *Phaseolus vulgaris* L. en el Noroeste de Argentina. PhD Dissertation. University of Santiago de Compostela, Spain

Rodiño AP, Santalla M, De Ron AM, Singh SP. 2003. A core collection of common bean from the Iberian Peninsula. *Euphytica* 131: 165-175

Rodiño AP, De La Fuente M, De Ron AM, Lema MJ, Drevon JJ, Santalla M. 2011. Variation for nodulation and plant yield of common bean genotypes and environmental effects on the genotype expression. *Plant Soil* 346: 349-361

Santalla M, Amurrio JM, De Ron AM. 2001a. Food and feed potential breeding value of green, dry and vegetable pea germplasm. *Canadian Journal Plant Science* 81: 601-610

Santalla M, Amurrio JM, De Ron AM. 2001b. Symbiotic interactions between *Rhizobium leguminosarum* strains and elite cultivars of *Pisum sativum* L. *Journal Agronomy Crop Science*: 187: 59-68

Santalla M, Rodiño AP, De Ron AM. 2002. Allozyme evidence supporting southwestern Europe as a secondary center of genetic diversity for common bean. *Theoretical Applied Genetics* 104: 934-944.

Santalla M, Monteagudo AB, González AM, De Ron AM. 2004a. Agronomical and quality traits of runner bean germplasm and implications for breeding. *Euphytica* 135: 205-215.

Santalla M, Menéndez-Sevillano MC, Monteagudo AB, De Ron AM. 2004b. Genetic diversity of Argentinean common bean and its evolution during domestication. *Euphytica* 135: 75-87.

Singh SP, Gepts P, Debouck DG, 1991. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris* Fabaceae). *Economic Botany* 45: 379-396.

Vlasova A, Capella-Gutiérrez S, Rendón-Anaya M, Hernández-Oñate M, Minoche AE, Erb I, Câmara F, Prieto-Barja P, Corvelo A, Sanseverino W, Westergaard G, Dohm JC, Pappas Jr GJ, Saburido-Alvarez S, Kedra D, Gonzalez I, Cozzuto L, Gómez-Garrido J, Aguilar-Morón MA, Andreu N, Aguilar OM, Garcia-Mas J, Zehnsdorf M, Vázquez MP, Delgado-Salinas A, Delaye L, Lowy E, Mentaberry A, Vianello-Brondani RP, García JL, Alioto T, Sánchez F, Himmelbauer H, Santalla M, Notredame C, Gabaldón T, Herrera-Estrella A, Guigó R. 2016. Genome and transcriptome analysis of the Mesoamerican common bean and the role of gene duplications in establishing tissue and temporal specialization of genes. *Genome Biology* 17: 32.

Zeven AC. 1999. The traditional inexplicable replacement of seed and seed ware of landraces and cultivars: A review. *Euphytica* 110: 181-191.

Acknowledgements

The authors thank the projects CSIC-CONICET 1995-1996 and 1997-1998, i-COOP-CSIC-2016SU0004, AGL2014-51809-R and RFP2013-00001 for financial support, and Diputación de Pontevedra for farm facilities.

UTILIZACIÓN DE PLANTAS LEGUMINOSAS EN RESTAURACIÓN MEDIOAMBIENTAL DE TALUDES Y SUELOS DEGRADADOS

Antonio CASTELLANO-HINOJOSA^{1,2}; Valentín CONTRERAS-MEDRANO³; Eulogio J. BEDMAR¹

¹Departamento de Microbiología del Suelo y Sistemas Simbióticos. Estación Experimental del Zaidín (EEZ), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Granada, España.

²Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia, Universidad de Granada. Granada, España.

³Paisajes del Sur S.L. Granada, España.

Recibido: 04-October-2016

Aceptado: 16-October-2016

Publicado on-line: 30-Noviembre-2016

Resumen

El suelo es esencial para la vida en nuestro planeta. Diferentes prácticas antropogénicas, como la construcción de infraestructuras de transporte, y las malas prácticas agrícolas ocasionan graves problemas de erosión y pérdida de suelo. En este sentido, se ha demostrado que la utilización de leguminosas puede ayudar a recuperar áreas degradadas, de escasa fertilidad y contenido en nutrientes. Las leguminosas son especiales entre las plantas superiores ya que aportan nitrógeno al suelo procedente de la atmósfera mediante el proceso conocido como fijación biológica, que realizan en simbiosis con determinadas bacterias diazotrofas. En este trabajo se revisa la metodología y tipo de leguminosas que se emplean en función de las características del suelo a restaurar. Además, se exponen otras técnicas de bioingeniería empleadas en restauración medioambiental.

Abstract

Soil is an essential for life in our planet. Anthropogenic practices such as the construction of transport infrastructure and wrong agricultural practices cause serious problems of erosion and loss of soil. In this regard, the use of leguminous plants has been shown to help to recover eroded, degraded, unfertile soils. Legumes are special among the higher plants because their ability to establish nitrogen-fixing symbioses with diazotrophic bacteria, thereby providing fixed nitrogen to the soil. Here we revised the methodology and type of legumes that can be used depending on the characteristic of the soil to be restored. In addition, other bioengineering techniques employed in environmental restoration are presented.

Introducción

En las últimas décadas ha aumentado la preocupación por todo aquello que rodea al medio ambiente y ha variado sensiblemente la forma de pensar y actuar ante la incidencia de las actividades humanas en los ecosistemas naturales. Por otra parte, la transformación del espacio donde se realizan estas actividades plantea una gran problemática acerca de la adecuación ambiental de las mismas (Valladares et al. 2011). Por su tamaño e incidencia, las obras de ingeniería civil, y en concreto la creación de infraestructuras de transporte, genera un amplio cambio en el medio por sus características particulares de linealidad y dimensión y, en consecuencia, numerosos impactos sobre los ecosistemas por los que transcurre (Giráldez et al. 2014).

La ocupación del suelo, los movimientos y compactación de tierras y la generación de préstamos, vertederos y taludes ocasionan un impacto directo en la pérdida de la cubierta vegetal y del suelo original con todas sus propiedades biológicas (Gray et al. 1996; Bergen et al. 2001).

Cuando desaparece la cubierta vegetal por causa de los desbroces o del movimiento de tierras, la capa de suelo fértil se queda sin el efecto protector que le proporcionaban las raíces y el dosel vegetal y, en consecuencia, se incrementan los procesos erosivos (Hernández y Pastor 2008). En los eventos de lluvia que tengan lugar a continuación, el agua de escorrentía arrastrará la capa superior más fértil que contiene nutrientes y semillas, formándose surcos, regueros y, finalmente, cárcavas de difícil colonización por las plantas. El sustrato que queda después de que se produzcan fenómenos erosivos es muy pobre en nutrientes y muchas veces demasiado duro para que las semillas puedan enraizar. Este efecto se produce especialmente en zonas de elevada pendiente, como en los taludes (Valladares et al. 2011). En estos lugares la pérdida de suelo y vegetación da lugar a ecosistemas simplificados y poco resilientes, es decir, con baja capacidad de recuperación después de ser perturbados. Este círculo vicioso requiere intervención o, de lo contrario, se pone en peligro la propia estabilidad de las infraestructuras (Estarlich 1994; Gattie et al. 2003).

Otra actividad humana de gran impacto en el medio ambiente es la degradación de suelos provocada por malas prácticas agrícolas en la agricultura convencional. El aumento de la superficie de los suelos dedicados a la agricultura en áreas críticas, su intensificación y en especial una mecanización cada vez más potente, ha propiciado una aceleración de la degradación de los suelos, elevando el riesgo de desertificación.

La implantación de sistemas monocultivo y la eliminación de las cubiertas vegetales espontáneas mediante la aplicación de plaguicidas también genera profundos cambios en el suelo acelerando los procesos de erosión (Temperton et al. 2004).

Para intentar dar una solución a estas problemáticas se han desarrollado diferentes medidas de restauración ambiental en taludes y suelos degradados cuya variedad y elección depende de diversos factores (Hernández y Pastor 2008; Tormo et al. 2009). En este trabajo haremos hincapié en la utilización de plantas leguminosas para restaurar taludes y suelos degradados.

Plantas leguminosas

La utilización de plantas, fundamentalmente gramíneas y leguminosas, en técnicas de restauración ambiental es una práctica habitual (García-Fayos et al. 1995; Hernández et al. 2002, 2005, 2008). Las características del clima mediterráneo con una distribución irregular de la lluvia a lo largo del año, y que con frecuencia presentan un carácter torrencial, y la escasa fertilidad del suelo a restaurar hacen necesaria una selección apropiada de las plantas.

Las leguminosas son plantas angiospermas (familia *Fabaceae*) e incluyen hierbas perennes o anuales, arbustos y árboles de distribución cosmopolita, fácilmente reconocibles por su flor papilionácea y fruto típico en legumbre. Con 750 géneros y más de 20000 especies descritas,

se distribuyen en las subfamilias *Faboideae*, *Mimosoideae* y *Caesalpinioideae*. Por su elevado contenido en proteína, las leguminosas son, después de los cereales, la segunda familia en importancia en la alimentación humana y constituyen la fuente proteica principal para los países en desarrollo. Además, se utilizan como plantas forrajeras y componentes de piensos para alimentación animal.

Las leguminosas crecen en suelos de escasa fertilidad por lo que se utilizan como plantas pioneras en su recuperación, así como en procesos de revegetación y fitorrecuperación de suelos deteriorados. De manera tradicional se emplean en rotación de cultivos con cereales para mantener la fertilidad del suelo.

Las leguminosas son únicas entre los seres vivos ya que, junto con las actinorrhizas, son las únicas plantas superiores, a excepción de *Parasponia*, que tienen la capacidad de formar simbiosis mutualistas con bacterias del suelo a las que se conoce con el nombre genérico de rizobios. A consecuencia de la simbiosis, las bacterias forman en las raíces, a veces tallos y hojas, de las leguminosas que infectan unos órganos característicos denominados nódulos, en cuyo interior los rizobios se transforman en células especializadas, los bacteroides, que sintetizan la nitrogenasa, que es la enzima responsable de reducir el dinitrógeno atmosférico (N_2) a amonio (NH_4^+). Posteriormente, el amonio formado se incorpora a los productos hidrocarbonados procedentes de la fotosíntesis de la planta para formar aminoácidos, proteínas y otros compuestos nitrogenados que se utilizarán para el crecimiento y desarrollo vegetal (Sprent 2007).

En los suelos de la zona mediterránea, donde las leguminosas y rizobios han evolucionado juntos durante siglos, sujetos a diferentes condiciones edafoclimáticas y de uso del suelo, se ha llegado de forma natural a una variabilidad considerable tanto del número de rizobios en los suelos como de su eficiencia simbiótica (Tormo et al. 2009). En consecuencia, la capacidad natural de incorporación al suelo de nitrógeno, convierte a estas plantas en una herramienta indispensable en la colonización de suelos empobrecidos en nutrientes.

Origen y restauración ambiental de taludes

La aparición de taludes en las autovías españolas es habitual dada la topografía accidentada del territorio y los condicionantes específicos de la propia carretera (Ruíz de la Torre 1990; Otero 1999). La inestabilidad y erosión de taludes se ha documentado ampliamente, determinándose pérdidas de suelo de más de $100 \text{ t ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ en taludes.

En España, la Ley 8/2001 de Carreteras de Andalucía, introduce la figura de Proyecto de Restauración Paisajística y hace hincapié en la restauración ambiental y paisajística de la “zona adyacente a la carretera” para la adecuación ambiental de la misma. Estos proyectos pretenden reparar aquellos impactos negativos producidos durante las obras de ejecución, dando las soluciones necesarias para la minimización de las alteraciones e integración paisajística.

Medidas de restauración ambientales de taludes

Existen distintos tipos de tratamientos destinados a la restauración ambiental de taludes (Giráldez et al. 2014):

1. Mulching (acolchado)
2. Plantación
3. Hidrosiembra
4. Mantas orgánicas
5. Mallas o redes orgánicas
6. Geoceldas
7. Geomallas volumétricas

Entre todas estas medidas, el empleo de leguminosas es habitual en los tratamientos de plantación e hidrosiembra (figura 1).



Figura 1. Restauración de taludes degradados mediante el empleo de técnicas de bioingeniería en Mancha Real (Jaén). Foto cedida por Giráldez et al. (2014).

Utilización de leguminosas en plantaciones

El interés en utilizar las leguminosas en la restauración de taludes se basa en su capacidad de aporte natural de N al suelo. La elección e implantación efectiva de leguminosas requiere, en primer lugar, un conocimiento de las características físico-químicas del suelo del talud a restaurar. Los criterios que se siguen para seleccionar las especies a utilizar juegan también un papel crítico para el buen desarrollo de las plantaciones. De acuerdo con Mataix (2003) y Valladares et al. (2011), los criterios que se deben considerar son:

1. Requerimientos nutricionales de la planta
2. Existencia en viveros
3. Mínimo mantenimiento
4. Fácil arraigo
5. Crecimiento rápido

En todos los casos, el éxito de la plantación se determina atendiendo al “Índice de Revegetación” como sigue (Hernández y Pastor 2001):

$$\text{Índice de Revegetación} = EG + T + P + HC + F$$

Dónde: E= Éxito en la germinación, que tiene relación con las condiciones climáticas de la zona y las condiciones físicas del suelo; T = Tolerancia a los factores ecológicos más determinantes de la estructura del ecosistema objeto de restauración; P = Producción de semillas al finalizar el ciclo fenológico de la especie sembrada; HC = Hábito de crecimiento de la especie con el fin de favorecer al protección del suelo; F = Facilidades para la dispersión de semillas.

En general, atendiendo a los trabajos publicados hasta la fecha, las plantas leguminosas con mejor índice de revegetación son *Retama sphaerocarpa*, *Trifolium angustifolium*, *Ornithopus compressus*, *Astragalus hamosus*, *Astragalus pelecinus*, *Anthyllis lotoides*, *Onobrychis peduncularis*, *Ononis spinosa*, *Medicago sativa*, *Medicago lupulina*, *Medicago minima*, *Medicago rigidula*, *Hippocrepis ciliata* y *Vicia* sp. (Martínez Ruiz 2000; Hernández y Pastor 2001; Pastor y Hernández 2003, 2007).

Se ha demostrado que para garantizar un comportamiento óptimo de la cobertura vegetal es conveniente utilizar una mezcla de especies de diferente comportamiento, de tal manera que se logre un efecto combinado y las leguminosas puedan crecer o regenerarse en condiciones relativamente hostiles. La selección de las especies es, tal vez, el factor más importante del diseño de la plantación. Particularmente, en suelos de baja fertilidad se deben utilizar mezclas de 6 a 10 especies (Morgan y Rickson 1995). Con frecuencia, las leguminosas se utilizan de forma combinada con gramíneas debido a que estas últimas presentan un rápido crecimiento y originan una cobertura vegetal que ralentiza los procesos erosivos y permite el desarrollo de las leguminosas (Tormo et al. 2008).

Un método efectivo para el establecimiento de leguminosas es el uso de barreras vegetales perpendiculares a la línea de máxima pendiente. Para ello, se deben utilizar especies perennes capaces de adaptarse a las condiciones del talud a lo largo del año. Se plantan en los taludes en hileras separadas siguiendo las curvas de nivel de la pendiente. Con el tiempo, los sedimentos arrastrados por la escorrentía se acumulan sobre la barrera de las plantaciones originándose una terraza natural que constituye un filtro de nutrientes (Giráldez et al. 2014).

En algunas ocasiones, las altas pendientes características de los taludes, las limitaciones causadas por la elevada compactación y, consecuentemente, el alto déficit hídrico y la falta de rugosidad superficial del suelo hacen prácticamente imposible la aplicación de plantaciones. En estos casos, se ha demostrado que los problemas físicos, químicos y biológicos del suelo se pueden suplir durante la restauración aplicando los denominados mulches. Estos sistemas están formados por una capa de materiales, orgánicos o no, que se aplica sobre el suelo para protegerlo de la erosión, amortiguando las condiciones microclimáticas y disminuyendo la pérdida de agua por evaporación (Brofas y Varelides 2000) (figura 2).

En algunas ocasiones los mulches se suplementan con fertilizantes (Petersen et al. 2004) o enmiendas orgánicas, que mejoran las propiedades del suelo. La aplicación de tierra vegetal, si ésta se ha conservado debidamente (Rokich et al. 2000), también puede mejorar los resultados de la plantación (Bowen et al. 2005), ya que por su contenido en materia orgánica, microorganismos y semillas puede revitalizar los suelos sobre los que se aplica (Tormo et al. 2006, 2009).



Figura 2. Taludes tratados con leguminosas en Mancha Real (Jaén). A, plantaciones; B, hidrosiembra; C, hidrosiembra + malla de coco. Foto cedida por Giraldez et al. (2014).

Por último, en taludes con suelos excesivamente compactados se ha demostrado que talararlos mejora el establecimiento y la productividad de las plantas en ambientes semiáridos ya que los agujeros cumplen dos funciones a la vez, romper la homogeneidad del talud para fijar las plantas y facilitar la penetración de las raíces (Bochet et al. 2009).

En situaciones de clima árido y semiárido se produce una situación paradójica. Por un lado, una cubierta densa de leguminosas herbáceas proporciona una de las mejores protecciones contra la lluvia y la erosión eólica, llegando a reducir casi por completo la pérdida de suelo. Sin embargo, en condiciones mediterráneas, la supervivencia de las herbáceas en periodos secos es mucho más complicada que la de plantas leñosas. Estas últimas proporcionan un menor número de plantas por unidad de superficie, pero exploran un mayor volumen del suelo lo cual facilita su supervivencia a medio y largo plazo. En consecuencia, diferentes autores recomiendan que un diseño ideal debería ser aquel que permita combinar ambos tipos de vegetación, en especial durante los primeros años en los que la vegetación leñosa es de menor porte (Muzzi et al. 1997; Bochet y García-Fayos 2004).

Utilización de leguminosas en hidrosiembra

La hidrosiembra es un método sencillo y económico para estabilizar el suelo y favorecer la revegetación. Además, previene la erosión del suelo, ya que ayuda al establecimiento de la cubierta vegetal. Las hidrosiembras consisten en la proyección sobre el suelo de una mezcla homogénea de semillas, mulches (fibras de madera, turba, paja o coco), estabilizadores de suelos, fertilizantes u otros elementos, mediante una máquina hidrosembadora (figura 3).

La aplicación se realiza desde una cuba móvil con bomba de presión y boquillas de distribución. Según Giráldez et al. (2014) las ventajas que presenta la hidrosiembra respecto a las plantaciones son:

1. La vegetación se establece más rápido que con las siembras manuales.
2. Se ahorran costes de mano de obra (en un día, una o dos personas pueden hidrosemar dos hectáreas con un equipo de 6.000 litros de capacidad).
3. La precisión con que se proyectan los ingredientes de la hidrosiembra es elevada. La vegetación se establece un 20%-25% más rápido que con cualquier otra alternativa de siembra mecánica o manual.



Figura 3. Taludes tratados con leguminosas en Mancha Real (Jaén). A, hidrosiembra + manta de coco; B, hidrosiembra + manta de esparto; C, hidrosiembra + malla sintética. Foto cedida por Giráldez et al. (2014).

Mediante este tratamiento las semillas y los abonos se distribuyen uniformemente, y los mulches aseguran unas condiciones favorables para una rápida germinación. Con este método se pueden alcanzar grandes alturas en taludes difícilmente accesibles. Una de las características más importantes de la hidrosiembra es la presión con la que se pueden proyectar las proporciones de semillas, abonos, estabilizantes, coadyuvantes del terreno, retenedores de humedad, mulches, etc. Todos los elementos proyectados ayudan a conservar la humedad, incluso la debida al rocío. Protegen también a la semilla de los rayos directos del sol y de las temperaturas extremas (Contreras et al. 2015).

Se ha demostrado que la utilización de leguminosas en hidrosiembras puede ser útil en determinados suelos. En concreto, especies de los géneros *Vicia*, *Trifolium* y *Medicago* son las más exitosas (Tormo et al. 2007). No obstante, recientemente se ha demostrado que la utilización combinada de hidrosiembra junto con el uso de coberturas como mantas y redes orgánicas y mallas sintéticas es el tratamiento más eficaz para reducir la erosión de taludes (Giráldez et al. 2014).

Origen y restauración de suelos degradados

En España los principales sistemas que presentan suelos degradados son los monocultivos en secano tales como cereales, viñedos y olivares (Gómez y Fereres, 2004). En estos escenarios se prima la utilización del espacio para producir y en pocas ocasiones se toman medidas para conservar el suelo. La adición de herbicidas contra las “malas hierbas” elimina la cubierta vegetal espontánea y origina suelos desnudos, hecho que cuando se une a terrenos con pendientes deriva en la aceleración de los procesos erosivos (Gómez et al. 2011). Por otra parte, la utilización excesiva de fertilizantes en suelos degradados origina una rápida pérdida de los mismos mediante escorrentía durante eventos lluviosos. Los nitratos lixiviados terminan provocando problemas de eutrofización en los cursos de agua del entorno y pueden ocasionar contaminación de las aguas subterráneas y acuíferos.

Por otro lado, la implantación de cultivos en zonas donde no se siguen las curvas de nivel en la disposición de filas e hileras favorece la erosión a la vez que provoca compactación de los suelos (Hernández y Santos 2008).

La escorrentía producida por un evento lluvioso unido a las irregularidades del terreno hace que ésta pueda fluir concentrada, sin que se formen canales más que a partir de aquella posición en que la fuerza cortante del agua supere la resistencia del suelo. Una vez formado el canal su crecimiento es rápido y aumenta vertiente abajo ya que se favorece la velocidad de flujo ante la ausencia de vegetación que lo disipe y ayude a su infiltración. Regueros, cárcavas y barrancos, en algunos casos, representan tres grados de desarrollo de un mismo proceso, sin que exista un límite bien establecido entre ellos. Se trata de acompañantes habituales en los paisajes de toda la vertiente mediterránea.

Medidas de restauración ambientales de suelos degradados

Existen distintos tipos de tratamientos destinados a la restauración ambiental de suelos degradados (Contreras et al. 2015):

1. Mantenimiento e implementación de cubiertas vegetales
2. Mantas orgánicas
3. Biorrollos de esparto
4. Gaviones flexibles

En todas estas medidas, las plantas leguminosas se utilizan para mantener o implantar cubiertas vegetales.

Utilización de leguminosas en cubiertas vegetales

En la Agricultura de Conservación, el mantenimiento de cubiertas vegetales espontáneas o la implementación de las mismas son técnicas más avanzada que la labranza cero (Giráldez et al. 2014). Un suelo con cobertura vegetal suficiente está protegido de la acción directa de la lluvia, del sol y del viento. Así, al eliminar la vegetación se altera el equilibrio natural, la superficie queda desprotegida de los agentes climáticos, se recibe menos aportes de materia orgánica por

parte de las plantas cultivadas y el laboreo acelera los procesos de mineralización del suelo. Las nuevas condiciones suelen ser menos favorables para el mantenimiento de la estructura del suelo, lo que lo hace más vulnerable a la erosión y a la pérdida de su capacidad de infiltración del agua de lluvia; esto, a su vez, disminuirá las disponibilidades hídricas para las plantas con la misma cantidad de lluvia (Hernández y Pastor 2008).

La vegetación es capaz de disminuir la energía cinética de la gota de lluvia al interceptarla, reduciendo tanto el volumen como la fuerza erosiva de la misma, protegiendo al suelo del impacto directo de las gotas y de la radiación solar, y mejorándolo físicamente, ya que al aumentar la cobertura vegetal se aumenta el contenido en materia orgánica. Además, se disminuye la energía del flujo de escorrentía con la rugosidad superficial originada por la vegetación, aumentando el volumen de agua infiltrada y actuando las raíces como una red que aumenta la resistencia del suelo al esfuerzo cortante (Pastor y Hernández 2003).

Tormo et al. (2009) han demostrado que la utilización de plantas leguminosas favorece el aumento del contenido de nitrógeno en el suelo de dos formas: 1) mediante la capacidad de fijación de dinitrógeno atmosférico (N_2) de los rizobios, y 2) disminuyendo la concentración de nitratos en las aguas de escorrentía que los atraviesan por la retención de nitratos en sus raíces. Las leguminosas elegidas deben cumplir los siguientes requisitos (Contreras et al. 2015):

1. Desarrollo rápido, pequeño tamaño y buena capacidad de propagación, sin que llegue a convertirse en mala hierba o competencia para los cultivos.
2. Abundantes raíces secundarias que contribuyan a su anclaje al suelo y la fijación de sólidos y percolación del agua, pero sin que igualmente supongan una competencia para el cultivo.
3. Resistencia o falta de interés alimenticio para conejos u otros roedores, que pueden afectar de forma importante al desarrollo vegetal.
4. Disponibilidad en vivero.

Mantener una cubierta apreciable, especialmente de leguminosas, mejora el fondo de fertilidad del suelo de todas las zonas del cultivo, al tiempo que mantiene bajo control el porcentaje de recubrimiento herbáceo para que afecte lo menos posible a la producción del cultivo debida a la competencia por el agua entre las cubiertas y el cultivo (Hernández et al. 2005).

Un suelo degradado suele presentar cubiertas de vegetación espontánea o arvense que contienen el banco de semillas del suelo. Estas cubiertas están formadas por diferentes leguminosas de porte rastrero como *Ornithopus compressus*, *Biserrula pelecinus* y *Trifolium hirtum* (Hernández y Pastor 2008, Tormo et al. 2008, Valladares et al. 2011; Contreras et al. 2015). Otras leguminosas habituales en climas mediterráneos son *Trifolium arvense*, *Lupinus angustifolium*, *Trifolium angustifolium*, *Trigonella polyceratia*, *Vicia lutea* y *Vicia sativa*. Por otra parte, Hernández y Pastor (2008) han demostrado que las cubiertas de veza (*Vicia* sp.) y trébol subterráneo (*Trifolium* sp.) tienen la capacidad de colonizar y mantenerse en suelos degradados.

La capacidad de aportar nitrógeno al suelo varía entre las leguminosas. Diversos autores han determinado esta capacidad utilizando diferentes plantas adaptadas al clima mediterráneo en diferentes tipos de suelo. En general, las leguminosas más recomendadas son, en este orden: *Biserrula pelecinus*, *Trifolium angustifolium*, *Trifolium cennu*, *Medicago minima*, *Trifolium glomeratum*, *Medicago polymorpha*, *Trifolium hirtum*, *Medicago sativa*, *Trifolium subterraneum*, *Trigonella polyceratia* y *Trifolium tomentosum*. El aporte de nitrato de estas plantas varía entre 18,7 mg NO₃/100 g de planta (*B. pelecinus*) y 5 mg NO₃/100 g de planta (*T. tormentosum*) (Hernández y Pastor 2008; Tormo et al. 2009).

En algunas ocasiones la instalación de cubiertas se realiza en combinación con otros tratamientos como la utilización de mantas orgánicas, biorrollos y otras cubiertas. De hecho, se ha demostrado que este tratamiento reduce de forma más eficaz los procesos erosivos (Contreras et al. 2015).

Conclusiones

La utilización de plantas leguminosas es un tratamiento eficaz en la restauración ambiental de taludes o suelos degradados ya que colonizan e incorporan nitrógeno al medio.

Los tratamientos de restauración ambiental que incorporan la utilización de leguminosas son variados y atienden al tipo de sistema a restaurar: revegetación, hidrosiembra o combinación con mantas elaboradas con fibras orgánicas.

La selección de las leguminosas depende del tipo de suelo y tratamiento a utilizar. Se ha demostrado que el aporte de N varía entre plantas y tipo de suelo.

La combinación de leguminosas con otros sistemas de tratamientos como mantas orgánicas o sintéticas puede mejorar la reducción de los procesos erosivos.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Paisajes del Sur (Peligros, Granada) el inestimable apoyo a la investigación en restauración medioambiental que realiza la empresa. También se agradece la ayuda que la Junta de Andalucía presta a los Grupos de Investigación BIO-275 y RNM-270.

Referencias

- Bergen, SD, Bolton S, Fridley, JL. 2001. Design principles for ecological engineering. *Ecol. Eng.* 18: 201-210.
- Bochet E, García-Fayos P. 2004. Factors controlling vegetation establishment and water erosion on motorway slopes in Valencia, Spain. *Rest. Ecol.* 12: 166-174.
- Bochet E, García-Fayos P, Tormo J. 2009. How can we control erosion of roadslopes in semiarid Mediterranean areas? Soil improvement and native plant establishment. *Land. Deg. Dev.* 20: 1-14.
- Bowen CK, Schuman GE, Olson RA, Ingram LJ. 2005. Influence of topsoil depth on plant and soil attributes of 24-year old reclaimed mined lands. *Arid. Land. Res. Mang.* 19: 267-284.

Brofas G and Varelides C. 2000. Hydro-seeding and mulching for establishing vegetation on mining spoils in Greece. *Land. Deg. Dev.* 11:375-382.

Contreras V, Fernández R, Castellano-Hinojosa, A. 2015. Guía del método para la instalación y mantenimiento de los filtros vegetales. Diputación Provincial de Granada. Servicio de Medio Ambiente. Granada. España.

Estarlich E. 1994. Estudio ecológico de taludes de carretera. Tesis Doctoral Universidad de Alcalá. Madrid. España.

García-Fayos P, Recatalá T.M, Cerdà A, Calvo A. 1995. Seed population dynamics on badland slopes in south eastern Spain. *J. Veg. Sci.* 6:691-696.

Gattie DK, Smith MC, Tollner EW, McCutcheon SC. 2003. The emergence engineering as a discipline. *Ecol. Eng.* 20: 409-420.

Giráldez JV, Madrid R, Rodríguez A, Contreras V, Blanca L, Taguas E, Viedma A, Vanwalleghem T, Gómez A. 2014. Manual de técnicas de estabilización biotécnica en taludes de infraestructuras de obra civil. Agencia de Obra Pública de la Junta de Andalucía. Consejería Fomento y Vivienda. Junta de Andalucía. España.

Gómez JA, Fereres E. 2004. Conservación de suelo y agua en el olivar andaluz en relación al sistema de manejo de suelo. Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía, Sevilla. España.

Gómez JA, Taguas EV, Vanwalleghem T, Giráldez JV, Sánchez F, Ayuso JL, Lora A, Mora J. 2011. Criterios técnicos para el control de cárcavas, diseño de muros de retención y revegetación de paisajes agrarios. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. España.

Gray, DH. 1996. Biotechnical and soil bioengineering slope stabilization: a practical guide for erosion control. John Wiley, Nueva York. EEUU

Hernández AJ y Pastor J. 2008. La restauración en sistemas con suelos degradados: estudio de casos en agroecosistemas mediterráneos y taludes de carretera. En: *Contaminación de Suelos. Tecnologías para su Recuperación*. CIEMAT, Madrid. España.

Martínez Ruiz C. 2000. Dinámica de la recuperación de zonas degradadas por movimientos de tierra: sucesión vegetal y clasificación de especies según su actividad colonizadora Tesis Doctoral, Universidad de Salamanca. España.

Mataix C. 2003. Técnicas de revegetación de taludes. En: *Restauración de ecosistemas mediterráneos*. Universidad de Alcalá de Henares. España.

Morgan RP, Rickson RJ. 2003. Slope stabilization and erosion control: a bioengineering approach. Taylor and Francis. Londres. UK.

Muzzi E, Roffi F, Sirotti M, Bagnaresi U. 1997. Revegetation techniques on clay soil slopes in northern Italy. *Land Deg. Dev.* 8: 127-137.

Otero I. 1999. Impacto Ambiental de Carreteras. Evaluación y Restauración. Asociación Española de la Carretera. España.

Pastor M y Castro J. 1995. Sistema de manejo de suelos y erosión. *Olivar*. 59: 64-74.

Pastor J, Hernández A, Estalrich E, Oliver S. 1996. Ecological relationships between species and edaphic factors in degraded soils with strong slopes. In: *Measuring and Modeling Erosion Processes*. First European Conference on Erosion Control. International Erosion Control Association.

Pastor J y Hernández AJ. 2001. Estudio del carácter nitrófilo de las especies de comunidades vegetales pastadas por ganado ovino, vinculado a procesos de antropización. En: *Biodiversidad en Pastos*. Generalitat Valenciana y Cibio. España.

Pastor J y Hernández AJ. 2003. Empleo de cubiertas de trébol subterráneo en olivar y Viñedo frente al laboreo y no laboreo en estos agrosistemas. En: Pastos, desarrollo y conservación. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía. España.

Pastor, J and Hernández AJ. 2004. Ecological engineering in the management of an olive orchard on degraded Soil. In: Managing Land Quality to Reduce Degradation. Quaderna. Alicante. España.

Petersen S, Roundy B, Bryant R. 2004. Revegetation methods for high-elevation roadsides at Bryce Canyon National Park, Utah. *Rest. Ecol* 12:248-257.

Rokich DP, Dixon KW, Sivasithamparam K, Meney KA. 2000. Topsoil handling and storage effects on woodland restoration in western Australia. *Rest. Ecol.* 8:196-208.

Ruiz de la Torre J. 1990. Catálogo de especies vegetales a utilizar en plantaciones de carreteras. MOPU. España

Sprent JI. 2007. Evolving ideas of legume evolution and diversity: a taxonomic perspective on the occurrence of nodulation. *New. Phytol.* 174: 11-25.

Temperton VM, Hobbs RJ, Nettle T, Halle S. 2004 Assembly rules and restoration ecology: bridging the gap between theory and practice. Island Press, Washington. EEUU.

Tormo J, Bochet E, García-Fayos P. 2006. Is seed availability enough to ensure colonization succes? An experimental study in road embankments. *Ecol. Eng.* 26: 224-230.

Tormo J, Bochet E, García-Fayos P. 2007. Road slope revegetation in semiarid Mediterranean environments. Part II: topsoiling, species selection and hydroseeding. *Restor. Ecol.* 15: 97-102.

Tormo J, Bochet E, García-Fayos P. 2009. Restauración y revegetación de taludes de carreteras en ambientes mediterráneos semiáridos: procesos edáficos determinantes para el éxito. *Ecosistemas* 18: 79-90.

Valladares F, Balaguer L, Mola I, Alcántara A, Arias V. 2011. Restauración ecológica de áreas afectadas por infraestructuras de transporte: bases científicas para soluciones técnicas. Fundación Biodiversidad, Madrid. España.

AGROBIODIVERSIDAD DE LEGUMBRES EN GALICIA

Lucía DE LA ROSA; Rosa María GARCÍA; Teresa MARCOS; Juan FAJARDO

Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos, INIA. Alcalá de Henares, Madrid, España

Recibido: 04-October-2016

Aceptado: 16-October-2016

Publicado on-line: 30-Noviembre-2016

Resumen

Las legumbres han representado desde tiempos remotos un componente fundamental de las dietas tradicionales y de los campos de cultivo en Galicia. A lo largo de siglos de mantenimiento y selección de las mejores plantas, los agricultores gallegos han obtenido una abundante diversidad de variedades adaptadas al medio natural y a las prácticas agrícolas locales. En este trabajo se ha estudiado la diversidad de variedades tradicionales de legumbres (con especial énfasis en la judía) que ha sido posible encontrar en las pequeñas explotaciones familiares de las cuatro provincias gallegas. La incorporación de estos valiosos recursos a las colecciones de germoplasma vegetal facilita su utilización en investigación, contribuye a la obtención de nuevas variedades de plantas y permite su reintroducción en los sistemas agrarios en los casos de desaparición.

Abstract

Since ancient times, grain legumes have represented a fundamental component of traditional diets and of crop fields in Galicia. After centuries of maintaining and selecting the best plants, the Galician farmers have obtained a rich diversity of crop varieties adapted to the local environment and agricultural practices. In this work, we have studied the diversity of traditional varieties of the grain legumes (with special attention to beans) that was possible to find in small family farms in the four Galician provinces. The inclusion of these valuable resources into plant germplasm collections facilitates its use in research, contributes to the development of new varieties of plants and makes possible its reintroduction in farm fields in cases of definitive loss.

Introducción

En Galicia las legumbres han tenido un papel muy importante como elementos de la dieta tradicional, y su cultivo siempre ha estado muy presente en las pequeñas explotaciones agrícolas (Casquero et al. 1994). En estos sistemas orientados al autoconsumo familiar, aún es habitual encontrar variedades locales de legumbres, mantenidas y seleccionadas por los agricultores a lo largo de decenios e incluso de siglos. El término legumbres se refiere a las semillas de leguminosas para consumo humano, normalmente como grano seco, entre las que se encuentran las judías, los garbanzos, los guisantes, las lentejas o las habas. Algunas de estas especies se pueden consumir también como vaina verde o grano tierno. Por su importancia en la seguridad alimentaria mundial, Naciones Unidas ha dedicado a estas especies el Año Internacional 2016.

La judía tiene una gran relevancia económica y cultural en todo el norte de España, y en particular en Galicia, donde las “fabas” son un ingrediente esencial del caldo o pote gallego y de otros guisos. A pesar de que la superficie cultivada ha sufrido una notable reducción en las últimas décadas, en esta comunidad autónoma se cultivan el 14% de las judías secas y el 10% de las judías verdes del total nacional (MAGRAMA 2016). Otras legumbres frecuentemente cultivadas en Galicia son los guisantes y, en menor medida, garbanzos, carillas y almortas.

En la judía (*Phaseolus vulgaris* L., aunque también es frecuente encontrar bajo esta denominación las especies *P. coccineus* L. y *P. lunatus* L.), se diferencian dos zonas de origen o acervos genéticos en función de los datos morfológicos y bioquímicos disponibles: el mesoamericano (México y América Central) y el andino (Perú, Chile y Ecuador), aunque estudios recientes (Mamidi et al. 2011) sugieren un único evento de domesticación seguido de una migración bidireccional de las formas cultivadas y silvestres. La alta capacidad de la judía para adaptarse a diferentes ambientes ha permitido su cultivo prácticamente en todas las regiones del mundo y ha generado una gran diversidad de hábitos de crecimiento, características de la semilla y maduración, entre otros aspectos. Resulta en la práctica imposible estimar el número de variedades de judía que se cultivan o se han cultivado, pero sirvan de aproximación las 260.000 muestras que se conservan en los bancos de germoplasma de todo el mundo (FAO 2010). En los huertos tradicionales gallegos todavía es posible encontrar una considerable diversidad para este cultivo, que ha sido ampliamente estudiada por el Grupo de Biología de Agrosistemas de la Misión Biológica de Galicia (MBG) del CSIC liderado por el Dr. A. M. De Ron (Escribano et al. 1998; Santalla et al. 2002; Rodiño et al. 2003; Casquero et al. 2006; entre otros). Entre las variedades locales de judías gallegas se puede destacar, por su impacto en la economía local, la Faba de Lourenzá, que actualmente cuenta con una Indicación Geográfica Protegida.

El guisante también es un cultivo frecuente en los huertos familiares, aunque la superficie de producción es menor que la de la judía. El ya citado grupo de investigación de la MBG ha estudiado la diversidad de variedades locales de esta especie y ha encontrado caracteres de interés para programas de mejora relacionados con el incremento de la producción (Santalla et al. 2001; Amurrio et al. 2001).

Desde 1986 el Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos (CRF) del INIA trabaja en la recolección de variedades tradicionales de especies cultivadas, con el objetivo de asegurar su conservación a largo plazo en el banco de germoplasma, bajo condiciones controladas y constantes de frío y baja humedad, y de esta forma evitar su pérdida definitiva. Así, estos recursos están a disposición de distintos colectivos interesados en su uso, como los investigadores, los obtentores de nuevas variedades y los agricultores interesados en la recuperación de variedades tradicionales. Entre 1978 y 2014 el CRF realizó expediciones de recolección en 42 provincias españolas en las que se han recolectado un total de 4599 muestras de leguminosas (De la Rosa y Fajardo 2016). En esta línea de trabajo, en 2011 se inició un proyecto de prospección y recolección en las cuatro provincias de Galicia con el propósito de evaluar la situación de conservación de las variedades tradicionales en la comunidad autónoma, recolectar variedades de interés para su conservación, y finalmente incorporarlas en las colecciones activas de la Red de Colecciones del Programa Nacional de Recursos Fitogenéticos, así como en la colección base del CRF. El proyecto se

centró en las variedades tradicionales que se mantienen en huertos familiares, principalmente de especies hortícolas y de leguminosas. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos, con especial atención a las leguminosas, y se analiza la diversidad de las muestras recolectadas.

Material y Métodos

El trabajo de recolección de germoplasma en las cuatro provincias de Galicia se realizó entre los años 2011 y 2014, a razón de una provincia por año. En la fase de prospección previa a la recolección se estudió la situación de los diferentes cultivos de la zona y se recopiló información geográfica, etnobotánica y agronómica que permitió determinar las especies y áreas de recolección prioritaria. La información recabada se contrastó con la de las especies y tipos varietales originarios de cada zona ya conservados en bancos de germoplasma, con el fin de evitar la incorporación de duplicados en las colecciones.

La localización de los potenciales donantes fue posible gracias a la colaboración de los agentes de las Oficinas Agrarias Comarcales (OAC) y de la Consellería do Medio Rural de la Xunta de Galicia. En la organización del territorio agrario de Galicia se diferencian tres niveles administrativos: provincia, área y OAC. Durante la fase de prospección se establecieron contactos con todos los responsables de áreas y OAC, y se contó con la colaboración de los técnicos de la práctica totalidad de estas Oficinas: 16 en Ourense, 17 en Lugo, 18 en A Coruña y 16 en Pontevedra. En total se visitaron 299 localidades de las cuatro provincias gallegas.

Una vez establecidos los materiales y las zonas de interés y prefijados los itinerarios de trabajo, la recolección de semillas se realizó siguiendo las recomendaciones de Rao et al. (2006), registrando además la información etnobotánica asociada a cada muestra: nombres locales, usos específicos y métodos de cultivo.

Finalizadas las campañas de campo, el material se depositó en el CRF, donde se procesó siguiendo el protocolo habitual en este banco de germoplasma, y que comprende las operaciones de registro, limpieza, desecación, test de germinación, inclusión en las colecciones de conservación y documentación en las bases de datos. Las entradas con bajos niveles de germinación o con insuficiente cantidad de semilla se multiplicaron en los ensayos de campo rutinarios del CRF. Desde ese momento, las semillas están disponibles a través de la web del Inventario Nacional de Recursos Fitogenéticos y de la página web del CRF. Se ha realizado una caracterización preliminar del material recolectado en base a caracteres morfológicos, siguiendo las normas aceptadas internacionalmente para cada especie (IBPGR 1982; UPOV 2009).

Resultados y Discusión

El análisis de la información recopilada durante la fase de prospección indicaba que, hasta el momento de realizar este trabajo, la recolección de variedades locales en Galicia se había centrado en un número reducido de especies de interés para algunos grupos de investigación y mejora, en concreto maíz, brásicas, judía y algunos frutales, sin haberse abordado hasta este momento ningún trabajo de recolección multicultivo. Si bien las colecciones de leguminosas

conservadas en la Red de Colecciones del Programa Nacional antes de este trabajo representaban una importante diversidad (De la Rosa et al. 2012), se consideró necesario completarlas mediante un trabajo sistemático y exhaustivo de prospección y recolección en Galicia.

Durante las expediciones se recolectaron un total de 1067 muestras de plantas cultivadas, de las cuales 276 son leguminosas pertenecientes a siete especies (tabla 1).

Tabla 1. Número de muestras de leguminosas recolectadas en Galicia entre 2011 y 2014.

Cultivo	Nombre científico	Nº de muestras
Judía	<i>Phaseolus vulgaris</i>	167
Guisante	<i>Pisum sativum</i>	44
Judión	<i>Phaseolus coccineus</i>	29
Haba	<i>Vicia faba</i>	16
Garbanzo	<i>Cicer arietinum</i>	12
Carilla	<i>Vigna unguiculata</i>	6
Almorta	<i>Lathyrus sativus</i>	2

Este trabajo ha supuesto un incremento muy importante del número de entradas respecto a las leguminosas gallegas previamente conservadas en las colecciones de la Red Nacional (principalmente las de la MBG y del CRF), de forma más notoria en el caso de garbanzos, habas y carillas (García et al. 2016). La figura 1 indica la ubicación de las 121 localidades de 88 municipios en las que se han obtenido muestras. Como se puede observar, la recolección de leguminosas se distribuyó uniformemente por todo el territorio gallego. La provincia en la que se encontró más material de interés fue Ourense, donde se recolectaron 103 muestras, seguida de Pontevedra con 68, Lugo con 64 y A Coruña con 41.

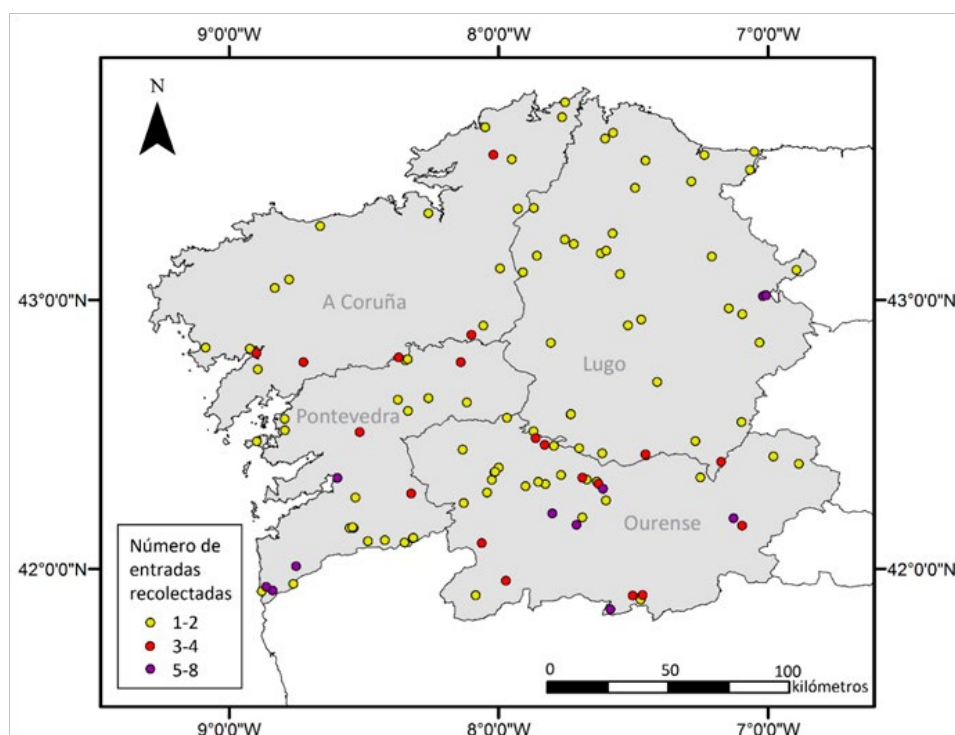


Figura 1. Lugares de recolección de leguminosas entre 2011 y 2014, por número de entradas recolectadas.

En el caso de la judía se prestó especial atención a las zonas donde no se había recolectado aún esta especie, obteniéndose 196 muestras del género *Phaseolus*, de las cuales 167 pertenecen a la especie *vulgaris* o judía común. En Galicia los nombres más utilizados para esta especie son *sonfaba* o *feixón* cuando se utiliza para consumo en seco, y *xudía* o *feixón verde* cuando la variedad se utiliza para consumo de la vaina verde. En cuanto al hábito de crecimiento de las plantas, aproximadamente el 60% de las muestras correspondió a tipos de mata alta o de enrame cultivados en algunos casos en asociación con maíz, y el 40% fueron de mata baja o crecimiento determinado. El color de las vainas fue generalmente verde, con alguna excepción de amarillo o con dibujo jaspeado púrpura. En la figura 2 se recoge una selección de la diversidad morfológica de semillas. En cuanto al color, el mayoritario era el blanco (28%), seguido del bicolor crema/púrpura (tipo pinta, 25%) y el marrón (12%), aunque también se recolectaron semillas de color crema, amarillo, gris, morado y negro, así como judías de tres colores (tipo judía de la Virgen). Como ejemplo de semilla de color oscuro es destacable la muestra azul recolectada en Ribeira de Piquín (Lugo). También se detectó una gran variabilidad en cuanto al tamaño del grano, con pesos de 100 semillas que variaron entre 18 y 96 g, lo que en términos de número de semillas por kilo equivale a un rango aproximado de entre 1000 y 5500. En cuanto a los usos referidos por los agricultores, la judía se puede utilizar en tres estados fenológicos distintos, que corresponden a la vaina verde, el grano tierno o pocha (que se puede considerar un uso reciente) y el grano seco. Es habitual que la misma variedad tenga más de un uso, y de hecho, según la información proporcionada por los donantes, aunque el 44% de las muestras recolectadas se empleaban como grano seco y el 34% para consumo en verde, un porcentaje nada desdeñable (12%) tenía doble uso como grano seco y vaina verde.



Figura 2. Diversidad en semilla de judías recolectadas en distintos municipios de Galicia: de arriba a abajo, y de izquierda a derecha: *faba blanca* de O Belleriza (Xunqueira de Espadanedo, Ourense), *faba pinta* de Pinza (Viana do Bolo, Ourense), *frejol* de Santalla (Ribeira de Piquín, Lugo), *faba* de Liñares (Rois, A Coruña), *feixón* de A Granxa (Arbo, Pontevedra) y *xudía* de Cotobade (Pontevedra).

De la especie *Phaseolus coccineus* (judión en castellano) se recolectaron 29 entradas. Este cultivo se conoce en Galicia principalmente como *faboca* o *faba loca* aunque también se utilizan los nombres locales de *fabois*, *fabada*, *fabelloto* o *faba de sete anos*, entre otros. Casi todas las muestras recolectadas (25) tenían color blanco, y el resto presentaban otros colores: púrpura con ornamentación negra (2), marrón con ornamentación negra (1), o mezcla de colores (1) (figura 3). En cuanto al tamaño del grano, el rango del peso de 100 semillas osciló entre 87 y 259 g, equivalente a entre 400 y 1100 semillas por kilo, aproximadamente.



Figura 3. Muestras de *Phaseolus coccineus* recolectadas en Galicia. De arriba a abajo, y de izquierda a derecha: *faba de potaxe* de Mugueimes (Muíños, Ourense), *fabacón* de Vidiferre (Oimbra, Ourense), *fabelloto* de Cancelas (Guitiriz, Lugo), *fabon negro* de Mosteiro (Navia de Suarna, Lugo), *faba de Costa* (O Covelo, Pontevedra) y *haba de fabada* de Arcade de Vesa (Soutomaior, Pontevedra).

El guisante (*Pisum sativum* L.), conocido también en Galicia con los nombres de chícharo, tirabeque, arvello o garbanzo, se recolectaron 40 muestras. Más del 70% eran de mata alta, frente al 30% restante de mata baja. El color de flor predominante fue el blanco, que apareció en el 66% de las entradas, correspondiendo el resto a flores rosas, lilas o moradas. También se observó una gran diversidad en cuanto a la morfología de las semillas, tanto en el peso, donde se encontraron valores de entre 12 y 30 g por 100 semillas (entre 3300 y 8300 semillas por kilo), como en los colores y patrones de ornamentación (figura 4). Los guisantes recolectados se destinaban principalmente al consumo humano en fresco, aunque en algunos casos también se hizo referencia al uso en seco para caldos y cremas.

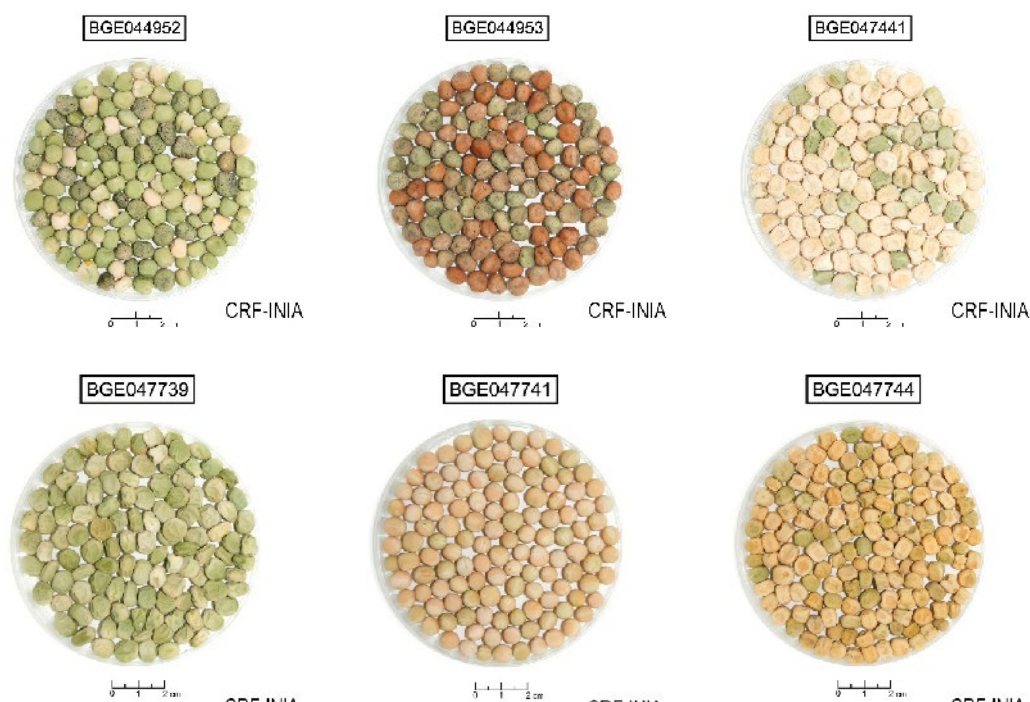


Figura 4. Diversidad morfológica en guisantes recolectados en Galicia. De arriba a abajo y de izquierda a derecha: *guisante* y *tirabeque* de San Martiño de Quiroga (Quiroga, Lugo), *guisante* de O Belleriza (Xunqueira e Espadanedo, Ourense), *ervilla* de Lagos (O Rosal, Pontevedra), *ervillade Fouciño* de Casas (Ponteareas, Pontevedra) y *guisante* de Sta. Mariña (Boqueixón, A Coruña).

Se recolectaron 16 muestras de habas (*Vicia faba* L.), para las que se emplean también otros nombres como *faba loba*, *faba carracha*, *faboca* o *fabola*. La morfología de semillas correspondía en todos los casos a las formas denominadas *major*, de semilla grande (figura 5) con un peso entre 1,06 y 2,32 g cada una. Aunque a veces se emplea en seco para la elaboración de caldos, el uso mayoritario es el del grano verde para alimentación humana.



Figura 5. Diversidad morfológica en habas recolectadas en Galicia. De izquierda a derecha: *faba carracha* de La Marquesa (Ourense), *fabola* de Loureiro (Ortigueira, A Coruña) y *faba* de Arcade de Vesa (Soutomaior, Pontevedra).

Otras leguminosas que también se recolectaron en este proyecto, aunque en menor proporción, fueron los garbanzos (*Cicer arietinum* L.), las carillas (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) y las almortas (*Lathyrus sativus* L.). Los garbanzos, encontrados casi únicamente en la provincia de Ourense, presentaron en general formas de semilla pequeña de tipo pedrosillano, aunque también se recolectaron una muestra con semilla pigmentada y otra con semilla grande de color claro (figura 6).

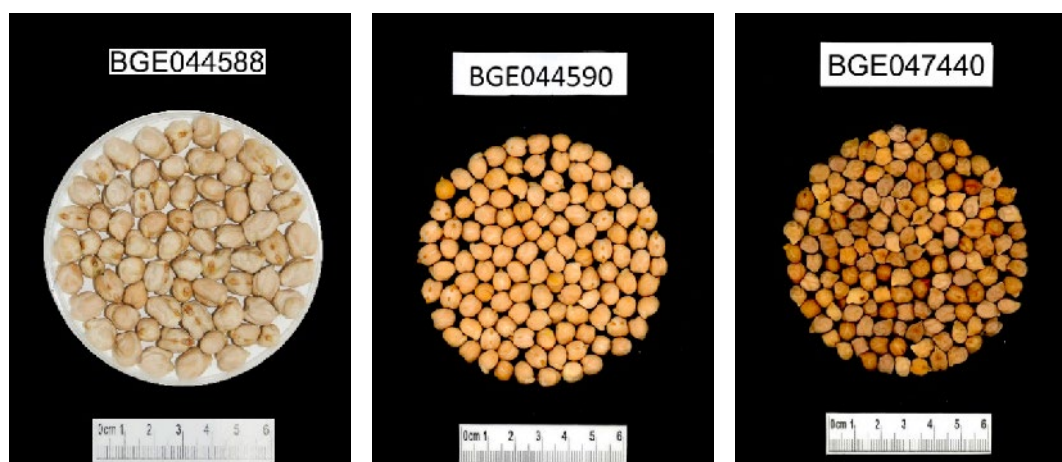


Figura 6. Diversidad morfológica en semilla de garbanzos recolectados Galicia en Bustelo (Xunqueira de Ambia), en Vidiferre (Oimbra) y en Quintela do Pando Viana do Bolo). Los tres lugares se localizan en la provincia de Ourense.

Las carillas, conocidas con distintos nombres locales, son blancas con el hilo negro en todos los casos excepto en una muestra con semilla negra. Las dos muestras de almortas recolectadas son de semilla blanca, se utilizan en verde para guisos, y se conocen con los nombres locales de *cantuda* y *muela* (figura 7).



Figura 7. Carillas y almorta recolectadas en Galicia. De izquierda a derecha: *xudía* de Laias (Cenlle, Ourense), *cagarrucho* de Sta. Mariña (O Rosal, Pontevedra) y *cantuda* de O Picouto (San Cibraio as Viñas, Ourense).

Conclusiones

A pesar de la drástica disminución del uso de variedades tradicionales en los sistemas agrarios en las últimas décadas, en las pequeñas explotaciones gallegas de carácter familiar aún se mantiene una rica diversidad genética de leguminosas. Esta diversidad se manifiesta por un lado en las diferencias morfológicas entre las numerosas variedades que se cultivan, y por otro en los conocimientos tradicionales asociados.

Las muestras de leguminosas recolectadas en Galicia, principalmente de judías y guisantes, han permitido completar notablemente las colecciones de germoplasma existentes, evitando así su desaparición definitiva y facilitando su utilización en la investigación básica y aplicada y en la recuperación de variedades locales. Este patrimonio genético tiene un enorme valor potencial para responder a las demandas de los sistemas agrarios cambiantes.

Agradecimientos

A los agricultores gallegos por su anónima labor de mantener en los huertos y campos de cultivo las valiosas variedades heredadas de sus antepasados, y por su hospitalidad y generosidad al donar sus semillas y transmitir sus conocimientos. Al personal de la Xunta de Galicia, especialmente a todos los técnicos de las OAC que han colaborado en este trabajo. Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación del INIA, los fondos FEDER y el MAGRAMA.

Referencias

- Amurrio M, De Ron AM, Santalla M. 2001. Variedades de guisante aptas para producción de vaina inmadura. Boletín Informativo SECH 14 (1): 3-7.
- Casquero PA, Santalla M, De Ron AM. 1994. Cultivo asociado judía-maíz: Su papel dentro de una agricultura sostenible en Galicia. Agricultura, 742:397-401.
- Casquero P A, Lema M, Santalla M, De Ron AM. 2006. Performance of common bean landraces from Spain in the Atlantic and Mediterranean environments. Genetic Resources and Crop Evolution 53: 1021-1032.
- De la Rosa L, Aguiriano E, Fajardo J. 2012. Colecciones de leguminosas grano conservadas *ex situ* en la Red Española de Recursos Fitogenéticos. Actas de la Asociación Española de Leguminosas 5:179-190.
- De la Rosa L, Fajardo J. 2016. La agrobiodiversidad como elemento de la seguridad alimentaria y ambiental. Arbor 192 (779): a316.
- Escribano M R, Santalla M, Casquero P A, De Ron A M. 1998. Patterns of genetic diversity in landraces of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from Galicia. Plant Breeding 117: 49-56.
- FAO. 2010. Segundo informe sobre el estado de los recursos fitogenéticos para la alimentación y la agricultura en el mundo. Comisión de recursos genéticos para la alimentación y la agricultura. Roma, Italia.
- García RM, Peluzzo A, Larreina JR, Berrio FJ, Marcos T, De la Rosa L. 2016. Galicia como refugio de agrobiodiversidad de alto interés. Actas de Horticultura 72: 15-16.
- IBPGR. 1982. Descriptors for *Phaseolus vulgaris* L. International Board for Plant Genetic Resources, Roma, Italia.
- MAGRAMA. 2016. Encuesta sobre superficies y rendimientos de cultivos. Resultados 2015. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Madrid.
- Mamidi S, Rossi M, Annam D, Moghaddam S, Lee R, Papa R and McClean P. 2011. Investigation of the domestication of common bean (*Phaseolus vulgaris*) using multilocus sequence data. Functional Plant Biology 38:953-967.
- Rao NK, Hanson J, Dulloo ME, Ghosh K, Nowell D, Larinde M. 2006. Manual of seed handling in genebanks, Handbooks for Genebanks No. 8. Bioversity International. Roma, Italia.
- Rodiño A P, Santalla M, De Ron AM, Singh, SP. 2003. A core collection of common bean from the Iberian Peninsula. Euphytica 131: 165-175.
- Santalla M, Amurrio JM, De Ron AM. 2001. Food and feed potential breeding value of green, dry and vegetable pea germplasm. Canadian Journal of Plant Science, 81(4), 601-610.
- Santalla M, Rodiño A P, De Ron A M. 2002. Allozyme evidence supporting southwestern Europe as a secondary center of genetic diversity for common bean. Theoretical Applied Genetics 104: 934-944.
- UPOV. 2009. Pea. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability. TG/7/10 Rev. International Union for the Protection of New Varieties of Plants. Ginebra, Suiza.

Recursos web

CSIC. Publicaciones del Grupo de Biología de Agrosistemas de la Misión Biológica de Galicia. <http://www.mbg.csic.es/publicaciones>

FAO. Año Internacional de las Legumbres 2016. <http://www.fao.org/pulses-2016/es/>

INIA. Inventario Nacional de Recursos Fitogenéticos. <http://wwwx.inia.es/inventarionacional/>

INIA. Colecciones de germoplasma vegetal del Centro Nacional de Recursos Fitogenéticos. <http://wwwx.inia.es/coleccionescrf/>

EL AÑO INTERNACIONAL DE LAS LEGUMBRES

Alfonso CLEMENTE

Presidente de la Asociación Española de Leguminosas. Estación Experimental del Zaidin (EEZ-CSIC). Granada, España

Recibido: 03-Octubre-2016

Aceptado: 16-Octubre-2016

Publicado on-line: 30-Noviembre-2016

Introducción

Siguiendo la resolución 6/2013 de la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Asamblea General de las Naciones Unidas, en su 68º período de sesiones, proclamó el año 2016 **Año Internacional de las Legumbres (AIL)** (<http://www.fao.org/pulses-2016/es/>). La celebración de este año está siendo coordinada por la FAO en colaboración con gobiernos, organismos, organizaciones no gubernamentales y distintos actores sociales. Los objetivos principales del AIL son sensibilizar a la opinión pública sobre:

- la importancia de las legumbres en el desarrollo de una agricultura sostenible y compatible con la conservación del medio ambiente
- las ventajas nutricionales que presentan formando parte de una producción de alimentos sostenible, contribuyendo a la mejora de la seguridad alimentaria y la nutrición.

Importancia de las leguminosas en un mundo sostenible

Las leguminosas constituyen una de las familias botánicas (*Papilionaceae*) más importantes desde el punto de vista socioeconómico, con notables implicaciones en nuestra agricultura, medio ambiente y alimentación. Las legumbres son definidas como semillas comestibles, secas, limpias, sanas y separadas de las vainas, siendo utilizadas en nutrición humana y animal. Algunas de las legumbres más consumidas incluyen a garbanzos (*Cicer arietinum*), lentejas (*Lens culinaris*), habas (*Vicia faba*), judías (*Phaseolus vulgaris*), guisantes (*Pisum sativum*) y altramuces (*Lupinus albus*; *Lupinus mutabilis*,...). La FAO no considera legumbres las especies utilizadas como hortalizas (tales como guisantes o judías verdes), aquellas destinadas a la extracción de aceite (tales como soja y cacahuete) u otras con fines de siembra (tales como alfalfa y trébol) (FAO, 1994).

A continuación, se describen algunos aspectos de interés que justifican la proclamación del Año Internacional de las Legumbres por Naciones Unidas:

1. En la agricultura y medio ambiente:

Las leguminosas juegan un papel importante en un desarrollo rural sostenible. Estas son capaces de fijar el Nitrógeno atmosférico en simbiosis con bacterias

(rizobios). La fijación de Nitrógeno favorece la productividad de los cultivos; así, cantidades significativas de Nitrógeno (en el rango 50-670 kg N/ha/año dependiendo de la eficiencia del par planta-bacteria) permanecen en el suelo favoreciendo la rotación de cultivos, fundamentalmente cereales. La fijación de Nitrógeno reduce las cantidades de abonos nitrogenados necesarios para el cultivo, disminuyendo el coste económico e impacto medioambiental causado por el uso excesivo de fertilizantes. Por otro lado, se ha demostrado que las plantas que fijan Nitrógeno simbióticamente son capaces de asimilar mayores cantidades de CO₂, ejerciendo este hecho un efecto positivo frente al cambio climático. Otros efectos beneficiosos de las leguminosas en nuestra agricultura son la mejora en la estructura del suelo, su capacidad de romper ciclos de enfermedades y plagas así como el papel que juegan favoreciendo la biodiversidad de nuestros ecosistemas. Así, muchas aves esteparias utilizan de manera continua y selectiva los cultivos de leguminosas, especialmente alfalfas de secano, como fuente de proteínas.

2. En la alimentación humana:

Las legumbres constituyen un componente importante de la dieta Mediterránea y juegan un papel esencial en la dieta de numerosos países en desarrollo. Las legumbres son fuentes reconocidas de proteínas, almidón, fibra, vitaminas y minerales (Delgado-Andrade et al. 2016). Las legumbres se caracterizan por su elevado contenido proteico, muy superior al de cereales, si bien muestran una elevada variabilidad (20-50%), dependiente de la especie, genotipo y condiciones medioambientales. Respecto a su composición en aminoácidos, las proteínas de legumbres muestran un elevado contenido en lisina y bajo contenido en aminoácidos azufrados (metionina y cisteína). Esto las hace complementarias a las de cereales; así, la combinación legumbre-cereal -presente en todas las gastronomías del mundo- alcanza una calidad proteica algo inferior a las de origen animal, tales como las de la leche y el huevo. Por otro lado, la fracción proteica de legumbres contiene péptidos bioactivos con propiedades beneficiosas para la salud humana, pudiendo formar parte de formulaciones infantiles y de aquellas destinadas a la nutrición clínica (Clemente 2000). Desde el punto de vista composicional, los carbohidratos constituyen la fracción más importante de las legumbres, siendo sus componentes principales el almidón, la fibra (soluble e insoluble) y los oligosacáridos, con implicaciones relevantes en salud digestiva. Una de las principales características de estos carbohidratos es su resistencia al proceso digestivo, lo que contribuye al bajo índice glicémico de las legumbres (Messina 2014). Además, las legumbres muestran un bajo contenido lipídico, siendo especialmente bajo en judías y lentejas, con valores en el intervalo 1-2%; esta fracción está constituida fundamentalmente por grasas mono- y poli-insaturadas. Por ello, distintas agencias internacionales recomiendan como hábito saludable el consumo regular de legumbres como alternativa a la carne con objeto de disminuir la ingesta de grasa saturada. Finalmente, las legumbres constituyen una buena fuente de vitaminas del complejo B así como de minerales, tales como hierro, zinc y calcio.

3. En la salud humana:

Numerosos estudios evidencian el papel beneficioso que presentan el consumo de legumbres en salud cardiovascular, control de peso, salud gastrointestinal y diabetes (tabla 1). En términos de salud cardiovascular, se ha demostrado que el consumo de proteínas de altramu, guisante y soja reducen los niveles de presión arterial y de colesterol en sangre. De este modo, se ha observado que un consumo de legumbres de cuatro raciones disminuye el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares de manera significativa (22 %) frente a individuos cuya ingesta es inferior a una ración (Bazzano et al. 2011). Recientemente, se ha demostrado la importancia de las legumbres en dietas hipocalóricas, reduciéndose tras su ingesta el nivel de marcadores pro-inflamatorios y mejorando ciertas características metabólicas en individuos con sobrepeso y obesidad (Abete et al. 2009; Hermsdorff et al. 2011). La presencia de cantidades significativas de almidón resistente al proceso digestivo así como su elevado contenido en fibra soluble, superior al de cereales, y oligosacáridos ha sido relacionada con una mejora en salud gastrointestinal. En particular, por su efecto promotor de la motilidad intestinal y bifidogénico con la formación de ácidos grasos de cadena corta como consecuencia del proceso fermentativo, tales como el butírico y propiónico, con propiedades beneficiosas para la salud local y sistémica (Fernández et al. 2015; Simpson y Campbell 2015). Por otro lado, investigaciones recientes apuntan a que las legumbres pueden jugar un papel importante en la prevención y tratamiento de la diabetes (Jenkins et al. 2012). Estudios epidemiológicos han demostrado que el consumo de 2-3 raciones de legumbres por semana reduce un 20-35 % el riesgo de padecer diabetes (Kirpich y Maryniuk 2011). Por otro lado, la ingesta de conglutina gamma, una proteína presente en altramu, reduce los niveles de glucosa e insulina en sangre de manera dosis-dependiente (Bertoglio et al. 2012). Si bien existen numerosas evidencias científicas que demuestran las propiedades beneficiosas de las legumbres en la salud humana, será necesario realizar estudios adicionales de intervención en humanos, robustos y bien diseñados, debiendo conocerse los mecanismos de acción de sus principales compuestos bioactivos con objeto de ser utilizados en medicina preventiva y/o terapéutica.

Tabla 1. Efectos beneficiosos del consumo de legumbres en la salud humana

Salud/enfermedad	Evidencias científicas	Componentes bioactivos
Salud cardiovascular	disminución de presión sanguínea reducción de tejido adiposo disminución de colesterol y triglicéridos en sangre	proteínas de altramu proteínas de soja* y altramu, garbanzo germinado**
Obesidad	incremento periodo saciedad regulación de hormonas digestivas	almidón resistente y fibra
Salud gastrointestinal	efecto bifidogénico efecto anti-inflamatorio y anti-cancerígeno	α -galactósidos, fibra soluble, almidón resistente inhibidores Bowman-Birk, lunasina
Diabetes tipo-2	bajo índice glicémico disminución resistencia insulina	sustitución de carnes rojas por legumbres (2-3 raciones/ semana) (altramu, soja y otras)

*La FDA (1999) aprobó la alegación de salud soja-salud cardiovascular debiendo contener el alimento 6,25 g de proteína.

** Durante el proceso de germinación ocurre la síntesis de compuestos bioactivos responsables de tales efectos.

El consumo de legumbres en España

España es uno de los países europeos cuyos ciudadanos consumen más legumbres (FAOSTAT2015). No obstante, los datos de consumo de los hogares españoles recogidos en el Panel de Consumo Alimentario del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (MAGRAMA) señalan que, en las últimas décadas, ha ocurrido un descenso muy significativo, superior al 60%, en el consumo de legumbres. A comienzos de la década de los 90, el consumo de legumbres se situaba en valores de 7,4 kg por persona/año, siendo utilizadas en la cocina tradicional casi a diario. En el periodo 2000-2008, se produjo un descenso pronunciado en el consumo de legumbres, con valores medios en torno a 4,4-4,9 kg por persona/año, siendo este consumo independiente del status socioeconómico de los individuos y del tamaño del hábitat en el que residían. En 2014, el volumen de legumbres consumidas en España fue de 140888 Tm, con un consumo anual per cápita de 3,1 kilos. En la actualidad, los garbanzos (1,25 kg/cápita), las judías o alubias (0,93 kg/cápita) y las lentejas (0,93 kg/cápita) son las legumbres más consumidas en los hogares españoles. Existen evidencias de una clara evolución de nuestra dieta hacia patrones más occidentalizados, aunque ésta continua siendo rica en productos vegetales como futas y hortalizas y menos en legumbres y cereales. Este descenso significativo en el consumo de legumbres puede ser debido a numerosos factores, incluidos los cambios en los modelos socioeconómicos, modelos de producción y estilos de vida de los ciudadanos. Esto debe ser corregido con políticas de promoción de dieta saludable así como por medidas de adaptación al nuevo mercado con la aparición de nuevos productos que vayan orientados a las preferencias actuales del consumidor.

En los últimos años, y con objeto de fomentar una alimentación saludable, se han publicado recomendaciones sobre la ingesta de legumbres por parte de distintas Administraciones y Agencias, de ámbito nacional e internacional. Generalmente, las recomendaciones se suelen expresar en términos de raciones/semana, definiéndose ración como la cantidad equivalente a 60-80 gramos de legumbres en crudo o 150-200 gramos cocidas. Atendiendo a las recomendaciones de la Fundación Española de la Nutrición, se aconseja un consumo semanal de 2-3 raciones de legumbres, siendo el consumo actual de la población adulta española de 1,4 raciones por semana. Otras agencias internacionales han publicado recomendaciones relativas al consumo de legumbres como elementos claves de una dieta saludable. Así, el Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA) y el Comité de Nutrición de Legumbres y Cereales de Australia (<http://www.glnc.org.au>) recomiendan consumir al menos 2-3 raciones de legumbres a la semana con objeto de reducir el riesgo de enfermedades crónicas como la diabetes, cáncer y enfermedades cardiovasculares. Por otro lado, la Asociación Americana del Corazón recomienda consumir al menos 4 raciones a la semana de legumbres, frutos secos y semillas para una dieta standard de 2000 kcal (www.heart.org). Sin duda, el cambio de tendencia en la población española requerirá de políticas de promoción de dieta saludable donde las legumbres deben jugar un papel muy importante.

La Asociación Española de Leguminosas (AEL) en el Año Internacional de las Legumbres

La AEL (www.leguminosas.es) fue fundada en el año 2000, y tiene como finalidad el apoyo y la promoción de las leguminosas en España mediante la coordinación de acciones de investigación en colaboración con el sector agrícola español, promoviendo foros de discusión entre los

distintos interlocutores sociales, defendiendo la biodiversidad y fomentando nuevos usos de las legumbres. La AEL se postula como un catalizador en las relaciones entre la Administración, Consejos Reguladores, asociaciones, empresas y consumidores. En la actualidad, es miembro de la Confederación de Sociedades Científicas de España (COSCE) y de la Red Rural Nacional (www.redruralnacional.es). La AEL mantiene contactos permanentes con el sector productivo, siendo socios algunos de los Consejos Reguladores de las denominadas legumbres de calidad con Indicación Geográfica Protegida, asociaciones de agricultores y empresas del sector. Durante el Año Internacional de las Legumbres, la AEL ha tratado de asesorar a distintas instituciones, tales como el Museo Nacional de Ciencias Naturales, Universidades, colegios,... así como distintos colectivos sensibilizados por la repercusión e importancia de dicha celebración. En colaboración con el INIA y CSIC, ha celebrado el XXVIII Foro INIA de Colaboración “Leguminosas. Producción y consumo. Una revolución pendiente” con más de 200 asistentes, estando representados todos los actores implicados, incluyendo la Administración, Consejos reguladores, agricultores, investigadores y asociaciones de consumidores.

Durante este Año Internacional, la AEL ha firmado convenios de colaboración estratégicos: 1) con la Fundación Triptolemos que engloba los distintos Campus Agroalimentarios de Excelencia y que participa de la Cátedra Unesco sobre seguridad y sostenibilidad alimentaria; 2) con Mensa Cívica, una organización sin ánimo de lucro centrada en los comedores colectivos y en una alimentación saludable y responsable, la cual ha organizado la campaña *Descubre las legumbres 2016* con objeto de dar a conocer las bondades de las legumbres a la población infantil; y 3) con el Consejo General de Nutricionistas y Dietistas de España con el objeto de lanzar una campaña de promoción de consumo de legumbres. Asimismo, ha organizado y/o participado en jornadas centradas en las legumbres tales como las celebradas en la Estación Experimental del Zaidín (Granada, CSIC) con motivo del *Día Internacional de la Fascinación por las Plantas*, en el Campus Agroalimentario de Torribera (Universidad de Barcelona) bajo el título *Las leguminosas: una revolución gastronómica pendiente*, o diversas actividades en *La Noche de los Investigadores* en distintas poblaciones del territorio nacional. Asimismo, en estrecha colaboración con la Vicepresidencia Adjunta de Cultura Científica del CSIC la AEL ha participado en actividades del ciclo *Qué sabemos de?*, así como en la coordinación del libro de divulgación *Las Legumbres* que será publicado a finales de este año 2016 y que engloba de manera multidisciplinar el conocimiento de más de 40 expertos desde una perspectiva histórica, gastronómica, medioambiental, agronómica y nutricional. La divulgación ha sido un eje principal de las actividades desarrolladas por la Asociación Española de Leguminosas con objeto de dar a conocer la importancia de su cultivo desde un punto de vista agronómico y medioambiental, así como su importancia en la nutrición y propiedades beneficiosas para la salud humana. En este sentido, la AEL ha colaborado con periódicos generalistas, páginas webs especializadas, programas radiofónicos de distinta naturaleza, blogs y mediante la utilización de las redes sociales.

Asimismo, la AEL ha difundido su conocimiento y actividades a través de su página web www.leguminosas.es. La importancia de las legumbres en la gastronomía ha merecido especial atención dado que constituye una manera muy efectiva para difundir su consumo no sólo a través de platos tradicionales sino a través de formas de presentación innovadoras.

En este sentido, caben destacar la ya mencionada jornada gastronómica celebrada en el Campus de Torribera, el co-patrocinio junto con la Fundación Triptolemos del premio Universidad de Barcelona-Ferrán Adriá 2016 sobre legumbres, la jornada de gastro-emprendedores organizada por la Cámara de Comercio de Ciudad Real, la V Feria de la lenteja de Tierra de Campos en Mayorga o la gincana gastronómica co-organizada con la Universidad de Córdoba durante la Noche de los Investigadores. En definitiva, son muchas las actividades que ha realizado la AEL con múltiples enfoques y formatos durante este Año Internacional de las Legumbres con la intención de dar a conocer los beneficios de las leguminosas en un mundo sostenible. La AEL pretende que estas actividades y colaboraciones tengan continuidad más allá de este Año Internacional, en el que deben intensificarse las colaboraciones con el sector productivo, la comunidad científica, la Administración y los consumidores.

Referencias

- Abete, I.; Parra, D.; Martínez, J.A. 2009. Legume-, fish-, or high protein-based hypocaloric diets: effects on weight loss and mitochondrial oxidation in obese men. *Journal of Medicinal Food* 12 (1): 100-108.
- Bazzano, L.A.; Thompson, A.M.; Tees, M.T.; Nguyen, C.H.; Winham, D.M. 2011. Non-soy legume consumption lowers cholesterol level: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases* 21 (2): 94-103.
- Bertoglio, J.C.; Calvo, M.A.; Hancke, J.L.; Burgos, R.A.; Riva, A.; Morazzoni, P.; Duranti, M. 2011. Hypoglycemic effect of lupin seed γ -conglutin in experimental animals and healthy human subjects. *Fitoterapia* 82 (7): 933-938.
- Clemente, A. 2000. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology* 11: 254-262.
- Delgado-Andrade, C.; Olías, R.; Jiménez-López, J.; Clemente A. 2016. Aspectos de las legumbres nutricionales y beneficiosos para la salud humana. *Arbor* 192 (779): a313.
- FAO. 1994. Definition and classification of commodities: 4. Pulses and derived products. (Accessed 22/10/2015). www.fao.org/es/faodef/fdef04e.htm.
- Fernandez, J.; Redondo-Blanco, S.; Villar, C.; Clemente, A.; Lombó, F. 2015. Healthy effects of prebiotics and their metabolites against intestinal diseases and colorectal cancer. *AIMS Microbiology* 1: 48-71.
- Hermisdorff, H.H.; Zulet, N.A.; Abete, I.; Martínez, J.A. 2011. A legume-based hypocaloric diet reduces pro-inflammatory status and improves metabolic features in overweight/obese subjects. *European Journal of Nutrition* 50 (1): 61-69.
- Jenkins, D. J. A.; Kendall, C. W. C.; Augustin, L. S. A.; Mitchell, S.; Sahye-Pudaruth, S.; Blanco Mejia, S.; Chiavaroli, L.; Mirrahimi, A.; Ireland, C.; Bashyam, B.; Vidgen, E.; de Souza, R.J.; Sievanpiper, J.; Coveney, J.; Leiter, L.A.; Josse, R. G. 2012. Effect of legumes as part of a low glycemic index diet on glycemic control and cardiovascular risk factors in type 2 diabetes mellitus: A randomized controlled trial. *Archives of Internal Medicine*, 172(21): 1653-1660.
- Kirpitch, A.R.; Maryniuk, M.D. 2011. The 3 R's of glycemic index: recommendations, research and the real world. *Clinical Diabetes* 29: 155-159.
- Messina, V. 2014. Nutritional and health benefits of dried beans. *American Journal of Clinical Nutrition* 100: 437S-442S.
- Simpson, H.L., Campbell, B.J. 2015. Dietary fibre-microbiota interactions. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* 42 (2): 158-179.

THE IMPACT OF *Rhizobium* ON LEGUMES BIOMASS PRODUCTIVITY AND SIMBIOTICAL EFFICIENCY

Gintaras ŠIAUDINIS; Danutė KARČAUSKIENĖ; Dalia AMBRAZAITIENĖ; Regina REPŠIENĖ; Regina SKUODIENĖ
Vėžaičiai Branch of Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry. Vėžaičiai, Lithuania

Received: November 16, 2016

Accepted: November 25, 2016

Published on-line: November 30, 2016

Abstract

The efficiency of atmospheric nitrogen fixation highly depends on the activity of different species of soil symbiotic bacteria. In order to investigate the efficiency of the different *Rhizobium* (bacterial) strain application on soil bacterial activity and crops productivity, field experiment with different legume crops was executed in Vėžaičiai branch of the Lithuanian research Centre for Agriculture and Forestry (Western Lithuania). The application of *Rhizobium* had a positive effect to annual legume crops (except lupine) dry mass (DM) productivity (at pod developing stage) and grain yield (at full ripening stage). Out of them, the highest was faba bean – spring wheat dry mass (DM) yield – 6.89 t ha⁻¹ (without *Rhizobium*) and 7.34 t ha⁻¹ (with *Rhizobium*). Pure faba bean sward produced the highest grain yield - 5.04 t ha⁻¹ (without *Rhizobium*) and 5.67 t ha⁻¹ (with *Rhizobium*). In the case of legume grasses and their mixtures, red clover and timothy grass mixture reached the highest fresh mass (20.5 t ha⁻¹) and dry mass (3.45 t ha⁻¹) yield. Thus, as for the 1st growing year, the effect of *Rhizobium* for perennial grasses productivity was less evident. Number of nodules on plants roots were depended on particular growing stage and legume species. The highest number of nodules were formed on faba bean roots. The highest relative Nitrogenase activity was found in faba bean roots.

Resumen

La eficiencia de la fijación de nitrógeno atmosférico depende en gran medida de la actividad de diferentes especies de bacterias simbióticas del suelo. Con el fin de investigar la eficacia de la aplicación de diferentes cepas de *Rhizobium* sobre la actividad bacteriana del suelo y la productividad de los cultivos, se realizó un experimento de campo con diferentes cultivos de leguminosas en el Centro de Investigación de Agricultura y Silvicultura (Vėžaičiai, Lituania). La aplicación de *Rhizobium* tuvo un efecto positivo en la productividad anual de las leguminosas (excepto en el lupino), en masa seca (en la etapa de desarrollo de la vaina) y en el rendimiento de grano (en la etapa de maduración completa). De ellos, el más alto fue el de haba con trigo de primavera (6,89 t ha⁻¹ sin *Rhizobium* y 7,34 t ha⁻¹ con *Rhizobium*). El cultivo puro de haba produjo 5,04 t ha⁻¹ sin *Rhizobium* y 5,67 t ha⁻¹ con *Rhizobium*. En el caso del cultivo asociado de *Trifolium pratense* y *Phleum pratense* se alcanzó la mayor producción de masa fresca (20,5 t ha⁻¹) y de masa seca (3,45 t ha⁻¹). El número de nódulos en las raíces de las plantas dependió de la etapa de crecimiento y de las especies de leguminosas, con el mayor número de nódulos se formó en las raíces de la judía común, que tuvieron también la mayor actividad relativa de nitrógeno.

Introduction

Recently, many official EU resolutions and official documents highlights the necessity of sustainable development of different ecosystems, halting climate change, the decoupling of economic growth from the negative impact on the environment and climate (EEA 2014, European Commission Strategy 2010).

It is well known that legumes are not only a source of protein for human and animal consumption, but they play a large role in the nitrogen cycle, particularly in atmospheric nitrogen fixation (Bloemberg and Lugtenberg 2001). However, due to decline in the area of legumes in many European Countries, they highly depend on legumes import, particularly from America's Continent.

The similar situation exists in Lithuania. According the data of State Statistical Department for 2012, legumes occupies just about 2% out of all crops area. Fortunately, this year the share of legumes had already reached 4%.

Nitrogen is perhaps the 3rd most important component for plants growing after sun light and water. It is a critical chemical nutrient for plants growing and developing (Graham and Vance 2000). Usually there are two major N sources: a) synthetic fertilizers, manure or other organic matter; b) atmospheric symbiotic N₂ fixation (Vance 2001).

The production of synthetic N fertilizers requires large energy consumption. The use of synthetic fertilizers is increasing; meanwhile the N fertilization efficiency of grain crops is just about 50% (Socolow 1999). It becomes clear that there is no better alternative than including and increasing area under legume species. It means that the best way to ecological sustainability is to return to traditional farming means, which includes returns of legumes and perennial grasses to traditional agriculture.

The return of legumes to crop rotation is particularly relevant in ecologically sensitive regions. Out of many advantages, legumes improve soil fertility, enhance structure, and reduce soil pH level (Tang Yu 1999, Lapinskas 2008). Since Western Lithuania is less suitable for profitable agriculture for the lower soil fertility (due to natural *Retisol* acidity), the insertion of legumes into crop rotations is an essential.

It is also determined that by growing crops in mixture, *Rhizobium* fixed atmospheric nitrogen could be used not only for legumes but also for different cereals species nutrition (Broadbent et al. 1982, Lapinskas 2008). Thus, the requirements for mineral nitrogen fertilizers are decreasing.

The experiment with different legumes and their mixtures with cereals carried out in order to justify the effect of bacterial material (*Rhizobium*) on plants above-ground biomass and microbial productivity.

Materials and methods

The experiments with faba bean, common pea and their mixtures were held in Vėžaičiai branch of the Lithuanian Research Centre for Agriculture and Forestry (55°43' N, 21°27' E). The soil of the experimental site is naturally acid moraine loamy (*Bathygleyic Dystric Glossic Retisol*) (WRB 2014), (clay (<0.002 mm) – 15.0%), (pH_{KCl} 5.2-5.5).

The experimental site was composed of the following crops: faba bean (cv. 'Bioro') as monoculture and faba bean – spring wheat (cv. 'Zebra') as mixture; narrow flower lupine (cv. 'Vilniai') and their mixture with spring wheat (cv. 'Zebra'). Common pea (cv. 'Clara') was growing in mixture with spring wheat, only. At the beginning of the experiment, all the crops were cut in half - without *Rhizobium* application and with *Rhizobium* application.

Sowing rate – 0.65 mln ha⁻¹ of viable faba bean seeds (in monoculture) and 0.40 mln ha⁻¹ of viable faba bean seeds and 3.0 mln ha⁻¹ viable spring wheat seeds (in bean – wheat mixture). Red clover in mixture with timothy-grass seeds were sown at the rate 13.5 and 2.7 kg ha⁻¹, respectively. Alfalfa seed rate was 17 kg ha⁻¹; alfalfa in mixture with timothy grass – 13.5 and 2.7 kg ha⁻¹, respectively. Each legume seeds were inoculated by particular *Rhizobium* bacteria strains.

The inoculation of seeds by *Rhizobium* was done at the sowing day just before the seedling – 30th April of 2014.

NPK (5-15-30) fertilizers (350 kg ha⁻¹ rate). The combined fertilizers contain small amount of nitrogen, since legumes are susceptible to soil nitrogen deficient at the early growing stages.

The yield of all the studied crops and their mixtures were harvested two times per vegetation – in the middle of July (at pod developing stage) – dry mass yield (t ha⁻¹) and by the middle decade of August (grain yield at full ripening stage). Legume grasses and their mixtures with cereal grasses were harvested by the end of August.

Number of symbiotic nodules was estimated 3 times per vegetation: at plants flowering stage (20th June), at pods formation stage (8th July) and at pods ripening stage (31th July). Nitrogenase activity was evaluated by gas chromatography acetylene method at plant growing stage (20th June).

Results and discussion

Many authors point out that the most appropriate leguminous growing stage for animal feeding falls at their flowering. At flowering and full ripening stages, *Rhizobium* application significantly increased common pea – spring wheat productivity (by 25.6% at pod developing stage and by 34.2% at full ripening stage) (table 1).

Table 1. DM yield at pod formation stage and grain yield (under 14% moisture) at full ripening stage

Crops	Pod developing stage (DM kg ha ⁻¹)		Grain yield (kg ha ⁻¹) at full ripening stage	
	Without <i>Rhizobium</i>	With <i>Rhizobium</i>	Without <i>Rhizobium</i>	With <i>Rhizobium</i>
Common pea + spring wheat	5.97	7.50	3.36	4.51
Faba bean	6.06	6.83	5.04	5.67
Faba bean + spring wheat	6.89	7.34	4.20	4.84
Lupine	1.28	1.19	0.79	0.84
Lupine + spring wheat	1.23	1.82	2.02	2.56

In this respect, it is important to mention, that the application of *Rhizobium* significantly increased not only the pea's productivity, but also the share of spring wheat yield's parameters in their mixtures. These data were published in other article (Šiaudinis et al., 2015). It is also estimated by other authors that symbiotic bacteria transmit its fixation products to cereal grasses (Lapinskas 2008).

At pod developing stage, faba bean and its mixture with spring wheat DM yield was positively affected by *Rhizobium* application (by 12.7% and 6.5%, respectively). *Rhizobium* application significantly increased faba bean and faba bean – spring wheat grain yield productivity. It is worth to note that by growing in pure stand, faba bean grain yield was significantly higher than that in their mixture with spring wheat. As it was mentioned above, faba bean seeding rate in pure stand was higher than that the mixture. The height of faba bean 'Bioro' cultivar was higher than that of spring wheat 'Zebra'. Thus, spring wheat was overshadowed and the share of their above-ground biomass was relatively small.

At pod developing stage, faba bean and its mixture with spring wheat DM yield was positively affected by *Rhizobium* application (by 12.7% and 6.5%, respectively). *Rhizobium* application significantly increased faba bean and faba bean – spring wheat grain yield productivity. It is worth to note that by growing in pure stand, faba bean grain yield was significantly higher than that in their mixture with spring wheat. As it was mentioned above, faba bean seeding rate in pure stand was higher than that the mixture. The height of faba bean 'Bioro' cultivar was higher than that of spring wheat 'Zebra'. Thus, spring wheat was overshadowed and the share of their above-ground biomass was relatively small.

In compare with other legumes, lupine as well as its mixture with spring wheat produced significantly lower yield. At pod developing stage lupine DM yield reached 1.19-1.28 t ha⁻¹. Grain yield was 0.79-0.84 t ha⁻¹, which was also relatively low. Contrarily, lupine in mixture with wheat produced substantially higher yield than that in pure sward. Here *Rhizobium* application was essential for higher productivity; in this respect, DM yield increased by 48.0%, and grain yield increased by 26.7%.

The productivity of perennial grasses is presented in 2 table. Red clover and timothy-grass mixture fresh mass yield was by 0.95 – 2.02 t ha⁻¹ higher than that of alfalfa – timothy-grass mixtures. It is interesting to note, that the pure alfalfa sward was more productive than alfalfa – timothy-grass mixture by 28.2%.

Table 2. The productivity of perennial grasses and their mixtures

Perennial grasses	Fresh mass yield, t ha ⁻¹	Dry mass (DM) yield, t ha ⁻¹ bioactivos
Red clover + timothy-grass (without <i>Rhizobium</i>)	20.05	3.45
Red clover + timothy-grass (with <i>Rhizobium</i>)	17.65	3.49
Alfalfa (without <i>Rhizobium</i>)	8.15	2.40
Alfalfa (with <i>Rhizobium</i>)	9.35	2.50
Alfalfa + timothy-grass (without <i>Rhizobium</i>)	6.05	1.47
Alfalfa + timothy-grass (with <i>Rhizobium</i>)	9.25	2.35

The inoculation of legume seeds had a positive effect on perennial grasses dry matter yield. Although the alfalfa – timothy-grass yield was relatively low, the inoculation of seeds by nitragine caused the yield increase up to 2.35 t ha⁻¹ (or by 59.9%).

The presented data suggest that although in some cases the application of *Rhizobium* had a positive influence to legume grasses productivity, the efficiency for the 1st growing year was weaker than that of annual legume crops. We could suggest that the impact on perennial legumes productivity and microbial activity will be better accentuated for the next few years.

Lapinskas (2008) described the positive role of bacterial strains on red clover and alfalfa productivity. The mentioned researcher revealed that perennial grasses tend to fix biological nitrogen more intensely than grain legumes. We could suggest that the efficiency of *Rhizobium* strains.

The number of nodules highly depended on plant species (3 table). The table reveals that the highest number of nodules were formed on faba bean roots. Slightly smaller number of nodules were formed on common pea roots. Number of nodules also depended on the particular plants growing stage.

Table 3. Number of nodules formed on plant roots and nitrogenase activity

Crops	Number of nodules per plant (20th June)	Number of nodules per plant (8th July)	Number of nodules per plant (31th July)	Relative nitrogenase activity, (fixing N $\mu\text{M g}^{-1}$ roots h^{-1}) (20th June)
Without <i>Rhizobium</i>				
Common pea + spring wheat	27 $\pm$ 3	16 $\pm$ 1	9 $\pm$ 1	11.0 $\pm$ 2.0
Faba bean	68 $\pm$ 7	74 $\pm$ 8	55 $\pm$ 5	28.0 $\pm$ 3.0
Faba bean + spring wheat	112 $\pm$ 10	81 $\pm$ 9	39 $\pm$ 3	24.3 $\pm$ 4.8
Lupine	18 $\pm$ 2	26 $\pm$ 2	16 $\pm$ 2	7.3 $\pm$ 1.5
Lupine + spring wheat	25 $\pm$ 3	16 $\pm$ 2	15 $\pm$ 3	5.7 $\pm$ 1.0
With <i>Rhizobium</i>				
Common pea + spring wheat	28 $\pm$ 3	17 $\pm$ 5	20 $\pm$ 3	9.0 $\pm$ 1.4
Faba bean	97 $\pm$ 9	95 $\pm$ 8	77 $\pm$ 7	28.0 $\pm$ 3.0
Faba bean + spring wheat	75 $\pm$ 8	107 $\pm$ 11	40 $\pm$ 4	26.0 $\pm$ 5.0
Lupine	24 $\pm$ 3	29 $\pm$ 2	12 $\pm$ 1	6,5 $\pm$ 1.0
Lupine + spring wheat	22 $\pm$ 2	10 $\pm$ 5	12 $\pm$ 2	9.0 $\pm$ 2.0

The highest number of nodules on common pea roots was fixed at flowering stage. At the pods ripening stage, the number of nodules was substantially lower. When legumes seeds were inoculated by *Rhizobium*, it didn't significantly affected the number of nodules at the beginning of vegetation. However, their number was substantially higher at the end of vegetation.

In lupine sward, the highest number of nodules on roots was counted (both, without *Rhizobium* and with *Rhizobium* application) at pod developing stage. In lupine – wheat sward, no positive effect for the number of formed nodules was observed. These data shows that even in the absence of artificial *Rhizobium* application, there is still a high activity of symbiotic microorganisms in soil.

The activity of nitrogenase (enzyme) (nitrogen fixation activity) was highest in faba bean – wheat and lupine – wheat swards at legumes flowering stage. Anyway, the effect of nitrogenase was not significant here. In other treatments of the experiment, the activity of nitrogenase at the mentioned growing stage was not strong, as it were.

These results clearly reveal the necessity of bacterial application prior to seeding. The results also confirmed the efficiency of the different *Rhizobium* strains in naturally acid *Retisol*. The artificial application of *Rhizobium* might be more effective in the soils where it has not been applied 10 years or more (Ambrazaitienė 2003).

The different kinds of bacterial material (*Rhizobium* in our case) is valuable and could be successfully used for seed inoculation in crop production, livestock as well as in mixed farms. Figures 1 and 2 shows that the application of *Rhizobium* positively affects faba bean and red clover root growth and developing.



Figure 1. Faba bean roots with *Rhizobium* (left) and without *Rhizobium* (right) application



Figure 2. Red clover roots without *Rhizobium* (left) and with *Rhizobium* (right) application

Conclusions

Growing legume crops under naturally acid (pH_{KCl} 5.2 – 5.5) *Retisol*, the inoculation of seeds by *Rhizobium* strains had a positive effect on legume DM yield (at pod developing stage) and grain yield. Out of them, faba bean as well as faba bean – spring wheat mixture gave the highest yields.

Out of perennial grasses, red clover in mixture with timothy-grass were most productive. As for the 1st growing season, the effect of *Rhizobium* application on biomass yield was less evident.

Number of nodules on faba bean roots was significantly higher than for other legumes at all growing stages. The effect of *Rhizobium* application on number of nodules was weaker expressed. Nitrogenase activity was higher.

References

Ambrazaitienė D. 2003. Activity of symbiotic nitrogen fixation in the Dystric Fluvisols differing in acidity and fertilization. 2003. Agriculture. Scientific articles 83: 173-786 (in Lithuanian, English abstr.).

Bloemberg GV, Lugtenberg BJJ. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and bio-control by rhizobacteria. Current opinion in plant biology 4: 343-350.

Broadbent FE, Nakashima T, Chang GY. 1982. Estimation of nitrogen fixation by isotope dilution in field and greenhouse experiments. Agronomy Journal 74: 625-628.

EEA. 2014. Resource-efficient Green Economy and EU Policies. European Environment Agency. <http://dx.doi.org/10.2800/18514>.

European Commission. 2010. Europe 2020: A Strategy for Smart, Sustainable and Inclusive Growth: Communication from the Commission. Publications Office of the European Union.

Graham PH, Vance CP. 2000. Nitrogen fixation in perspective: an overview of research and extension needs. Field Crop Research 65: 93-106.

Lapinskas E. 2008. Nitrogen changes in soils and importance for the plants. Arx-Baltica, Kaunas, 319 (in Lithuanian, English abstr.).

OECD. 2011. Towards green growth: monitoring progress – OECD indicators.

Šiaudinis G, Repšienė R, Skuodienė R. 2015. The effect of *Rhizobium* bacteria on legumes and their mixtures productivity. International Symposium on Protein Crops. (V Meeting AEL), Pontevedra, Spain: 49-50.

Socolow RH. 1999. Nitrogen management and the future of food: lessons from the management of energy and carbon. Proceedings of the National Academy of Sciences 96: 6001-6008.

Tang C, Yu Q. 1999. Impact of chemical composition of legume residues and initial soil pH on pH change of a soil after residue incorporation Plant and Soil 215: 29-38.

Vance CP. 2001. Symbiotic nitrogen fixation and phosphorus acquisition. Plant nutrition in a world of declining renewable resources. Plant Physiology 127: 390-397.

ESTUDIOS – STUDIES

OBSERVACIÓN DEL TRÁNSITO DEL EXOPLANETA HAT-P-11B CON EL TELESCOPIO T150 DEL OSN.

Roberto MARTÍNEZ MARTÍNEZ; Felipe MEZA; José María RODRÍGUEZ MOZOS; Claudio Patricio ROGEL CÁRDENAS; Carlos VISCASILLAS VÁZQUEZ; Federico ZUCCARINO.

Universidad Internacional de Valencia, VIU. Valencia. España.

Recibido: 14-Septiembre-2016

Aceptado: 31-October-2016

Publicado on-line: 30-Noviembre-2016

Abstract

The work described below has been carried out for the subject Observational Practices corresponding to the Master of Astronomy and Astrophysics of the Valencian International University. The objective of this work is to calculate accurately the exoplanet radius and from there determinate the composition and type of exoplanet, physical characteristics, orbital parameters, inclination and the location of the planet in the habitable zone of the star. The HAT-P-11b exoplanet was discovered in January 2009 by G. A. Bakos using the planetary transit method. This planet has been extensively studied because it is the second Super Neptune discovered after GJ-436b.

Introducción

El trabajo que se describe a continuación se ha realizado dentro de la asignatura de Prácticas Observacionales correspondiente al Master de Astronomía y Astrofísica de la Universidad Internacional de Valencia.

El objetivo de este trabajo es calcular con exactitud el Radio del exoplaneta y a partir de ahí, determinar la composición y tipo de exoplaneta, las características físicas del mismo, los parámetros orbitales e inclinación y si se encuentra, o no, en la zona de habitable de la estrella.

El exoplaneta HAT-P-11b fue descubierto en Enero de 2009 por G.A. Bakos mediante el método del tránsito planetario. Desde entonces este planeta ha sido bastante estudiado dado que se trata del segundo Súper Neptuno descubierto después de GJ-436b.

La controversia se inició con la propia estrella dado que en los cálculos iniciales se obtuvo un Radio de 0,75 Radios solares ($R_{\odot}$). Sin embargo, análisis posteriores determinaron que se trata de una estrella activa con un Radio corregido de 0,683 $R_{\odot}$ (Deming et al., 2011).

En cuanto al planeta también ha suscitado cierta polémica dado que a pesar ser considerado como Súper Neptuno, los resultados iniciales (Bakos et al., 2010) lo situaban a mitad de camino entre los Gigantes Helados y los Gigantes Gaseosos, con una densidad más parecida a Júpiter que a Neptuno.

Posteriormente se determinó que la órbita del planeta era muy oblicua (103°) casi perpendicular al ecuador de la estrella (Winn et al, 2010). De forma que cada tránsito que realiza el exoplaneta, moviéndose en dirección casi perpendicular al plano ecuatorial de la estrella atraviesa dos zonas activas de la misma. Una vez determinada la actividad de la estrella y su periodo, es imprescindible corregir las Curvas de Luz para tener en cuenta este efecto y de esta forma obtener resultados ajustados a la realidad (Deming et al., 2011).

Por último, se han detectado emisión en radiofrecuencia de este exoplaneta cuyo origen puede estar en las enormes tormentas acompañadas de aparato eléctrico en la cara noche de HAT-P-11b (Hodosán et al, 2016).

Material y Métodos

La observación fue realizada la noche del 29 al 30 de Mayo de 2016 desde el Observatorio de Sierra Nevada. Este magnífico Observatorio, que se puede ver en la Figura 1, fue construido en 1976 en Sierra Nevada (Granada) a una altitud de 2605 metros. Está gestionado por el Instituto de Astrofísica de Andalucía IAA y por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas CSIC.



Figura 1. Observatorio de Sierra Nevada [Imagen cortesía del Observatorio de Sierra Nevada - IAA-CSIC]

Durante la observación las condiciones atmosféricas no fueron óptimas debido a la presencia de nubes. La instrumentación utilizada fue la siguiente:

Telescopio: T150

Apertura neta: 150 cm

Long. Focal: 12000 mm

Óptica: Ritchey-Chretien con 2 Focos Nasmyth

Montura ecuatorial

Cámara: CCD Vers Array 2048x2048, FOV de $7,92 \times 7,92$ minutos de arco y $0,232''/\text{pixel}$

Filtros: V y R del sistema fotométrico Jhonson-Cousins

Cámara de auto guiado: CCD SONY ICX024 con entrada de fibras ópticas de 756×576 pixeles de 11×11 , FOV de $3 \times 2,5$ minutos de arco

En la observación del tránsito del exoplaneta HAT-11b se tomaron 240 imágenes en los filtros V y R. Cada una de las imágenes se han obtenido sin binning y con un tiempo de exposición de 30 segundos en el filtro V y 15 segundos en el filtro R. El comienzo del tránsito se adelantó ligeramente sobre el horario previsto en la efeméride correspondiente. Adelanto que no afectó a la observación ya que la toma de imágenes se inició con bastante antelación.

Método del Tránsito Planetario

Cuando el plano orbital de un exoplaneta está alineado con nuestra línea de visión, el planeta cruzará delante de su estrella una vez en cada órbita. Este tipo de fenómeno se denomina tránsito planetario como se puede ver en la Figura 2.

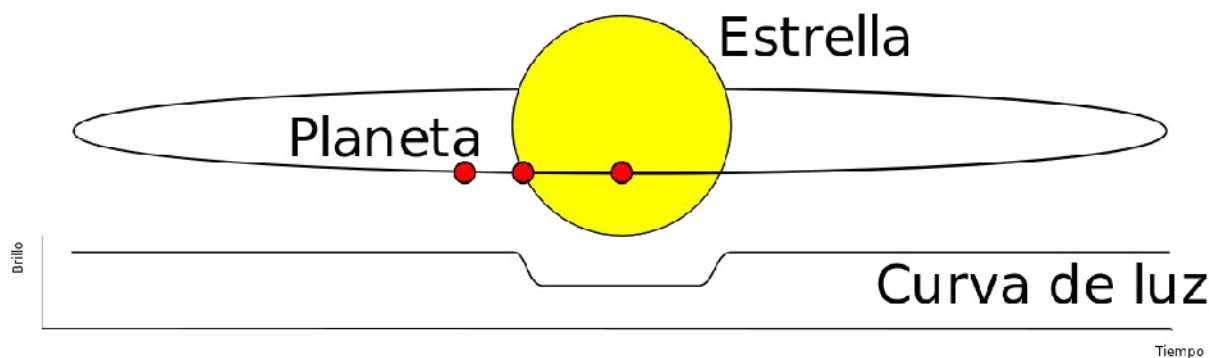


Figura 2. Tránsito Planetario [Fuente: Nikola Smolenski, Wikimedia Commons]

Durante el tránsito, el brillo de la estrella sufre una pequeña disminución en una proporción igual al cociente entre las áreas del planeta y la estrella. Si denominamos ΔF a la disminución de brillo observada, resulta que:

$$\Delta F = \left(\frac{R_p}{R_s} \right)^2 \quad [1]$$

Siendo R_p el radio del planeta y R_s el radio de la estrella. Para estrellas de tipo solar y planetas del tamaño de Júpiter, la disminución de brillo puede variar entre un 1% y 2%. En general, es necesario disponer de instrumentos de gran precisión dado que la disminución de brillo suele ser del orden de milimagnitudes.

A pesar de que probabilidad de alineación de la órbita con nuestra línea de visión sea baja, la búsqueda de exoplanetas por tránsito ha sido fructífera. A fecha de Julio de 2016 la Base de Datos **exoplanet.eu** incluye 3477 exoplanetas de los cuales 2697 han sido detectados mediante el método del tránsito planetario. La verdadera revolución en la detección de exoplanetas por este método ha sucedido con el lanzamiento y operación de misiones espaciales, como CoRoT (2006) y Kepler (2009), que con sus precisiones fotométricas en torno al 0,01% han permitido hallar planetas de tamaño parecido a la Tierra.

En general, las observaciones de tránsitos deben ser complementadas con medidas de velocidad radial para, de este modo, confirmar la existencia del exoplaneta y calcular su masa. Una vez conocida la masa se puede determinar la naturaleza planetaria del objeto.

Resultados y Discusión

Datos de partida de la Estrella HAT-P-11

El aspecto de la estrella se puede obtener de la herramienta del Observatorio Virtual ALADIN mediante el cartografiado digital del cielo Sloan Digital Sky Survey SDSS como se puede observar en la Figura 3.



Figura 3. Estrella HAT-P-11 [Fuente: Sloan Digital Sky Survey SDSS]

Se trata de una estrella de tipo espectral K4V situada en la constelación del Cisne a una distancia de 123 años-luz y con una vida estimada de 6.500 millones de años. Es una estrella tardía, de color anaranjado, más vieja y más fría que nuestro Sol. La Temperatura Efectiva en su fotosfera es de 4780° K (1000° K más fría que el Sol) y está en secuencia principal, por lo cual el combustible que mantiene las relaciones nucleares en su núcleo es Hidrógeno. Además, entrando la Base de Datos astronómica SIMBAD podemos conocer su denominación, coordenadas actuales y las magnitudes que presenta en los filtros V y R. Los datos de partida correspondientes se han incluido en la Tabla 1.

Tabla 1. Datos de la estrella HAT-P-11

Denominación	BD+472936
Ascensión Recta AR	19° 50' 50,25"
Declinación DEC	48° 04' 51,09"
Masa M $\odot$	0,809
Radio R $\odot$	0,683
Magnitud V	9,47
Magnitud R	8,80
Tipo Espectral	K4V
Distancia (años-luz)	123
Temperatura Efectiva (°K)	4780
Edad (10 ⁹ años)	6,5

HAT-P-11 es una estrella con alto movimiento propio. En la Figura 4 se compara la imagen obtenida con el cartografiado fotográfico realizado con el filtro R desde el Observatorio de Monte Palomar POSS-I en Julio de 1951, con la imagen obtenida en Agosto de 1988 con el segundo cartografiado fotográfico realizado con el mismo filtro por POSS-II, y posteriormente con la imagen del telescopio FLWO, del Centro de Astrofísica Harvard-Smithsonian, en Septiembre de 2007 en banda de 1,2 m.

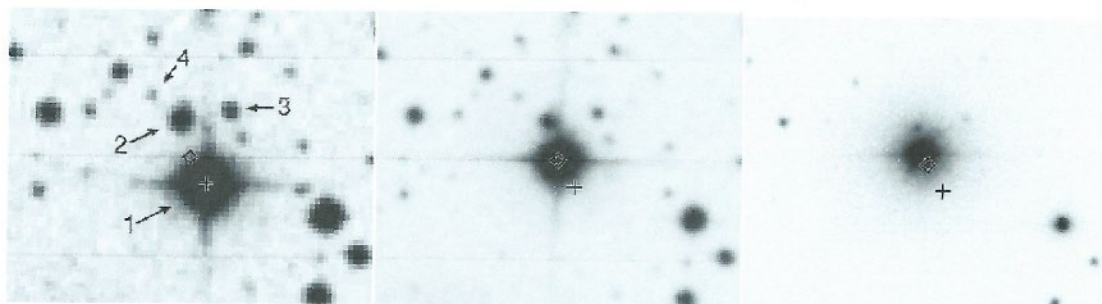


Figura 4. Movimiento Propio de HAT-P-11. Izquierda, posición de HAT-P-11 (estrella 1) en 1951 designada con + (POSS-I). Centro, posición en 1987 designada (POSS-II). Derecha, posición en 2007 (FLWO) [Fuente: The American Astronomical Society]

El movimiento propio de la estrella desde 1951 hasta 2007 ha sido de 13,8 segundos de arco y ha afectado notablemente al brillo observado de las estrellas designadas como 2, 3 y 4; como queda patente en la imagen de FLWO.

También resulta muy interesante la corrección realizada en el radio estelar en 2011 por D. Deming et al, a partir de observaciones realizadas por el satélite espacial Kepler. Este trabajo demuestra que el espectro de HAT-11 está afectado por el efecto Rossiter-McLaughlin (Figura 5). Cuando un exoplaneta está en la zona de la estrella que gira acercándose a la Tierra bloquea la luz más desplazada al azul, mientras que cuando está en la zona de la estrella que se aleja de la Tierra bloquea la luz más desplazada al rojo, lo cual permite delimitar el ángulo que hay entre el eje de rotación de la estrella y el plano orbital. Mediante un estudio detallado de la atmósfera estelar Deming pudo determinar la densidad media de la estrella, y conociendo la masa de la estrella, pudo calcular el nuevo radio que resulta ser de $0,683 R_{\odot}$.

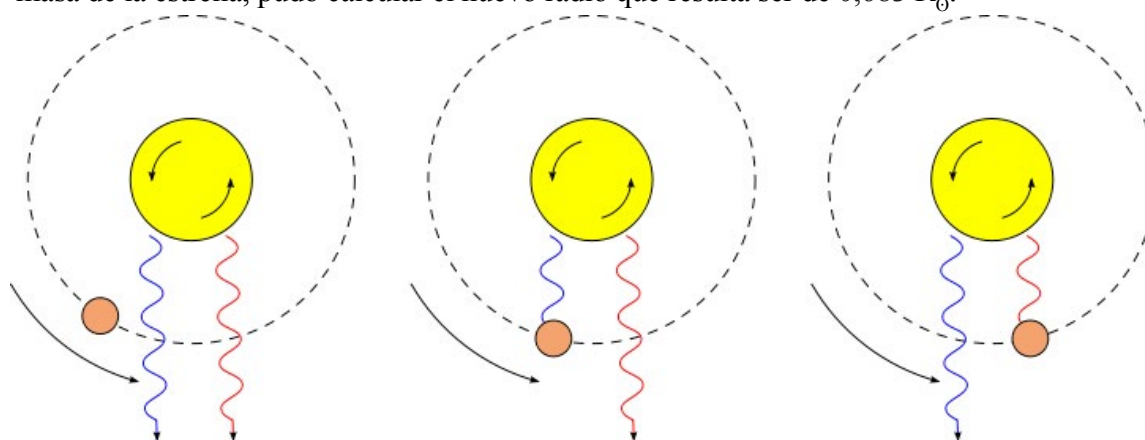


Figura 5. Efecto Rossiter-Mc Laughlin [Fuente: Nicholas Shanks, WikiMedia Commons]

Datos de partida del planeta HAT-P-11b

El exoplaneta HAT-11b ha sido analizado mediante el método de la velocidad radial al objeto de determinar su Masa que resultó ser de 25,8 Masas Terrestres. Además, mediante espectroscopia se ha determinado la excentricidad de la órbita. Los datos de partida del exoplaneta se han incluido en la Tabla 2.

Tabla 2. Datos del planeta HAT-P-11b

Masa $M_{\oplus}$	25,8
Periodo (días)	4,8878
Excentricidad	0,198

Resultados de la observación

A partir de las imágenes obtenidas durante la observación se ha procedido en primer lugar a la reducción de las mismas. El objetivo principal de la reducción de imágenes es eliminar cualquier efecto debido al sistema de procesamiento de imágenes (detector y telescopio) y a la calibración del flujo almacenado en cada píxel de la cámara CCD.

El nivel de bias es una señal introducida por el fabricante de la cámara CCD para asegurar que la conversión de la carga acumulada en una imagen digital sea positiva. El nivel de bias debe ser descontado para obtener el flujo real procedente de la estrella.

Por otra parte, cada píxel de una cámara CCD tiene una sensibilidad distinta. Estas diferencias han de tenerse en cuenta a la hora de hacer fotometría. Por lo cual es necesario realizar una calibración de campo plano (flatfield) para unificar la sensibilidad de los píxeles.

El proceso de reducción de una imagen astronómica CCD consiste en sustraer el nivel de bias y dividir la imagen resultante por la calibración de campo plano para estandarizar la respuesta de cada píxel de la imagen.

Posteriormente se ha realizado fotometría relativa representando en un diagrama el brillo relativo de la estrella en función del tiempo para de esta manera determinar la disminución de flujo producida. Las curvas de luz reducidas se han obtenido en los filtros V y R de forma redundante para evitar repetir la observación en caso de presentarse algún problema en el filtro elegido. En este caso las Curvas de Luz han aparecido correctamente en ambos filtros y se ha optado por realizar el estudio en el filtro visible V dado que la estrella aparece con brillo suficiente. En la Figura 6 se puede ver la Curva de Luz obtenida en el filtro V después de reducir.

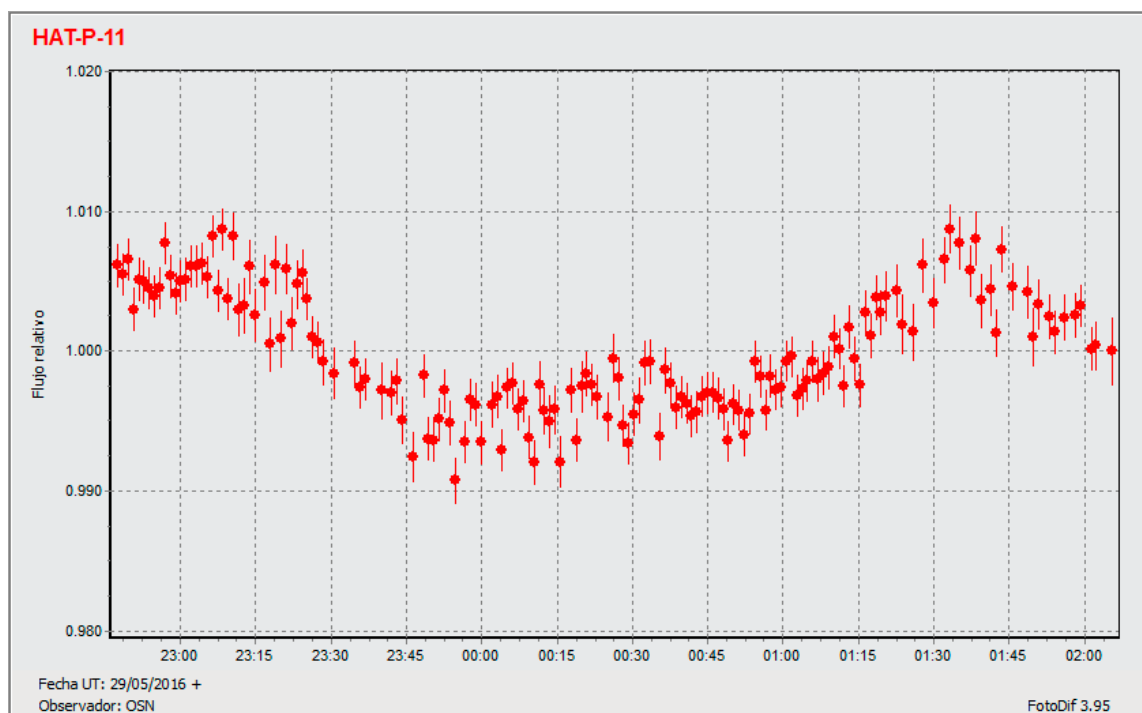


Figura 6. Curva de Luz reducida de HAT-P-11 obtenida en el filtro V [Fuente: Producción Original]

Por otra parte se han trasladado a una Hoja de Cálculo esta Curva de Luz y se ha aproximado la serie temporal mediante una función polinómica minimizando el error cuadrático medio. La Curva de Luz aproximada se ha incluido en color azul en la Figura 7. En ella se puede observar claramente la existencia de una disminución de flujo de una profundidad en torno a 4 mmag.

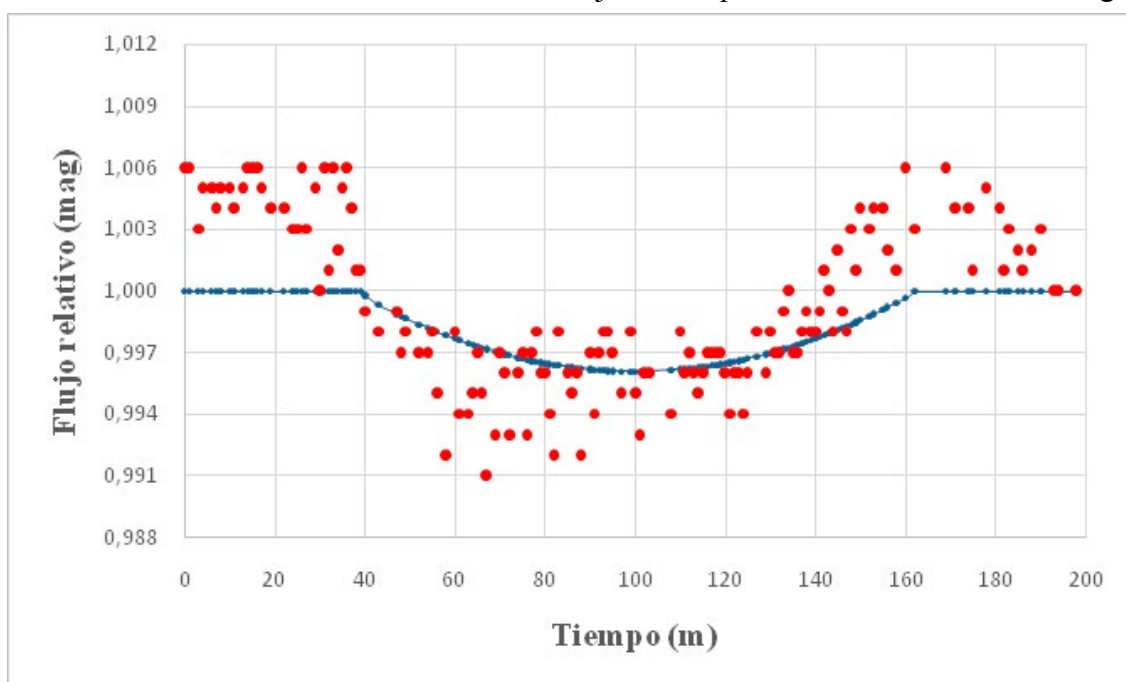


Figura 7. Aproximación de la Curva de Luz de HAT-P-11 [Fuente: Producción Original]

Analizando la serie temporal se puede estimar también el tiempo total del tránsito observando los puntos donde el brillo disminuye por debajo del valor medio estelar, que se encuentra ajustado al valor unidad, y cuando se vuelve a recuperar este brillo. Igualmente se puede determinar el tiempo que el brillo permanece en su valor mínimo o tiempo de suelo. Al igual que la profundidad de tránsito, calculando el valor medio obtenido en el brillo relativo mientras está en la zona de suelo.

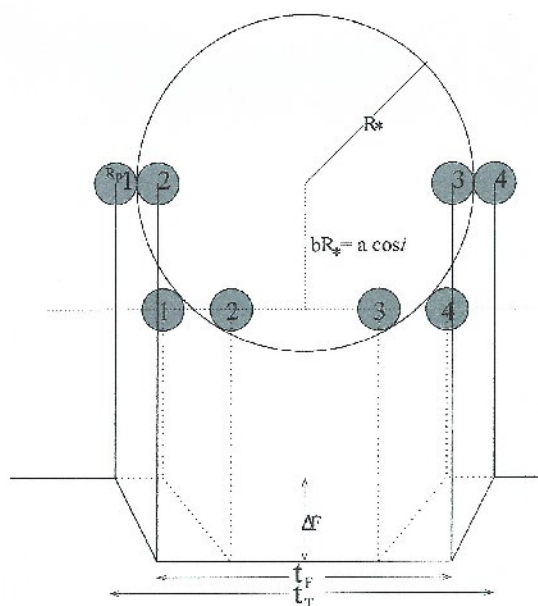


Figura 8. S. Seager and G. Mallén-Ornelas. 2002. A unique solution of planet and star parameters from an extrasolar planet transit light curve. The Astrophysical Journal (ApJ). 585:1038–1055.

Todos estos conceptos se encuentran representados en la Figura 8. También se puede observar la influencia que tiene sobre la Curva de Luz que el tránsito planetario se realice sobre el plano del ecuador estelar, o bien, bastante alejado del mismo.

En el caso del tránsito analizado de HAT-P-11b, resulta:

$$\begin{aligned} \text{Tiempo de tránsito total } t_T &= 138 \text{ m} = 2,30 \text{ horas} \\ \text{Tiempo de suelo } t_F &= 73 \text{ m} = 1,22 \text{ horas} \\ \text{Profundidad de tránsito } \Delta F &= 4,1 \text{ mmag} \end{aligned}$$

El estudio realizado por Deming et al (2010) a partir de 26 tránsitos del exoplaneta HAT-P-11b sobre su estrella registrados por el satélite espacial Kepler, y analizados en los filtros B y J, determinó que era necesario corregir el Radio del exoplaneta debido a la actividad de la estrella. El factor de corrección determinado para el Radio del exoplaneta fue de 0,9074, mientras que la corrección sobre la profundidad de tránsito realizada fue de 0,6 milimagnitudes. Por tanto, la profundidad de tránsito corregida resulta finalmente de:

$$\text{Profundidad de tránsito corregida } \Delta F^* = 3,5 \text{ mmag}$$

Determinación del Radio del planeta

A partir de la profundidad de tránsito ΔF se puede conocer el radio del planeta aplicando la ecuación [1]:

$$\Delta F = (R_p/R_s)^2 \rightarrow R_p = R_s \cdot \sqrt{\Delta F} = 30.425 \text{ Km} = 4,78 R_{\oplus}$$

Sin embargo, si aplicamos la corrección de Deming a la profundidad de tránsito el radio del planeta corregido R_p^* resultante resulta ser menor.

$$R_p^* = R_s \cdot \sqrt{\Delta F^*} = 28.111 \text{ Km} = 4,41 R_{\oplus}$$

Caracterización del exoplaneta

Conociendo la Masa y el Radio de un exoplaneta, y entrando con estos datos en el Diagrama Masa-Radio de exoplanetas, se puede determinar de qué tipo de exoplaneta se trata y cuál es su composición estimada.

En la Figura 9 se ha incluido la posición de HAT-P-11b con el radio sin corregir (etiquetada en negro) y con el radio corregido (etiquetada en azul). De esta forma se comprueba que varía de forma significativa su composición al corregir el radio, encontrándose en ambos casos en la zona de Gigantes de Hielo. En primer caso la composición aproximada de la parte externa del exoplaneta sería de un 50% de H/He mientras que en el segundo caso la composición sería de un 40% de H/He. Realizar la corrección significa que el envoltorio gaseoso del planeta es menor, y por tanto, aumentará también su densidad al ser mayor el peso relativo de su núcleo.

Por tanto, una vez realizadas las correcciones correspondientes se estima que se trata de un **exoplaneta de tipo Neptuno** con una **composición estimada 40% H/He**.

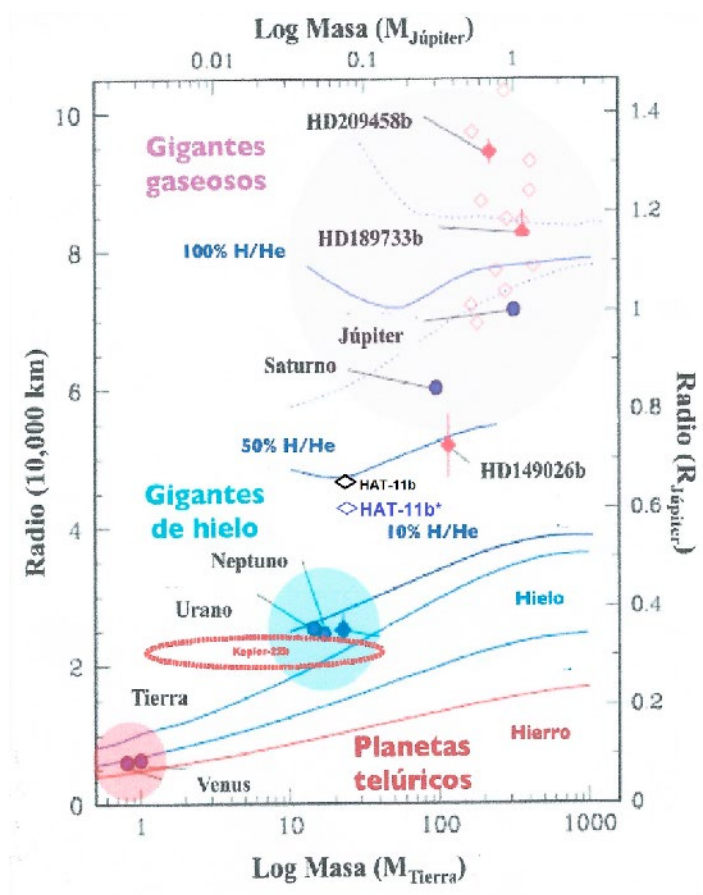


Figura 9. Diagrama Masa-Radius de Exoplanetas [Fuente: Manual del Curso Exoplanetas - VIU]

Características físicas

Conociendo la Masa y del Radius del planeta también se pueden determinar las propiedades físicas más importantes del mismo. En la tabla 3 se han calculado los valores de gravedad, velocidad de escape y densidad normalizados respecto al valor Terrestre. El cálculo se ha realizado tanto sin corregir el radio como después de realizar la corrección (se designa el planeta con un asterisco) y además se puede comparar con los valores de Júpiter, Neptuno y la Tierra.

Tabla 3. Características Físicas de HAT-P-11b

Planeta	Masa M^n	Radio R^n	Gravedad g^n	Velocidad escape ve^n	Densidad ρ^n
Júpiter	317,8	10,97	2,64	5,38	0,24
HAT-P-11b	25,8	4,78	1,13	2,32	0,24
HAT-P-11b*	25,8	4,41	1,33	2,42	0,30
Neptuno	17,1	3,86	1,15	2,10	0,30
Tierra	1,0	1,00	1,00	1,00	1,00

Cabe destacar una que tanto la gravedad como la velocidad de escape de HAT-P-11b presentan valores similares a Neptuno. Sin embargo, antes de corregir el radio, la densidad era igual a Júpiter.

Parámetros Orbitales

Conociendo la Masa de la estrella M_s , por aplicación de la tercera Ley de Kepler se puede calcular el semieje mayor de la elipse a descrita por el exoplaneta alrededor de su estrella con solo conocer el Período de su órbita:

$$a^3 = \left(\frac{G}{4\pi^2} \right) \cdot M_s \cdot P^2 \quad [2]$$

La velocidad de traslación media es proporcional a la raíz cuadrada de la Masa de la estrella partido del valor de semieje mayor a . Para determinar el semieje menor de la elipse b es necesario conocer previamente la excentricidad de la órbita e que fue determinada por métodos espectroscópicos.

$$b = a \sqrt{(1 - e^2)} \quad [3]$$

En la Tabla 4 se han comparado los resultados obtenidos para este exoplaneta con los principales planetas del sistema solar. La velocidad de traslación media es bastante alta, en torno a los 117 Km/s, compatible con una órbita muy cercana a su estrella de tan solo 0,053 UA. Igualmente es destacable el alto valor de la excentricidad orbital que puede indicar la existencia de interacciones gravitacionales importantes.

Tabla 4. Parámetros Orbitales de HAT-P-11b

Planeta	Estrella Masa M^n	Periodo (días)	V traslación (Km/s)	Semieje mayor a (UA)	excent. e	Semieje menor b (UA)
Júpiter	1	4.333,04	13,1	5,205	0,048	5,199
HAT-P-11b	0,809	4,8878	116,9	0,053	0,198	0,051
HAT-P-11b*	1	60.190,60	5,4	30,058	0,009	30,057
Neptuno	1	365,26	29,8	1,000	0,017	1,000
Tierra	1,0	1,00	1,00		1,00	1,00

Es fundamental reseñar que la órbita descrita por HAT-P-11b es totalmente oblicua formando un ángulo de 103° con el ecuador estelar (Winn et al, 2010). El tránsito se produce en dirección casi perpendicular al plano del ecuador, como se puede ver en la Figura 10, de forma que durante cada tránsito el exoplaneta pasa dos veces por las zonas activas de la estrella.

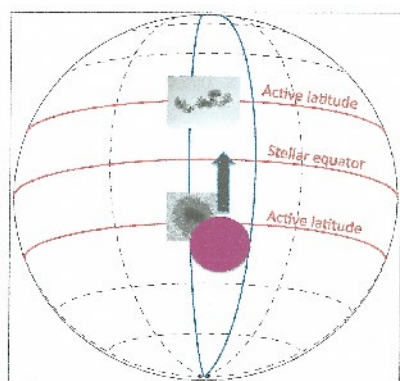


Figura 10. Órbita oblicua de HAT-P-11b y zonas activas de la estrella [Fuente: The American Astronomical Society]

Análisis del tránsito

A partir de los parámetros observables en la Curva de Luz, como son el tiempo de tránsito total, el tiempo de suelo y la profundidad de tránsito, se puede determinar el parámetro de impacto y la inclinación de la órbita.

El parámetro de impacto **b** es la distancia, medida a medio tránsito, entre el centro de la estrella y el centro del planeta vista por el observador. Se suele dar en tanto por uno del Radio estelar, por lo cual la distancia de la línea de tránsito al centro de la estrella sería $b \cdot R_s$, tal y como se observa en la Figura 11.

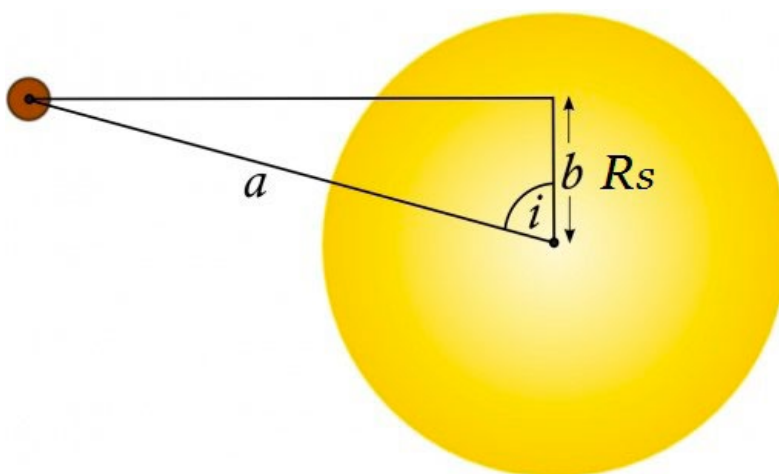


Figura 11. Parámetro de impacto e inclinación de la órbita [Fuente: Paul Wilson Blog]

El parámetro de impacto depende de la profundidad de tránsito y de la fracción del tiempo de suelo sobre el tiempo total de tránsito. Si llamamos:

$$\tau = \frac{tF}{tT}$$

Aplicando relaciones trigonométricas se puede demostrar que el parámetro de impacto se corresponde con la siguiente expresión:

$$b = \left[\frac{(1-\sqrt{\Delta F})^2 - \tau^2(1+\sqrt{\Delta F})^2}{1-\tau^2} \right]^{1/2} \quad [4]$$

Por otra parte, hay otro concepto importante en un tránsito planetario que es la inclinación de la órbita que ve un observador desde la Tierra. En la figura 12 se puede observar que cuando el plano orbital se encuentra perpendicular a nuestra línea de visión la inclinación es nula mientras que cuando el plano orbital es paralelo a nuestra línea de visión la inclinación estará próxima a los 90° grados.

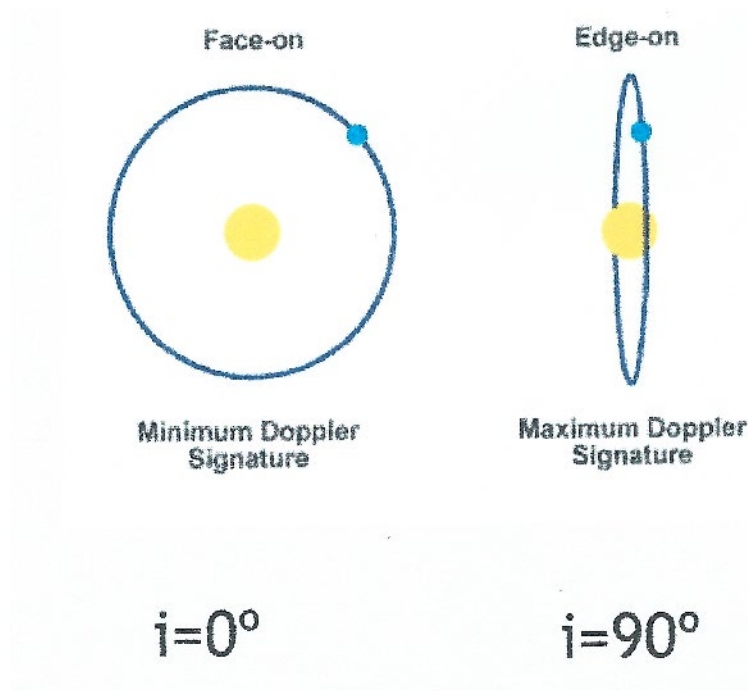


Figura 12. Plano orbital y ángulo de inclinación
[Fuente: Manual del Curso Exoplanetas - VIU]

Esto se traduce en que cuando $i=0^\circ$ no se podrá detectar la variación de velocidad en la estrella producida por el planeta ya que por efecto Doppler solo se puede medir sobre objetos que se acercan o alejan del observador y en este caso la estrella siempre está a la misma distancia. Sin embargo, cuando $i=90^\circ$ la variación de velocidad radial medida por efecto Doppler es máxima ya que las variaciones en la distancia de la estrella son máximas.

En la Figura 11 se puede deducir fácilmente el ángulo de inclinación de la órbita i .

$$i = \arccos\left(\frac{bRs}{a}\right) \quad [5]$$

En la Tabla 5 se pueden ver los resultados obtenidos aplicando las ecuaciones anteriores, es decir, un parámetro de impacto de 0,89 y una inclinación de la órbita de 87° .

Tabla 5. Análisis del Tránsito de HAT-P-11b

Planeta	Estrella R_s	semieje mayor a (UA)	Profundidad	T total	T suelo	Parámetro impacto	Inclinación i ($^\circ$)
HAT-P-11b*	0,683	0,053	0,0035	2,30	1,22	0,89	87

Zona de habitabilidad

La zona de habitabilidad de una estrella es aquella donde se puede encontrar agua en estado líquido, y por tanto, es la zona más favorable para albergar vida. La zona habitable viene delimitada por dos radios. El Radio interior indica el comienzo de la zona habitable mientras que el Radio exterior indica el final. Para calcular estos radios se usarán las ecuaciones de Mendez et al (2011). Estas ecuaciones tienen en cuenta el efecto invernadero que,

por ejemplo, sufre Venus y también el ciclo carbonato-silicato que puede mantener el agua en estado líquido incluso a distancias mayores al radio de Marte.

Para conocer la situación relativa de un exoplaneta respecto a la zona habitable se utiliza el parámetro adimensional HZD, que se define como:

$$HZD = (2a - R_{ext} - R_{int}) / (R_{ext} - R_{int}) \quad [6]$$

Una vez determinados el R_{ext} y R_{int} de la zona habitable, se puede determinar el valor de HZD para cualquier exoplaneta con solo introducir en la ecuación [6] el semieje mayor de su órbita. Pudiendo ocurrir:

- $HZD < -1 \rightarrow$ Zona CALIENTE, agua probablemente en forma de vapor
- $-1 < HZD < 1 \rightarrow$ Zona HABITABLE, posiblemente agua en forma líquida
- $HZD > 1 \rightarrow$ Zona FRÍA, agua probablemente en forma de hielo

En la tabla 6 se ha determinado la zona habitable de la estrella HAT-P-11 a partir de la Temperatura efectiva, el radio normalizado de la estrella, así como el parámetro HZD a partir del semieje mayor de la órbita de HAT-P-11b.

Tabla 6. Zona de Habitabilidad de HAT-P-11

Planeta	Estrella Teff (°K)	Estrella Rs ⁿ	semieje mayor a (UA)	Zona Habitable		Planeta	
				Rint (UA)	Rext (UA)	Rext (UA)	Rext (UA)
HAT-P-11b*	0,683	0,053	0,0035	2,30	1,22	0,89	87

La zona habitable de la estrella HAT-P-11 se encuentra entre 0,36 UA y 0,91 UA. El exoplaneta HAT-P-11b está situado en la zona caliente de la estrella donde el agua no se encuentra en forma líquida a presión atmosférica.

Acoplamiento por marea

En la Figura 13 se puede observar la posición de este exoplaneta marcada con un diamante azul en el Diagrama de habitabilidad. HAT-P-11b se encuentra en la zona interior a la recta designada como “Tidal lock radius” y por tanto está acoplado por marea con su estrella, es decir, siempre da la misma cara a su estrella, por lo cual tiene una cara donde siempre es de día y otra donde siempre es de noche.

En este diagrama también se puede comprobar que se encuentra bastante lejos de la zona habitable, tal y como se ha determinado con el índice HZD. Por tanto, se puede caracterizar a HAT-P-11b como un **NEPTUNO CALIENTE ANCLADO POR MAREA**.

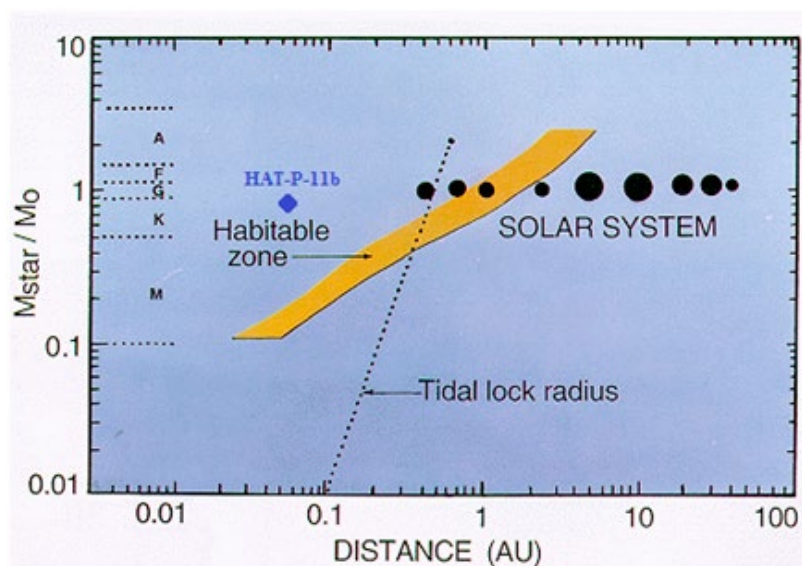


Figura 13. Situación de HAT-P-11b en diagrama de habitabilidad [Fuente: James F. Kasting, Penn State Department of Geosciences]

Conclusiones

Caracterización del exoplaneta

Inicialmente para el planeta HAT-P-11b se había determinado una Masa de $25,8 M_{\oplus}$ y un Radio de $4,73 R_{\oplus}$ (Bakos et al, 2010), siendo más masivo ($17,1 M_{\oplus}$) y de mayor tamaño que Neptuno ($3,86 R_{\oplus}$). Con una densidad ($0,24 \rho_{\oplus}$) igual a la densidad de Júpiter ($0,24 \rho_{\oplus}$) y bastante diferente a la densidad de Neptuno ($0,30 \rho_{\oplus}$). Por otra parte, la composición calculada inicialmente (50% de H/He en la parte externa y 50% de roca y hielo en el núcleo), indica que estaría en el límite entre ser considerado un gigante gaseoso o un gigante de hielo.

Analizando este hecho en mayor profundidad mediante los modelos de Fortney et al. (2007)(9), un planeta con la composición y la Masa de HAT-11b debería tener un radio más pequeño que el calculado inicialmente.

El otro Súper Neptuno, GJ-436b, tiene una Masa ($22,2 M_{\oplus}$) y un Radio ($4,17 R_{\oplus}$) ambos valores menores que HAT-11b, también tiene una densidad ($0,31 \rho_{\oplus}$) muy similar a Neptuno a diferencia de HAT-P-11b.

Sin embargo, al realizar la corrección del radio propuesta por Deming, debido a la actividad de su estrella, este pasa a tener un valor de $4,41 R_{\oplus}$ y la densidad pasa tener un valor similar a Neptuno ($0,30 \rho_{\oplus}$) y una composición de 40% H/He en su envoltura **plenamente compatible con su caracterización como Gigante de Hielo**. En la Figura 14 se puede comparar el tamaño de HAT-P-11 con el tamaño de Neptuno.

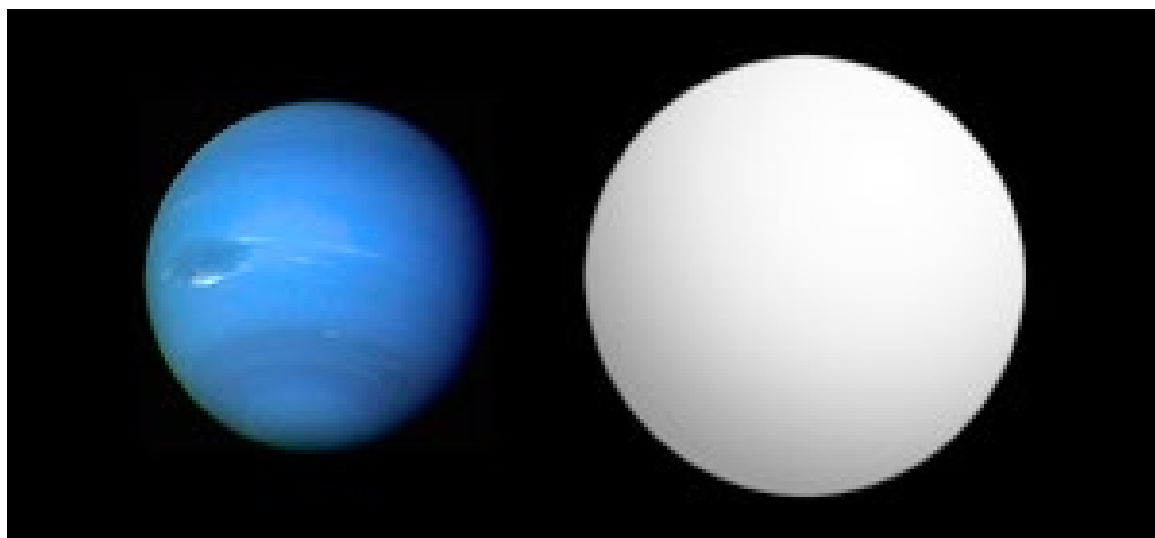


Figura14. Comparación de tamaño entre HAT-P-11 y Neptuno [Fuente: Aldaron, WikiMedia Commons]

Emisión en Radiofrecuencia

La emisión en radiofrecuencia ha sido observada en planetas del sistema solar. La emisión en radio debida al exoplaneta HAT-P-11b, una vez descontada la emisión de la estrella, se atribuye a enormes tormentas con aparato eléctrico muy fuerte (Hodosán et al 2016). La forma propuesta para medir la intensidad de estas tormentas es buscar la línea de emisión del ácido cianhídrico HCN dado que la interacción de los Rayos con la atmósfera planetaria deja una huella reconocible durante años.

Recordemos que el planeta HAT-P-11b está situado en una zona con una Temperatura equivalente superior a los 800 °K con una cara día dirigida siempre hacia su estrella que estará muy recalentada. Sin embargo, en la cara noche del planeta las condiciones atmosféricas deben ser muy diferentes y el gradiente térmico entre ambas caras será muy importante con toda seguridad. Finalmente, estas condiciones se pueden traducir en unos vientos enormes que intenten estabilizar la temperatura del planeta y tremendas tormentas como consecuencia de los gradientes térmicos.

Agradecimientos

Queremos agradecer a los doctores Andrés Moya, Coordinador del Máster de Astronomía y Astrofísica de la Universidad Internacional de Valencia (VIU); a Susana Martín, directora del Observatorio de Sierra Nevada (OSN); y a Fran Aceituno, Asistente del Observatorio de Sierra Nevada (OSN), el habernos dado esta gran oportunidad, buenos consejos y el apoyo recibido durante estas prácticas observacionales.

Referencias

Bakos GA et al. 2010. Hat-P-11b: A Super-Neptune Planet transiting a bright K Star in the Kepler field. *The Astrophysical Journal (ApJ)*. 710:1724–1745.

Deming D et al. 2011. Kepler and Ground-Based Transits of the Exo-Neptune Hatp-11b. *The Astrophysical Journal (ApJ)*. 740:33-43.

Fortney JJ et al. 2007. Planetary radii across five orders of magnitude in mass and stellar insolation: Application to transits. *The Astrophysical Journal (ApJ)*. 659:1661–1672.

Hodosán G et al. 2016. Lightning as a possible source of the radio emission on HAT-P-11b. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society (MNRAS)*.

Mendez A et al. 2011. Habitable Zone Distance: A Habitability Metric for Exoplanets. *Planetary Habitability Laboratory (PHL)*.

Ribas Canudas I, Ballesteros Roselló FJ. 2014. *Exoplanetas y Astrobiología*. VIU. Valencia. España.

Seager S, Mallén-Ornelas G. 2002. A unique solution of planet and star parameters from an extrasolar planet transit light curve. *The Astrophysical Journal (ApJ)*. 585:1038–1055.

Winn JN et al. 2010. The Oblique Orbit of the Super-Neptune Hat-P-11b. *The Astrophysical Journal Letters (ApJL)*. 723:L223–L227.

OBSERVACIONES DE LA ESTRELLA VARIABLE TIPO WUMA V1191 CYG CON EL TELESCOPIO T150 DEL OBSERVATORIO DE SIERRA NEVADA (OSN)

Carlos VISCASILLAS; Claudio ROGEL; Federico ZUCCARINO; Felipe MEZA; José M. RODRÍGUEZ; Roberto MARTÍNEZ
Universidad Internacional de Valencia (VIU). Valencia, España.

Recibido: 14-Septiembre-2016

Aceptado: 21-October-2016

Publicado on-line: 30-Noviembre-2016

RESUMEN

El estudio de binarias eclipsantes resulta de gran interés debido a que algunos tipos muestran periodos cortos de variabilidad en las curvas de luz, algunas veces en el orden de unas cuantas horas, lo anterior, facilita su medición desde observatorios en tierra. En este artículo presentamos el análisis de la observación y los resultados que derivaron la curva de luz de la estrella variable V1191 Cyg, la cual corresponde a la categoría de estrella variable tipo W Ursae Majoris o W UMa.

ABSTRACT

The study of eclipsing binaries is an area of great interest due to the short periods of variability in the curve light found in this type of systems, in some cases consisting of periods of just a few hours, that makes possible the observations from earth. In this paper we present the analysis of the observation and the results of the light curve of the variable star V1191 Cyg that belongs to the category denominated W Ursae Majoris or W UMa.

INTRODUCCIÓN

Las estrellas variables tipo W UMa.

Este tipo de variabilidad destaca por producirse a partir de un sistema binario eclipsante con periodos cortos menores a un día, formado por componentes elipsoidales de baja masa que están en contacto, razón por la cual se les conoce también como binarias de contacto, en la Figura 1 se muestra la configuración típica para este tipo de estrellas.

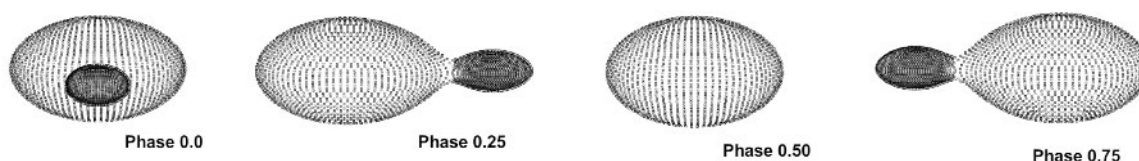


Figura 1. Configuración de la estrella binaria de contacto V1191 Cyg. Zhu, L. Y.; Qian, S. B.; Soonthornthum, B.; He, J. J.; Liu, L. 2011. Deep, Low Mass Ratio Overcontact Binary Systems. XI. V1191 Cygni. The Astronomical Journal, 142: 124-132

Generalmente en estos sistemas la profundidad del mínimo primario y secundario es prácticamente la misma, lo que representa un indicador de que las dos estrellas poseen temperaturas similares, aún con masas distintas. La razón se debe a que la luminosidad puede ser transferida a través de la envoltura común entre ambas estrellas. Las componentes están tan cerca que rebalsan sus lóbulos de Roche.

En la mayoría de casos son estrellas que pertenecen al tipo espectral F o G, y se ha determinado que entre mas pequeña y fría la estrella, menor será su periodo. La mayoría de sistemas de esta clase muestra cambios en sus periodos de variabilidad, algunas veces positivos, otros negativos, lo que representa un indicador de transferencia de masa bidireccional entre ambas componentes (Percy, 2007).

Lo anterior resulta ser un aspecto interesante de cara a la observación, puesto que no sólo se puede estudiar la periodicidad sino también los cambios en la curva de luz respecto al tiempo.

La estrella variable V1191 Cyg

La variabilidad de la estrella V1191 Cyg se midió por primera vez en 1965, por P. Meyer, con mediciones fotoeléctricas. En esa ocasión se logró identificar como tipo W UMa, sin embargo, fue hasta el 2005 que se logró obtener más información del sistema con el trabajo publicado por Pribulla et al., en el que se obtuvieron parámetros a partir de observaciones en CCD, como:

- La inclinación: $i = 80,4^\circ$.
- La relación de masa entre las dos estrellas: $q = 0,094$.
- El grado de contacto: $\alpha = 0,46$.

Rucinski et al. (2008) llevan a cabo el primer estudio espectroscópico del sistema, en el que se ajusta ligeramente la relación de masas a $q = 0,107$. Además, se confirma su clase espectral de tipo F6V.

Zhu et al. (2009) llevan cabo nuevas mediciones determinando un grado de contacto mayor respecto a trabajo previos, $\alpha = 0,686$, sugiriendo que el sistema está en su última fase de evolución y que pronto se convertirá en una única estrella de rápida rotación. Encontraron además que el semi-eje mayor de la órbita es 2,194 , en la Tabla 1 se muestran los datos obtenidos en dicho estudio.

Tabla 1. Resultados obtenidos por Zhu en valores absolutos

Parámetros	Parámetros	Primaria V1191A	Secundaria V1191B
Masa	M_o	$1,306 \pm 0,022$	$0,139 \pm 0,08$
Radio	R_o	$1,307 \pm 0,007$	$0,518 \pm 0,003$
Luminosidad	L_o	$2,731 \pm 0,029$	$0,463 \pm 0,006$

MATERIAL Y MÉTODOS

La observación fue realizada desde el Observatorio de Sierra Nevada (IAA-CSIC) la noche del 17 al 18 de junio de 2016. La primera medición se tomó a las 20:58:24 UT y la última a las 03:56:45 UT, para un tiempo total de observación de 0,2905 días o 6,9727 horas.

No se reportaron suspensiones en la observación por efectos climáticos ni tampoco fallos en el sistema. Las condiciones atmosféricas fueron óptimas para la medición de la totalidad de la curva de luz. La meteorología reportada por el operador fue de despejado a las 21:40, nubes delgadas a la 01:30, despejado a las 04:00 y despejado a las 06:05. Todas en hora civil de España. Las nubes detectadas a la 01:30 o 23:30 UT no causaron problemas en las curvas de luz.

Para la medición de la curva de luz se tomaron 20 imágenes de bias, 40 imágenes de flat y 236 imágenes de la estrella objeto V1191 Cyg. Las imágenes de flat y objeto se tomaron en 4 filtros distintos: R, V, B, U de Johnson-Cousins. Es decir, 10 imágenes de flat y 59 imágenes del objeto, por filtro.

La instrumentación utilizada ha sido la siguiente:

- Telescopio: T150.
- Apertura neta: 150 cm.
- Longitud focal: 12000 mm.
- Óptica: Ritchey-Chretien con 2 Focos Nasmyth.
- Montura: Ecuatorial.
- Cámara: CCD Vers Array 2048x2048.
- FOV: 7.92x7.92 min de arco.
- Resolución: 0,23 "/pixel.
- Filtros: UBV Johnson y R Cousins.

La estrella A, primaria, al transitar en frente de la estrella B, secundaria, ocasiona una pérdida en el brillo de ésta última estrella, en nuestro caso la variación de brillo es de 10,82 a 11,15 mag (Pribulla, et al., 2005). Como se verá mas adelante, se logró obtener la curva que representa dicha variación. Dado que el periodo orbital es de 7,5216 horas (Pribulla, et al., 2005) se logró observar prácticamente toda la curva de luz durante la noche de observación, los filtros usados durante la observación se presentan con su respectivo λ central en la Tabla 2.

Tabla 2. Filtros utilizados durante la observación.

Filtro	λ central
U Johnson	3663 Å
B Johnson	4361 Å
V Johnson	5448 Å
R Cousins	6407 Å

Reducción de imágenes con IRAF v.2-16

El bias de una imagen CCD es una compensación inducida artificialmente por el fabricante para asegurar que el convertidor analógico-digital reciba una señal positiva. Todas las imágenes CCD tienen tal compensación, que debe ser eliminada si los valores de los datos han de ser representativos de las cuentas registradas por píxel. Para eliminar fluctuaciones estadísticas creamos un master bias, que es el promedio de todas las imágenes de bias. Para tal fin se usó la tarea *imcombine*, con la cual restamos el master bias a las imágenes de flat y a las imágenes del objeto.

Seguimos con la corrección por flat para eliminar defectos causados por las variaciones en la sensibilidad de píxel a píxel del detector. También creamos un master flat con la tarea *imcombine* y procedemos a normalizarlo con la tarea *normalize*. Puesto que el flat es un efecto multiplicativo las imágenes del objeto deben ser divididas por el master flat normalizado, esto lo llevamos a cabo con la tarea *imarith*. Una vez finalizado el proceso de reducción tendremos 236 imágenes del objeto V1191 Cyg corregidas por bias y flat, 59 por filtro. El paso siguiente consiste en aplicar la fotometría diferencial sobre cada una de las imágenes obtenidas.

Fotometría diferencial con Fotodif v.3-95

En lugar de medir la magnitud de una estrella en una escala absoluta, las mediciones se realizan en el tiempo en relación con una estrella no variable de calibración. Con fotometría CCD, tanto la estrella objeto como la estrella de calibración se observan simultáneamente, con el mismo instrumento y con los mismos filtros. Al estar muy juntas en el cielo, la masa de aire será la misma por lo tanto el término de extinción, z , se anula, simplificando la ecuación de transformación. La magnitud diferencial será entonces igual a la diferencia entre las magnitudes instrumentales de cada estrella. Se procede a seleccionar el observatorio introduciendo las coordenadas de Latitud y Longitud. El OSN se encuentra a 37°03'51" Norte y 3°23'05" Oeste.

El primer paso fue la calibración del sistema óptico. Tomamos 0,23"/pixel como la resolución del sistema óptico y 60.000 cuentas como el nivel de pérdida de linealidad. El primer dato fue tomado de las características generales de la cámara CCD usada, CCDT150. El segundo dato fue tomado de la prueba de linealidad de la cámara CCD. Ambos datos se obtuvieron del sitio del OSN.

El segundo paso fue la configuración de la fotometría. Constatando que los radios seleccionados son los adecuados para la anchura de la estrella, por prueba-error, se toma el radio de apertura fotométrica en 35 píxeles, el radio interior del fondo en +25 píxeles, es decir 60 píxeles desde el centro y el radio exterior del fondo en +25 píxeles, 85 píxeles desde el centro.

El siguiente paso fue la selección de la estrella de calibración. Se escoge la estrella LS III +41 14 (=GSC 03159-0701). Se confirma, con una estrella de chequeo GSC 03159-1409, que la de calibración no es a su vez, variable, al obtener una diferencia menor a 0,005. En la Tabla 3 se muestra un resumen de la estrella objeto, calibración y chequeo en cuanto a localización y magnitud. Por otro lado, en la Figura 2 se muestra su ubicación en el cielo.

Tabla 3. Resumen de estrellas objeto, calibración y chequeo.

Estrella	Tipo	RA	DEC		
V1191 Cyg	Objeto	F6V	20 16 50.814	+41 57 41.32	11,00 11,39
LS III +41 14	Calibración	O9V	20 17 05.518	+41 57 46.95	10,83 11,41
GSC 03159-1409	Chequeo	N/D	20 16 40.678	+41 55 57.44	15,20 14,10

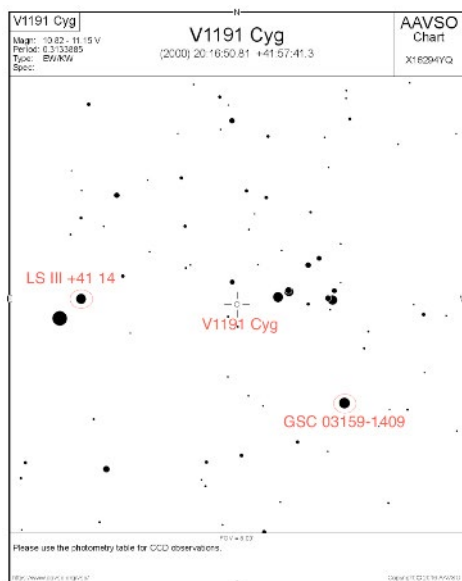


Figura 2. Campo visual de 8' x 8' de la estrella objeto V1191 Cyg obtenido deAAVSO (American Association of Variable Star Observers).

El último paso consistió en ejecutar el proceso de fotometría diferencial, una vez terminado el proceso se obtuvo una tabla, por filtro, con el valor de la diferencia en magnitud de la estrella objeto respecto a la estrella de calibración, mag, tomado en un momento determinado (en unidades de HH:MM:SS o HJD). Seguidamente, se procedió a obtener las curvas de luz correspondientes a cada filtro.

Curvas de luz

Las curvas de luz se obtuvieron con el programa de computación estadística R (The R Project for Statistical Computing). Vale recordar que la primera medición se hizo a las 20:58:24 UT y la última a las 03:56:45 UT, para un tiempo total de observación de 0,2905 días o 6,9727 horas.

Con los datos obtenidos de la fotometría diferencial se procede a hacer un ajuste de curva utilizando el método de regresión local conocido como LOESS (Local regrESSion), éste método combina gran parte de la simplicidad de la regresión lineal de mínimos cuadrados con la flexibilidad de la regresión no lineal, requiere únicamente de dos parámetros: el parámetro de suavización, λ , y el grado de los polinomios, n . El primero controla la flexibilidad de la función de regresión, donde valores pequeños se acercan más a los datos y valores grandes se alejan, pero producen curvas más suaves. El segundo controla el grado, que puede ser de primer grado (lineal) o segundo grado (cuadrático).

Se tomaron $\sigma = 0,30$ y $n = 2$ puesto que son los que presentan el mejor ajuste. Las curvas de luz ajustadas, en unidades de Magnitud relativa, mag, vs. Tiempo en formato HJD+2457550, se presentan en la Figura 3 para el filtro V. Cabe destacar que la misma derivación se llevo a cabo para los filtros U, B de Johnson y C de Cousins.

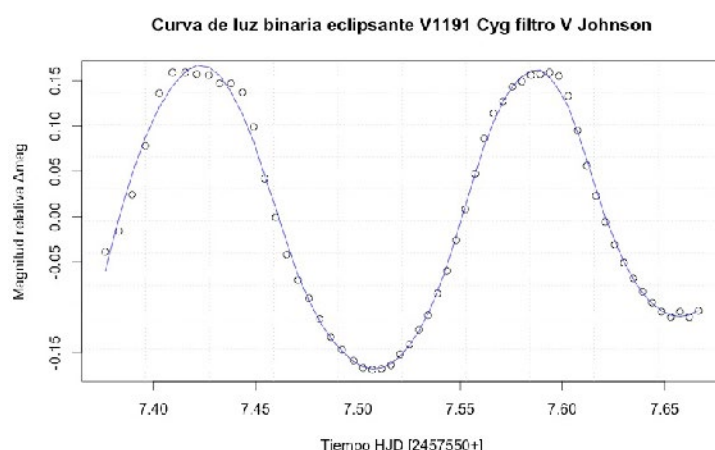


Figura 3. Resultado del ajuste LOESS con el filtro V de Johnson.

RESULTADOS

El ajuste de curva nos arroja una dispersión estándar residual de **0,0096**. Lo primero que podemos determinar analizando las curvas de luz es el período orbital de la binaria eclipsante. Es claro que el sistema, durante un período orbital completo, tendrá dos máximos y dos mínimos. Puesto que la curva de luz exhibe alto grado de simetría entre los dos eclipses aproximamos el período orbital a:

- Tiempo entre máximos: 0,1647 días.
- Tiempo entre mínimos: 0,1491 días.
- **Período orbital: 0,3138 días.**

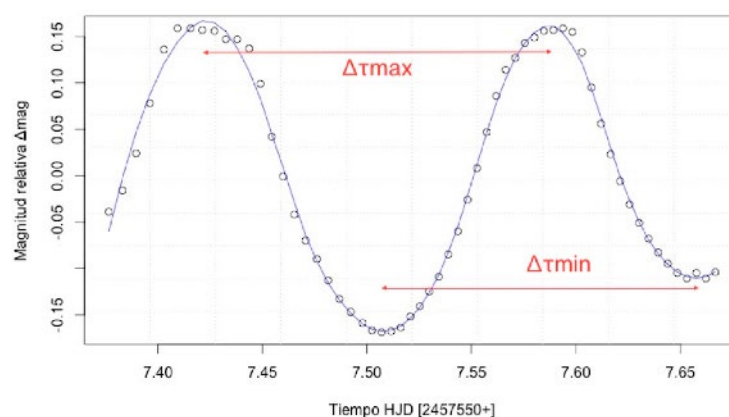


Figura 4. Período orbital en la curva de luz de la estrella V1191 Cyg con filtro V.

El eclipse primario, o más profundo, corresponde al momento en que la estrella más caliente es ocultada por la estrella más fría. O dicho de otro modo, cuando la estrella más fría pasa por el frente de la estrella más caliente. De la misma manera, el eclipse secundario corresponde al momento en que la estrella más fría es ocultada por la más caliente. Seguidamente, de las curvas de luz, determinamos la profundidad de cada eclipse en el filtro V:

- Profundidad del eclipse primario: 0,3343 mag.
- Profundidad del eclipse secundario: 0,2724 mag.

La relación entre la profundidad de los eclipses es equivalente a la relación entre los brillos superficiales que a su vez es una medida no lineal de las temperaturas superficiales de las dos estrellas. La Figura 5 muestra los parámetros y en la curva de luz y la Tabla 4 resume los resultados de profundidad para cada filtro.

- **Relación entre la profundidad de los eclipses: 1,2273.**

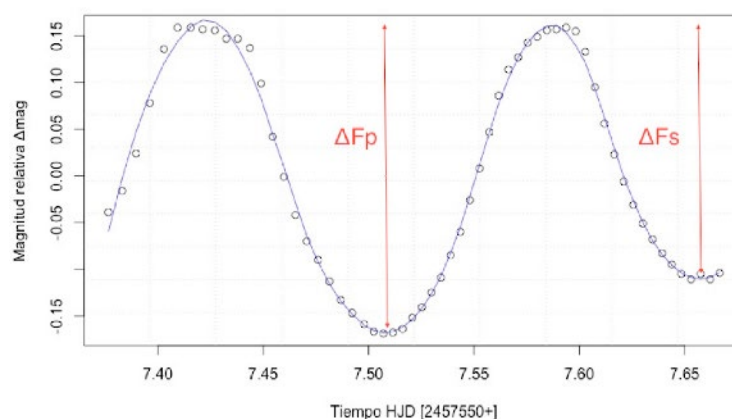


Figura 5. Profundidad en la curva de luz de la binaria eclipsante V1191 Cyg con filtro V.

Tabla 4. Resumen de parámetros de profundidad por filtro.

Parámetro		Filtro B	Filtro R	Filtro U	Filtro V
Profundidad del eclipse primario	ΔF_p	0,3507	0,3221	0,3767	0,3343
Profundidad del eclipse secundario	ΔF_s	0,2839	0,2639	0,2921	0,2724
Relación entre la profundidad de los eclipses	$\Delta F_p / \Delta F_s$	1,2353	1,2205	1,2898	1,2273

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Inicialmente es importante destacar que la curva de luz no está totalmente completa. Al no poder extrapolar a partir de una curva de ajuste de tipo LOESS por ser una regresión local y, notando que la curva de luz exhibe alto grado de simetría entre los dos eclipses, decidimos aproximar el cálculo del período orbital a la suma del tiempo transcurrido entre máximos y el tiempo entre mínimos.

Nuestra aproximación, de 0,3138 días resultó bastante precisa, puesto que difiere poco del resultado obtenido por Pribulla et al. (2005), de 0,3134 días. La diferencia es de tan solo 0,5760 minutos por ciclo.

- Período orbital calculado: $P_{\text{calculado}} \simeq 7,5312$ horas.
- Período orbital calculado por Pribulla: $P_{\text{Pribulla}} \simeq 7,5216$ horas.
- Diferencia en el período orbital: $\Delta P(\%) \simeq 0,1276\%$.

Para órbitas circulares los dos eclipses son de igual duración y están igualmente espaciados cada medio ciclo. Las binarias de contacto como V1191 Cyg suelen tener órbitas circulares o poco excéntricas. El resultado anterior lo confirma.

También podemos derivar el período orbital corriendo un análisis de Fourier a partir de los datos de la fotometría diferencial. El análisis encuentra una frecuencia dominante de amplitud 0,1581 en 6,2033 días⁻¹, como se aprecia en la Figura 6. La frecuencia corresponde a un período de 0,1612 días, que es la mitad del período orbital. Esto se debe a que el análisis de Fourier determina que el eclipse secundario corresponde a otro ciclo, por lo que el período orbital será $2 * P_{\text{Fourier}} \simeq 0,3224$ días o 7,7376 horas.

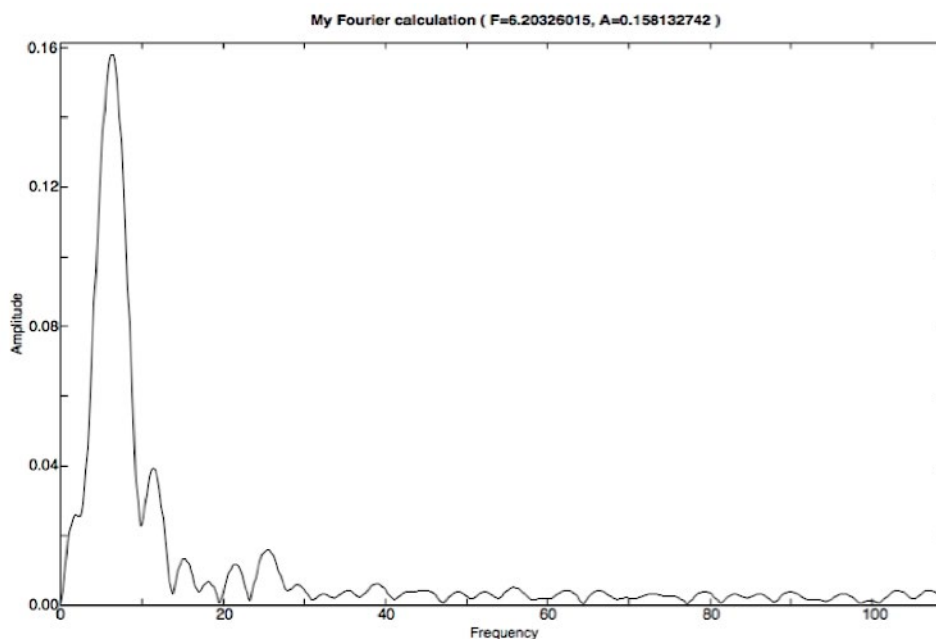


Figura 6. Análisis de Fourier de los datos de fotometría diferencial de la estrella V1191 Cyg.

En cuanto a la temperatura superficial podemos intentar estimar su relación a partir de la relación entre la profundidad de los eclipses. Usamos los valores obtenidos para el filtro V:

- **Relación entre temperaturas superficiales:**

$$\frac{T_p}{T_s} \simeq \left(\frac{1-\Delta F_p}{1-\Delta F_s} \right)^{\frac{1}{4}} \simeq 0,9780$$

Constatamos nuestro resultado con la información encontrada en el trabajo de Rucinski et al., (2008). La temperatura de la estrella primaria está dada en 6.610 K y la temperatura de la estrella secundaria en 6.500 K. Lo que da una relación de 0,9834, que es muy similar a nuestra aproximación en el filtro V de 0,9780.

Podemos también, con la luminosidad (Percy, 2007), obtener la relación de radios entre la estrella primaria y secundaria. Sabemos que (la relación de temperaturas recién la calculamos), por tanto:

$$\frac{R_s}{R_p} = \sqrt{\left(\frac{L_s}{L_p}\right) \left(\frac{T_p}{T_s}\right)^4} = \sqrt{0,1695 \cdot 0,9780^4} = 0,3938$$

El resultado coincide con los obtenidos por Zhu et al. (2011) de 0,3963 a partir del radio de la componente primaria, 1,307 , y el radio de la secundaria, 0,518 . Los autores indican que la relación de masas se invierte durante la evolución del sistema, siendo en este momento, la más caliente también la menos masiva.

AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer al Dr. Andrés Moya, coordinador del Máster en Astronomía y Astrofísica de la Universidad Internacional de Valencia (VIU); a la Dra. Susana Martín, directora del Observatorio de Sierra Nevada (OSN); y al operador del telescopio Fran Aceituno por todo el apoyo brindado durante las prácticas observacionales.

BIBLIOGRAFÍA

- Zhu, L. Y.; Qian, S. B.; Soonthornthum, B.; He, J. J.; Liu, L. 2011. Deep, Low Mass Ratio Overcontact Binary Systems. Xi. V1191 Cygni. *The Astronomical Journal*, 142: 124-132
- Percy, John R. 2007. *Understanding Variable Stars*. Cambridge University Press. New York. EE.UU.
- Mayer, P. 1965. Two new variable stars in the Cygnus. *Bulletin of the Astronomical Institute of Czechoslovakia* 16: 255-256.
- Pribulla, T.; Vaňko, M.; Chochol, D. R.; Parimucha, Š.; Baluďanský, D. 2005. Ccd Photometry of the Neglected Contact Binaries V344 Lac and V1191 Cyg. *Astrophysics and Space Science* 296: 281-284.
- Rucinski, S. M.; Pribulla, T.; Mochnacki, S. W.; Liokumovich, E.; Lu, W.; Debond, H.; De Ridder, A.; Karmo, T.; Rock, M.; Thomson, J. R.; Ogłóza, W.; Kaminski, K.; Ligeza, P. 2008. Radial Velocity Studies of Close Binary Stars. Xiii. *The Astronomical Journal* 136 (2): 586-593.

FLORACIONES DE CIANOBACTERIAS Y VALORES DE MICROCISTINA-LR SESTÓNICA Y DISUELTA EN EMBALSES DE LA CUENCA HIDROGRÁFICA DEL MIÑO-SIL (NW-ESPAÑA)

Lorena LAGO¹; Sandra BARCA¹; Rufino VIEIRA-LANERO¹; Fernando COBO^{1,2}

¹Estación de Hidrobiología "Encoro do Con", Universidade de Santiago de Compostela. Vilagarcía de Arousa, España

²Departamento de Zooloxía e Antropoloxía Física, Universidade de Santiago de Compostela, Campus Vida. Santiago de Compostela, España

Recibido: 09-Octubre-2016

Aceptado: 21-Octubre-2016

Publicado on-line: 30-Noviembre-2016

Resumen

Entre octubre del año 2012 y febrero del 2015 se analizaron 181 muestras de agua de nueve embalses de la cuenca hidrográfica del Miño-Sil (As Conchas, Cachamuíña, Castadón, Faramontaos, Os Peares, Prada, Salas y Vilasouto), 64 de ellas para un estudio más en detalle del embalse de Vilasouto. En las muestras se identificaron y cuantificaron las especies de cianobacterias presentes y se determinó la concentración de la toxina microcistina-LR (MC-LR), tanto en la fracción sestónica como en la disuelta. Para la identificación y la cuantificación de las cianobacterias se aplicó la norma UNE-EN15204, utilizando una cámara de sedimentación combinada bajo un microscopio invertido Nikon Eclipse TE 2000-S. La detección y determinación de ambas fracciones de MC-LR se realizó por enzimoimmunoensayo utilizando el kit EnviroGard Microcystins QuantiTube. Excepto en el embalse de Salas, en el que no se detectó la presencia de cianobacterias ni de MC-LR, en los ocho embalses restantes se identificaron diez especies de cianobacterias: *Anabaena circinalis*, *Anabaena crassa*, *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena planctonica*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Gomphosphaeria* sp., *Microcystis aeruginosa*, *Planktothrix agardhii*, *Planktothrix rubescens* y *Woronichinia naegeliana*; todas ellas potencialmente tóxicas. Sin embargo, únicamente en cinco de estos embalses (Vilasouto, Castadón, Cachamuíña, Os Peares y Faramontaos) se detectó MC-LR. Las especies que afloraron fueron *A. planctonica*, *Gomphosphaeria* sp. y *P. rubescens* en Vilasouto; *M. aeruginosa* en As Conchas, Cachamuíña y Castadón; *A. circinalis* en Prada y Faramontaos; *W. naegeliana* en Os Peares, *A. flos-aquae* en Faramontaos y *Aph. flos-aquae* en Lindoso. Los embalses de As Conchas y Lindoso, a pesar de estar situados uno a continuación del otro en el río Limia, presentaron floraciones no tóxicas diferentes: de *M. aeruginosa* y *Aph. flos-aquae* respectivamente; mientras que los embalses de Castadón y Cachamuíña que se sitúan de la misma forma en el río Lonia, presentaron afloramientos tóxicos de *M. aeruginosa*. Las especies de cianobacterias identificadas en Vilasouto fueron *Anabaena planctonica*, *Gomphosphaeria* sp., *Planktothrix agardhii* y *Planktothrix rubescens*; todas ellas potencialmente tóxicas. *P. rubescens* fue la especie dominante durante los primeros meses del año 2013 y 2014. El afloramiento de 2013 fue el más intenso (con máximos de abundancia de 257550 cél./ml en febrero y 1448000 cél./ml en abril), prolongándose incluso hasta el mes de julio. Las concentraciones de MC-LR sestónica y disuelta en el embalse de Vilasouto superaron el valor límite propuesto por la OMS (1µg/l) en octubre del 2012, de enero a julio de 2013 y en los meses de marzo y mayo de 2014. Estas concentraciones presentan una correlación de Spearman significativa ($\alpha = 0,05$) con la abundancia de *P. rubescens* y *A. planctonica*.

Abstract

Between October 2012 and February 2015, 181 water samples from nine reservoirs (As Conchas, Cachamuíña, Castadón, Faramontaos, Os Peares, Prada, Salas and Vilasouto), all belonging to the catchment area of Miño-Sil, were analyzed. 64 samples, from Vilasouto reservoir, were considered for a more detailed study. The cyanobacteria species were identified and quantified, and the concentration of the microcystin-LR (MC-LR) was determined, both the sestonic and the dissolved fraction. The cyanobacteria were identified and quantified according to the UNE-EN15204 standard, using a settling chamber combined under an inverted microscope Nikon Eclipse TE 2000-S. The detection and determination of both fractions of MC-LR were conducted by means of an enzyme immunoassay, with the EnviroGard Microcystins QuantiTube kit. In all the reservoirs, except in Salas reservoir in which any cyanobacteria or MC-LR were detected, ten species of potentially toxic cyanobacteria were identified: *Anabaena circinalis*, *Anabaena crassa*, *Anabaena flos-aquae*, *Anabaena planctonica*, *Aphanizomenon flos-aquae*, *Gomphosphaeria* sp., *Microcystis aeruginosa*, *Planktothrix agardhii*, *Planktothrix rubescens* and *Woronichinia naegeliana*. However, MC-LR found out only in five of these reservoirs (Vilasouto, Castadón, Cachamuíña, Os Peares and Faramontaos). The species that emerged were: *A. planctonica*, *Gomphosphaeria* sp. and *P. rubescens* in Vilasouto; *M. aeruginosa* in As Conchas, Cachamuíña and Castadón; *A. circinalis* in Prada and Faramontaos; *W. naegeliana* in Os Peares, *A. flos-aquae* in Faramontaos and *Aph. flos-aquae* in Lindoso. As Conchas and Lindoso reservoirs, in spite of being one after the other in the Lima river, had different non-toxic blooms of *M. aeruginosa* and *Aph. flos-aquae* respectively; while Cachamuíña and Castadón reservoirs, which are located in the same way that the previous, these in the Lonia river, showed toxic outcrops of *M. aeruginosa*. The cyanobacterial species identified in Vilasouto reservoir were *Anabaena planctonica*, *Gomphosphaeria* sp., *Planktothrix agardhii* and *Planktothrix rubescens*; all potentially toxic. *P. rubescens* was the dominant specie in the early months of 2013 and 2014. The bloom of 2013 was the most intense (with a maximum abundance of 257550 cel./ml in February and of 1448000 cel./ml in April), extending even until July. The concentration of sestonic and dissolved MC-LR in Vilasouto exceeded the limit value proposed by WHO (1 µg/l) in different periods: October of 2012, from January to July of 2013 and in March and May of 2014; all showing a significant Spearman correlation ($\alpha = 0,05$) with the abundance of *A. planctonica* and *P. rubescens*.

Introducción

Las Cianobacterias son organismos procariotas, aeróbicos y fotoautótrofos (Roset et al., 2001) que incluyen aproximadamente 150 géneros que engloban unas 2000 especies (Forján Lozano et al., 2008). Además, se considera el grupo de procariotas fotosintéticos más relevante en cuanto a biodiversidad y biomasa (Carrasco, 2007).

Las proliferaciones masivas de cianobacterias representan un importante problema económico y ecológico en la gestión del agua y de los ecosistemas acuáticos. El incremento de biomasa además de ocasionar problemas estéticos como la aparición de espumas y olores desagradables, altera el sabor del agua de consumo y al descomponerse causan desoxigenación alterando la química del agua, cambios que influyen en la supervivencia de animales acuáticos (Cobo et al., 2012; Cobo, 2015).

Además, estos organismos pueden producir metabolitos bioactivos (cianopéptidos) y cianotoxinas (neurotoxinas, hepatotoxinas, citotoxinas, dermatotoxinas, toxinas irritantes y endotoxinas) que constituyen un serio problema ambiental con graves repercusiones sobre la salud humana y animal (Cobo, 2015). Las hepatotoxinas son el tipo de cianotoxina más común en agua dulce (Sivonen y Jones, 1999). Las primeras hepatotoxinas identificadas como heptapéptidos cíclicos fueron las microcistinas (Carmichael et al., 1988). Hasta la fecha se han identificado más de noventa variantes químicas de microcistina (Metcalf y Codd, 2012) entre las que se encuentra la microcistina-LR (MC-LR), considerada una de las más frecuentes en las comunidades planctónicas de los ecosistemas acuáticos continentales (Carrasco, 2007). Esta cianotoxina presenta una elevada toxicidad con una dosis letal media (DL50) de 50 µg/kg por inyección intraperitoneal en ratón (Harada, 1996; Vergara Larrayad et al., 2005). El valor provisional de referencia para las toxinas establecido por la OMS en 1997 es 1 µg/l, considerado el nivel máximo aceptable para el consumo oral diario de microcistina-LR.

Entre los factores que favorecen la dominancia de las cianobacterias potencialmente tóxicas y la proliferación de sus floraciones en los ecosistemas acuáticos podemos citar: la elevada concentración de fósforo y nitrógeno (únicamente para algunos taxones), la baja relación N:P, los largos tiempos de residencia del agua, la baja turbulencia, la elevada intensidad lumínica, las altas temperaturas, el aumento de materia orgánica disuelta, el suficiente hierro y metales traza y la baja tasa de pastoreo por parte de planctófagos (Paerl y Otten, 2013).

Los episodios de proliferación masiva de cianobacterias de los que se tiene constancia en Galicia, se produjeron con una mayor frecuencia en los embalses de la cuenca Miño-Sil (Cobo, 2008; Cobo et al., 2012). El primer episodio registrado tuvo lugar en el embalse de Castrelo de Miño, en el año 1990, siendo la especie dominante *Microcystis aeruginosa* (Kützing) Kützing, 1846. Las aguas del embalse fueron turbinadas río abajo, de manera que se detectaron elevados niveles de cianobacterias en la desembocadura del río Miño, en el tramo internacional, lo que causó una gran alarma en los ayuntamientos españoles y portugueses ribereños (Cobo, 2008). El episodio de proliferación de *M. aeruginosa* se repitió al año siguiente (1991); pero en julio de 1992 la especie dominante fue *Anabaena spiroides* Klebahn, 1895, siendo sustituida nuevamente por *M. aeruginosa* en el mes de septiembre y permaneciendo, esta última como dominante en Castrelo de Miño durante los tres años siguientes (1993, 1994 y 1995) (Lago, 2015). En este embalse y en el embalse de Belesar, situado aguas abajo de Lugo, se identificaron en el año 2001 las especies: *Aphanothece clathrata* West y G. S. West, 1906, *Aphanizomenon gracile* Lemmermann, 1907, *Phormidium* sp. y *Pseudanabaena* cfr. *tenuis* Koppe, 1924. En el año 2002 se produjo en Belesar un bloom de *Aphanizomenon flos-aquae* Ralfs ex Bornet y Flahault, 1886. Sin embargo, de 2002 al 2012, año en el que esta especie vuelve a desarrollar una floración, no existen datos que reflejen la presencia de una floración de cianobacterias en este embalse del río Miño (Lago, 2015).

Otro de los embalses de la Demarcación Hidrográfica Miño-Sil que se ha visto afectado por las floraciones de cianobacterias ha sido el de As Conchas, situado en el río Limia. En este embalse se detectó, durante el año 2000, la presencia de la especie *Woronichinia naegelianiana* (Unger) Elenkin, 1933 con una abundancia elevada. Los episodios de floración fueron

más importantes a partir del año 2006 debido a que, a partir de ese momento, es la especie *M. aeruginosa* la que se desarrolla masivamente, de modo que es la responsable de las floraciones que han tenido lugar en As Conchas desde entonces hasta el año 2012 (Lago, 2015).

Asimismo, los embalses de Cachamuíña y Castadón, situados en el río Lonia afluente del Miño, han presentado regularmente floraciones de *M. aeruginosa* y *Anabaena crassa* (Lemmermann) Komárková-Legnová y Cronberg, 1992 y de *M. aeruginosa* y *Anabaena flos-aquae* Brébisson ex Bornet y Flauhault, 1886, respectivamente. En el embalse de Cachamuíña la especie *M. aeruginosa* dió lugar a floraciones desde 1994 hasta 2012, con la excepción del 2010, año en que la especie dominante fue *Anabaena crassa*. Por otro lado, el embalse de Castadón presentó floraciones de *M. aeruginosa* de 1998 a 2012, apareciendo también, en el año 2011, la especie *A. flos-aquae*, con una abundancia de células elevada. (Lago, 2015).

Otro de los embalses afectados ha sido el de Os Peares, en el río Miño, en el que se han identificado floraciones de *Aph. flos-aquae* y *M. aeruginosa* en el año 2009; mientras que en el año 2011, *M. aeruginosa* fue sustituida por *Aph. flos-aquae* y *Aphanizomenon* sp. Estas especies vuelven a ser reemplazadas en el año 2012 por la especie *W. naegeliana*. Los últimos embalses de la Demarcación Miño-Sil en ser afectados han sido los de Vilasouto, Prada y Faramontaos. El embalse de Vilasouto, en el río Mao presentó una floración de *Planktothrix rubescens* (De Candolle ex Gomont) Anagnostidis y Komárek, 1988 en el año 2011, un desarrollo masivo de *Anabaena planctonica* Brunnthaler, 1903, *Gomphosphaeria* sp. y de nuevo *P. rubescens* durante el año 2012 y abundancias importantes tanto de *A. planctonica* como de *P. rubescens* durante los primeros meses de 2013. Finalmente, en el año 2012 se han observado floraciones de la especie *Anabaena circinalis* Rabenhorst ex Bornet y Flauhault, 1886 en el embalse de Prada, y de las especies *A. circinalis* y *A. planctonica* en el embalse de Faramontaos (Lago, 2015).

Fuera de la cuenca Miño-Sil, el episodio más llamativo fue la floración de *M. aeruginosa* en el embalse de A Baxe, en el río Umia, detectada por primera vez en el año 2006 (Cobo, 2008; Cobo et al., 2012). Debido a su toxicidad se comprometió el suministro de agua en los ayuntamientos de Caldas de Reis y Vilagarcía de Arousa; repitiéndose, este problema anualmente desde entonces hasta el año 2012. Otro embalse con floraciones frecuentes de *M. aeruginosa* es el de As Forcadas, en el río Forcadas. Los datos muestran floraciones de esta especie del 2006 al 2011, aunque también se ha observado durante ese periodo la dominancia de otras especies como son: *Anabaena* sp., *Gomphosphaeria* sp., *A. planctonica*, *Microcystis* sp. y *W. naegeliana* (Cobo et al., 2012; Lago, 2015).

A la vista de la poca información existente sobre la presencia de las cianobacterias en Galicia, el objetivo de este trabajo consistió en el estudio de la evolución de las cianobacterias y de la toxina MC-LR en la cuenca Miño-Sil, en la que ya existía constancia de proliferaciones importantes. Además, se realizó un estudio más en detalle del embalse de Vilasouto ya que fue la masa de agua en la que se detectaron los valores más elevados de la hepatotoxina.

Material y métodos

Entre octubre del año 2012 y febrero del 2015 se analizaron 181 muestras de agua de nueve embalses de la cuenca hidrográfica del Miño-Sil (As Conchas, Cachamuíña, Castadón, Faramontaos o Presa de Gundín, Lindoso, Os Peares, Prada, Salas y Vilasouto) (Figura 1), utilizando 64 de estas muestras, las pertenecientes al embalse de Vilasouto, para un estudiar más en detalle la relación de la abundancia de las cianobacterias presentes y la concentración de la toxina microcistina-LR.

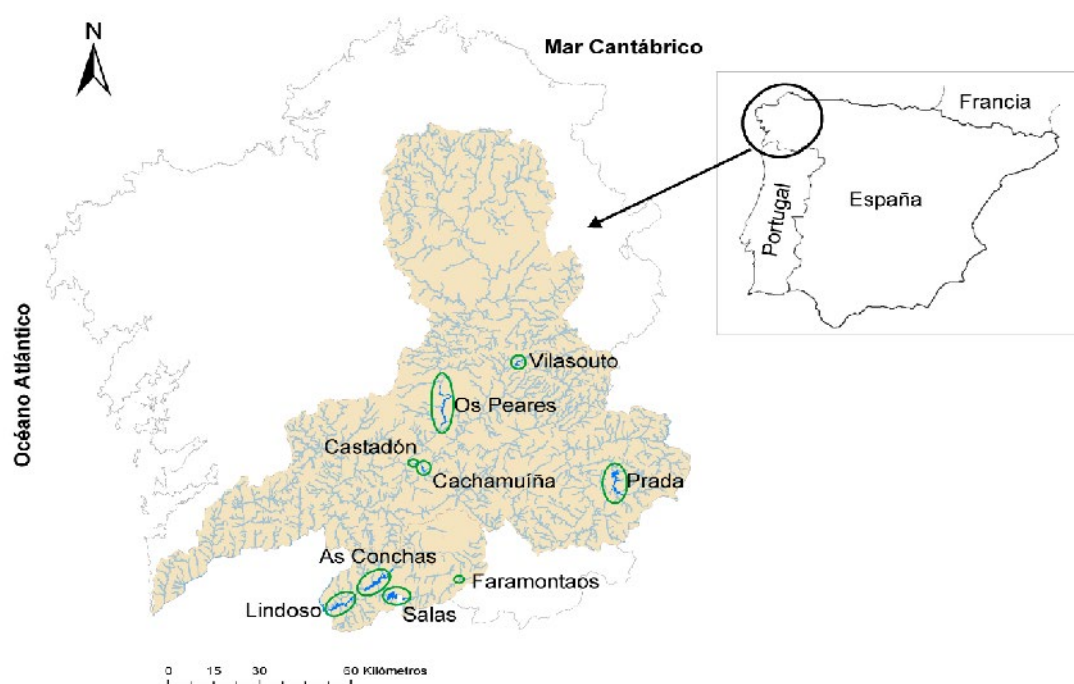


Figura 1. Localización de los embalses estudiados en la cuenca hidrográfica del Miño-Sil.

El protocolo de muestreo y, por tanto, la planificación del número de muestras, su recogida y su traslado al laboratorio fue llevado a cabo por miembros de Confederación Hidrográfica Miño-Sil. Se tomaron muestras integrales de la columna de agua mediante el uso de una botella “Van Dorn”. El total de muestras fue de 181 en todo el periodo de estudio. Las muestras recogidas, con un volumen de 250 ml, se trasladaron al laboratorio de la Estación de Hidrobiología “Encoro do Con” refrigeradas a 4 °C en neveras portátiles.

Para la identificación y la cuantificación de las cianobacterias se aplicó la norma UNE-EN15204 (UNE-EN 15204:2007), basada en la técnica descrita por Utermöhl (1958), utilizando una cámara de sedimentación combinada bajo un microscopio invertido Nikon Eclipse TE 2000-S, acoplado a una cámara digital Nikon de 12 megapíxeles de resolución con software de biometría (NIS-Elements BR 3.0®). Para la identificación de las especies de cianobacterias se utilizaron claves y guías especializadas (Komárek y Anagnostidis, 1986, 1989, 1999; Anagnostidis y Komárek, 1988).

La detección y determinación de ambas fracciones de MC-LR (sestónica y disuelta) se llevó a cabo mediante enzimoimmunoensayo utilizando el kit EnviroGard Microcystins QuantiTube®. La extracción de la fase sestónica se llevó a cabo por medio de la lisis celular en metanol frío al 90%, mediante sonicación y posterior filtrado de las muestras para eliminar los restos celulares; mientras que para la obtención de la fase disuelta únicamente se realizó el filtrado de las muestras para eliminar los posibles restos celulares.

El kit utilizado está calibrado con una microcistina-LR no tóxica y sucedánea a niveles equivalentes a 0,2, 0,8 y 4,0 partes por billón (ppb) de microcistina-LR. Utiliza anticuerpos policlonales, los cuales se unen a las microcistinas si éstas están presentes en las muestras o a un conjugado microcistina/enzima en el caso de que éstas no estén presentes, dando lugar a la aparición de una coloración azulada inversamente proporcional a la concentración de microcistina presente en la muestra. Dicha coloración se detecta en un espectrofotómetro de doble longitud de onda, fijándolo para la lectura a 450 nm-600 nm. El límite de detección del ELISA es de 0,2 µg/l.

Con el fin de observar la relación de la concentración de la toxina MC-LR con la abundancia de las especies de cianobacterias presentes en el embalse de Vilasouto se realizó el análisis de la correlación de Spearman ($\alpha = 0,05$). Este análisis se llevó a cabo con el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, versión 15.0).

En las representaciones gráficas de algunos resultados se ha optado por partir la escala del eje “y”; de esta forma se distingue la evolución de los valores mínimos para cada uno de los parámetros aunque existan valores extremos.

Resultados y Discusión

Excepto en el embalse de Salas, en el que no se detectó la presencia de cianobacterias ni de MC-LR, en los ocho embalses restantes se identificaron diez especies de cianobacterias (Tabla 1); todas ellas potencialmente tóxicas.

Tabla 1. Datos referentes a los embalses estudiados.

Embalse	Río	Nº de muestras	Cianobacterias presentes
As Conchas	Limia	80	<i>Anabaena crassa</i> , <i>Anabaena planctonica</i> , <i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> y <i>Woronichinia naegeliana</i>
Cachamuña	Lonia	8	<i>Anabaena crassa</i> y <i>Microcystis aeruginosa</i>
Castadón	Lonia	12	<i>Anabaena crassa</i> y <i>Microcystis aeruginosa</i>
Faramontaos	Faramontaos	2	<i>Anabaena circinalis</i> y <i>Anabaena flos-aquae</i>
Lindoso	Limia	5	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> , <i>Microcystis aeruginosa</i> y <i>Woronichinia naegeliana</i>
Os Peares	Miño	2	<i>Microcystis aeruginosa</i> y <i>Woronichinia naegeliana</i>
Prada	Xares	6	<i>Anabaena circinalis</i>
Salas	Salas	2	No se ha detectado su presencia
Vilasouto	Mao	64	<i>Anabaena planctonica</i> , <i>Gomphosphaeria sp.</i> , <i>Planktothrix agardhii</i> y <i>Planktothrix rubescens</i>

Las especies que presentaron abundancias superiores a 20000 células por mililitro, límite a partir del cual se confirma la existencia de una floración (Cobo et al., 2012), fueron *M. aeruginosa* en As Conchas (Figura 2), Cachamuña y Castadón (Figura 3); *A. circinalis* y *A. flos-aquae* en Faramontaos; *Aph. flos-aquae* en Lindoso; *W. naegeliana* en Os Peares; *A. circinalis* en Prada (Figura 4) y *A. planctonica*, *Gomphosphaeria sp.* y *P. rubescens* en Vilasouto (Figura 5).

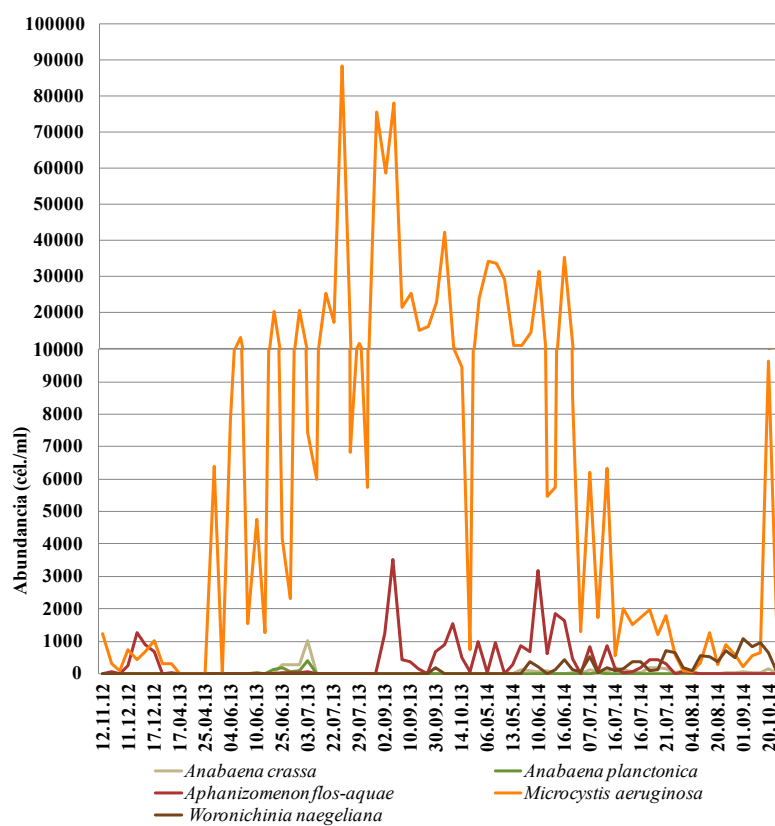


Figura 2. Abundancia de cianobacterias (cél./ml) en el embalse de As Conchas.

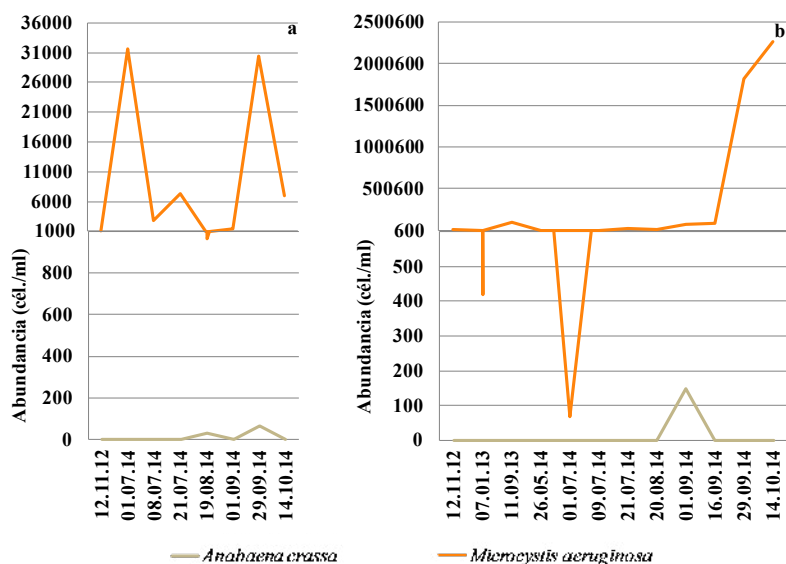


Figura 3. Abundancia de cianobacterias (cél./ml) en los embalses de Cachamuiña (a) y Castadón (b).

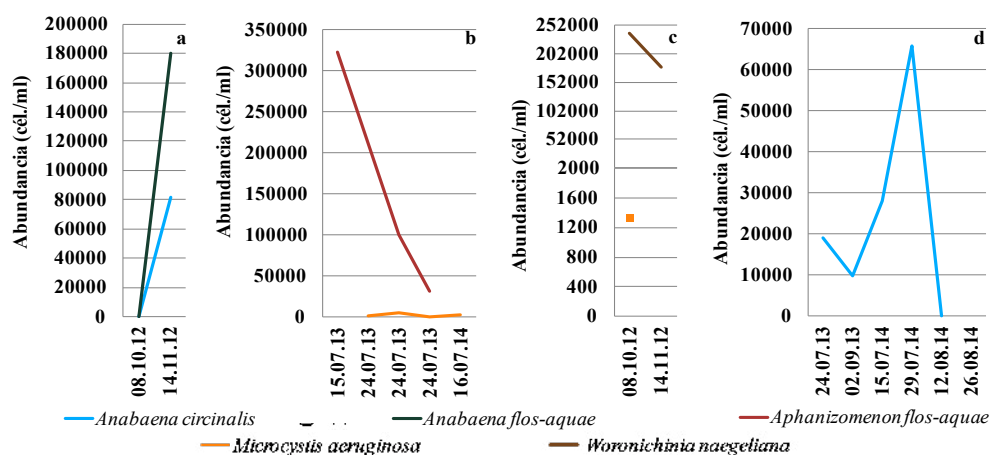


Figura 4. Abundancia de cianobacterias (cél./ml) en los embalses de Faramontaos (a), Lindoso (b), Prada (c) y Os Peares (d).

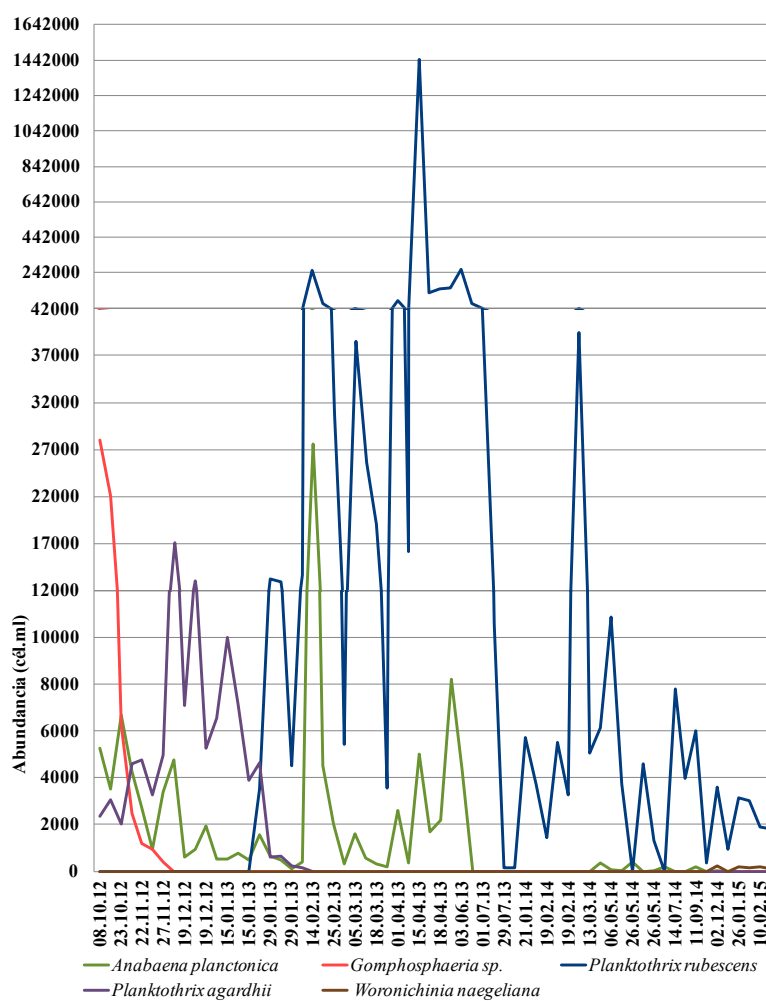


Figura 5. Abundancia de cianobacterias (cél./ml) en el embalse de Vilasouto.

Únicamente en cinco de estos embalses (Cachamuña, Castadón Faramontaos, Os Peares y Vilasouto) se detectó MC-LR (Figuras 6 y 7). A excepción de Os Peares, el resto superó, en algún momento, el límite propuesto por la OMS ($1\mu\text{g/l}$) para la concentración de MC-LR (Figuras 6 y 7).

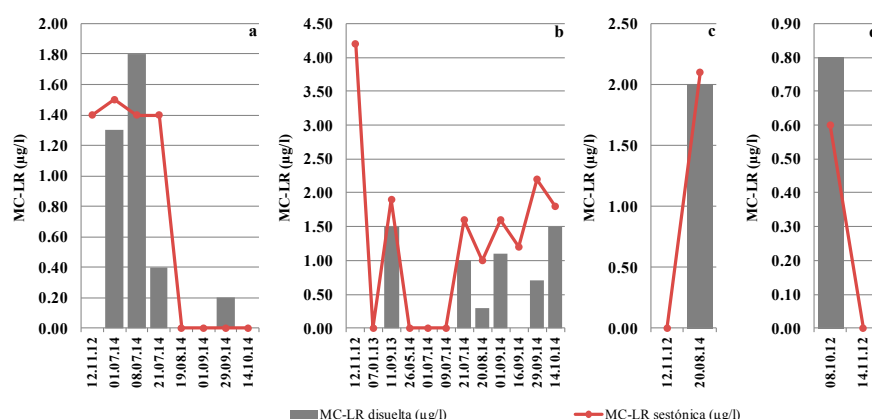


Figura 6. MC-LR disuelta ($\mu\text{g/l}$) y MC-LR sestónica ($\mu\text{g/l}$) en los embalses de Cachamuña (a), Castadón (b), Faramontaos (c) y Os Peares (d).

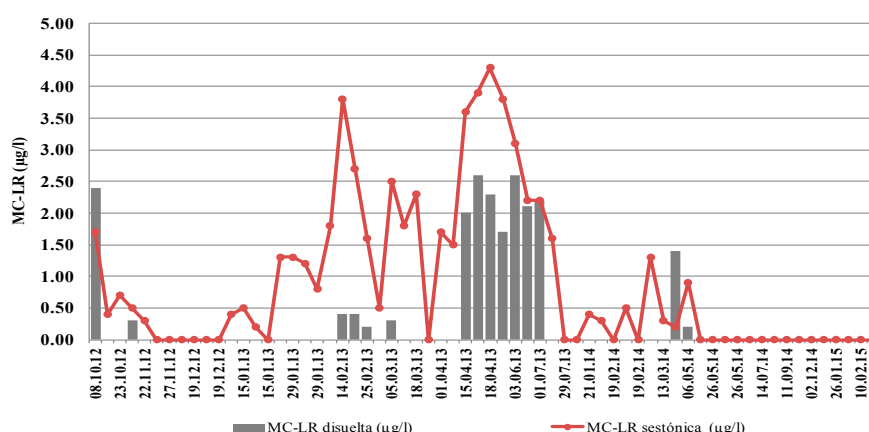


Figura 7. MC-LR disuelta ($\mu\text{g/l}$) y MC-LR sestónica ($\mu\text{g/l}$) en el embalse de Vilasouto.

Los embalses de As Conchas y Lindoso, a pesar de estar situados uno a continuación del otro en el río Limia, presentaron floraciones no tóxicas diferentes de *M. aeruginosa* y *Aph. flos-aquae* respectivamente (Figuras 2 y 4); mientras que Castadón y Cachamuña que se sitúan de la misma forma en el río Lonia, presentaron ambos afloramientos tóxicos de *M. aeruginosa*. (Figuras 3 y 6).

La especie más común en los embalses estudiados fue *M. aeruginosa*, detectándose en 5 de los 8 embalses con presencia de cianobacterias. La presencia de esta especie se considera común en la Península Ibérica (Vasconcelos et al., 1995, 1996; Vasconcelos, 2001; De Hoyos et al., 2004; Carrasco et al., 2006; Cobo et al., 2012; Cirés et al., 2013a, 2013b; Agha Frías, 2013). Las floraciones de *M. aeruginosa* se están convirtiendo con rapidez en un problema

de salud global por el aumento en la frecuencia e intensidad de floraciones tóxicas en todo el mundo (Davis et al., 2009; Lehman et al., 2013). Los *blooms* tóxicos del género han sido citados en Europa, Asia, África, Australia y Norte y Sur América (Miller et al., 2010), dejando la Antártida como el único continente que no ha presentado floraciones tóxicas de *Microcystis* (O'Neil et al., 2012). *M. aeruginosa* produce una elevada cantidad de microcistinas y es una de las especies de agua dulce más hepatotóxicas del mundo (Monchamp et al., 2014).

A pesar de que en el embalse de Vilasouto no se ha detectado la presencia de *M. aeruginosa*, fue en este embalse en el que se detectaron las mayores concentraciones de MC-LR (sestónica y disuelta) durante el mayor periodo de tiempo (Figura 7). En este embalse, de las cuatro especies presentes, únicamente *P. rubescens*, *A. planctonica* y *Gomphosphaeria* sp. han presentado abundancias superiores a 20000 células por mililitro (Tabla 2, Figura 5), considerándose en estos casos que existe una floración.

Tabla 2. Cianobacterias identificadas en el embalse de Vilasouto.

Cianobacterias presentes	Abundancia máxima (cél./ml)	Fecha
Anabaena planctonica	27615	14/02/2013
Gomphosphaeria sp.	28000	08/10/2012
Planktothrix agardhii	17065	12/12/2012
Planktothrix rubescens	1448000	15/04/2013

La especie *P. rubescens* fue la dominante durante los primeros meses del año 2013 y 2014 (Figura 5). La floración de 2013 fue la más intensa (con máximos de abundancia de 257550 cél./ml en febrero, 1448000 cél./ml en abril y 262263 en junio), prolongándose incluso hasta el mes de julio. Lo habitual en esta especie es producir floraciones en invierno, si bien las floraciones tóxicas también pueden ocurrir antes de mayo (Janse et al., 2005).

Para la planificación de la toma de muestras durante la monitorización del embalse de Vilasouto y para la captación de agua, ya que es un embalse de abastecimiento, debe tenerse en cuenta que en los lagos oligotróficos y mesotróficos, las especies del género *Planktothrix* son conocidas por situarse en el metalimnion durante la estratificación estival (Paulino et al., 2009).

Las concentraciones de MC-LR sestónica y disuelta superaron el valor límite propuesto por la OMS (1µg/l) en octubre del 2012, de enero a julio de 2013 y en los meses de marzo y mayo de 2014 (Figura 7). Estas concentraciones presentan una correlación de Spearman significativa ($\alpha = 0,05$) con la abundancia de *P. rubescens* y *A. planctonica* (Tabla 3). Los valores de correlación son superiores en lo que respecta a la MC-LR sestónica en ambos casos, siendo *P. rubescens* la especie que presenta los mayores valores. Paradójicamente, *Gomphosphaeria* sp. y *Planktothrix agardhii* no presentan correlación significativa con ninguna de las dos fracciones de MC-LR.

Tabla 3. Correlaciones de Spearman entre la concentración de MC-LR (fracción disuelta y sestónica) y la abundancia de las especies de cianobacterias presentes en el embalse de Vilasouto.

	MC-LR sestónica	MC-LR disuelta
Abundancia (cél./ml) <i>Anabaena planctonica</i>	0,463 *	0,416 *
Abundancia (cél./ml) <i>Gomphosphaeria sp.</i>	-0,004	0,056
Abundancia (cél./ml) <i>Planktothrix agardhii</i>	-0,118	-0,219
Abundancia (cél./ml) <i>Planktothrix rubescens</i>	0,715 *	0,525 *

* correlación significativa $\alpha = 0,05$

Como hemos visto, las mayores concentraciones de microcistina se han observado en los embalses de Castadón (Figura 6) y Vilasouto (Figura 7) correspondiéndose con las mayores abundancias de *M. aeruginosa* y de *P. rubescens* y *A. planctónica* respectivamente (Figuras 3 y 5), especies típicamente productoras de microcistinas (Carrasco et al., 2006).

Los resultados muestran que la concentración de MC-LR está relacionada con el tamaño de la población de cianobacterias. Esta concentración puede variar debido a cambios en las condiciones ambientales y en la sucesión de las especies o cepas, ya que algunas cepas son más tóxicas que otras, incluso por tres órdenes de magnitud (Sivonen y Jones, 1999).

Agradecimientos

Este trabajo se realizó en los laboratorios de la Estación de Hidrobiología “Encoro do Con” de la USC en Vilagarcía de Arousa dentro de un proyecto de vigilancia financiado por la Confederación Hidrográfica del Miño-Sil.

Referencias

- Agha Frías, R. 2013. Chemotypical subpopulations in planktonic Cyanobacteria. Ecology and application in advanced monitoring tools. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- Anagnostidis, K., Komárek, J. 1988. Modern Approach to the Classification System of Cyanophytes 3-Oscillatoriales. Archiv für Hydrobiologie, Supplement 80 (1-4): 327-472.
- Carmichael, W. W., Beasley, V., Bunner, D. L., Eloff, J. N., Falconer, I., Gorham, P., Harada, K. I., Krishnamurthy, T., YU, M. J., Monre, R. E., Rinehart, K., Ronnegar, M., Skulberg, O. M., Watanabe, M. 1988. Naming of cyclic heptapeptide toxins of Cyanobacteria (blue-green algae). Toxicon 26 (1): 971-973.
- Carrasco, D. 2007. Cianobacterias planctónicas y cianotoxinas en embalses españoles. Tesis Doctoral. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid.
- Carrasco, D., Moreno, E., Sanchis, D., Wörmer, L., Paniagua, T., Del Cueto, A., Quesada, A. 2006. Cyanobacterial abundance and microcystin occurrence in mediterranean water reservoirs in central Spain: microcystins in the Madrid area. European Journal of Phycology 41: 281-291.
- Cirés, S., Wörmer, L., Agha, R., Quesada, A. 2013a. Overwintering populations of *Anabaena*, *Aphanizomenon* and *Microcystis* as potential inocula for summer blooms. Journal of Plankton Research 35:1254-1266.
- Cirés, S., Wörmer, L., Carrasco, D., Quesada, A. 2013b. Sedimentation patterns of toxin-producing *Microcystis* morphospecies in freshwater reservoirs. Toxins 5: 939-957.

- Cobo, F. 2008. Floracións de Cianobacterias tóxicas en augas continentais. CERNA 54: 24-28.
- Cobo, F. 2015. Métodos de control de las floraciones de cianobacterias en aguas continentales. Limnetica 34 (1): 247-268.
- Cobo, F., Lago, L., Barca, S., Vieira-Lanero, R., Servia, M. J. 2012. Cianobacterias y medioambiente. Aspectos ecotoxicológicos de sus floraciones en aguas continentales. AGAIA (Asociación Galega de Investigadores da Auga). 131.
- Davis, T. W., Berry, D. L., Boyer, G. L., Gobler, C. J. 2009. The effects of temperature and nutrients on the growth and dynamics of toxic and non-toxic strains of *Microcystis* during cyanobacteria blooms. Harmful Algae 8: 715-725.
- De Hoyos, C., Negro, A., Aldasoro, J. J. 2004. Cyanobacteria distribution and abundance in the Spanish water reservoirs during thermal stratification. Limnetica 23 (1-2): 119-132.
- Forján Lozano, E., Domínguez Vargas, M. J., Vilchez Lobato, C., Miguel, R., Costa, C., Reis, M. P. 2008. Cianoalerta: estrategia para predecir el desarrollo de Cianobacterias tóxicas en embalses. Ecosistemas 17 (1): 37-45.
- Harada, K. 1996. Chemistry and Detection of Microcystin. En: Toxic *Microcystis*. M. F. Watanabe, K. Harada, W. W. Carmichael, H. Fujiki (eds.): 103-148. CRC Press, Boca Ratón.
- Janse, I., Kardinaal, W. E. A., Kamst-Van Agterveld, M., Meima, M., Visser, P. M., Zwart, G. 2005. Contrasting microcystin production and cyanobacterial population dynamics in two Planktothrix-dominated freshwater lakes. Environmental Microbiology 7 (10): 1514-1524.
- Komárek, J., Anagnostidis, K. 1986. Modern Approach to the Classification System of Cyanophytes 2 Chroococcales. Archiv für Hydrobiologie, Supplement 73, Algological Studies 43: 157-226.
- Komárek, J., Anagnostidis, K. 1989. Modern Approach to the Classification System of Cyanophytes 4 Nostocales. Archiv für Hydrobiologie, Supplement 82, Algological Studies 56: 247-345.
- Komárek, J., Anagnostidis, K. 1999. Cyanoprokaryota: Chroococcales. En: Süßwasserflora von Mitteleuropa. H. Ettl, G. Gärtner, H. Heynig y D. Mollenhauer (eds.). Band 19, 1 Teil. Gustav Fischer. Jena-Stuttgart-Lübeck-Ulm.
- Lago, L. 2015. Tratamientos de inhibición de las floraciones de cianobacterias en condiciones controladas mediante el uso de limnocorrales. Tesis Doctoral. Universidade de Santiago de Compostela.
- Lehman, P. W., Marr, K., Boyer, G. L., Acuna, S., Teh, S. J. 2013. Long-term trends and causal factors associated with *Microcystis* abundance and toxicity in San Francisco estuary and implications for climate change impacts. Hydrobiologia 718 (1): 141-158.
- Metcalf, J. S., Codd, G. A. 2012. Chapter 24. Cyanotoxins. In: Whitton, B. A. (ed.), Ecology of Cyanobacteria II: Their diversity in space and time. 651-675. Springer Science + Business Media B.V.
- Miller, M. A., Kudela, R. M., Mekebri, A., Crane, D., Oates, S. C., Tinker, M. T., Staedler, M., Miller, W. A., Toy-Choutka, S., Dominik, C., Hardin, D., Langlois, G., Murray, M., Ward, K., Jessup, D. A. 2010. Evidence for a novel marine harmful algal bloom: cyanotoxin (microcystin) transfer from land to sea otters. PLoS ONE 5 (9): 1-11.
- Monchamp, M.-E., Pick, F. R., Beisner, B. E., Maranger, R. 2014. Nitrogen forms influence microcystin concentration and composition via changes in cyanobacterial community structure. PLoS ONE 9 (1): e85573.
- O'Neil, J. M., Davis, T. W., Burford, M. A., Gobler, C. J. 2012. The rise of harmful cyanobacteria blooms: the potential roles of eutrophication and climate change. Harmful algae 14: 313-334.
- Paerl, H. W., Otten, T. G. 2013. Harmful cyanobacterial blooms: causes, consequences, and controls. Microbial Ecology 65 (4): 995-1010.

- Paulino, S., Valério, E., Faria, N., Fastner, J., Welker, M., Tenreiro, R., Pereira, P. 2009. Detection of *Planktothrix rubescens* (Cyanobacteria) associated with microcystin production in a freshwater reservoir. *Hydrobiologia* 621: 207-211.
- Roset, J., Aguayo, S., Muñoz, M. J. 2001. Detección de cianobacterias y sus toxinas. Una revisión. *Toxicología* 18: 65-71.
- Sivonen, K. y Jones, G. 1999. Chapter 3: Cyanobacterial toxins. In: Chorus, I. Bartram, J. (eds.), *Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. 14-111. WHO y E y FN Spon, London.
- UNE-EN 15204:2007. Calidad del agua. Guía para el recuento de fitoplancton por microscopía invertida (técnica de Utermöhl).
- Utermöhl, H. 1958. Zur Vervollkommung der quantitativen Phytoplankton-Methodik. *Mitteilungen Internationale Vereinigung Limnologie* 9: 1-38.
- Vasconcelos, V. M. 2001. Freshwater cyanobacteria and their toxins in Portugal. In: Chorus, I. (ed.) *Cyanotoxins: occurrence, causes and consequences*. 62-67. New York: Springer.
- Vasconcelos, V. M., Sivonen, K., Evans, W. R., Carmichael, W. W. y Namikoshi, M. 1995. Isolation and characterization of microcystins (heptapeptide hepatotoxins) from Portuguese strains of *Microcystis aeruginosa* Kutz emend Elekin. *Archiv für Hydrobiologie* 134: 295-305.
- Vasconcelos, V. M., Sivonen, K., Evans, W. R., Carmichael, W. W., Namikoshi, M. 1996. Microcystin (heptapeptide hepatotoxins) diversity in cyanobacterial blooms collected in Portuguese fresh waters. *Water Research* 30: 2377-2384.
- Vergara Larrayad, Y., Moya Jaraba, A., Peleato Sánchez, M. L., Sevilla Miguel, E., López Gomollón, S. 2005. Nuevos riesgos para el agua potable: microcistina. Mejora de la calidad del agua de consumo por eliminación de toxinas. Consejo económico y social de Aragón, España. 16.



NORMAS PARA AUTORES

Mol, como publicación de la Sociedad de Ciencias de Galicia, acepta contribuciones de carácter científico y técnico, para las diferentes secciones. Los trabajos que se presenten a las secciones “ESTUDIOS”, “MISCELÁNEA” y “RESEÑAS” han de ser originales, no habiendo sido publicados anteriormente. La presentación de trabajos para la publicación en **Mol** supone la aceptación, por parte de los autores, de la revisión crítica de los originales por el Comité Editorial y de la adaptación de los trabajos a las presentes Normas para Autores.

Las colaboraciones publicadas reflejan exclusivamente las ideas de sus autores, no siendo compartidas necesariamente por el Comité Editorial de **Mol** y por la Sociedad de Ciencias de Galicia.

El Comité Editorial, apoyado por evaluadores externos, decidirá acerca de la adecuación de los trabajos a la línea editorial de **Mol**, y hará llegar un informe a los autores, pudiendo sugerir, en su caso, los cambios correspondientes.

Formato y organización del texto

Los trabajos se presentarán, en español o inglés, en soporte informático (en cualquier versión de MS-Word). Podrán incluirse tablas, gráficos y fotografías (en color o en B/N, preferentemente en formato jpg). El título debe estar escrito en letra Times New Roman, mayúscula y negrita con un tamaño de 14 puntos, dejando a continuación una línea en blanco. El siguiente párrafo debe contener el nombre y primer apellido de los autores (formato: Nombre APELLIDO), separando los distintos autores por punto y coma, y en la línea siguiente el centro o centros de procedencia. El formato del texto será de páginas tamaño A4, escritas con interlineado sencillo y márgenes de 3 cm, con tipo de letra Times New Roman de 12 puntos.

La primera vez que se cite una especie biológica, se debe incluir el nombre científico, escrito en cursiva, no subrayado, y la autoridad. Una vez citado el nombre científico, en el resto del texto puede utilizarse el nombre común de la especie.

Las unidades aceptadas son las del Sistema Internacional de Unidades (Real Decreto 1317/1989, de 27 de octubre, por el que se establece el Sistema Legal de Unidades de Medida, BOE núm. 264, de 3 de noviembre de 1989, con corrección de errores en núm. 21, de 24 de enero de 1990).

La organización del texto, en la sección “ESTUDIOS”, con carácter general, debe ser:

Resumen
Abstract (en inglés)
Introducción
Material y Métodos
Resultados y Discusión
Conclusiones
Agradecimientos
Referencias

Tablas y figuras

El título de una tabla y el texto que la acompañe debe estar en la parte superior de la misma. Las tablas deben estar numeradas consecutivamente y citadas en el texto. Se deben delimitar con líneas continuas la cabecera y el final de la tabla, sin líneas verticales en el cuerpo de la tabla. Las unidades de los datos se deben indicar entre paréntesis en las cabeceras de las columnas. Si se necesitan notas a pie de tabla, se usarán superíndices numéricos para indicarlas.

Las figuras deberán llevar un título y un texto explicativo en la parte inferior de las mismas. Deben estar numeradas consecutivamente y citadas en el texto.

Referencias

Las referencias bibliográficas, que deberán estar citadas en el texto, han de adaptarse a los modelos que siguen:

ARTÍCULO: Autor (es). Año. Título. Revista nº: página inicial-final.

CAPÍTULO DE LIBRO: Autores (es). Año. Título del capítulo. En: Editor (es) Coordinador (es) (Eds/Coords) Título del libro, página inicial-final. Editorial. Edición. Ciudad, país.

LIBRO: Autores (es). Año. Título del libro. Editorial. Edición. Ciudad, país.

El Comité Editorial, apoyado por evaluadores externos, decidirá acerca de la adecuación de los trabajos a la línea editorial de **Mol**, y hará llegar un informe a los autores, pudiendo sugerir, en su caso, los cambios correspondientes.

Todo tipo de colaboración para **Mol** debe enviarse a:

Sociedad de Ciencias de Galicia

Editor Jefe de **Mol**

info@scg.org.es

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Mol, as publication of the Science Society of Galicia, accepts scientific and technical contributions to the different sections. The works submitted to the sections “STUDIES”, “MISCELLANEOUS” and “REVIEWS” must be original, not having been previously published. The presentation of manuscripts for their publication in **Mol** should be under the acceptance by the authors of the critical review of the originals by the Editorial Board and the adaptation of the works to the present Instructions for Authors. The contributions presented in English must include a short Spanish summary in the beginning of the main text.

Contributions published reflect only the ideas of their authors, not necessarily be shared by the Editorial Board of **Mol** and the Science Society of Galicia.

Additional information relevant to submission of STUDIES:

Original Research

These articles must describe the hypothesis, study, and methods of original research. The results of the research are reported, interpreted and a discussion of the possible implications may be included. Original Research articles may also encompass disconfirming results which allow hypothesis elimination, reformulation and/or report on the non-reproducibility of previously published results

Methods and Protocols

These articles must present a new method or emerging technique and/or software that opens new avenues for experimental investigation of important issues in a field. Method manuscripts should include the experimental objectives, the validation of the method with example(s) of its application, the limitations of current techniques, and a detailed protocol of the new technique.

Hypothesis and Theory

These articles should present a novel argument, interpretation or model intended to introduce a new testable hypothesis or support already existing theories. They should provide new insights into a significant question or issue and the argumentation must be closely tied to empirical data

Perspectives

These articles must present a viewpoint on a relevant area of research. They focus on a specific field or discipline, and discuss current advances or future directions, and may include original data as well as personal insights and opinions

Format and organization of the text

Papers will be submitted in electronic form (in any version of MS-Word). They can include tables, graphs and pictures (in colour or B/W preferably in jpg format). The title must be written in 14 points bold capital Times New Roman font, then leaving a blank line. The following paragraph should contain the first name and the surname (format: Name SURNAME) of the author/s, separating the different authors by semicolons, and on the next line the affiliation/s. Text formatting will be A4 pages, single spaced written with 3 cm margins and 12 points Times New Roman font.

The first time a biological species is cited, the scientific name must be included written in italics, not underlined, and authority. Once cited the scientific name, in the rest of the text can be used the common name of the species.

The units of the International System of Units should be used.

The organization of the text, in the “STUDIES” section, in general, should be:

Abstract
Resumen (in Spanish)
Introduction
Material and Methods
Results and Discussion
Conclusions
Acknowledgements
References

Tables and figures

The title of a table and the accompanying text should be placed on the top of it. Tables should be numbered consecutively and cited in the text. They must be delimited by solid lines and the head and the bottom of the table without vertical lines. Data units should be listed in parentheses in the title of each column. If table footnotes are needed, they should be indicated by numerical superscripts.

Figures should keep title and description in the bottom of them, must be numbered consecutively and cited in the text.

References

The bibliographical references, which must be cited in the text, would be adapted to the models that follow:

ARTICLES: Author (s). Year. Title. Journal Nr: initial-final pages.

BOOK CHAPTER: Author (s). Year. Title of chapter. In: Editor (s) Coordinator (s) (Eds / Coords) Book title: initial-final pages. Publisher. Edition. City, country

BOOK: Author (s). Year. Book title. Publisher. Edition. City, country.

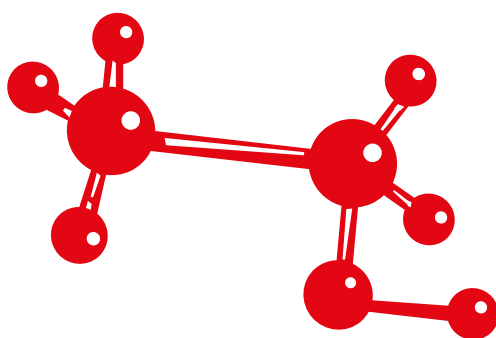
The Editorial Board, supported by external referees, will decide on the adequacy of the work to the editorial line of **Mol**, and shall forward a report to the authors that may suggest, when appropriate, the appropriate changes.

All type of collaboration for **Mol** should be sent to:

Science Society of Galicia

Mol Editor-in-Chief

info@scg.org.es



SCG

SOCIEDAD DE CIENCIAS DE GALICIA
SCIENCE SOCIETY OF GALICIA

Pontevedra
España - Spain
