

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas



Tesis para la obtención del Grado Académico de Doctor en Ciencias Biológicas

IMPLICANCIAS DE LA ARQUITECTURA EN LA REGENERACIÓN VEGETATIVA DE TRES MALEZAS PERENNES TOLERANTES A GLIFOSATO CON DIFERENTES FORMAS DE CRECIMIENTO

Lic. Elisa Panigo

Director de Tesis: Dra. Mariel G. Perreta

Co-director de Tesis: Dr. Abelardo C. Vegetti

Lugar de realización:

Morfología Vegetal – Facultad de Ciencias Agrarias

Instituto de Agrobiotecnología del Litoral (UNL-CONICET)

ÍNDICE

Índice	I
Índice de figuras	VI
Índice de tablas	VIII
Abreviaturas y símbolos	IX
Resumen	XII
Abstract	XIII
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.- Análisis de la morfología y del crecimiento vegetal	1
1.a.- Arquitectura vegetal	1
1.b.- La forma de crecimiento de las plantas y el sistema de vástagos	3
1.c.- Importancia de los estudios morfológicos	4
2.- Banco de yemas	6
2.a.- Definición	6
2.b.- Importancia del banco de yemas para estudios en ambientes sometidos a disturbios	7
3.- Malezas	7
4.- Especies seleccionadas	8
4.a.- <i>Commelina erecta</i> L.	9
4.b.- <i>Eustachys retusa</i> Lag. Kunt	10
4.c.- <i>Alternanthera philoxeroides</i> (Mart.) Griseb.	10
5.- Glifosato	11
5.a.- Caracterización	11
5.b.- Tolerancia	13
6.- Importancia del trabajo	14
7.- Hipótesis	16
8.- Objetivos	16
8.a.- General	16
8.b.- Específicos	16
CAPÍTULO 1: Caracterización arquitectural de los sistemas de ramificación de <i>Commelina erecta</i> , <i>Eustachys retusa</i> y <i>Alternanthera philoxeroides</i>	18

I.- Introducción	18
II.- Materiales y métodos	22
II.a.- Material vegetal y condiciones de crecimiento	22
II.b.- Características morfo-arquitecturales	24
II.c.- Consideraciones generales sobre parámetros analizados	26
II.d.- Análisis estadístico	27
III.- Resultados	27
III. 1.- Características morfo-arquitecturales	27
III. 1. 1.- <i>Commelina erecta</i>	27
III. 1. 1. a.- Descripción de los componentes de la unidad arquitectural	27
III. 1. 1. b.- Variaciones estructurales en función del origen de las plantas.....	33
III. 1. 1. c.- Dinámica de formación del sistema de vástagos	34
III. 1. 1. d.- Delimitación de la unidad arquitectural, conformación del sistema de ramificación, reiteración y modelo arquitectural	37
III. 1. 2.- <i>Eustachys retusa</i>	38
III. 1. 2. a.- Descripción de los componentes de la unidad arquitectural	38
III. 1. 2. b.- Dinámica de formación del sistema de vástagos	43
III. 1. 2. c.- Delimitación de la unidad arquitectural, conformación del sistema de ramificación, reiteración y modelo arquitectural	45
III. 1. 3.- <i>Alternanthera philoxeroides</i>	45
III. 1. 3. a.- Descripción de los componentes de la unidad arquitectural	45
III. 1. 3. b.- Dinámica de formación del sistema de vástagos	52
III. 1. 3. c.- Delimitación de la unidad arquitectural, conformación del sistema de ramificación, reiteración y modelo arquitectural	53
III. 2.- Secuencia foliar	54
III. 2. 1.- <i>Commelina erecta</i>	54
III. 2. 2.- <i>Eustachys retusa</i>	55
III. 2. 3.- <i>Alternanthera philoxeroides</i>	57
IV.- Discusión	59
V.- Conclusiones	66

CAPÍTULO 2: El glifosato induce cambios en <i>Commelina erecta</i> (Commelinaceae)	67
--	----

I.- Introducción	67
II.- Materiales y métodos	69
II.a.- Material vegetal y condiciones de crecimiento	69
II.b.- Tratamiento herbicida	70
II.c.- Evaluación de los síntomas	71
II.d.- Efecto del herbicida sobre los órganos aéreos	71
II.e.- Evaluación de parámetros de crecimiento y bioquímicos	71
II.f.- Variaciones estructurales	72
II.g.- Análisis estadístico	72
III.- Resultados	73
III.1.- Síntomas	73
III.2.- Efecto del herbicida sobre los órganos aéreos	75
III.2.1.- Hoja.....	75
III.2.2.- Tallo	75
III.2.3.- Inflorescencia	78
III.3.- Evaluación de parámetros de crecimiento y bioquímicos	79
III.3.1.- Biomasa	79
III.3.2.- Superficie foliar	80
III.3.3.- Clorofila	80
III.4.- Variaciones arquitecturales	81
IV.- Discusión	82
V.- Conclusiones	86

CAPÍTULO 3: Modificaciones morfoarquitecturales de *Eustachys retusa* (Poaceae) postaplicación de glifosato88

I.- Introducción	88
II.- Materiales y métodos	90
II.a.- Material vegetal y condiciones de crecimiento	90
II.b.- Tratamiento herbicida	91
II.c.- Evaluación de los síntomas	92
II.d.- Efecto del herbicida sobre los órganos aéreos	92
II.e.- Evaluación de parámetros de crecimiento y bioquímicos	93
II.f.- Variaciones estructurales	94

II.g.- Análisis estadístico	94
III.- Resultados	95
III.1.- Síntomas	95
III.2.- Efecto del herbicida sobre los órganos aéreos	94
III.2.1.- Hoja.....	94
III.2.2.- Tallo	98
III.2.3.- Inflorescencia	99
III.3.- Evaluación de parámetros de crecimiento y bioquímicos	101
III.3.1.- Biomasa	101
III.3.2.- Clorofila	103
III.3.3.- Superficie foliar	103
III.4.- Variaciones arquitecturales	103
IV.- Discusión	104
V.- Conclusiones	106

CAPÍTULO 4: Respuesta de *Alternanthera philoxeroides* (Amaranthaceae) a la aplicación de glifosato

aplicación de glifosato	108
I.- Introducción	108
II.- Materiales y métodos	110
II.a.- Material vegetal y condiciones de crecimiento	110
II.b.- Tratamiento herbicida	111
II.c.- Evaluación de los síntomas	111
II.d.- Efecto del herbicida sobre los órganos aéreos	112
II.e.- Evaluación de parámetros de crecimiento y bioquímicos	112
II.f.- Variaciones estructurales	113
II.g.- Análisis estadístico	113
III.- Resultados	114
III.1.- Síntomas	114
III.2.- Efecto del herbicida sobre los órganos aéreos	114
III.2.1.- Hoja.....	114
III.2.2.- Tallo	116
III.2.3.- Inflorescencia	117
III.3.- Evaluación de parámetros de crecimiento y bioquímicos	117

III.3.1.- Biomasa	117
III.3.2.- Clorofila	117
III.3.3.- Superficie foliar	118
III.4.- Variaciones arquitecturales	119
IV.- Discusión	120
V.- Conclusiones	122
CAPÍTULO 5: Caracterización del banco de yemas en <i>Commelina erecta</i> y <i>Eustachys retusa</i>	123
I.- Introducción	123
II.- Materiales y métodos	126
II.a.- Material vegetal y condiciones de crecimiento	126
II.b.- Tratamiento herbicida	126
II.c.- Caracterización de las yemas	127
II.d.- Análisis estadístico	128
III.- Resultados	129
III. 1.- Morfología de las yemas	129
III. 2.- Categorización de las yemas según su destino	129
III. 3.- Número total de yemas por eje	133
III. 4.- Tamaño de las yemas por tratamiento	134
III. 5.- Tamaño de las yemas según zonas estructurales	135
III. 6.- Actividad respiratoria/ viabilidad	138
IV.- Discusión	141
V.- Conclusiones	147
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	148
1- Discusión General	148
1.1.- Análisis arquitectural e implicancias	148
1.2.- Control de malezas con glifosato	152
2.- Conclusiones	156
REFERENCIAS	158

AGRADECIMIENTOS	179
------------------------------	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

1.1. Valores de las temperaturas máximas y mínimas (°C) en el experimento	25
1.2. Ejes que forman la unidad arquitectural de <i>Commelina erecta</i> L	28
1.3. Variación del número de fitómeros de ramas axilares en función de su posición para los dos tipos de ejes a los 60 DPT. en <i>Commelina erecta</i>	29
1.4. Morfología de los ejes de <i>Commelina erecta</i> L	30
1.5. Zonas estructurales en los ejes en <i>Commelina erecta</i>	32
1.6. Longitud promedio en centímetros de los entrenudos de ejes que constituyen la unidad estructural en <i>Commelina erecta</i>	33
1.7. Dinámica del sistema de vástagos en <i>Commelina erecta</i>	35
1.8. Proporción de ramas largas (A1) y cortas (A2) sobre el total de ramas en las plantas de semillas y clonadas(VCA) en <i>Commelina erecta</i>	36
1.9. A: Detalle de las zonas estructurales de <i>Eustachys retusa</i>	39
1.10. Variación del número de fitómeros de ramas axilares en función de su posición para los dos tipos de ejes a los 180 DPT en <i>Eustachys retusa</i>	41
1.11. Evolución de la longitud de los entrenudos a lo largo del eje principal de <i>Eustachys retusa</i>	42
1.12. Evolución del Sistema de vástagos de <i>Eustachys retusa</i>	44
1.13. Ejes que forman la unidad arquitectural de <i>Alternanthera philoxeroides</i>	47
1.14. Variación de características morfoarquitecturales en los distintos ejes de <i>Alternanthera philoxeroides</i>	48
1.15. Variación en las características de los fitómeros en los distintos ejes de <i>Alternanthera philoxeroides</i>	49
1.16. Dinámica del desarrollo desde el transplante hasta la floración en <i>Alternanthera philoxeroides</i>	51
1.17. Diferentes características morfológicas de las hojas en <i>Commelina erecta</i>	55
1.18. Diferentes características morfológicas de las hojas en <i>Eustachys retusa</i>	56
1.19. Diferentes características morfológicas de las hojas en <i>Alternanthera philoxeroides</i>	58
2.1. Síntomas post-aplicación en <i>Commelina erecta</i>	74
2.2. Efecto del herbicida sobre parámetros cuantificables de órganos en <i>Commelina erecta</i>	76
2.3. Variación de parámetros de crecimiento en <i>Commelina erecta</i>	79

3.1. Valores de las temperaturas máximas y mínimas	91
3.2. Síntomas post aplicación en <i>Eustachys retusa</i>	96
3.3. Efecto del herbicida sobre los órganos en <i>Eustachys retusa</i>	97
3.4. Efecto del herbicida sobre parámetros cuantificables de tallo <i>Eustachys retusa</i> ..	100
3.5. Número de inflorescencias promedio por plantas en los diferentes tratamientos .	101
3.6. Variación de parámetros de crecimiento en <i>Eustachys retusa</i>	102
4.1. Síntomas post- aplicación y efecto del herbicida sobre los órganos de <i>Alternanthera philoxeroides</i>	115
4.2. Efecto del herbicida sobre parámetros cuantificables de tallo en <i>Alternanthera philoxeroides</i>	117
4.3. Variación de parámetros de crecimiento en <i>Alternanthera philoxeroides</i>	118
5.1. Valores de las temperaturas máximas y mínimas (°C) en el experimento de <i>Eustachys retusa</i>	127
5.2. Morfología de yemas en <i>Commelina erecta</i> y <i>Eustachys retusa</i>	130
5.3. Número promedio de yemas por ejes en cada tratamiento y porcentaje relativo de las funciones de esas yemas	131
5.4. Longitud de yema según la posición que ocupan en el eje reproductivo y la concentración de glifosato utilizada	137
5.5. Proporción relativa de yemas viables, no viables y latentes, en cada tratamiento a los 30 y 60 DPA	140

ÍNDICE DE TABLAS

1. Especies de malezas resistente a herbicidas registradas en Argentina (Weed Science, 2012)	15
1.1. Chi- cuadrado para la proporción de ramas cortas y largas en los distintos orígenes de plantas en <i>Commelina erecta</i>	37
1.2 Chi- cuadrado para la proporción de braqui y macroblastos en los distintos órdenes de ramificación de <i>A. philoxeroides</i>	48
2.1. Resultados de ANAVA para número total de ramas, altura y número inflorescencia en <i>Commelina erecta</i>	77
2.2. Resultados del ANAVA para biomasa y superficie foliar en <i>Commelina erecta</i> ..	80
2.3. Efecto de la aplicación de glifosato sobre la concentración de Chl en <i>Commelina erecta</i>	81
3.1. Resultado de ANAVA para altura, número de ramas y flores totales en <i>Eustachys retusa</i>	99
3.2. ANAVA para biomasa, Chl y superficie foliar en <i>Eustachys retusa</i>	102
4.1. ANAVA para altura y número de ramas en <i>Alternanthera philoxeroides</i>	116
4.2. ANAVA para biomasa, clorofila y superficie foliar de <i>A. philoxeroides</i>	119
5.1. Chi- cuadrado para el destino de las yemas	132
5.2. ANAVA para el número total de yemas por eje	133
5.3. Número total de yemas por ejes en cada tratamiento	134
5.4. Tamaño promedio (cm) de yemas por tratamiento	135
5.5. ANAVA para el tamaño de yemas por zonas	136
5.6. ANAVA para la actividad respiratoria de las yemas	139
5.7. Chi- cuadrado para la actividad respiratoria de las yemas	140

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

A0: eje plumular

A1: ejes axilares largos

A2: ejes axilares cortos

AAPRESID: Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa

ACCasa: Inhibidores de la Acetil coenzima A carboxilasa

ALS: enzima Acetolactato Sintasa (ALS)

ANAVA: Análisis de la Varianza

°C: Grados centígrados

Chl: Clorofila

cm: centímetros

cm²: centímetros cuadrados

DPA: Días Post- Aplicación

DAT: Días Post- Transplante

EE. UU.: Estados Unidos de América

FCA: Facultad de Ciencias Agrarias

Fig.: Figura

g. a.i. ha⁻¹: gramos de ingrediente activo por hectárea

g : gramos

ha : hectárea

kPa: kilopascal

l: litros

l ha⁻¹: litros por hectárea.

LSD: Menor diferencia significativa.

Nº: número

nm: nanómetros

TTC: 2,3,5 cloruro de trifenil tetrazolio

UNL: Universidad Nacional del Litoral

VCA: Ejes Vegetativos Clonados (Vegetative Cloning Axes).

El objetivo de esta tesis fue identificar los caracteres morfológicos que facilitan la regeneración vegetativa de *Commelina erecta* L., *Eustachys retusa* Lag. Kunth. y *Alternanthera philoxeroides* Mart. Griseb., en los sistemas de producción con mínima labranza y uso intensivo de glifosato, y predecir su comportamiento. Para esto, primero se analizaron arquitecturalmente las tres especies de malezas tolerantes a glifosato y luego se evaluaron las variaciones morfológicas, de crecimiento, bioquímicas y arquitecturales de las mismas post-aplicación de glifosato, para identificar las estrategias que facilitan su regeneración en ambientes sometidos al uso intensivo de glifosato. Por último, se analizó la presencia y ubicación de zonas meristemáticas de *C. erecta* y *E. retusa*, para evaluar el rol que juegan en la regeneración vegetativa post-aplicación.

A partir del análisis arquitectural se identificaron distintos caracteres comunes que podrían tener implicancias en la regeneración vegetativa ante situaciones de estrés, como: la presencia de un tallo reservante con yemas axilares que no desarrollan, una unidad arquitectural que se establece durante la primera estación de crecimiento formada por pocas categorías de ejes que son independientes del orden de ramificación, ramificaciones basales que alcanzan un gran desarrollo y poseen una estructura semejante a su parental y presencia de reiteración.

En la respuesta a la aplicación de glifosato, se trabajó con diferentes dosis de herbicida para cada una de las especies, las que se seleccionaron en función de ensayos de dosis-respuesta, ya que las tres especies difieren en el nivel de susceptibilidad al herbicida. El comportamiento frente a glifosato determinó una serie de respuestas comunes en las tres especies y otras específicas para cada una. A nivel general, el herbicida afectó la altura de los ejes, el número de ramas e inflorescencias; la biomasa, clorofila y superficie foliar en las tres. Sin embargo, la magnitud del efecto dependió de la dosis y la especie. Se observó que *C. erecta* mostró dos fenotipos de respuesta, con variaciones en la zona de producción de ramificaciones. En *E. retusa* se aumentó el orden de ramificación de las mismas. *A. philoxeroides* mostró una baja tolerancia al herbicida que causó el deterioro de la mayor parte de los órganos aéreos, lo que podría estar relacionado con las condiciones de evaluación más que con una alta susceptibilidad; aunque las plantas sobrevivientes produjeron nuevos rebrotes.

Con respecto al estudio de las zonas meristemáticas, *C. erecta* y *E. retusa* mantuvieron un importante banco de yemas latentes y viables, en la zona basal y media de los ejes post- aplicación de glifosato, por lo que el herbicida no limita la capacidad de rebrotar de estas especies.

A través de los resultados obtenidos con este enfoque de trabajo que combina estudios estructurales con características de crecimiento y bioquímicas se ha podido reconocer un conjunto de caracteres morfológicos comunes que juegan un rol importante en la respuesta a la aplicación de glifosato, que son en cierta medida independientes de las especies y se relacionan con la posibilidad de escape a la acción del herbicida.

ABSTRACT

The main objective of this thesis was to identify morphological traits involved in the vegetative regeneration of *Commelina erecta* L., *Eustachys retusa* Lag. Kunth. and *Alternanthera philoxeroides* Mart. Griseb., in productive systems with minimum tillage and an intensive use of glyphosate, and to predict their response to this herbicide. In order to do this, first, the architecture of the three species, which are tolerant to glyphosate application, were analysed; secondly, variations related to morphology, growth, biochemistry, and architecture were registered after the application to recognize strategies that may facilitate regeneration of these plants in environments where glyphosate is applied intensively. Finally, the presence and location of meristematic zones in *C. erecta* y *E. retusa* were analysed to evaluate their role in the process of vegetative regeneration after herbicide application.

Through the architectural analysis, several traits were identified that may be involved in the vegetative regeneration under stress conditions, like: the presence of a stem with storage and with not developed axillary buds, an architectural unity established during the first growing season characterized by a few axis categories which are independent from the order of branching, full developed basal ramifications which resemble their parental structure, and the presence of reiteration.

In order to evaluate the response to glyphosate application, different doses were used according to each species, which were selected on the bases of a doses-response assay, given that the species studied responded differently to this herbicide. Some responses to the glyphosate are common between the three species, and others are particular of each species. In general, the herbicide affected negatively the height of the axis, the number of branches and inflorescences of the three species; also, the biomass, chlorophyll content, and leaf surface are reduced after application. In particular, *C. erecta* showed two different phenotypes that differ in the zone that produces branches. *E. retusa* had no difference in the position of branches, but experienced an increase in the order of branching. *A. philoxeroides* showed a low tolerance to the herbicide, given the significant deterioration of the aerial organs observed, which may be related with the evaluation conditions rather than a high susceptibility.

The meristematic zones of *C. erecta* y *E. retusa*, kept an important bank of dormant and viable buds, in the basal and medial zone of the axis after herbicide application, which means that the glyphosate do not reduce the ability of regrowth in these species.

According to the results obtained here, through an approach that combines structural studies with characteristics of growth and biochemistry, several morphological characters shared in common by the three species were recognized, which may play an important role in order to escape from the action of the glyphosate applications.

1.- ANÁLISIS DE LA MORFOLOGÍA Y DEL CRECIMIENTO VEGETAL

La estructura de las plantas ha interesado durante largo tiempo a los botánicos. Desde la época de Teofrasto (371- 286 AC), quien distinguió árboles, arbustos, semiarbustos y hierbas, numerosos científicos han intensificado y completado estudios sobre la forma del vegetal (Grosso, 2001). Sin embargo, el estudio integral de la morfología de la planta durante mucho tiempo ha sido ignorado, adoptando un enfoque reduccionista al trabajar sobre órganos aislados más que sobre los aspectos integrales y dinámicos de los sistemas de ramificación (Tomlinson, 1987; Bell, 1991). Recién en las últimas décadas los estudios morfológicos y ecológicos comienzan a enfocarse hacia los aspectos dinámicos e integrales del crecimiento de la planta. Dentro de este marco se encuadran las investigaciones realizadas sobre formas de crecimiento (Troll, 1964; Meusel, 1970), la arquitectura vegetal (Hallé y Oldeman, 1970; Hallé y col., 1978) y el análisis de la planta como sistema de vástagos (Barlow, 1994). El estudio de los patrones de crecimiento se abordará teniendo en cuenta estos enfoques.

1.a.- ARQUITECTURA VEGETAL

La Arquitectura Vegetal surgió en la década del '70 a partir de los trabajos de síntesis de Hallé y Oldeman (1970), Oldeman (1974) y Hallé y col. (1978), y se convirtió progresivamente en una nueva disciplina dentro de la botánica. Estos autores describieron las principales formas de crecimiento en árboles tropicales y caracterizaron los procesos morfogenéticos en los que se fundamenta su estructura, desarrollando un marco conceptual para la descripción y clasificación de las plantas (Tourn y col., 1999). Posteriormente los aportes de Barthélemy (1988, 1991) dan forma definitiva a las características que determinan el estudio arquitectural (Barthélemy y Caraglio, 2007).

Desde este enfoque la forma de la planta es el resultado del equilibrio entre los procesos endógenos de crecimiento y las acciones exteriores ejercidas por el ambiente,

y se manifiesta por la disposición relativa de los vástagos vegetativos aéreos y subterráneos (Edelin, 1984). El análisis arquitectural tiene como objetivo identificar estos procesos endógenos a través de la observación y de la experimentación (Barthélemy y Caraglio, 2007), desde el nacimiento hasta la muerte del individuo, (Tourn y col., 1999). Por eso en cada especie y en distintas etapas de desarrollo se realizan cuidadosas observaciones cualitativas y cuantitativas (Barthélemy y Caraglio, 2007) sobre las unidades de construcción y la manera en que ellas se integran (Bell, 1991). Así la observación de las características morfológicas de las unidades estructurales y la determinación de la secuencia de diferenciación ontogenética, permiten sintetizar el patrón de desarrollo de las plantas (Puntieri y col., 1995).

Una estructura compleja puede ser mejor comprendida si se descompone en elementos más simples (Bell, 1993). El análisis arquitectural involucra la delimitación de 3 niveles de complejidad: el modelo arquitectural, la unidad arquitectural y la reiteración (Barthélemy y Caraglio, 2007).

El **MODELO ARQUITECTURAL**: define la estrategia global de crecimiento de la planta, representa una combinación particular de los caracteres morfológicos simples y explica la manera en que la planta va elaborando su forma a través del tiempo (Bell, 1991), es decir la forma en la que ocupa el espacio que la rodea. Si bien el número de combinaciones posibles de características morfológicas y por consiguiente la cantidad de modelos arquitecturales potenciales es alta, en la naturaleza sólo se encontraron 24 modelos diferentes que se aplican indistintamente a árboles, lianas y plantas herbáceas, tanto tropicales como templados, y a taxones actuales o extintos (Tourn y col., 1999; Barthélemy y Caraglio, 2007). Cada modelo lleva el nombre de un botánico que ha contribuido ampliamente al conocimiento del modo de desarrollo de las especies que lo exhiben (Tourn y col., 1999). Los patrones de crecimiento que definen el modelo arquitectural están genéticamente determinados y sólo bajo condiciones ecológicas extremas su expresión se ve afectada por el ambiente (Barthélemy y col., 1995).

La **UNIDAD ARQUITECTURAL**: es la expresión específica del modelo para una especie, es la unidad elemental de construcción, e involucra el conjunto de las diferentes categorías de ejes que presenta una especie hasta el momento de la aparición de estructuras reproductivas y la forma en que derivan unas de otras (Barthélemy, 1991; Tourn y col., 1999) (Fig. 1). La identificación de la unidad arquitectural determina el

sistema jerárquico de ramas, en el que los vástagos se agrupan en función de sus características morfológicas y fisiológicas (Grosfeld, 2002). La función y estructura de cada categoría de eje es característica de su posición en la arquitectura de la planta, y para cada especie el número de categorías de ejes es finito (Grosfeld, 2002).

La **REITERACIÓN**: es un proceso morfogénico por el cual, el organismo duplica su unidad arquitectural (Barthélémy, 1991) (Fig. 1), y es a partir de este proceso que la mayoría de los árboles construyen su copa (Barthélémy y col., 1991). Algunas especies solo desarrollan una unidad arquitectural durante toda su vida, mientras que otras repiten varias veces dicha arquitectura elemental a lo largo de ésta (Tourn y col., 1999). La reiteración puede ser clasificada como: **completa**, si repite íntegramente toda la unidad arquitectural o **parcial** si lo hace sólo en parte; **retardada**, si se produce a través de yemas que se encuentran en reposo, o **inmediata**, si se genera a través de una yema en activo crecimiento; **secuencial**, forma parte de la secuencia de desarrollo innata de la especie, u **oportunistica**, ocasionada por un aumento en el nivel de recursos (**adaptativa**) o en repuesta a un daño (**traumática**) (Hallé y col., 1978; Edelin, 1984; Nicolini, 1997).

El análisis arquitectural permite una verdadera cartografía de la estructura vegetal y prepara el terreno para un análisis más profundo que involucran la estimación de las variaciones cuantitativas de la arquitectura del individuo, de una población y ante condiciones ambientales cambiantes (Tourn y col., 1999).

1.b.- LA FORMA DE CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS Y EL SISTEMA DE VÁSTAGOS

Se entiende por forma de crecimiento al complejo de caracteres vegetativos y reproductivos genéticamente constantes, que varían sólo dentro de un rango específico de plasticidad fenotípica (Meusel, 1952, 1970). El estudio de las formas de crecimiento es comparativo y va unido al análisis de las interacciones con el hábitat, tomando en cuenta las etapas sucesivas que llevan a la construcción del cuerpo de la planta desde la germinación (Meusel, 1952) y analizando además las distintas fases fenológicas por las que atraviesa durante el año (Meusel y col., 1977), principalmente en lo que respecta a exomorfología, aunque puede ser complementado con estudios anatómicos de los

distintos órganos. En definitiva, refleja la adaptación local y temporal de la planta a factores abióticos (Meusel, 1952, 1970).

Otra forma de abordar el estudio de los patrones de crecimiento, además de la arquitectura vegetal y las formas de crecimiento, es desde el sistema de vástagos. Al igual que en arquitectura vegetal, en la descripción del sistema de vástagos se identifican las unidades de construcción y la manera que ellas están integradas (Perreta y Vegetti, 2005).

Un conjunto de vástagos conforma un sistema de vástagos, el arreglo espacial de los mismos determina la morfología particular de la planta (Barlow, 1994) y corresponde a su vez a uno de los modelos arquitecturales definidos por la escuela francesa (Perreta y Vegetti, 2005). La planta se va construyendo por acumulación jerárquica de unidades de vástago (módulos) producidos por un meristema apical que puede tener crecimiento indefinido (monopodial) o definido (simpodial). La variación en los componentes de los metámeros (unidades menores en las que se dividen los módulos) y los módulos determina los diferentes patrones estructurales (Perreta y Vegetti, 2005).

Este concepto, de integración de subunidades y sus variaciones, ha demostrado ser particularmente útil en la interpretación de la estructura y plasticidad morfológica de numerosas especies (Clark y Fisher, 1986). Las diferencias encontradas en la distribución de los diversos módulos entre diferentes formas de crecimiento puede relacionarse con el tipo de ambiente donde cada una de ellas predomina (Montenegro y Ginocchio, 1992).

1.c.- IMPORTANCIA DE LOS ESTUDIOS MORFOLÓGICOS

Los conceptos hasta aquí analizados resultan una herramienta metodológica eficiente para los estudios morfológicos y estructurales de los distintos tipos de plantas. Estos estudios son utilizados para analizar la morfología de la parte aérea y subterránea de la planta, abarcan todas las etapas de desarrollo; coinciden en que hay una repetición de unidades de crecimiento, lo que determina la forma de una planta, y que si bien está genéticamente determinada, presenta variaciones debidas al ambiente (Tourn y col., 1999; Grosso, 2001; Perreta, 2004; Perreta y Vegetti, 2005; Barthélemy y Caraglio, 2007).

Los estudios sobre la morfología del desarrollo de una especie en el espacio y en el tiempo tienen implicaciones ecológicas y de manejo agronómico importantes (Meusel y col., 1977; Montenegro y Ginocchio, 1992; Perreta, 2004). Estos tipos de estudios permiten:

- la investigación de las diferentes interacciones entre las plantas, como la competencia intra e interespecífica, o las relaciones entre las plantas y la luz, agua o nutrientes (Tourn y col., 1999);
- realizar estudios de sistemática y evolución. El conocimiento de la arquitectura de especies relacionadas aporta nuevos datos para la interpretación de las relaciones filogenéticas (Castro-Dos Santos, 1981);
- el desarrollo de nuevas herramientas en la toma de decisiones para el manejo, la gestión, o conservación de especies amenazadas (Meusel y col., 1977; Montenegro y Ginocchio, 1992; Grosfeld, 2002);
- el conocimiento y la interpretación de la capacidad de invasión de una especie (Perreta y Vegetti, 2004; Perreta y col., 2011);
- aportar información útil para la generación de modelos matemáticos que facilitan la simulación del desarrollo de una planta posibilitando: (a) estimar la densidad de siembra óptima para obtener determinados tamaños de plantas (Costes y Guédon, 1997), (b) estimar la magnitud de las cosechas y calidad de frutos, (c) evaluar las respuestas poblacionales a perturbaciones como la herbivoría, inundaciones, fuego, etc. (Jeannoda-Robinson, 1977.) y (d) analizar el comportamiento de las plantas bajo distintas condiciones (De Reffye y col., 1989);
- la estimación de la producción y la reacción de los individuos ante diferentes prácticas culturales (De Reffye y col., 1993);
- realizar estudios fisiológicos para deducir las distintas adaptaciones que presentan las especies en un biotopo determinado, y posteriormente deducir el uso potencial de las mismas (Ragonese, 1990).

En las malezas, los estudios morfológicos ayudarían a explicar la alta potencialidad para comportarse como especies invasoras de campos cultivados, su gran capacidad de reproducción y persistencia dentro del lote, y aportarían elementos para la

comprensión de su baja susceptibilidad a diferentes tipos de controles. Además complementarían los estudios de dosis repuestas de herbicida al proporcionar información acerca del escape a la acción herbicida (Dellaferrera, 2007; Acosta, 2012; Panigo y col., 2012).

2.- BANCO DE YEMAS

2.a.-DEFINICIÓN

El banco de yemas comprende todos los meristemas que pueden ser utilizados para la regeneración vegetativa, incluyendo aquellos formados adventiciamente y que aparecen sólo después de una lesión (Klimešová y Klimeš, 2007). Es decir que el banco de yemas constituye una fuente de tejido meristemático, y es esencial para la longevidad de la planta (Busso y col., 2011). El banco de yemas está estrechamente vinculado con la arquitectura de la planta (Klimešová y Klimeš, 2007). La actividad meristemática axilar modifica el patrón de ramificación del vástago (Shimizu-Sato y Mori, 2001), y por tanto la arquitectura de la planta.

Como muchos procesos de desarrollo, la ramificación y /o el rebrote del vástago están bajo el control de múltiples factores (Horvath y col., 2003; Waldie y col., 2010). Si bien el patrón de ramificación está determinado genéticamente, se caracteriza por tener plasticidad ante diferentes señales ambientales (Shimizu-Sato y Mori, 2001). Así, las yemas vegetativas aseguran a la planta el rebrote, cuando las condiciones ambientales son desfavorables (Horvath y col., 2003), convirtiéndose en partícipes necesarios de esta plasticidad. En los vegetales, la habilidad de rebrote varía a través de la ontogenia (Vesk y Westoby, 2004). En diferentes especies, y en las distintas posiciones a lo largo del tallo, las yemas axilares pueden exhibir diferentes grados de desarrollo durante la fase vegetativa (Waldie y col., 2010).

La importancia de conservar un banco de yemas con meristemas axilares viables le permite a las plantas adaptarse a la heterogeneidad espacial y temporal, minimizando el estrés (Fourcaud y col., 2008) y favoreciendo el crecimiento. El rebrote desde la reserva de meristemas es una exitosa estrategia de crecimiento en hábitats sometidos a disturbios frecuentes y severos (Klimešová y Klimeš, 2003).

2.b.-IMPORTANCIA DEL BANCO DE YEMAS PARA ESTUDIOS EN AMBIENTES SOMETIDOS A DISTURBIOS

El banco de yemas puede ser usado para evaluar el efecto de varios tipos de disturbios sobre los meristemas o en la delimitación de los caracteres funcionales de plantas en comunidades sujetas a un ambiente cambiante (Klimešová y Klimeš, 2007). Los caracteres funcionales determinan cuán rápido puede crecer una planta y cómo puede reaccionar ante diferentes factores (Try, 2012).

Diversos trabajos han evaluado la importancia ecológica del banco de yemas frente a situaciones traumáticas como la defoliación, el pastoreo, la sequía (Busso y col., 1989; Becker y col., 1997; Hendrickson y Briske, 1997; Flemmer y col., 2002; Busso y col., 2011). Latzel y col. (2008) la aplicaron al estudio de herbicidas y encontraron que el glifosato modifica la contribución de la propagación vegetativa de diferentes especies de ambientes urbanos. Entender los mecanismos que controlan el crecimiento vegetal y la latencia/ viabilidad es crucial para la solución de muchos problemas en la agricultura (Horvath y col., 2003).

Cuando una planta es expuesta a la acción de un herbicida y sobrevive, puede modificar su estructura o comportamiento (Meusel y col., 1977; Malpassi, 2004; Acosta, 2012; Panigo y col., 2012) debido principalmente a la acción ejercida por el herbicida sobre los meristemas. Bajo condiciones óptimas de crecimiento, sin perturbaciones, el desarrollo de la planta refleja estrictamente su arquitectura, pero ante factores estresantes puede desviarse de ella, modificando su fisiología y redirigiendo el crecimiento (Malpassi, 2004; Klimešová y Klimeš, 2007).

3.- MALEZAS

Percibir a una especie como valiosa o como indeseable, a menudo depende de las perspectivas individuales, las que pueden cambiar con el transcurso del tiempo (Starfinger y col., 2003). Diversas son las concepciones utilizadas, y no existe una definición universal que sea aceptada por todos los científicos (Zimdahl, 2007). La definición más simple es que es “una planta que crece fuera de su lugar”, por lo tanto, una planta de maíz se considera una maleza "voluntaria" dentro de un campo en el que

se cultiva soja (Basu y col., 2004). Las definiciones de malezas generalmente enfatizan directa o indirectamente el rol negativo de las mismas (Acosta, 2012).

Las comunidades de malezas evolucionan constantemente en respuesta al manejo (Guglielmini y col., 2007). La introducción de nuevas técnicas de labranzas provoca entonces, cambios cuali y cuantitativos, sobre la flora de malezas en los sistemas bajo cultivos (Puricelli y Tuesca, 1997). En la últimas tres décadas el gran auge del cultivo de soja, con su variados e importantes problemas, trajo aparejado que los herbicidas, cuya eficacia, actividad biológica y selectividad ha mejorado, se conviertan en herramientas imprescindibles (Papa, 2005a). Buena parte del éxito alcanzado en el control de malezas se debe a la utilización a veces irracional de estos herbicidas en los sistemas productivos (Papa, 2005b). Por esta razón, este actual paradigma en el que se basa el control de las malezas está ampliamente cuestionado tanto a nivel ambiental como ético (Radosevich y Ghersa, 1992; Radosevich, 1998; Bastiaans y col., 2008; Deytieux y col., 2012). Un conocimiento más profundo sobre la biología de estas malezas permitiría elaborar estrategias de control más racionales y menos nocivas para el ambiente. Desde este punto de vista nos proponemos abordar el estudio de estas tres malezas tolerantes a glifosato.

4.- ESPECIES SELECCIONADAS

En diferentes trabajos *Commelina erecta* L. (Leguizamón, 1997; Vitta, y col., 1999, 2004; Nisensohn y Tuesca, 2001; Faccini, 2004; Rainero, 2004; Rodríguez, 2004; Papa, 2005a; 2005b; Arregui, y col., 2006; Dellaferrera y col., 2007; Rocha y col. 2007; Nisensohn y col., 2011a; 2011b; Panigo y col., 2012), *Eustachys retusa* (Lag.) Kunth (Puricelli y Faccini, 2005, Dellaferrera y col., 2007) y *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. (Tucker y col., 1994; Eberbach y Bowmer, 1995; Sainty y col., 1998; De La Fuente y col., 1999; Papa, 2005b; Dellaferrera y col., 2007; Wilson y col., 2007; Dugdale y col., 2010; Hofstra y Champion, 2010; Clements y col., 2012) son mencionadas como especies tolerantes o poco sensibles a glifosato con tendencia a predominar en situaciones de monocultivo de soja, generando problemas a nivel productivo, sin embargo en ninguno de ellos se analiza en detalle las características arquitecturales de estas especies.

4.a.- *COMMELINA ERECTA* L.

Commelina erecta var. *erecta* es una monocotiledónea herbácea perenne que pertenece a la familia Commelináceas, es originaria de Norteamérica y América tropical (Dimitri, 1972; Lorenzi, 2000), y se la encuentra desde el sur de Estados Unidos a Argentina (Hunt, 1994). Posee tallos de hasta 70 cm de altura o más, al principio erectos y luego decumbentes (Brashier, 1966) y raíces tuberosas (Hunt, 1994). Las hojas son oblongo-lanceoladas con ápice agudo o acuminado, lámina redondeada en la base, auriculadas en su unión con la vaina (características que la diferencia de las demás especies de *Commelina*) y vaina con tricomas, (Hunt, 1994). Presenta flores zigomorfas con tres pétalos, dos de color azul-celeste y el tercero reducido a una escama blanquecina. Las flores se reúnen en inflorescencias terminales (Hunt, 1994). El líquido acumulado en las brácteas protectoras de las inflorescencias se utiliza como colirio en casos de conjuntivitis, de ahí su nombre vulgar de Flor de Santa Lucía, y el zumo de la planta, en lavajes, calma el prurito y la urticaria (Lahitte y col., 1997). Sus frutos son cápsulas (Dimitri, 1972; Lahitte y col., 1997). Se la conoce también como flor de un día (por el corto período que dura la corola).

Se reproduce por semillas y por rizomas, vegeta en primavera, florece y fructifica en verano. Ambas formas de propagación tienen distintos requerimientos, lo que permite el establecimiento de individuos provenientes de semillas o de rebrotes de rizomas en diferentes momentos del año. A campo, en la región pampeana, se observan generalmente durante el mes de septiembre macollos provenientes del rebrote de rizomas y a partir de octubre se establecen las primeras plántulas originadas de semillas (Nisensohn y Tuesca, 2001).

Commelina erecta es una especie adaptada a suelos no laboreados, por lo que originariamente no constituía un problema dentro de los sistemas de producción agrícola, y se la encontraba sólo debajo de los alambrados. Sin embargo, al difundirse la labranza cero, y al no realizar laboreos en los lotes destinados a soja (*Glycine max* L. Merrill), *C. erecta* se expandió hacia el centro de éstos (Rodríguez, 2004). Sin embargo, la tolerancia de la especie al glifosato varía en función del estado de desarrollo (Rainero, 2004). Faccini (2004) y Rainero (2004) reportan que, en aplicaciones de dosis normales (2-3 l/ha al 48%) realizadas en plantas con más de 5 hojas, los controles con glifosato fueron siempre deficientes. Este último autor afirma además que pueden ser

controladas plantas con menos de cinco hojas generadas por germinación de semilla, pero no aquellas del mismo tamaño originadas por rebrote.

Las poblaciones de *C. erecta* han manifestado un alto grado de tolerancia a glifosato, lográndose un 100% de control a los 4800 g. a.i. ha⁻¹ (Papa, 2005a). Reportes publicados sobre la falta de control han sido frecuentes desde 1997 (Leguizamón, 1997) y no se dispone a la fecha de alternativas químicas prácticas y eficientes para su control. Existen soluciones parciales como mesotrione para el cultivo de maíz, durante la etapa del barbecho en mezcla con 2,4-D, la aplicación de la premezcla comercial de paraquat + diurón o la mezcla de glifosato + carfentrazone con las que se han observado resultados favorables en especial en tratamientos primaverales (Papa, 2010). La red de reconocimiento de malezas de AAPRESID (Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa) recomienda encarar un manejo de varios años de tratamientos adecuados para esta maleza, y en barbecho, realizar una técnica de doble golpe con mezclas de herbicidas (REM, 2012).

4.b.- *EUSTACHYS RETUSA* LAG. KUNT

Eustachys retusa es una especie de gramínea C₄, perenne, cespitosa con rizomas cortos y macollos comprimidos (Burkart, 1969). Las hojas no se encuentran agregadas ni auriculadas, con láminas lineales y vainas lateralmente plegadas (Watson y Dallwitz, 1992), en abanico (Burkart, 1969) quedando todas en un mismo plano. Posee ciclo primavero-estival y en estado adulto comúnmente tiene 0,8 m de altura (Burkart, 1969). Se propaga principalmente por semillas. Son plantas con flores hermafroditas sobre espigas de espiguillas digitadas (Watson y Dallwitz, 1992). Tolera bien suelos pobres y ácidos (Puricelli y Faccini, 2005). Se observa un incremento en su abundancia en campos destinados a soja en siembra directa presentando problemas de control con glifosato especialmente cuando se encuentra en estado reproductivo, siendo más tolerante en estado vegetativo (Puricelli y Faccini, 2005).

4.c.- *ALTERNANTHERA PHILOXEROIDES* (MART.) GRISEB.

Alternanthera philoxeroides (Amarantácea) es una planta erguida o rastrera de hasta 30-80 cm de altura, nativa de la parte meridional de América de Sur (Lorenzi, 2000). Tallos fistulosos, estriados con dos líneas de pelos cortos (Burkart, 1987), generalmente rojizos y radicantes en algunos nudos. Hojas elíptico-lanceoladas,

lineares, espatuladas u oblongas, subpecioladas (Burkart, 1987) y opuestas. Flores hermafroditas o femeninas de color blanco, agrupadas en espigas capituliformes (Burkart, 1987).

Alternanthera philoxeroides es una hierba perenne estolonífera y rizomatosa, de rápida capacidad de crecimiento tanto en ambientes acuáticos como terrestres (Sainty y col., 1998). En condiciones donde ni el agua ni los nutrientes son limitantes, su crecimiento es altamente influenciado por la temperatura y el fotoperíodo. Su máximo crecimiento se produce en verano y no tolera bien las heladas, las cuales afectan los ejes más expuestos (Eberbach y Bowmer, 1995). Posee capacidad de brotar rápidamente lo cual explica su gran predominio dentro de algunos de los sistemas productivos (Wilson y col., 2007). La producción de semillas viables es escasa (Sainty, 1973; Center y Balciunas, 1975; Julien y col., 1995; Wilson y col., 2007) y, consecuentemente, la forma de reproducción es predominante vegetativa (Eberbach y Bowmer, 1995).

Es una maleza de dificultoso manejo dado que es relativamente poco afectada por los herbicidas (Sainty y col., 1998; Clements y col., 2012). En relación con el glifosato, varios procesos se encuentran relacionados con la tolerancia al mismo en esta especie dado que se transloca muy poco hacia los órganos de almacenamiento y parte del mismo es exudado a través de las raíces; además parte podría ser transformado en metabolitos no tóxicos (Eberbach y Bowmer, 1995).

5.- GLIFOSATO

5.a.- CARACTERIZACIÓN

El glifosato (N-fosfonometil glicina) es un herbicida no hormonal que pertenece al grupo químico glicina o fosfito (Nisensohn y Tuesca, 2004). Los síntomas típicos producidos por el glifosato, son la detención del crecimiento y clorosis en las hojas, seguida luego de necrosis de tejidos y marchitamiento de la planta; en algunas especies el follaje se torna de color rojizo (Nisensohn y Tuesca, 2004). Dichos síntomas son más acentuados y ocurren primero en el ápice y zonas meristemáticas, luego se extienden a partes más viejas de las plantas. Con frecuencia los rebrotes en especies perennes muestran hojas malformadas y estriadas (García Torres y Fernández-Quintanilla, 1989).

Los síntomas de la acción del glifosato sobre el follaje suelen observarse 3-8 días post-aplicación (Nisensohn y Tuesca, 2004). En general es menor la acción del glifosato, en plantas perennes en avanzado estado de desarrollo (García Torres y Fernández-Quintanilla, 1989).

Su modo de acción es sistémica, lo cual implica que al ser aplicado sobre las plantas, se absorbe rápidamente sobre las hojas y partes verdes, y se transloca a través del floema y en algunos casos también por el xilema; por lo que suele encontrarse en cualquier parte de la planta a las pocas horas de aplicarse (García Torres y Fernández-Quintanilla, 1989). Normalmente, luego de la absorción se suele redistribuir siguiendo el flujo de sustancias fotosintetizadas y se deposita en aquellas partes donde hay mayor demanda de éstas, como son los frutos, órganos de reserva, o zonas apicales meristemáticas (García Torres y Fernández-Quintanilla, 1989). A mayor intensidad luminosa y temperatura la translocación aumenta, debido principalmente a que es mayor la producción de compuestos orgánicos en el vegetal, y porque al combinarse el herbicida con éstos origina compuestos más móviles, que el herbicida por sí solo (García Torres y Fernández-Quintanilla, 1989). Según Mársico (1980), cuando la principal vía de translocación es a través del floema, como ocurre normalmente en aplicaciones en el follaje, el herbicida puede provocar la destrucción de las células vivas del tejido floemático, y de esta forma impedir la translocación, al quedar interrumpida la circulación. En tal caso, hay destrucción de las hojas y no se alcanzan los órganos subterráneos, de modo que las especies perennes rebrotan y no se logra control adecuado.

Según Nisensohn y Tuesca (2004), el glifosato se caracteriza por actuar sobre la enzima enolpiruvil shikimato fosfato sintasa (EPSPS), la que está asociada a la síntesis de 3 aminoácidos aromáticos esenciales: fenilalanina, tirosina, y triptofano, y también en la síntesis de compuestos aromáticos como las ligninas, alcaloides, flavonoides, ácidos benzoicos y hormonas vegetales. La falta de cualquier aminoácido determina que una proteína no pueda ser sintetizada, por eso reciben el nombre de aminoácidos esenciales. La deficiencia de éstos conduce a una disminución en la cantidad de proteínas necesarias para el crecimiento y desarrollo de la planta, debido a que en los vegetales los aminoácidos deben sintetizarse a través de intermediarios bioquímicos. No obstante también se ha demostrado que interfiere en ciertos mecanismos de la respiración, fotosíntesis y síntesis de ADN. Particularmente en la fotosíntesis, se sabe

que el glifosato bloquea el ciclo de Calvin, dado que la inhibición de la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa, conduce a la acumulación de shikimato-3-fosfato. Esto resulta en la disminución de fosfato libre; y a causa de esto, la ribulosa 1,5-bisfosfato no se regenera y el ciclo de Calvin se bloquea (Søbye y col., 2010).

5.b.- TOLERANCIA

Asociado con el gran auge de la siembra directa, la aparición de la soja RR (resistente a glifosato) o TG (transgénica) y de otras semillas transgénicas, el uso de glifosato se ha incrementado considerablemente (Trigo y Cap, 2006). La tasa de adopción de los cultivos GR (resistentes al glifosato), por los agricultores de países que lo permiten, ha superado la adopción de cualquier otra tecnología agrícola en la historia (Buttel, 2002). En Argentina, la soja con el gen tolerante al glifosato fue introducido en 1996 (Arregui y col., 2006), y ha sido adoptada principalmente por la simplicidad de usar un solo herbicida, así como la eficacia del mismo, la falta de daño al cultivo y al suelo, y la flexibilidad de aplicación que posee, a diferencia de los herbicidas convencionales (Kudsk y Streibig, 2003; Vitta y col., 2004).

A pesar de la rápida adopción por los agricultores, las diferentes organizaciones gubernamentales y no gubernamentales se han opuesto a esta tecnología, y una de las razones es la pérdida de la biodiversidad (Scursoni y col., 2006), dado que se reduce la densidad de algunas malezas, y se incrementa al mismo tiempo la de unas pocas (Christoffoleti y col., 2008) que toleran o resisten al herbicida. A diferencia de otras prácticas de control, los herbicidas tienen un mayor potencial para seleccionar fenotipos que persisten después del tratamiento mediante la destrucción de fenotipos más vulnerables de la población (Cousens y Mortimer, 1995 citado por Scursoni y col., 2006). Sumado a esto, en Argentina el glifosato se utiliza en post-emergencia, “según sea necesario” (Arregui y col., 2006). El repetido uso de un herbicida y de una misma dosis, ha llevado a la aparición de tolerancia en algunas especies de malezas como respuesta a un aumento en la presión selectiva, lo que se tradujo en cambios en las poblaciones de malezas (Culpepper, 2006), haciendo que especies resistentes y tolerantes de malezas comiencen a prevalecer en el agro-ecosistema (Ulloa y Owen, 2009).

La tolerancia a herbicidas es la capacidad innata de algunas especies para sobrevivir al uso de herbicidas que controlan otras especies de malezas en el mismo

agro-ecosistema (Zelaya y Owen, 2005). La tolerancia a un herbicida particular indica la capacidad de las plantas de sobrevivir a dosis recomendadas de herbicidas, debido a que poseen características histoquímicas que reducen su penetración y / o translocación, o un metabolismo diferencial o variaciones en la actividad de ciertas enzimas (Monquero y col., 2004). La tolerancia también podría deberse a diferentes formas de crecimiento que aseguren la supervivencia de las yemas, lo cual asegura el rebrote después de la aplicación de herbicidas (Malpassi, 2005; Panigo y col., 2012) y con la presencia de órganos reservantes que posibiliten la recuperación post-aplicación (Panigo y col., 2012). En cambio, son resistentes aquellas especies que tienen capacidad de sobrevivir y reproducirse después de la exposición a una dosis de herbicida normalmente letal para su tipo salvaje (Weed Science, 2012). La resistencia a herbicidas generalmente ocurre dentro de las poblaciones de malezas como consecuencia de una presión selectiva intensa ejercida por una falta de diversidad en las prácticas de manejo de malezas (Dinelli y col., 2007). Mundialmente existen 23 especies de malezas resistentes a glifosato, concentrándose la mayor parte en EE. UU. Según Weed Science (2012), en Argentina se han identificado 12 biotipos resistentes de malezas a diferentes herbicidas (Tabla 1), de las cuales 5 son resistentes a glifosato, (aunque existe sospecha de algunos casos más).

6.- IMPORTANCIA DEL TRABAJO

Se han realizado en nuestro país numerosos trabajos para comprender la interacción entre distintas malezas y el glifosato (Leguizamón, 1997; De La Fuente y col., 1999; Vitta, y col., 1999, 2000, 2004; Nisensohn y Tuesca, 2001; Rodríguez, 2002, 2004; Faccini, 2004; Rainero, 2004; Malpassi, 2005; Papa, 2005a, 2005b, 2010; Puricelli y Faccini, 2005; Arregui, y col., 2006; Puricelli y Papa, 2006; Dellaferrera y col., 2007; Tuesca y Puricelli, 2007; Vila-Aiub y col., 2007, 2008; Binimelis y col., 2009; Mas y col., 2010; Nisensohn y col., 2011a, 2011b; Acosta, 2012). Sin embargo, a pesar de la cantidad de información existente, ninguno analiza en detalle las características arquitecturales y de crecimiento de *C. erecta*, *E. retusa* y *A. philoxeroides* tanto en condiciones normales de desarrollo, como bajo la acción del glifosato. Además, son pocas también las investigaciones que refieren a la arquitectura de especies herbáceas (Perreta, 2004; Acosta, 2012).

Tabla 1. Especies de malezas resistentes a herbicidas registradas en Argentina (Tomado de Weed Science, 2012).

	Especies	Año	Sitio de acción del herbicida
1.	<u>Amaranthus quitensis</u>	1996	Inhibidores de ALS¹
2.	<u>Avena fatua</u>	2010	Inhibidores de ACCase²
3.	<u>Cynodon hirsutus</u>	2008	Glicinas
4.	<u>Echinochloa colona</u>	2009	Glicinas
5.	<u>Lolium multiflorum</u>	2007	Glicinas
6.	<u>Lolium multiflorum</u>	2009	Inhibidores de ACCase²
8.	<u>Lolium multiflorum</u> Resistencia Múltiple	2010	Inhibidores de ALS¹ Glicinas
10.	<u>Lolium multiflorum</u> Resistencia Múltiple	2010	Inhibidores de ACCase² Glicinas
11.	<u>Lolium perenne</u>	2008	Glicinas
12.	<u>Sorghum halepense</u>	2005	Glicinas

Copyright © 1993-2012 WeedScience.org All rights reserved

¹ ALS: enzima Acetolactato Sintasa (ALS), ² ACCasa: Inhibidores de la Acetil coenzima A carboxilasa.

El desarrollo de sistemas de producción sustentables se basa en la capacidad de predecir el comportamiento de sus componentes (Leguizamón y Ferrari, 2005). De esta manera, se hace necesario implementar estrategias de manejo de las malezas, donde se mantenga la producción del cultivo, se preserve la diversidad de las poblaciones de especies nativas y se reduzca el uso de herbicidas, para lo cual es fundamental conocer las características de crecimiento de las malezas, principalmente en los estadios tempranos de desarrollo (Storkey, 2004). La comprensión de cómo estas especies se adaptaron a las nuevas prácticas agrícolas puede resultar en un mejor manejo (Jordan y Jannink, 1997) y es imprescindible para la elaboración de estrategias integrales (Rausher, 2001).

7.- HIPÓTESIS

✓ Las diferentes características morfológicas y arquitecturales de *Commelina erecta*, *Eustachys retusa* y *Alternanthera philoxeroides*, juegan un rol fundamental en la tolerancia a glifosato”.

8.- OBJETIVOS

8. a.- GENERAL

Identificar los caracteres morfológicos que facilitan la regeneración vegetativa de algunas especies en los sistemas de producción con mínima labranza y uso intensivo de glifosato, y predecir su comportamiento.

8. b.- ESPECÍFICOS

❖ Caracterizar arquitecturalmente los vástagos vegetativos de *Commelina erecta*, *Eustachys retusa* y *Alternanthera philoxeroides* e identificar la secuencia de desarrollo que caracteriza la organización general de su estructura, su modo de crecimiento y de ramificación.

❖ Evaluar las variaciones morfológicas, de crecimiento, bioquímicas y arquitecturales post-aplicación de glifosato.

❖ Relacionar las variaciones observadas con su posible estrategia de escape a la acción del herbicida.

❖ Analizar la presencia y ubicación de zonas meristemáticas potenciales y evaluar su rol en la regeneración vegetativa post-aplicación de glifosato.

Con el fin de abordar estos objetivos mencionados, el presente trabajo se ha organizado de la siguiente manera:

- Primeramente, el análisis arquitectural fue aplicado al desarrollo del sistema de ramificación de las distintas especies. Esta sección incluye la caracterización de la

unidad arquitectural y su reiteración, la definición del modelo arquitectural, la dinámica del sistema de vástagos y la secuencia y las características foliares.

- Luego se analizó la respuesta de *Commelina erecta*, *Eustachys retusa* y *Alternanthera philoxeroides* a la aplicación de glifosato. En estos capítulos se evaluaron los síntomas post-aplicación, el efecto del herbicida (desde una perspectiva cuantitativa y estructural- cualitativa) sobre los órganos aéreos y la cuantificación de parámetros de crecimiento (biomasa y superficie foliar) y bioquímicos (concentración de clorofila)

- En el capítulo final se caracterizó y analizó las implicancias del banco de yemas de *Commelina erecta* y *Eustachys retusa*, debido a que son las únicas especies en las que se evaluó el crecimiento desde la germinación y se dispuso de yemas visibles a simple vista.

CAPÍTULO 1

CARACTERIZACIÓN ARQUITECTURAL DE LOS SISTEMAS DE RAMIFICACIÓN DE *COMMELINA ERECTA* L., *EUSTACHYS RETUSA* (LAG.) KUNTH. Y *ALTERNANTHERA PHILOXEROIDES* (MART.) GRISEB.

Resumen

En este capítulo se caracterizan arquitecturalmente los vástagos vegetativos de *Commelina erecta* L., *Eustachys retusa* (Lag.) Kunth. y *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. identificando la secuencia de desarrollo y los gradientes morfológicos endógenos que caracterizan la organización general de su estructura, su modo de crecimiento y de ramificación, y se analizan estas características arquitecturales a fin de relacionarlas con su condición de malezas tolerantes. Se reconocieron distintos tipos de ejes que forman la unidad arquitectural, éstos se diferenciaron básicamente en su extensión, origen, presencia y posición de las de ramas. *Commelina erecta* y *Eustachys retusa* presentaron crecimiento simpodial con ramificaciones concentradas en la zona basal, siendo el modelo de Tomlinson, el que mejor representa la estrategia global de crecimiento de ambas. En *Alternanthera philoxeroides*, no fue posible la determinación del modelo arquitectural. Sus ejes constituyentes son monopodiales, con una porción basal postrada y una apical ortótropa. La presencia de un tallo reservante con yemas axilares latentes, de una unidad arquitectural que se establece durante la primera estación de crecimiento, formada por pocas categorías de ejes axilares basales que alcanzan un gran desarrollo y que poseen una estructura semejante a su parental, junto a la presencia de reiteración post-traumática en las tres especies, podría tener implicancias adaptativas en los ambientes bajo disturbio, que habitualmente crecen.

I.- INTRODUCCIÓN

El objetivo del análisis arquitectural es identificar la secuencia endógena de desarrollo y diferenciarla de los efectos debidos a la influencia del medio (Barthélémy, 1988, 2000; Puntieri y col., 1995). El interés principal de esta descripción cualitativa es mostrar que existen en el desarrollo del vegetal coacciones endógenas que determinan la formación de las ramificaciones aún en los sistemas más elaborados (Bell, 1986), y que las mismas son en cierto grado independientes del medio, es decir que prevalecen ante las perturbaciones debidas al ambiente. El análisis arquitectural es un método preciso fundado en la observación de algunos caracteres simples (Barthélémy, 1988), los que

sumados a un análisis cuantitativo se constituyen en una herramienta importante para el estudio de las plantas, su estructura, desarrollo en el tiempo y respuesta ante diferentes factores (Perreta, 2004; Acosta, 2012).

Commelina L. es el género más grande de la familia Commelinaceae, con cerca de 170 especies principalmente tropicales y subtropicales (Hunt, 1994; Faden, 1998). En su morfología floral y de inflorescencia, la familia Commelinaceae exhibe una amplia diversidad (Clarke, 1881; Hunt, 1994; Evans y col., 2000). En América crecen en campo abierto, bordes de bosques (Grabiele y col., 2009) y como maleza en áreas cultivadas, causando pérdidas económicas importantes en diversos agroecosistemas de todo el continente debido a su difícil control (Monquero y col., 2004; Tuffi Santos y col., 2004; Webster y col., 2005, Goddard y col., 2009; Oliveira y col., 2009; Ulloa y Owen, 2009; Webster y Sosmoskie, 2010; da Costa y col., 2011). Particularmente en nuestro país, *Commelina erecta* L. es una de las malezas tolerantes o poco sensibles a glifosato, con tendencia a predominar en campos destinados a siembra directa (Leguizamón, 1997; Vitta y col., 1999; 2004; Papa, 2005a; 2005b; Arregui y col., 2006; Dellaferrera y col., 2007; Nisensohn y col., 2011a, 2011b; Panigo y col., 2012). Esta especie es una planta C₃, perenne (Lorenzi, 2000), con adaptaciones para aumentar la captación de luz, como hojas grandes, formas verticales de crecimiento y filotaxis espiralada (Faden, 1998; Faden y Evans, 1999); lo que la hace muy competitiva (Issac y Brathwaite, 2007). Se propaga principalmente por semillas, y también vegetativamente por medio del enraizamiento de sus tallos o rizomas (Lorenzi, 2000). Ambas formas de propagación tienen distintos requerimientos, lo que permite el establecimiento de individuos provenientes de semillas o de rebrotes de rizomas en diferentes momentos del año (Nisensohn y Tuesca, 2001).

El género *Eustachys* Desv. pertenece a la subfamilia Chloridoideae (Poaceae). Estudios filogenéticos recientes lo ubican dentro de Eleusininae, una de las 18 subtribus monofiléticas que forman la tribu Cynodonteae (Peterson y col., 2010). El género comprende 10 especies distribuidas en América tropical, en las Indias Occidentales, en Sudáfrica y África tropical (Watson y Dallwitz, 1992). Comúnmente son especies mesofíticas, de hábitats abiertos, que crecen en una gran variedad de suelos (Watson y Dallwitz, 1992). *Eustachys retusa* Lag. Kunt. es una especie C₄ perenne, cespitosa con

rizomas cortos y macollos comprimidos (Burkart, 1969). Las hojas no poseen aurículas y presentan láminas lineales y vainas lateralmente plegadas (Watson y Dallwitz, 1992), en abanico (Burkart, 1969) quedando todas en un mismo plano. Posee ciclo primavero-estival y en estado adulto comúnmente tiene 0,8 m de altura (Burkart, 1969). Se propaga principalmente por semillas, presenta flores hermafroditas en espiguillas dispuestas en espigas digitadas (Watson y Dallwitz, 1992). Tolerancia bien suelos pobres y ácidos (Puricelli y Faccini, 2005). Esta especie tiene importancia económica como pastura o como ornamental (Molina, 1996), sin embargo en los últimos años ha sido considerada una maleza con baja sensibilidad a glifosato en estado reproductivo, por su invasión y difícil erradicación en campos dedicados a soja en siembra directa (Puricelli y Faccini, 2005).

El género *Alternanthera* Forssk. pertenece a la familia Amaranthaceae, y según análisis filogenéticos moleculares se ubica en el clado “Alternantheroid” en Gomphrenoideae (Sánchez del Pino y col., 2012). *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. es una planta perenne originaria de América del Sur (Sainty y col., 1998), C₃ (Longstreth y col., 1984), que actualmente ha invadido a muchos países alrededor del mundo (Clements y col., 2012). Crece rápidamente tanto en hábitats terrestres como acuáticos (Sainty y col., 1998; Geng y col., 2007). Las que crecen en hábitats terrestres asignan mucho más biomasa a las raíces, que aquellas que lo hacen en el medio ambiente acuático (Geng y col., 2007). Donde el agua y los nutrientes no son limitantes, los factores con mayor probabilidad de influir en el crecimiento son la temperatura y el fotoperiodo (Sainty y col., 1998). Es una maleza estolonífera de difícil manejo en campos de pasturas y cultivos (Sainty y col., 1998). La floración ocurre a mediados de verano, con un pico entre noviembre y enero en tierra, y en diciembre sobre el agua (Julien y col., 1992). *Alternanthera philoxeroides* no produce semillas viables en condiciones de campo (Sainty, 1973; Center y Balciunas, 1975; Julien y col., 1995; Wilson y col., 2007), por consiguiente su reproducción es totalmente vegetativa y se dispersa por fragmentación (Sainty y col., 1998). Produce fenotipos muy diferentes en diferentes hábitats (Geng y col., 2007).

La arquitectura vegetal estudia la dinámica de la construcción de las plantas (Tourn y col., 1999) desde un enfoque morfológico dinámico y global (Blaisse y col.,

1998). La arquitectura de una planta es la expresión del equilibrio entre el programa de desarrollo endógeno y las acciones ejercidas por el ambiente (Edelin, 1984; Hallé, 2010). El análisis arquitectural involucra: (1) la identificación y caracterización de los diferentes elementos que componen la estructura, (2) la caracterización de la relación jerárquica existente entre ellos, y (3) la caracterización de la secuencia en la que los diferentes componentes aparecen (Jourdan y col., 2000). Para cada especie y cada estadio de desarrollo se realizan una serie de observaciones sobre numerosos individuos (Tourn y col., 1999), lo que permite identificar tipos de ejes y caracterizarlos, teniendo en cuenta sus características morfológicas (Barthélemy y Caraglio, 2007). A partir de estas características es posible definir el **modelo** y la **unidad arquitectural**; y la existencia o no de **reiteración** (Hallé, 2010). Estos 3 conceptos arquitecturales proporcionan una poderosa herramienta para el estudio de la forma de la planta y para entender su dinámica (Barthélemy y Caraglio, 2007).

El **modelo arquitectural** es la estrategia inherente de crecimiento que define la manera en que la planta elabora su forma y explora el espacio que la rodea (Barthélemy y Caraglio, 2007). En la naturaleza sólo se encontraron 24 modelos representados (Hallé, 2004) que se aplican indistintamente a árboles, lianas y plantas herbáceas, tanto tropicales como de clima templado, y a taxones actuales o extintos (Tourn y col., 1999; Barthélemy y Caraglio, 2007). La **unidad arquitectural** es la arquitectura elemental o la forma en la que el modelo se expresa en cada especie (Barthélemy y Caraglio, 2007) y permite describir de forma completa y precisa una planta (Barthélemy, 1991). Está formada por todas las categorías de ejes que aparecen representados en la planta y sus relaciones topológicas (Barthélemy y Caraglio, 2007), al momento de la aparición de las estructuras reproductivas (Tourn y col., 1999). Luego de la expresión de la unidad arquitectural, el crecimiento ulterior de la mayoría de las plantas se hace por repetición parcial o total de esta unidad (Puntieri y col., 1995; Barthélemy y Caraglio, 2007). Este proceso se denomina **reiteración** (Barthélemy y Caraglio, 2007).

Una de las limitantes mayores que existen para llevar a cabo un programa de manejo sostenible de los agrosistemas es la falta de conocimientos sobre la biología de malezas. Sólo a través de la investigación básica se puede llegar a conocer las razones sobre la presencia de una maleza, contribuyendo esta información al hallazgo de

estrategias adecuadas para su control (Radosevich y col., 2007). Lavorel y Garnier (2002) reconocen a la arquitectura de la planta y a la forma de crecimiento, como caracteres funcionales significativos para predecir la respuesta de las plantas a factores ambientales (bióticos y abióticos). Los caracteres funcionales son el conjunto de caracteres vegetativos asociados o comunes a un grupo de plantas (Cornelissen y col., 2003) que tienen una alta influencia en la performance del individuo (McHill y col., 2006). Son características de las especies que afectan tanto su habilidad de uso, como su efecto sobre los recursos (Ehrenfeld, 2010).

Los grupos funcionales son especies agrupadas por respuestas comunes o por efectos comunes sobre los procesos del ecosistema (Lavorel y Garnier, 2002). La utilidad de esta clasificación radica en que simplifica la complejidad y permite comprender la dinámica de las comunidades sin que sea necesario conocer todas las especies que las componen (Urcelay y Battistella, 2007), intentando establecer reglas generales que asocian especies con condiciones ambientales particulares en una comunidad dada (Lavorel y Garnier, 2002; McGill y col., 2006). El objetivo central es entender cómo los caracteres funcionales varían según las especies y en qué medida esta variación tiene valor adaptativo (Poorter y col., 2008).

En este capítulo se busca i) Caracterizar arquitecturalmente los vástagos vegetativos de *Commelina erecta*, *Eustachys retusa* y *Alternanthera philoxeroides*, identificando la secuencia de desarrollo y los gradientes morfológicos endógenos que caracterizan la organización general de su estructura, su modo de crecimiento y de ramificación, y ii) Analizar las características arquitecturales y morfológicas, y relacionarlas con su condición de maleza tolerante.

II.- MATERIALES Y MÉTODOS

II.a.- MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO

Para cada una de las especies se coleccionó material en comunidades sin historia de aplicación de glifosato ubicadas en los alrededores de la Ciudad de Esperanza (31°

26'S- 60° 55'O) en la provincia de Santa Fe, Argentina, y en distintos estadios de desarrollo. Parte de este material fue diseccionado y dibujado a fin de determinar la estructura general de las especies. El resto fue cultivado para la obtención de semillas o clonación. Además algunas semillas se cosecharon directamente a campo. Para todos los ensayos se utilizó como sustrato una mezcla de 1/3 horizonte A de un suelo Argiudol Típico, serie Esperanza, con textura franco-limosa, 1/3 de sustrato comercial con perlita y 1/3 de arena. La superficie de las semillas puestas a germinar fue lavada con una solución de Hipoclorito de Sodio al 0,05% a fin de evitar la aparición de hongos durante la germinación y el crecimiento inicial (Schroeder Murphy y col., 1990; Wang y col., 2009).

En *C. erecta* se evaluaron, además de las plantas nacidas de semillas, el comportamiento de plantas obtenidas por clonación de ejes vegetativos (VCA), los que se obtuvieron por multiplicación vegetativa de las plantas de campo. Para esta especie fue posible la colección a campo de plántulas con 1 o 2 hojas expandidas, las que se utilizaron junto con las obtenidas a partir de la germinación para la caracterización estructural.

Las semillas fueron germinadas en estufa en condiciones de total oscuridad, a 25-30° C (grados centígrados) y puestas luego en speedlings. Cuando contaban con 2 hojas fueron trasplantadas en macetas de plástico de 1 L (litro) de volumen donde permanecieron hasta el final del ensayo. Los ejemplares utilizados se seleccionaron por uniformidad de tamaño y se mantuvieron en sala de crecimiento. Las condiciones de crecimiento a lo largo del experimento fueron 27° C durante el día y 19° C en la noche, con un fotoperiodo de 14 horas, la irradiación fue de 180 µE. Las macetas se regaron diariamente con agua desmineralizada.

Para *E. retusa*, el ensayo se llevó a cabo en el Campo Experimental de Facultad de Ciencias Agrarias (FCA- UNL), (31° 26'S- 60° 56'O) bajo invernadero, con registro diario de la temperatura (Fig. 1.1A), debido a que no toleró las condiciones de irradiación de la cámara de crecimiento. Las semillas se hicieron germinar en estufa a 25°C en cajas de petri sobre papel de filtro para estudiar del proceso de germinación y directamente en bandejas con sustrato comercial en invernadero para el estudio exomorfológico. Luego fueron trasplantadas en macetas de plástico de 5 litros de

volumen. Debido a que las plántulas presentaron problemas de supervivencia post-trasplante, se las mantuvo con cámara húmeda hasta lograr la implantación y se las regó con solución Hoagland al 50 % (Hoagland y Arnon, 1950). Posteriormente para el riego se utilizó agua de perforación.

Para *A. philoxeroides* las plantas se mantuvieron en invernadero en el Campo Experimental de Facultad de Ciencias Agrarias (FCA- UNL), con riego y podas frecuentes en macetas de un litro, hasta el comienzo del ensayo. *Alternanthera philoxeroides* no produce semillas viables, por lo que las plantas se obtuvieron de trozos de aproximadamente 4 cm de tallo con un nudo (Wilson y col., 2007), los que fueron trasplantados en bandejas de plástico de 40 × 60 × 10 cm. Por problemas de espacio y manipulación, el ensayo se realizó en invernadero con registro permanente de la temperatura (Fig. 1.1B). Las plantas se regaron diariamente a capacidad de campo con agua de perforación.

II.b.- CARACTERÍSTICAS MORFO-ARQUITECTURALES

Para caracterizar arquitecturalmente cada especie, evaluar la dinámica de desarrollo del sistema de vástagos y determinar sus características estructurales se realizaron observaciones, mediciones y esquemas desde la germinación. En cada planta se registró: número y longitud de entrenudos, tipo de estructura foliar presente en cada nudo, largo y ancho de hojas completamente expandidas, cantidad y posición de las ramificaciones, estado fenológico, cantidad y posición de las estructuras reproductivas. Para facilitar las mediciones y lograr la ubicación de las distintas estructuras, los vástagos se marcaron a lo largo de todo el muestreo.

Para *C. erecta* se seleccionaron 20 plántulas y 20 VCA. Estos individuos fueron analizados quincenalmente desde el día 0 (o día de trasplante) hasta los 60 días post-trasplante (DPT). Para la descripción de las plántulas se utilizó la terminología propuesta por Tillich (2000). Las distintas categorías de vástagos se clasificaron en función del orden de ramificación real, en plantas de semilla, y del orden de ramificación aparente, en plantas clonadas (considerando como principal al eje clonado, el cuál dentro de este trabajo es denominado eje madre). Hacia el final del ensayo se

realizó la disección de la mayoría de los individuos utilizados bajo microscopio estereoscópico generando nuevos esquemas de los sistemas de ramificación.

En *E. retusa* se trabajó con 20 plantas a las que se le realizaron mediciones periódicas (primero quincenales y luego mensuales) durante 6 meses. Para la caracterización del estado plántula se siguió la terminología definida por Hoshikawa (1969) y para la caracterización del sistema de vástagos se consideró la terminología propuesta por Perreta y col. (2011).

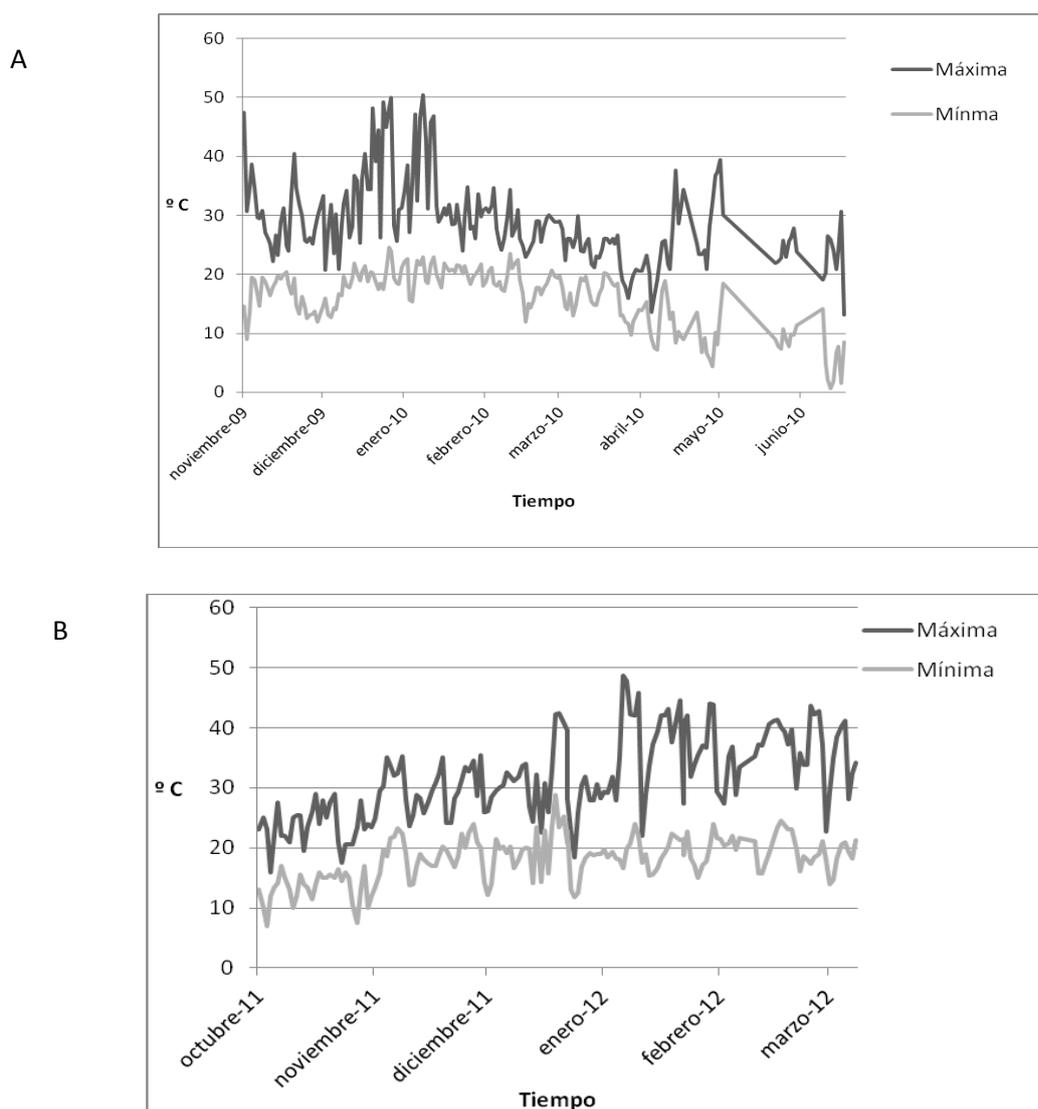


FIGURA 1.1. Valores de las temperaturas máximas y mínimas (°C) en el experimento. **A** *Eustachys retusa*. **B** *Alternanthera philoxeroides*.

Para *A. philoxeroides* se analizaron 10 plantas clonadas, a las que se les realizaron mediciones periódicas (primero quincenales y luego mensuales). Las mediciones se iniciaron a los 15 DPT, y se continuaron durante 5 meses. La evolución se describe desde el momento del trasplante.

II.c.- CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE PARÁMETROS ANALIZADOS

Inflorescencias: sólo se analiza su posición, sin entrar en detalles constitutivos.

Longitud de entrenudos: al final del ensayo se midió la longitud de los entrenudos de los ejes principales y /madres solamente, mediante la disección de la totalidad de los individuos utilizados en *C. erecta* y *E. retusa*. En *A. philoxeroides*, al carecer de vaina fue posible realizarlo en todas las fechas de muestreo.

Estructuras foliares: se describen y clasifican en función de su tamaño y se numeran desde la base al ápice.

Lámina: el largo se midió desde el punto de nacimiento de la misma, en su unión con la vaina o pecíolo, hasta el ápice y el ancho se midió en la parte más amplia de cada lámina. Se exceptuaron de esta medición el perfilo y aquellas catafilas donde no era posible distinguir vaina y lámina. Esta medición no destructiva fue mensual. Los gráficos muestran el máximo valor de longitud alcanzado en cada inserción.

Superficie foliar: se la calculó para cada especie a partir del producto del valor registrado longitud (cm) × ancho (cm) en cada hoja, según la metodología expuesta por Lauri y Terouanne (1991). El ajuste de este método se realizó midiendo el largo, ancho y el área sobre imágenes digitalizadas de 100 hojas por especie usando un software analizador de imágenes (ImageJ ®). Las ecuaciones de regresión lineal para cada especie fueron:

$$\textit{Commelina erecta}: y = 0,6223x + 0,7134; R^2 = 0,9938$$

$$\textit{Eustachys retusa}: y = 0,7718x + 0,0639; R^2 = 0,9911$$

$$\textit{Alternanthera philoxeroides}: y = 0,643x + 0,2705; R^2 = 0,9866$$

Donde y es la superficie foliar de la especie en cuestión, x es el producto “longitud de hoja” por “ancho de hoja”.

II.d.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Sólo se analizó la importancia estadística de la proporción de ramas cortas y largas en las distintas plantas de *C. erecta* y de la proporción de macro y braquiblasto en los distintos órdenes de ramificación de *A. philoxeroides*, mediante el test Chi-cuadrado (con $P < 0,05$) para tablas de contingencia, con el software InfoStat® (Di Rienzo y col., 2010).

III.- RESULTADOS

III. 1.- CARACTERÍSTICAS MORFO-ARQUITECTURALES

III. 1. 1.- *COMMELINA ERECTA*

III. 1. 1. a.- DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA UNIDAD ARQUITECTURAL

En la planta de *C. erecta* se distinguieron tres tipos de ejes que constituyen la unidad arquitectural (Fig. 1.2):

A0: eje plumular o embrionario, con hasta 12 entrenudos (Fig. 1.2A); remata en inflorescencia.

A1: estructuralmente similar al anterior, surgen desde yemas basales y medias de los A0 y de otros A1. Estos ejes se correspondieron topológicamente al eje madre de las plantas VCA. Cantidad máxima de entrenudos 11 (Fig. 1.2A y C).

A2: corresponden a ramificaciones apicales ubicadas sobre A0 y A1, son ramas cortas de no más de tres entrenudos que rematan en inflorescencia. También son el único tipo de ramificación que estos ejes pueden portar (Fig. 1.2B).

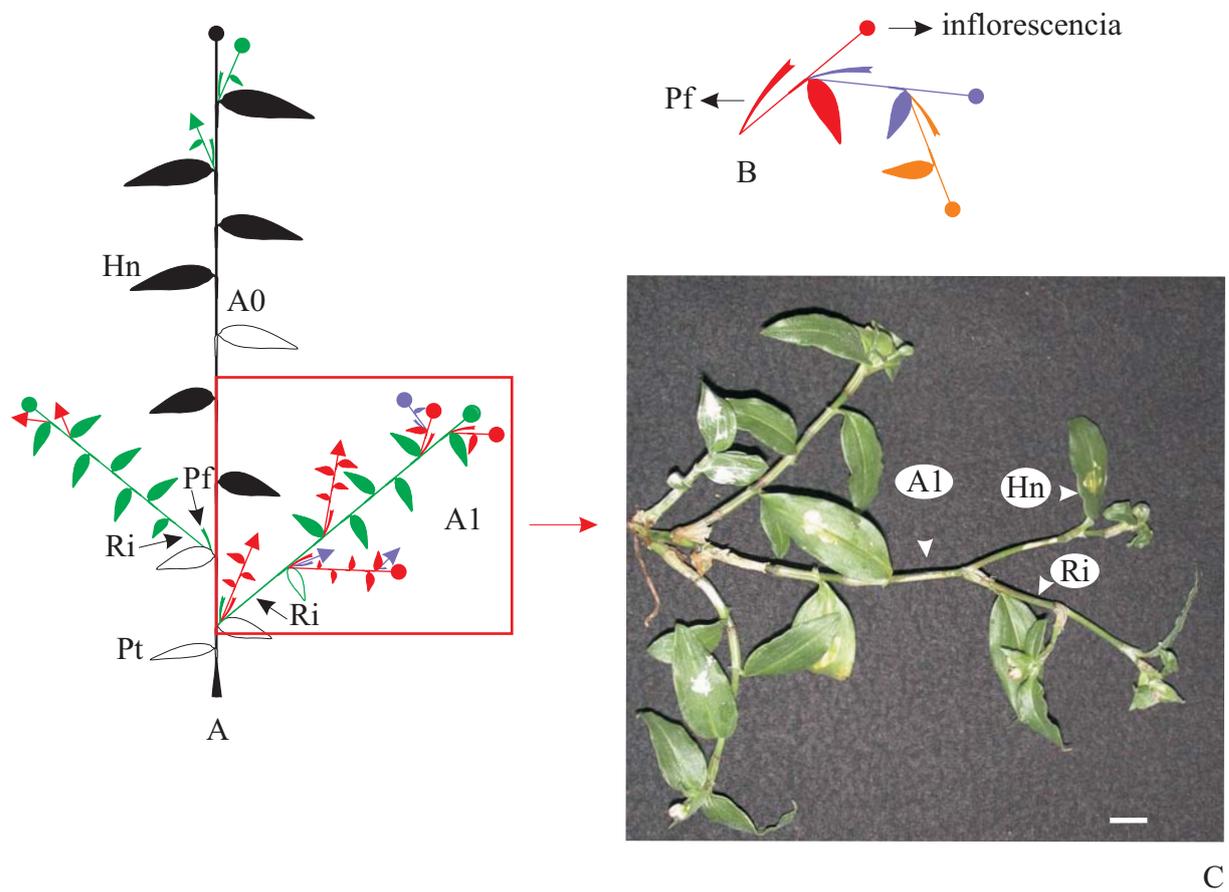


FIGURA 1.2. Ejes que forman la unidad arquitectural de *Commelina erecta* L. **A:** esquema de eje A0 y A1. **B:** ejes A2. **C:** Foto de eje A1. *Referencias:* Hn: nomofilo. Pt: profilo. Ri: ramificación intravaginal. Pf: profilo. — Ejes plumulares, Ramificaciones: — primer orden, — segundo orden, — tercer orden.  Órganos vivos  Órganos muertos. En C la línea corresponde a 1 cm.

Todos los ejes, se caracterizaron por presentar un crecimiento simpodial. La ramificación fue difusa, dado que no desarrollan ramas en todos los nudos. La concentración de ramas de mayor desarrollo en la parte basal de los ejes determinó que la ramificación fuera basítona. Los ejes A0 produjeron ramas en la mayoría de sus nudos, pudiendo carecer de éstas en los entrenudos de la zona media como se puede ver en la Fig. 1.3A. Los ejes A1, dependiendo el orden de ramificación, desarrollaron ramas en todos sus nudos, o presentaron yemas sin desarrollar en posición basal o media de los ejes (Fig. 1.3B). Los ejes A2 por lo general, desarrollan ramas tipo A2 de la axila de una o de todas sus hojas (dependiendo de la cantidad de hojas que presente) y raramente de la axila de su perfil.

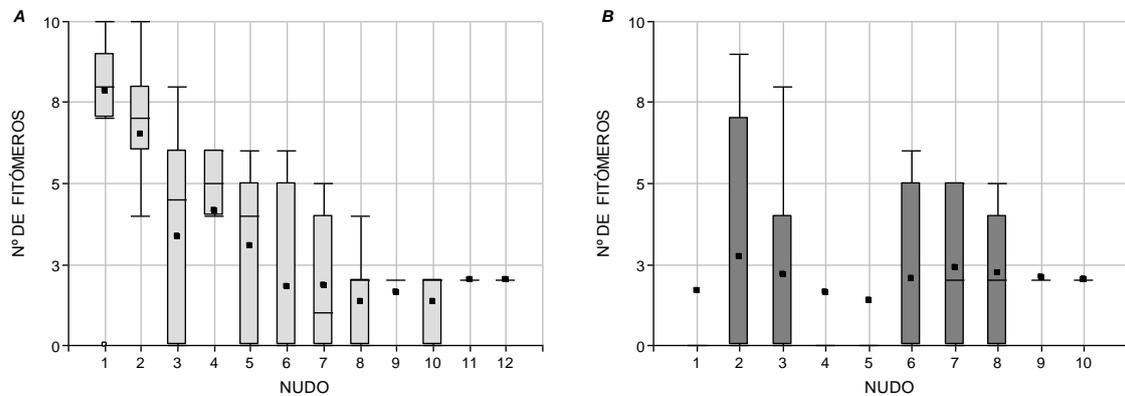
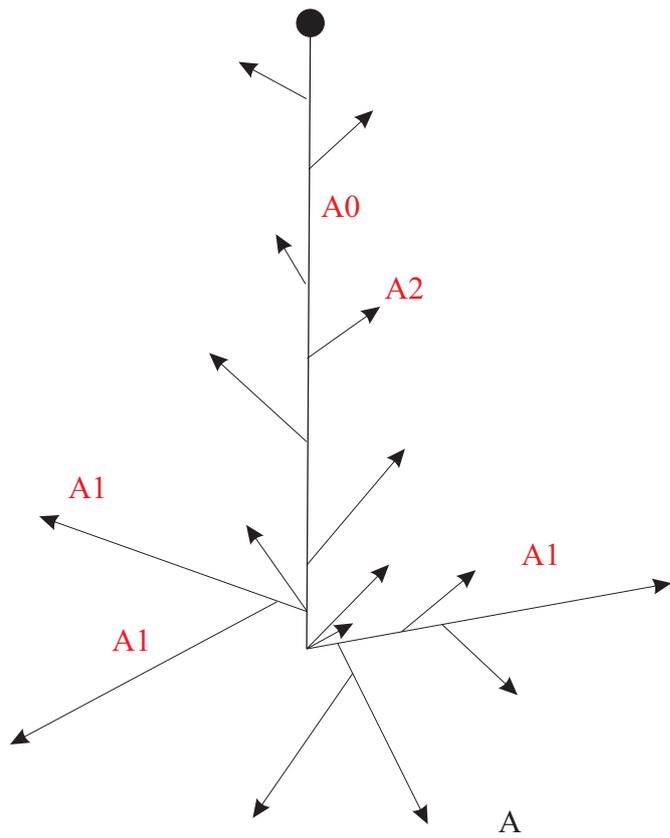
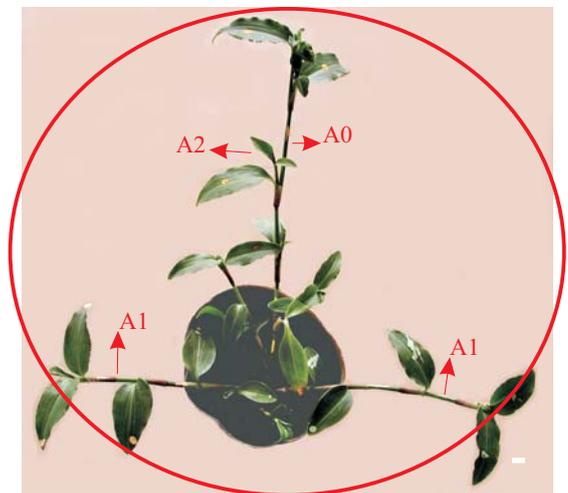
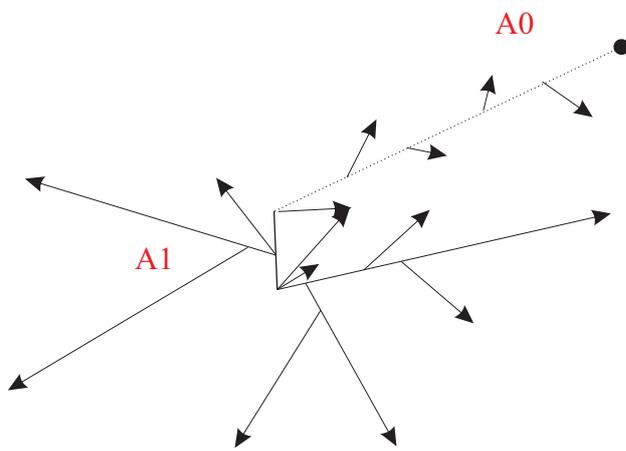


FIGURA 1.3. Variación del número de fitómeros de ramas axilares en función de su posición para los dos tipos de ejes a los 60 DPT. **A:** en Ejes A0 y **B:** en Ejes A1. El cuerpo de la caja representa el rango entre el percentil 25 y 75. Las líneas en el cuerpo de la caja representa la mediana y los bigotes marcan el percentil 5 y 95. ◻: valores extremos fuera de los bigotes. ■: Valor de la Media.

En los ejes A1 el número de entrenudos totales fue menor al de su eje parental, siendo mayor esta diferencia, en los ejes A1 más distales. Los ejes A0 produjeron entre 3-12 ramas totales (A1+A2), mientras que los A1 entre 1 y 10, dependiendo en ambos casos del número total de nudos por eje. Además, los A0 crecieron ortótopos hasta el momento del desarrollo de la inflorescencia y luego se tornaron plagiotropos (Fig. 1.4), mientras que los ejes axilares A1 emergieron paralelos al eje que los origina y, si bien en principio crecieron ortótopos (Fig.1.4B), luego se tornaron plagiotropos (Fig.1.4D).



B



D

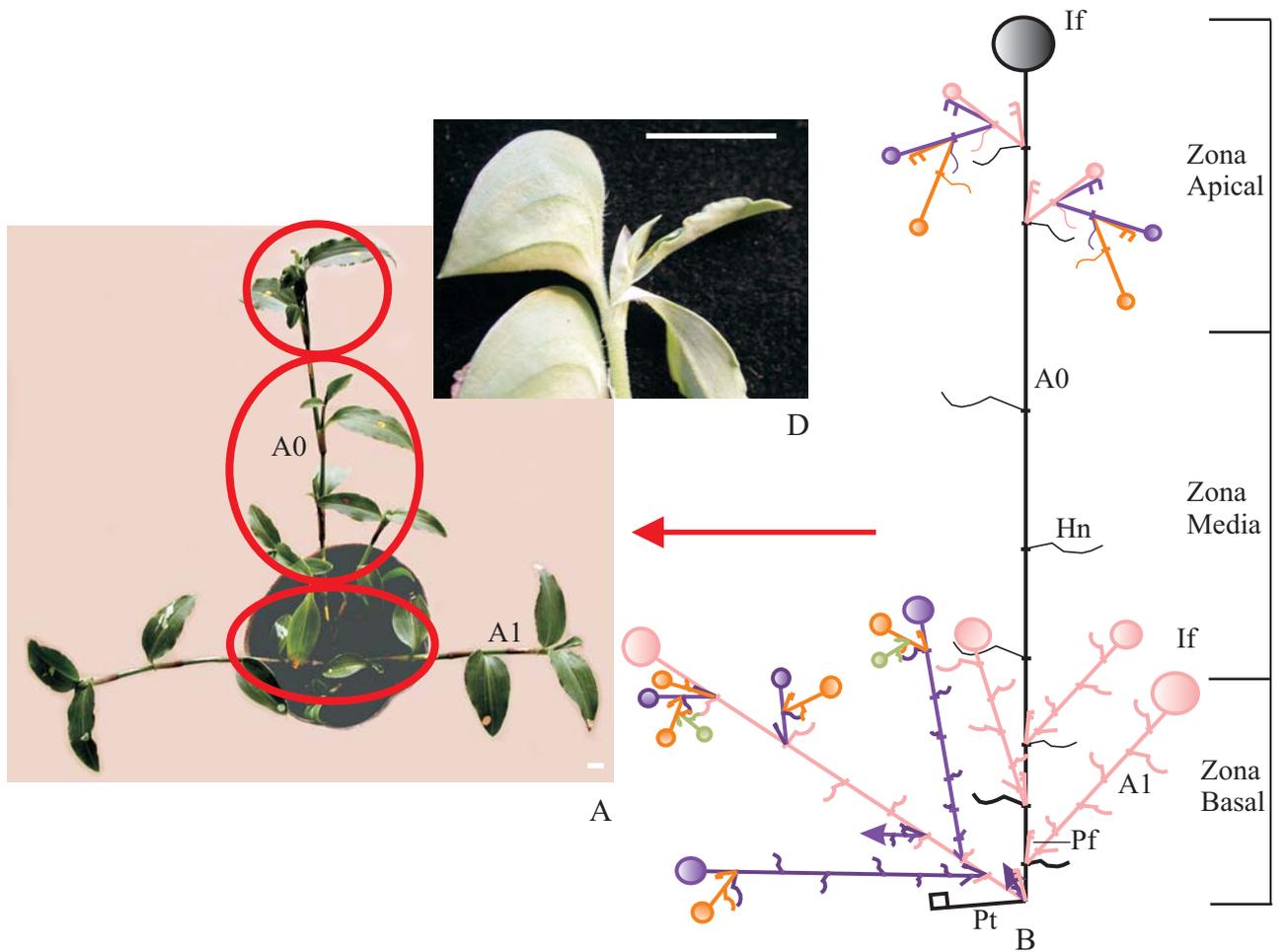
FIGURA 1.4. Morfología de los ejes de *Commelina erecta*. **A y B:** Ejes ortótopos antes del desarrollo de la inflorescencia. **C y D:** Ejes plagiótopos luego del desarrollo de la inflorescencia con exploración tipo circular. *Referencias:* A0: eje plumular. A1: ejes axilares largos. A2: ejes axilares cortos. En B y D la línea corresponde a 1 cm.

En los ejes A0 y A1 fue posible distinguir tres zonas estructurales claramente diferenciables (Fig. 1.5A y B): **(1)** una zona basal de entrenudos cortos o rizomatosa, cuyas yemas axilares por lo general desarrollaron; **(2)** una zona media de entrenudos elongados, con producciones axilares distribuidas de manera continua y difusa (en A0 y A1 respectivamente) y **(3)** una zona apical de entrenudos más o menos breves donde sólo se desarrollaron ejes A2.

La **REGIÓN BASAL** o de entrenudos cortos se caracterizó por engrosarse y formar un pequeño rizoma, el cual es más evidente a medida que la edad de la planta es mayor. Este rizoma, en ambos tipos de ejes, estuvo constituido por el primero, segundo y hasta tercer entrenudo (Fig. 1.5C). Todas las ramificaciones desarrolladas a partir de este rizoma también engrosaron sus entrenudos basales. Las yemas que no desarrollaron ramas, permanecieron latentes para asegurar el rebrote en la próxima estación. Además, se observó el desarrollo de un sistema radical adventicio, cuyas raíces engrosaron y se comportaron como raíces contráctiles (Fig. 1.5C). En conjunto, el sistema de rizomas, las yemas que no desarrollan en la estación en curso y las raíces conformaron la estructura de perennización. En las condiciones de este ensayo el máximo orden de ramificación basal fue cuarto.

La **ZONA MEDIA** abarcó desde el cuarto hasta el sexto o noveno nudo (dependiendo del número de nudos totales del eje) y se diferenció por sus entrenudos largos (Fig. 1.5A y B). La presencia de ramas fue variable, cuantos más entrenudos tuvo el eje, mayor fue el número de nudos sin ramificar en esta zona. Las ramas desarrolladas en esta zona carecieron de catafilos y se observaron primordios radicales adventicios que no alcanzaron un desarrollo significativo en la mayoría de los nudos (sólo se desarrollan en caso de fragmentación).

En la **ZONA APICAL**, los entrenudos volvieron a ser cortos y su característica distintiva fue presentar sólo ejes axilares tipo A2, luego de la aparición de la inflorescencia en el extremo del eje que los porta (Fig. 1.5A, B y D). Estas ramificaciones, también remataron en inflorescencia y produjeron iterativamente nuevos ejes florales (A2) a partir principalmente de la yema axilar del/de los nomofilo/s que poseen y raramente de su perfilo. La cantidad de nudos de estas ramas varió de 2 a 4, lo



C

FIGURA 1.5. A y B: Zonas estructurales en los ejes A0 y A1 de *C. erecta*. C: Detalle de la zona basal, con las estructuras de perennización. D: Ejes A2 de la zona apical. Referencias: A0: eje plumular. A1: eje axilar largo. A2: eje axilar corto. Hn: nomofilo. If: Inflorescencia Pf: perfilo. Pt: protofilo. Rc: raíces contráctiles. Rz: rizoma. — Ejes plumulares, Ramificaciones: — primer orden, — segundo orden, — tercer orden, — cuarto orden. En A, C y D la línea corresponde a 1 cm.

que dependió de su posición; cuanto más cerca estuvieron de la inflorescencia principal menor fue el número. Esta zona conformó una sucesión de ramas cortas, que remataron en inflorescencia, pudiendo lograr una secuencia de hasta sexto orden de ramificación.

III. 1. 1. b.- VARIACIONES ESTRUCTURALES EN FUNCIÓN DEL ORIGEN DE LAS PLANTAS

Se observaron variaciones en la cantidad de yemas basales que desarrollan ramas (menor en las clonadas) y a nivel de los entrenudos (Fig. 1.6 A y B):

- El número fue mayor en los ejes principales (A0) de las plantas de semilla (Fig. 1.6A). En estas el eje principal tuvo entre 9 y 11 entrenudos. En las VCA, el número de nudos sobre el eje madre (A1) fue menor, 7 a 9 (Fig. 1.6B).
- La longitud promedio de los entrenudos ubicados en igual posición también varió entre los diferentes orígenes. En los A1, los entrenudos 1 y 8 fueron más largos y algunos en la parte media y apical fueron más cortos que en los ejes A0 (Fig. 1.6).

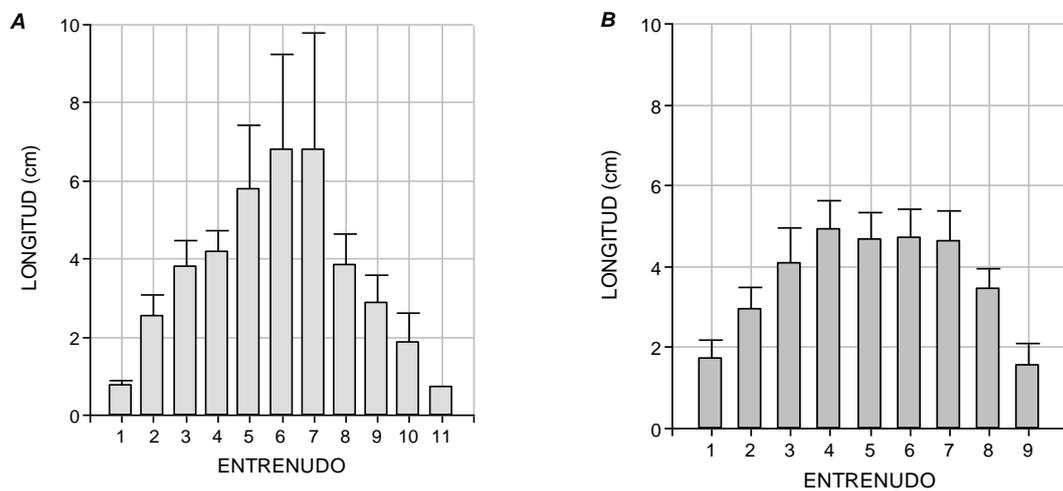


FIGURA 1.6. Longitud promedio en centímetros de los entrenudos de ejes que constituyen la unidad estructural. **A:** A0. **B:** A1. **Referencias:** Los entrenudos 1-3: zona basal; 4 –7 u 8, zona media; 7 u 8-11, zona apical. Las barras representan el valor de la media y sus barras superiores el error estándar.

III. 1. 1. c.- DINÁMICA DE FORMACIÓN DEL SISTEMA DE VÁSTAGOS

La germinación de *C. erecta*, ocurrió entre los 5- 12 días posteriores a la siembra. El inicio de la germinación se manifestó con la aparición de la raíz primaria (Fig. 1.7A), que creció muy poco, y luego fue reemplazada por raíces adventicias que surgieron de los nudos basales del vástago. Seguidamente apareció la porción correspondiente al hipocótilo. Una delgada línea hialina marcó el límite entre el hipocótilo y la raíz primaria, siendo posteriormente el lugar de desarrollo de la corona de rizoides (Fig. 1.7A). Finalmente se observó la aparición de la vaina del cotiledón, una estructura tubular hialina, la que se conecta al resto de la semilla por el epífilo (la lámina del cotiledón) (Fig. 1.7A). Desde una escotadura de la vaina cotiledonar, emergió la primera hoja o protofilo (Fig. 1.7B). En el mismo momento se observan raíces adventicias emergiendo desde el primer entrenudo. Cuando la planta adquiere independencia fotosintética, esta vaina se seca.

La secuencia de formación del sistema de vástagos para plantas de semilla y clonadas se muestra en la figura 1.7 D-H. En plantas de semilla, el inicio de la producción axilar ocurrió entre los 7 y 15 DPT, cuando los ejes A0 contaban con 3 a 6 entrenudos desde la yema axilar del protofilo o del primer nomófilo. Con poca diferencia de tiempo aparecieron los ejes A1 subsiguientes sobre el eje A0, y en muy pocos casos sobre los A1 también, pero siempre siguiendo una secuencia acrópeta. La cantidad y posición de las yemas axilares que desarrollaron en la zona basal de los ejes A1 (en verde y rojo en la Fig. 1.7) depende fundamentalmente del espacio que dispongan para explorar y la interferencia que se produzca con los ejes ya presentes. El número total de ejes A1 que se originaron sobre ejes A0 y A1 fue menor que el de A2, debido a que luego de los 45 DPT el desarrollo del sistema de vástagos incrementó súbitamente la producción de ejes axilares cortos (Fig. 1.7G y H). Las ramificaciones fueron principalmente de crecimiento intravaginal, aunque se observó un porcentaje muy pequeño de extravaginales (Fig. 1.7C).

Con la aparición de la primera ramificación sobre los ejes A0, comienza el engrosamiento de los primeros entrenudos basales. Éstos, junto con los entrenudos basales de las ramificaciones A1, conforman un sistema de rizomas. Cuando existen de

7 a 10 ramificaciones totales en los ejes A0 comienza la fase reproductiva (Fig. 1.7G). Esta floración ocurrió inicialmente sólo en A0, o simultáneamente con un eje A1 basal. Luego del desarrollo de la inflorescencia en el extremo del eje principal, comenzó la producción de ejes A2, desde el entrenudo más distal, y a diferencia de los A1, tuvieron secuencia de aparición basípeta. El número y posición de ejes A2 dependió por lo general del número de yemas del eje portador, siendo generalmente 2 a 3. En los casos donde el meristema apical muere, la yema axilar más cercana a esta zona produjo una rama que retomó la posición del eje que la porta y produjo sólo ejes A2 en sus nudos apicales.

Las plantas VCA desarrollaron la primera ramificación con 7- 8 hojas, también entre los 7 y 15 DPT. La aparición de ejes A1 sobre estos ejes madre (también A1) se produjo en una secuencia no estrictamente acrópeta, a partir de cualquiera de las yemas axilares de la zona basal. Al tener menor número de nudos este tipo de planta desarrolló menor número de ramas y su floración se adelantó con respecto a las plantas de semillas.

La distribución de ramas cortas y largas fue comparada entre los distintos tipos de plantas. Las VCA desarrollaron una proporción menor de ejes A1 y mayor de A2 que las plantas de semilla (Fig. 1.8), existiendo relación entre el origen de plantas y el tipo de rama que desarrollan (Tabla 1.1). En definitiva, los 2 tipos de plantas mostraron un comportamiento significativamente diferente.

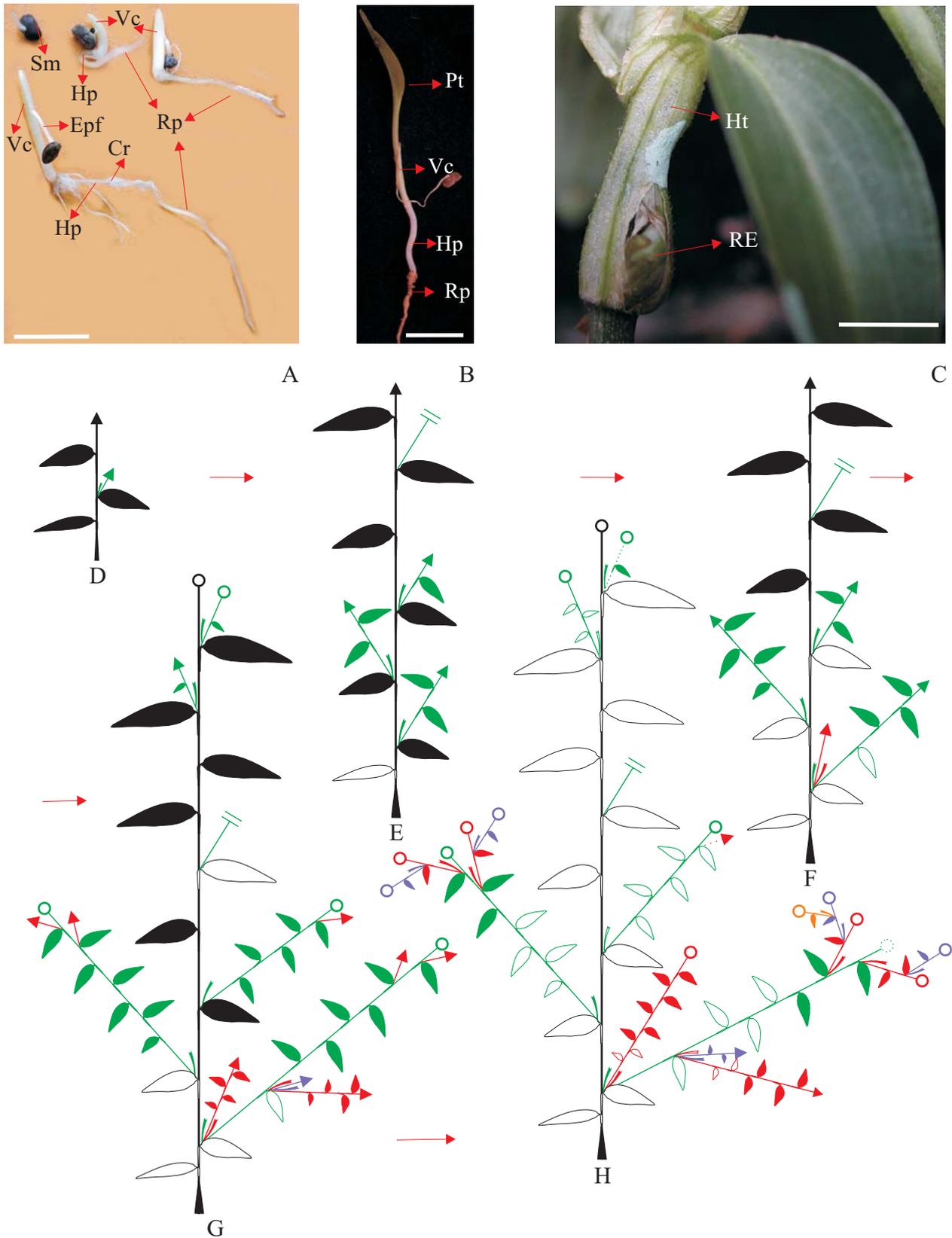


FIGURA 1.7. Dinámica del sistema de vástagos en *Commelina erecta*. **A**: Secuencia de germinación. **B**: Plántula. **C**: Ramificación extravaginal. **D**: Inicio de las ramificaciones. **E** y **F**: Aparición de las ramificaciones. **G**: Fase reproductiva. **H**: Unidad Arquitectural. *Referencias*: Cr: corona de rizoides. Epf: epífilo. Hp: hipocótilo. Hn: nomofilo. Ht: hoja tectriz. Pt: protofilo. Rp: raíz principal. RI: ramificación intravaginal. RE: Ramificación extravaginal. Sm: Semilla. Vc: vaina del cotiledón. — Ejes plumulares. Ramificaciones: — primer orden, — segundo orden, — tercer orden, — cuarto orden. — Órganos vivos — Órganos muertos

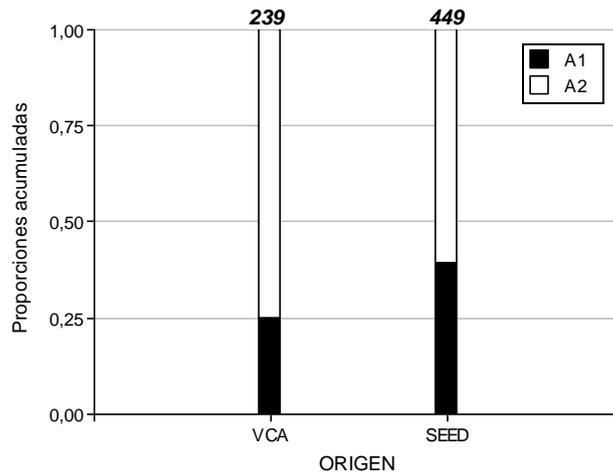


FIGURA 1.8. Proporción de ramas largas (A1) y cortas (A2) en las plantas de semillas y clonadas. Números arriba la barra indican los valores acumulados de ramas en cada origen.

Tabla 1.1. Chi- cuadrado para la proporción de ramas cortas y largas en los distintos orígenes de plantas en *Commelina erecta*

<i>Origen</i>	Cantidad de ramas A1	Cantidad de ramas A2	<i>Chi- cuadrado Pearson</i>	<i>p-valor</i>
SEMILLA	39,20	60,20	14,61	0,0001*
VCA	25,11	39,74		

* Significativo al 0.05%

III. 1. 1. d.- DELIMITACIÓN DE LA UNIDAD ARQUITECTURAL, CONFORMACIÓN DEL SISTEMA DE RAMIFICACIÓN, REITERACIÓN Y MODELO ARQUITECTURAL

Los ejes A0 y A1 definieron la estructura de la planta. El sistema de ramificación se construyó a través de la repetición de los ejes A1. Así, cada planta resultó en una sucesión de ejes axilares de crecimiento definido, cualitativamente equivalentes, dispuestos en forma de corona radiada (Fig. 1.4D), lo que determinó un

tipo de exploración circular. En las matas ya establecidas, las innovaciones se mantuvieron conectadas a través de rizomas cortos con raíces contráctiles (Fig. 1.5C). A campo, este sistema de entrenudos engrosados fueron los responsables del rebrote en primavera. Los ejes A2 sólo amplificaron la producción de inflorescencias.

La unidad arquitectural queda constituida por toda la producción de ejes desarrollados en una estación de crecimiento (desde la primavera hasta el otoño). Esta unidad se regenera cada nueva primavera, luego de la pérdida invernal de las estructuras no subterráneas, a partir del sistema de rizomas cortos con raíces contráctiles. Esta repetición estacional de la estructura a partir de ejes A1 constituye un complejo reiterado.

El modelo que mejor expresó la estrategia de crecimiento global de *C. erecta*, es el de Tomlinson, modelo que se caracteriza por tener los módulos que se originan de la base de su precedente. Esta especie presentó una secuencia de ramificación donde tanto el eje A0 (principal), como los A1 (ramificaciones basales) constituyeron los módulos que se repiten. Cada módulo presentó un crecimiento simpodial, con la inflorescencia en posición terminal y con ramas cortas floríferas en la porción apical (ejes A2) que no aportan a la estructura de perennización.

III. 1. 2.- *EUSTACHYS RETUSA*

III. 1. 2. a.- DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA UNIDAD ARQUITECTURAL

La unidad arquitectural de *E. retusa*, se caracterizó por estar integrada por ejes morfológicamente equivalentes y homogéneos (Fig. 1.9A y B). Teniendo en cuenta el origen de estos ejes podemos distinguir dos tipos:

A0: eje embrionario, originado a partir de la plúmula del embrión;

A1: ejes axilares, que correspondieron a las macollas que nacen fundamentalmente de la zona basal de ejes similares por innovación iterativa.

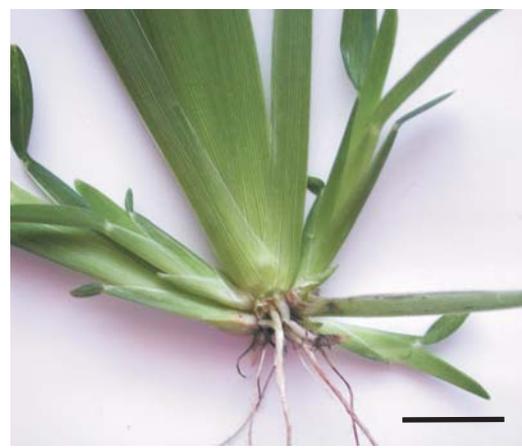
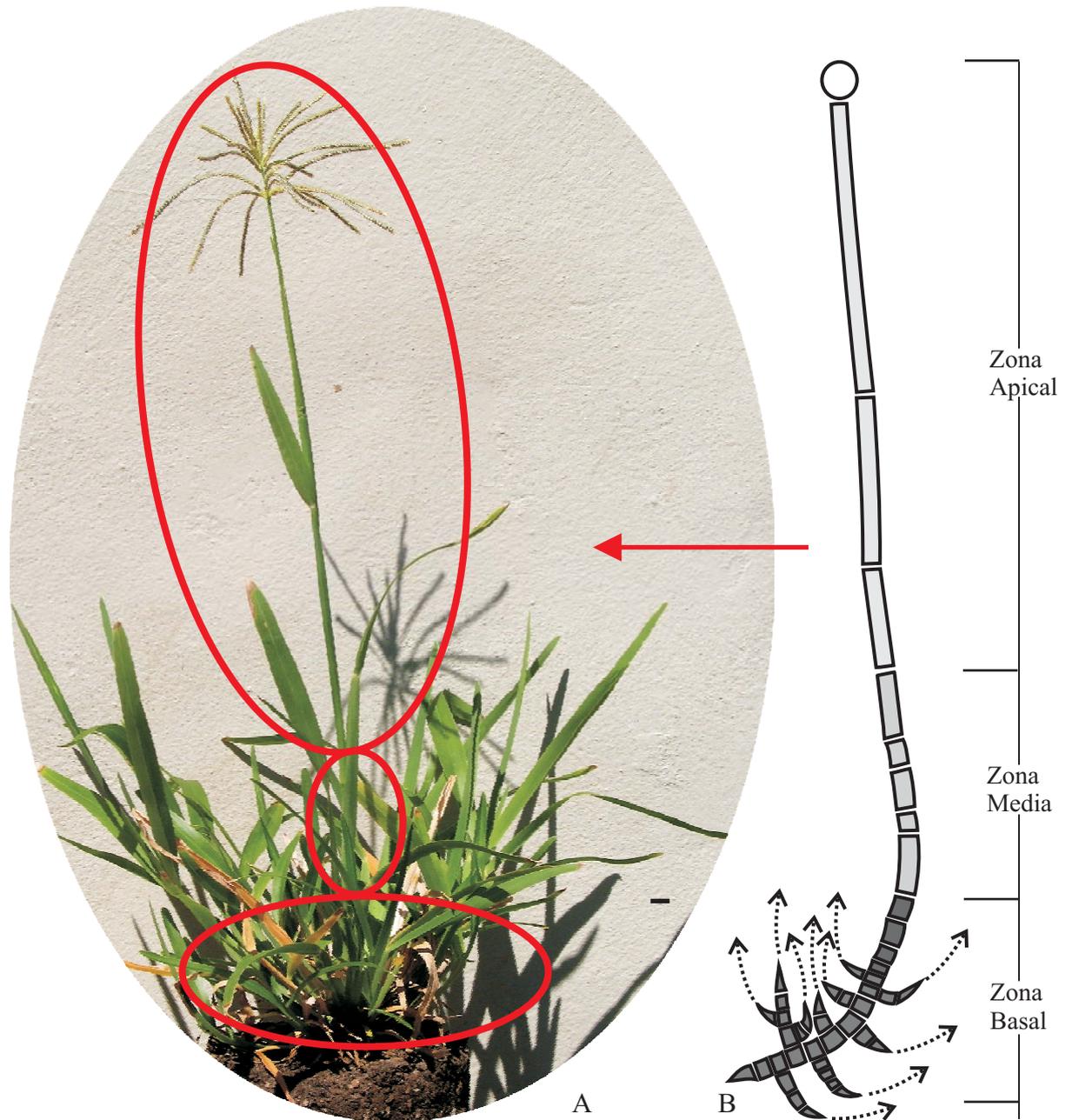


FIGURA 1.9. **A:** Detalle de las zonas estructurales de *Eustachys retusa*. **B:** Eje que compone la unidad arquitectural. **C:** Modo de exploración de la mata. **D:** Eje A1 que fue separado del eje madre en el que se observa desarrollo de raíces adventicias. En A, C y D la línea corresponde a 1 cm.

Ambos tipos de ejes se caracterizaron por tener un crecimiento determinado. En algunos hubo desarrollo de inflorescencia en posición terminal, mientras que en otros, antes de la producción de los entrenudos distales, el meristema apical del vástago senesce. Los ejes **A1** fueron intravaginales, por lo que en principio se orientaron de forma dística acompañando la filotaxis de las hojas. Pero al ir aumentando el número de producciones axilares y de estructuras foliares, ocurrió una reorientación de los mismos y los ejes axilares se concentraron hacia un lado del eje A0. Esta reorientación derivó en un modo de exploración de tipo circular (Fig. 1.9C).

En la mayoría de los ejes A0 la ramificación fue continua en la zona proximal y en un bajo porcentaje de ejes A0 (el 10 %) fue difusa. La zona de ramificación de estos ejes abarcó desde la axila de la hoja 1 hasta la hoja 18 (Fig. 1.10A). En cuanto al número de ramas totales de los ejes A0 varió entre 5 y 15. Esto dependiendo del número total de entrenudos que tuvo cada eje; a mayor número de entrenudos mayor número de ramas; pudiendo llegar a contar con 18-25 nudos totales.

En los ejes A1 la ramificación fue difusa presentando invariablemente desarrollo de ramas entre el cuarto y séptimo nudo; pero pudiendo mostrar producciones axilares desde la axila de la hoja 2 a la 17 (Fig. 1.10B). El número de ramas desarrolladas por eje fue menor que en los A0 (1 a 9); al igual que el número promedio de nudos por eje (Fig. 1.10). El cuarto orden de ramificación fue el máximo encontrado en este ensayo.

En las ramas o ejes **A1** y eje principal o **A0** fue posible reconocer 3 zonas (Fig. 1.9B): **(1)** una zona basal de entrenudos cortos o rizomatosa, cuyas yemas axilares por lo general desarrollaron; **(2)** una zona media de entrenudos elongados, con producciones axilares escasas distribuidas en la zona proximal y **(3)** una zona apical de inhibición.

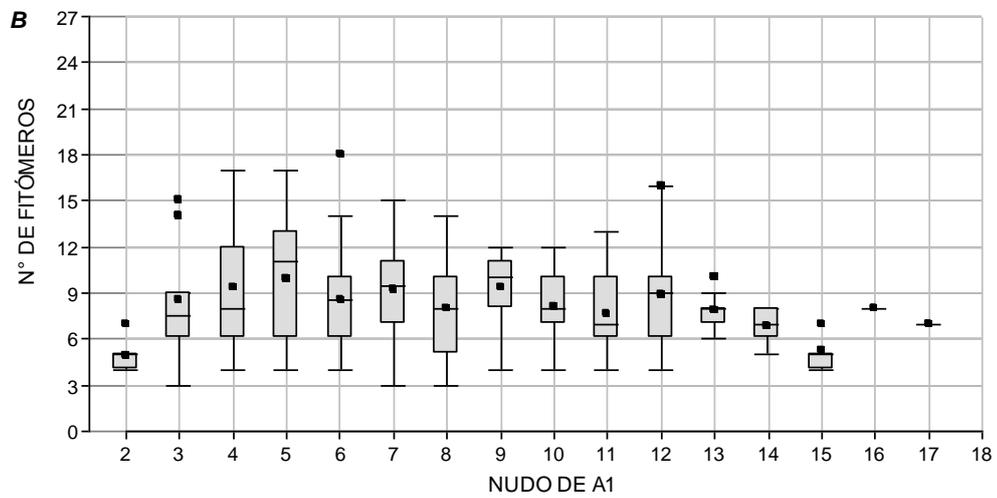
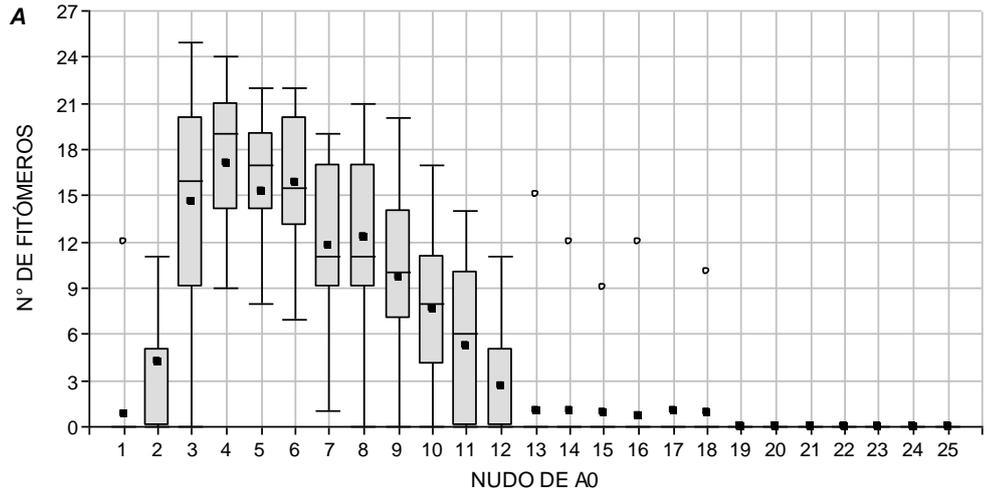


FIGURA 1.10. Variación del número de fitómeros de ramas axilares en función de su posición para los dos tipos de ejes a los 180 DPT. **A:** Ejes A0 y **B:** Ejes A1. El cuerpo de la caja representa el rango entre el percentil 25 y 75. Las líneas en el cuerpo de la caja representa la mediana y los bigotes marcan el percentil 5 y 95. ° : valores extremos fuera de los bigotes. ■: Valor de la Media.

La **ZONA BASAL** se diferenció del resto de las zonas por concentrar el mayor número de producciones axilares (o macollas) y de nudos. Si bien el número total de nudos fue variable entre plantas, la longitud de estos no excedió de 0,1 mm, razón por la cual no se observan las barras en la Fig. 1.11, por lo que su extensión fue menor que el

resto de las zonas. En esta zona la proporción de yemas que persistió como meristema axilar fue baja. A medida que los ejes aumentaron el número de nudos, en los entrenudos de esta zona se observó un aumento en su grosor formando un pequeño rizoma y desarrollando raíces adventicias (Fig. 1.9D). En las macollas axilares (A1) esto último les permite adquirir independencia del eje que les dio origen y desarticularse formando nuevos clones.

La **ZONA MEDIA** se distinguió de la anterior por presentar entrenudos más elongados y por tener escaso desarrollo de ramas (Fig. 1.9B). Esta zona manifestó en principio, una transición progresiva entre la zona de entrenudos cortos y largos, pero durante la aparición de la inflorescencia, desapareció esta gradualidad y se observó alternancia de entrenudos cortos y largos en su parte más distal (Fig. 1.11). La mayoría de las yemas no desarrollan ramas, y si lo hacen, las ramas se ubican en la parte más proximal.

La **ZONA APICAL** es la zona con menor número de nudos (2-3), pero con los entrenudos más largos y por lo tanto, la de mayor longitud (Fig. 1.11). Al igual que en la zona media, la elongación ocurre durante la maduración de la inflorescencia, siendo el pedúnculo la estructura caular más larga, con 60-100 cm. La producción axilar de esta zona está completamente inhibida y no se observan yemas en las axilas de sus hojas.

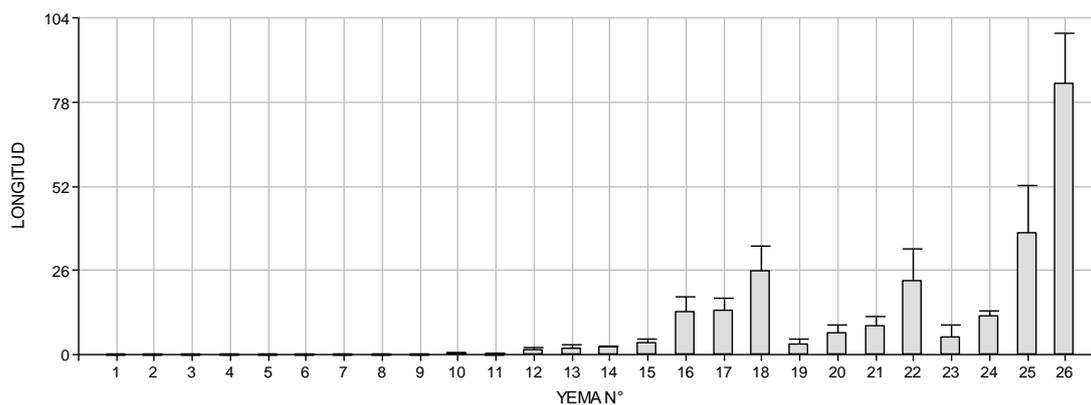


FIGURA 1.11. Evolución de la longitud de los entrenudos a lo largo del eje principal. Las barras representan los valores promedios \pm error estándar a los 180 DPT.

III. 1. 2. b.- DINÁMICA DE FORMACIÓN DEL SISTEMA DE VÁSTAGOS

La formación del sistema de ramificación se inició con la germinación, que ocurre entre los 7 y 21 días luego de la siembra. La germinación fue típica de gramíneas, con mesocótilo sin desarrollo de raíces (Fig. 1. 12A-D). La aparición de raíces adventicias adicionales comenzó en el estadio de plántula con dos hojas expandidas y surgieron a partir del nudo del coleoptilo y de los nudos basales (Fig. 1. 12D). El aumento en el número y tamaño de las raíces fue acompañado por un aumento en la formación de estructuras foliares del vástago. Con 7 a 13 hojas expandidas se inició la ramificación del eje A0 (Fig. 1.12E), desde cualquiera de los primeros seis nudos, siendo acrópeta en el 80 % de las plantas. Las ramificaciones fueron de origen intravaginal.

En estos primeros estadios la planta tiene una disposición compacta en forma de abanico (Fig. 1. 12I), pero a medida que la producción axilar se desarrolla esta disposición desaparece, provocando que la vaina se separe paulatinamente del abanico que formaba con el resto de las vainas. Con el avance de las ramificaciones, la unión entre macollas y sus ejes madres se debilitó, manteniéndose frágilmente conectados al eje que los porta por su base engrosada. Esto no representó un problema, dado que cada macollo ya contaba con un sistema radical adventicio propio y un aparato fotosintético suficiente para su supervivencia.

Las ramas de segundo orden (que son también ejes A1) se originaron de ejes A1 de primer orden, ubicados dentro de los 10 nudos proximales del eje A0, entre los nudos 2 y 17 de los ejes. La mata se forma por el encadenamiento sucesivo de ejes de orden creciente, donde la región basal engrosada constituye la estructura de perennización de esta especie. Durante la temporada invernal se produce la pérdida de toda la parte aérea de la planta, y el rebrote en la siguiente estación se produce a partir de los meristemas axilares basales de cada eje, que quedaron sin desarrollar en la estación de crecimiento anterior.

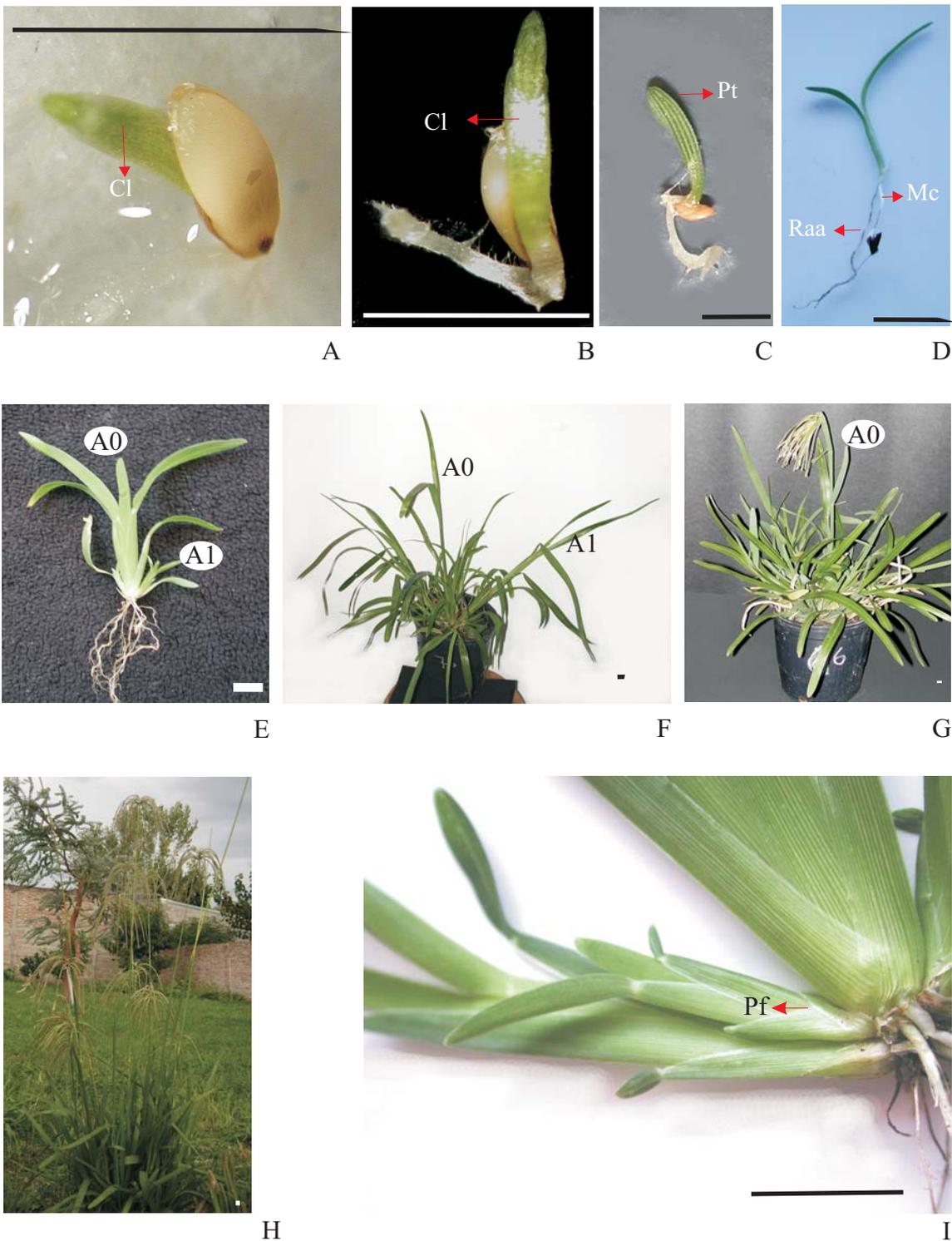


FIGURA 1.12. Evolución del Sistema de vástagos. **A–D**: Estadío de plántula. **E**: Comienzo de las ramificaciones. **F**: Comienzo de la formación de la caña y alargamiento de entrenudos. **G**: Floración. **H**: Etapa reproductiva. **I** Estructuras foliares en ejes A1. *Referencias*: A0: eje plumular. A1: ejes axilares. Cl: coleoptilo. Mc: mesocótulo. Pf: perfilo. Pt: protofilio. Raa: Raíces adventicias anexas. En A, B, C y D la escala corresponde a 0,5 cm; en E, F, G, H, e I a 1 cm.

El momento de aparición y la ubicación topológica de las estructuras reproductivas fue variable entre plantas. Las primeras inflorescencias aparecieron entre los 105-135 días después de la siembra, sobre ejes A0, A1 de segundo orden o en ambos. Se ubicaron siempre en posición terminal sobre ejes A0 con 19 a 25 nudos totales y ejes A1 de segundo orden con 16 a 21 nudos totales. Para las condiciones de crecimiento de este ensayo se observaron de 1 a 4 inflorescencias por planta. A campo, las matas superan ampliamente esta cantidad (Fig. 1.12H).

III. 1. 2. c.- DELIMITACIÓN DE LA UNIDAD ARQUITECTURAL, CONFORMACIÓN DEL SISTEMA DE RAMIFICACIÓN, REITERACIÓN Y MODELO ARQUITECTURAL

Su forma de exploración es de tipo circular pero compacta debido a que la posición de los ejes es ortótropa (Fig. 1.9C). Cada planta de *E. retusa* resulta en una mata cespitosa con todos los ejes ortótropos generados por innovación iterativa desde la base de la planta (Fig. 1. 12F y G). La planta construye progresivamente su arquitectura a través del desarrollo secuencial de ejes (macollas) cualitativamente homogéneos. La unidad arquitectural abarca todo el desarrollo anual del sistema de ramificación, hasta la estación fría, donde las heladas provocan la pérdida de las partes aéreas. Luego, en la primavera la planta vuelve a producir ejes A1, repitiendo parcialmente su arquitectura básica mediante el proceso de reiteración traumática.

Cada eje de crecimiento definido que forma la planta nació de la parte proximal de su precedente. Esto permitió que cada módulo tenga su propio sistema radical y pueda adquirir autonomía trófica. La combinación de estas características determinan que el modelo arquitectural de *E. retusa* sea el de Tomlinson.

III. 1. 3.- *ALTERNANTHERA PHILOXEROIDES*

III. 1. 3. a.- DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES DE LA UNIDAD ARQUITECTURAL

En plantas clonadas de *A. philoxeroides* fue posible reconocer 2 tipos de ejes axilares (Fig. 1.13A y D):

A1: ejes largos o macroblastos. Se caracterizaron por tener entre 10 y 41 nudos, y por presentar una porción plagiótropa proximal y una ortótropa distal. Su ritmo de producción de fitómeros es elevado y constante, y generalmente desarrollaron ramas e inflorescencias. Dentro de esta categoría se encontraría el eje madre.

A2: ejes cortos o braquiblastos. Estos ejes son de crecimiento más lento, de longevidad limitada, con 2 a 8 nudos, y no desarrollan ramas ni inflorescencias. Son siempre ortótropos.

Ambos tipos de ejes axilares crecieron monopodiales. En los **A1**, la ramificación fue difusa y basítona, observándose hasta el tercer orden de ramificación bajo las condiciones del presente ensayo. Las ramificaciones con mayor cantidad de fitómeros se ubicaron dentro de los primeros nudos, excepto en el perfil, donde la producción axilar fue poco frecuente (Fig. 1.14A). El desarrollo de las inflorescencias también es lateral. Los macroblastos y braquiblastos producidos sobre los A1 alternaron entre sí, aunque sin seguir ningún patrón (Fig. 1.13D). Independientemente del orden de ramificación, la proporción de braquiblastos fue mayor a la de macroblastos (Fig. 1.14B), existiendo relación entre el orden de ramificación y la proporción de braqui y macroblasto (Tabla 1.2).

La longitud promedio de los entrenudos disminuyó progresivamente con el orden de ramificación (Fig. 1.15A, B, C y D). Sin embargo, en ambos tipos de ejes axilares y en todos los órdenes, los valores más bajos de longitud se encontraron en los entrenudos extremos y los máximos en los medios. En los A1, la longitud se incrementó hasta los entrenudos 6 a 12 (dependiendo del orden de ramificación), mientras que en los entrenudos posteriores, se observaron pulsos de aumento y disminución de longitud en repetidas oportunidades, lo que resultó en alternancia de longitudes en la zona media (Fig. 1.15A, B y C). El número de entrenudos largos aumentó a lo largo de la ontogenia de los ejes, pero disminuyó con el orden de ramificación, al igual que la longitud de entrenudos largos (Fig. 1.15A, B y C)

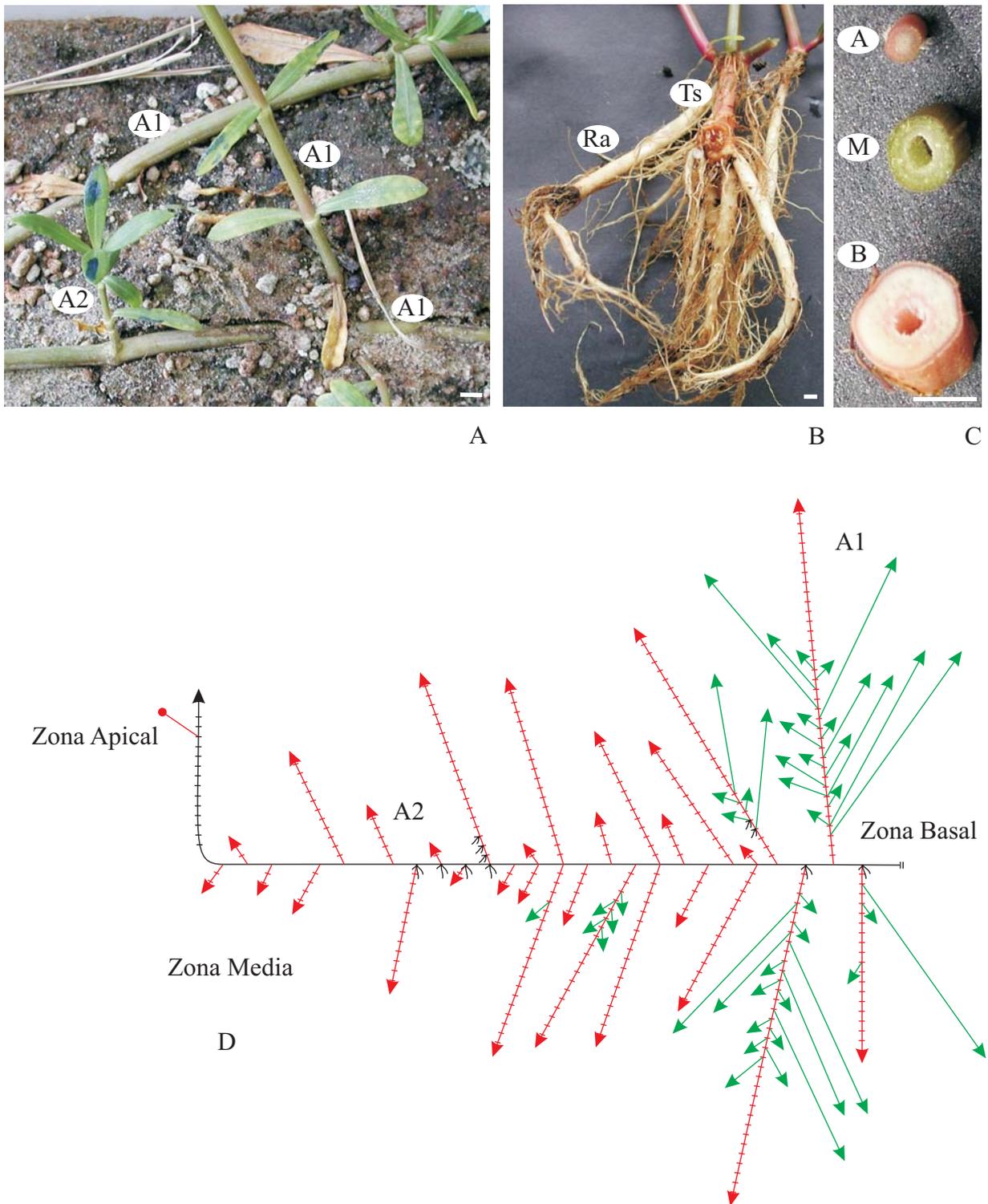


FIGURA 1.13. Ejes que forman la unidad arquitectural de *Alternanthera philoxeroides*. **A:** Foto. **B:** Detalle de la zona basal subterránea. **C:** Sección transversal del tallo. **D:** Detalle de las zonas estructurales en un macroblasto. *Referencias:* A1: Macroblastos. A2: Braquiblastos. A: Apical. B: Basal. M: Media. Ra: Raíces adventicias. Ts: tallo subterráneo. — Ejes plumulares, Ramificaciones: — primer orden, — segundo orden. En A, B y C la escala corresponde a 1 cm.

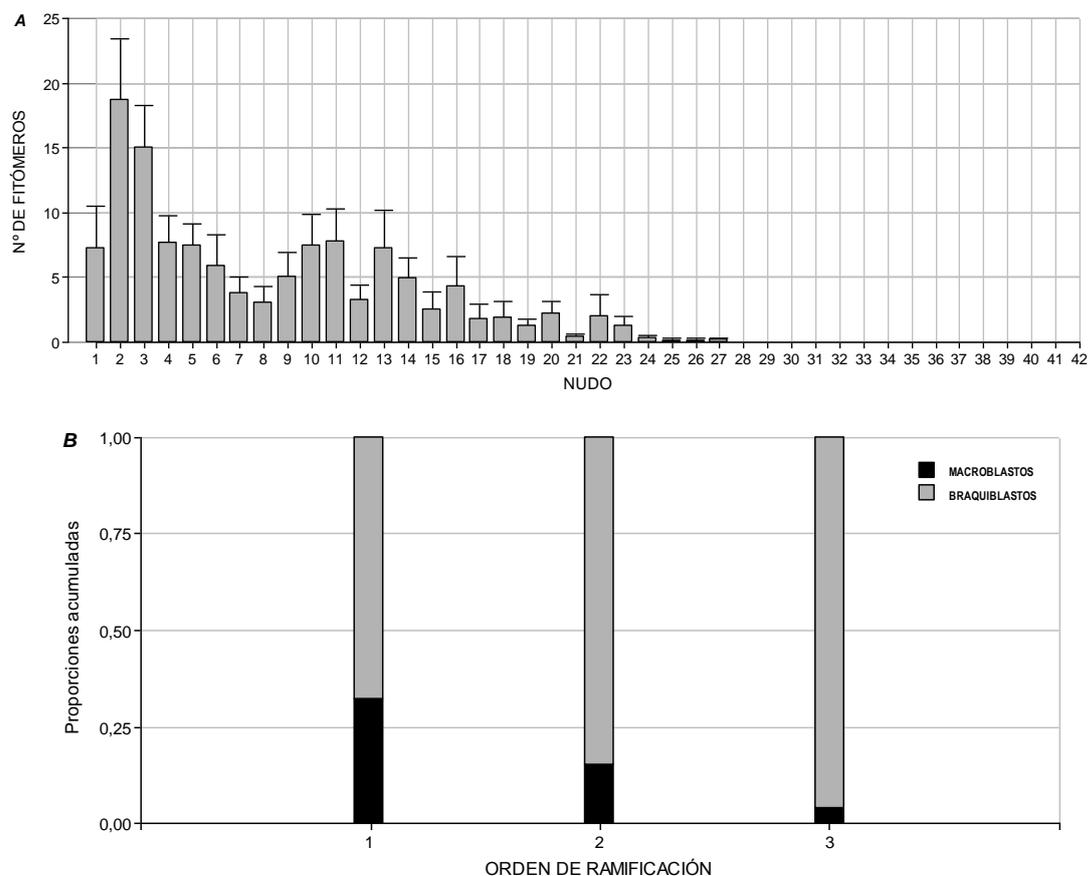


FIGURA 1.14. Variación de características morfoarquitecturales en los distintos ejes de *Alternanthera philoxeroides*. **A** Variación del número de fitómeros de ramas axilares en función de su posición para los ejes madres a los 150 DPT. Las barras representan el valor de la media \pm error estándar. **B**: Proporción de macro y braquiblastos a través de los diferentes órdenes de ramificación en *A. philoxeroides*.

Tabla 1.2 Chi- cuadrado para la proporción de braqui y macroblastos en los distintos órdenes de ramificación de *A. philoxeroides*.

	<i>1° orden</i>	<i>2° orden</i>	<i>3° orden</i>	<i>X-cuadrado</i>	<i>p-valor</i>
Proporción braquiblastos	0.6764706	0.8472222	0.9600000	21,23	2,44 ^{-5*}
Proporción macroblastos	0.3235294	0.1527778	0.0400000		

* Significativo al 0.05%

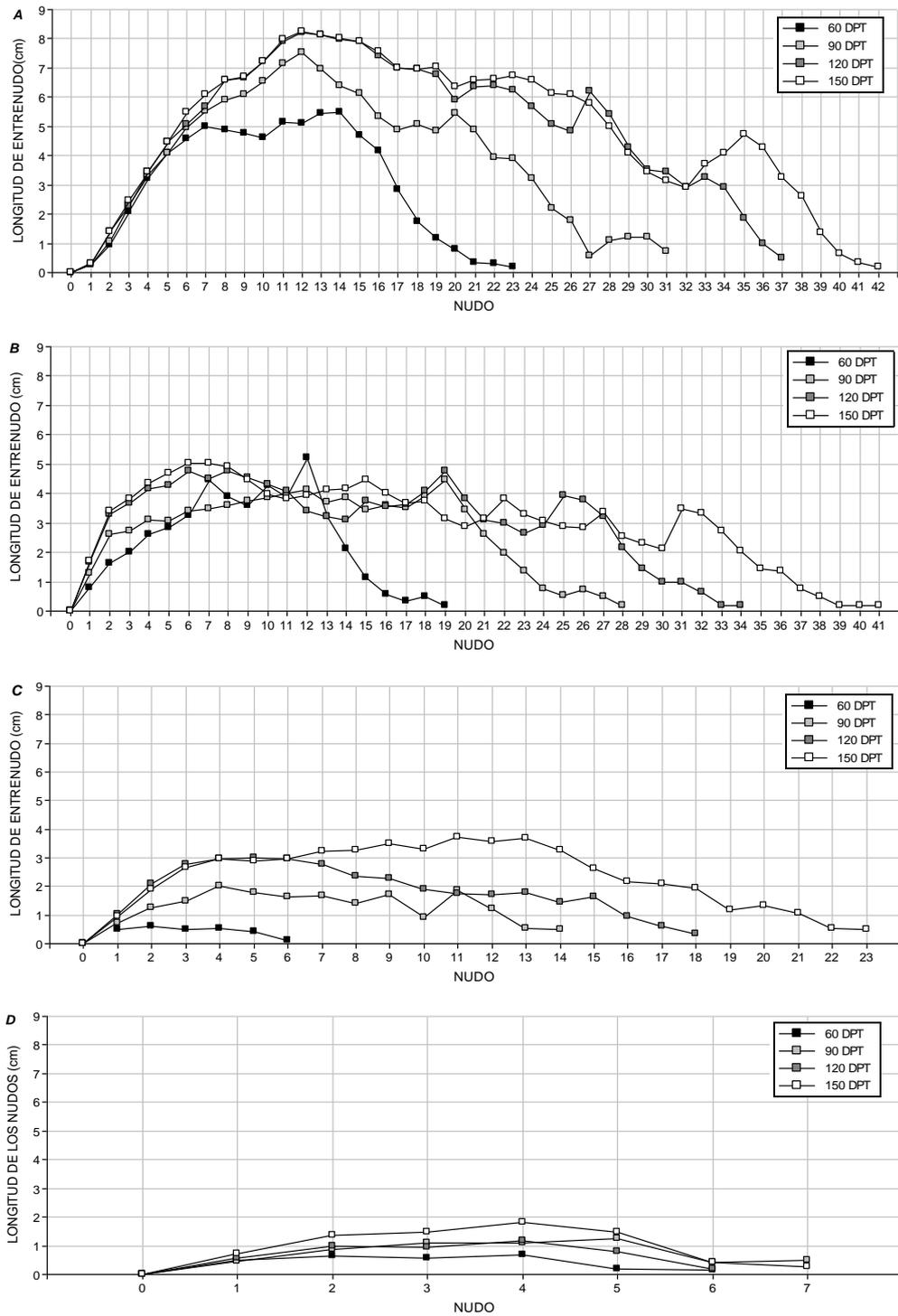


FIGURA 1.15. Variación en las características de los fitómeros en los distintos ejes de *Alternanthera philoxeroides*. **A** Variación de la largo de los entrenudos en ejes madres (A1). **B**: Variación del largo de entrenudo en ejes de segundo orden. **C**: Variación del largo de entrenudo en ejes de tercer orden. **D**: Variación del largo de entrenudos en ramas cortas (A2). Los puntos representan el valor de la media \pm el error estándar.

De acuerdo a lo anteriormente descrito, los A1 estarían formados por tres zonas, no distinguibles en las ramas cortas. Sin embargo, el crecimiento monopodial determinó que los límites de estas zonas sean dinámicos y se fueran modificando a medida que avanzaba el desarrollo de los ejes. Al aumentar el número de fitómeros aumentó: la porción plagiotropa, el largo de algunos entrenudos y el número de ramas de la planta. Estas zonas son (1) basal y (2) media, ambas plagiotropas con desarrollo de ramificaciones y (3) zona apical ortótropa:

La **ZONA BASAL** se caracterizó por ser rastrera y radicante, y desarrollar ramas en la mayor parte de sus nudos (Fig. 1.13D). Estas ramas se originaron desde una o ambas yemas axilares de sus fitómeros o incluso, muy escasas veces, de sus yemas múltiples y fueron las más largas. Sus entrenudos incrementaron gradualmente su largo, se hicieron fistulosos (Fig. 1.13C) y, a la vez se engrosaron conformando un tallo reservante (Fig. 1.13B). El sistema radical desarrollado en esta zona también engrosó, constituyendo raíces adventicias reservantes (Fig. 1.13B).

La **ZONA MEDIA** también creció plagiótropa (Fig. 1.13D). Sus entrenudos tuvieron una longitud mayor que el resto de las zonas, y a lo largo de su extensión alternaron entrenudos más largos y más cortos (Fig. 1.15A, B y C). Predominó el desarrollo de braquiblastos pero éstos aparecen en forma discontinua, permaneciendo algunas yemas sin desarrollar. El diámetro caulinar es menor que el de la zona basal y el tallo continúa siendo hueco (Fig. 1.13C). En algunos entrenudos proximales puede ocurrir enraizamiento y en la zona distal se observan hojas funcionales (Fig. 1.16B).

La **ZONA APICAL** tuvo desarrollo ortótropo, de entrenudos gradualmente más acortados (Fig. 1.15A, B y C), con las estructuras foliares funcionales (Fig. 1.16B). Los tallos siguen siendo fistulosos, salvo en los cuatro últimos entrenudos, que son macizos y más rojizos (Fig. 1.13C). Las inflorescencias surgen de las yemas ubicadas en los entrenudos más apicales de esta zona. Su aparición es anterior a la de su hoja tectriz, teniendo aspecto de inflorescencia terminal.

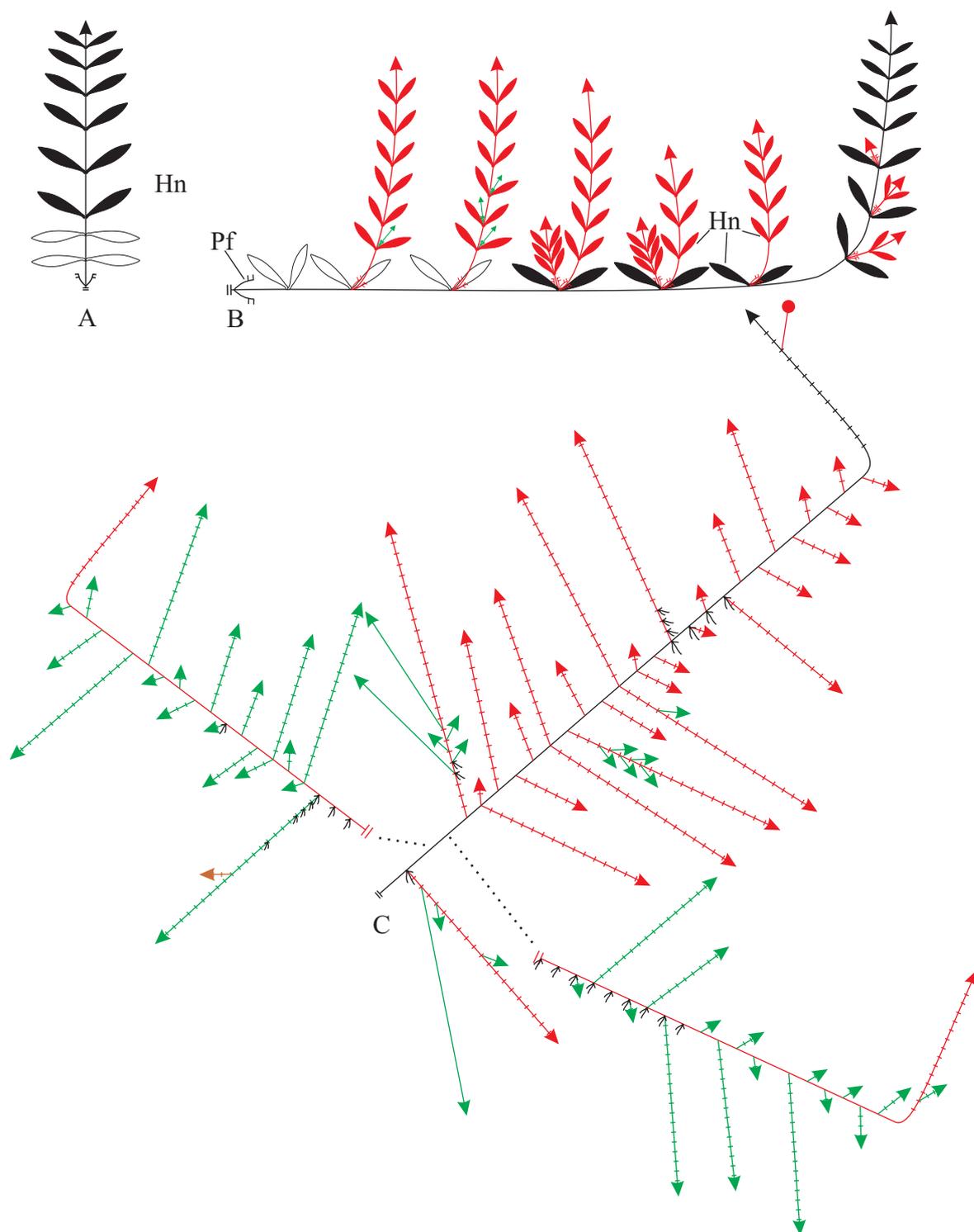


FIGURA 1.16. Dinámica del desarrollo desde el transplante hasta la floración en *A. philoxeroides*. **A:** Eje ortótopo en etapa temprana de desarrollo. **B:** Desarrollo de ejes axilares de 2do. orden. **C:** Desarrollo de ejes axilares de 3er. orden y floración. *Referencias:* Hn: nomofilo. Pf: profilo. —Ejes Madres. Ramificaciones: — primer orden, — segundo orden. Órganos vivos. Órganos muertos

III. 1. 3. b.- DINÁMICA DE FORMACIÓN DEL SISTEMA DE VÁSTAGOS

Los ejes clonados tuvieron su origen a partir del rebrote de una las yemas axilares que componen el fitómero. Inicialmente fueron ejes íntegramente ortótropos (Fig. 1.16A), pero al comienzo de la ramificación, se postraron en su porción proximal, manteniendo siempre un extremo distal ortótropo (Fig. 1.16B). En esta porción postrada, ocurrió una reorganización de sus estructuras foliares, pasaron de ubicarse en dos ortósticos, a tener una simetría dorsiventral. Asociado a la reorganización anteriormente mencionada y al incremento en el grosor del tallo, se inició el desarrollo de raíces adventicias en algunos nudos basales. Esta serie de transformaciones se iniciaron en ejes con más de 7 nudos.

La aparición de ejes axilares se produjo en una secuencia no rigurosamente acrópeta, a partir de cualquiera de las yemas axilares más basales, pero nunca se inició desde el nudo profilar. El desarrollo de ramas profilares, fue escaso y su aparición fue tardía. Las ramas que se originaron en yemas basales del eje madre fueron los macroblastos de mayor desarrollo (Fig. 1.16C). Hacia el final del período de muestreo, la distribución de las ramas largas (A1) fue más o menos continua a lo largo de la porción postrada, alternando de manera irregular con ramas cortas (A2) (Fig. 1.18C). En muy pocos fitómeros hubo desarrollo de ramas a partir de las yemas axilares de ambas hojas, en estos casos la brotación no fue simultánea. Los factores exógenos parecieron ser las únicas limitantes del crecimiento indefinido de los ejes.

Durante el presente ensayo, la floración se observó sólo en ejes madres que superaban los 2 metros de longitud y los 40 nudos. Estas estructuras aparecieron en posición lateral, sobre ejes madres y son más precoces que su hoja tectriz. Luego de su maduración, las inflorescencias suelen permanecer durante largos períodos, los que son incluso mayores que el de su hoja tectriz. No se observó la producción de semillas.

III. 1. 3. c.- DELIMITACIÓN DE LA UNIDAD ARQUITECTURAL, CONFORMACIÓN DEL SISTEMA DE RAMIFICACIÓN, REITERACIÓN Y MODELO ARQUITECTURAL

Todos los macroblastos (A1) nacieron ortótropos pero a medida que avanzaron en su desarrollo combinaron una porción más proximal plagiótropa, con una distal que permaneció ortótropa. Esto resultó en matas con ejes mixtos, donde la porción rastrera se comportó como estolonífera, no presentó hojas vivas y ramificó; mientras que la porción ortótropa, presentó hojas vivas, con una filotaxis que varió de opuesta decusada en los fitómeros más jóvenes, a opuesta dística. El modo de exploración fue principalmente horizontal, pudiéndose extender prolíficamente hacia todas las direcciones, formando una colonia muy densa de ejes (Fig. 1.16C). La posibilidad de fragmentación de sus ejes estoloníferos acentúa el crecimiento excesivo y denso de la planta.

La imposibilidad de lograr el establecimiento de ejemplares de semilla limita la determinación de la unidad arquitectural y del modelo arquitectural. Sin embargo, a priori la producción de un eje rastrero radicante dominante (eje madre) que porta braqui- y macroblastos es la unidad que se repetirá a lo largo de la ontogenia por lo que es una pieza clave de la unidad arquitectural. A ésta habría que incorporar el eje principal que es el que determinará inicialmente la cantidad de ejes dominantes (A1) que se producirán, de igual jerarquía topológica. Sobre este plan básico todo el crecimiento ulterior se centrará en los macroblastos (A1) producidos basalmente (los que más crecen) los cuales repetirían el esquema de los ejes dominantes. El proceso de reiteración se produciría entonces (1) secuencialmente aumentando la cantidad de macroblastos que se convierten en ejes dominantes, (2) en forma adaptativa generando estos ejes a partir de los macroblastos de la zona media para aprovechar una mayor disponibilidad de recursos y (3) traumática por pérdida de los meristemas de los ejes dominantes (por frío o disturbios) lo que posibilitaría repetir la estructura desde las yemas latentes que se encuentran en las tres zonas.

En *A. philoxeroides*, el modelo más adecuado dependería del tipo de crecimiento y del desarrollo del eje principal.

III. 2.- SECUENCIA FOLIAR

III. 2. 1.- *COMMELINA ERECTA*

A lo largo del eje **A0** se observaron distintos tipos foliares, según la siguiente secuencia: luego del protofilo, los fitómeros sucesivos estuvieron formados por nomófilos de filotaxis alterna espiralada. En los ejes **A1** la secuencia fue: un profilo pequeño biaquillado e hialino, precedido de un pequeño hipopodio, 1 a 3 catafilos, de los cuales el primero puede carecer de lámina y los dos siguientes tenerla bastante reducida, y luego nomófilos también de filotaxis alterna espiralada. Cuando ambos ejes se tornaron plagiotropos las láminas se reorientaron, y los nomófilos adquirieron filotaxis alterno dística. Tanto en los ejes **A0** como **A1**, el tamaño de la lámina mostró un crecimiento progresivo desde la base, llegando al máximo en las hojas de la zona media, para disminuir progresivamente en los entrenudos apicales (Fig. 1.17A y B).

En los ejes **A0**, las hojas de los nudos basales y medios fueron más largas y más anchas, que las hojas de la misma posición de los ejes **A1**. Los nudos apicales 9 y 10 mostraron longitudes similares entre sí en ambos tipos de plantas, y los entrenudos 11 y 12 tuvieron hojas más largas y más anchas en los ejes **A0** (Fig. 1.17A y B). Los ejes **A2** se limitaron sólo a un profilo, más 1-3 nomófilos, cuyo número dependió de su ubicación topológica, a saber: las que se insertaron en el antepenúltimo nudo de ejes **A0** tuvieron 3 o 4 nudos, las que lo hicieron en el penúltimo entre 2 o 3 nudos y las que nacieron del último nudo de ejes **A0** o **A1**, o en cualquier nudo de los ejes **A2**; contaron con sólo un nudo.

La superficie foliar se incrementó gradualmente hasta aproximadamente los 30 días en plantas de ambos orígenes (Fig. 1.17C), sin embargo las nacidas de semillas presentaron valores significativamente mayores, desde los 15 DPT. Entre los 30 y 45 DPT el aumento de la superficie foliar fue exponencial. Este aumento exponencial en las dimensiones de la hoja, se correlacionó con el comienzo de la floración en ambas plantas. Entre los 45 y 60 DPT, la superficie foliar tendió a mantenerse en las de semilla y decayó en las VCA.

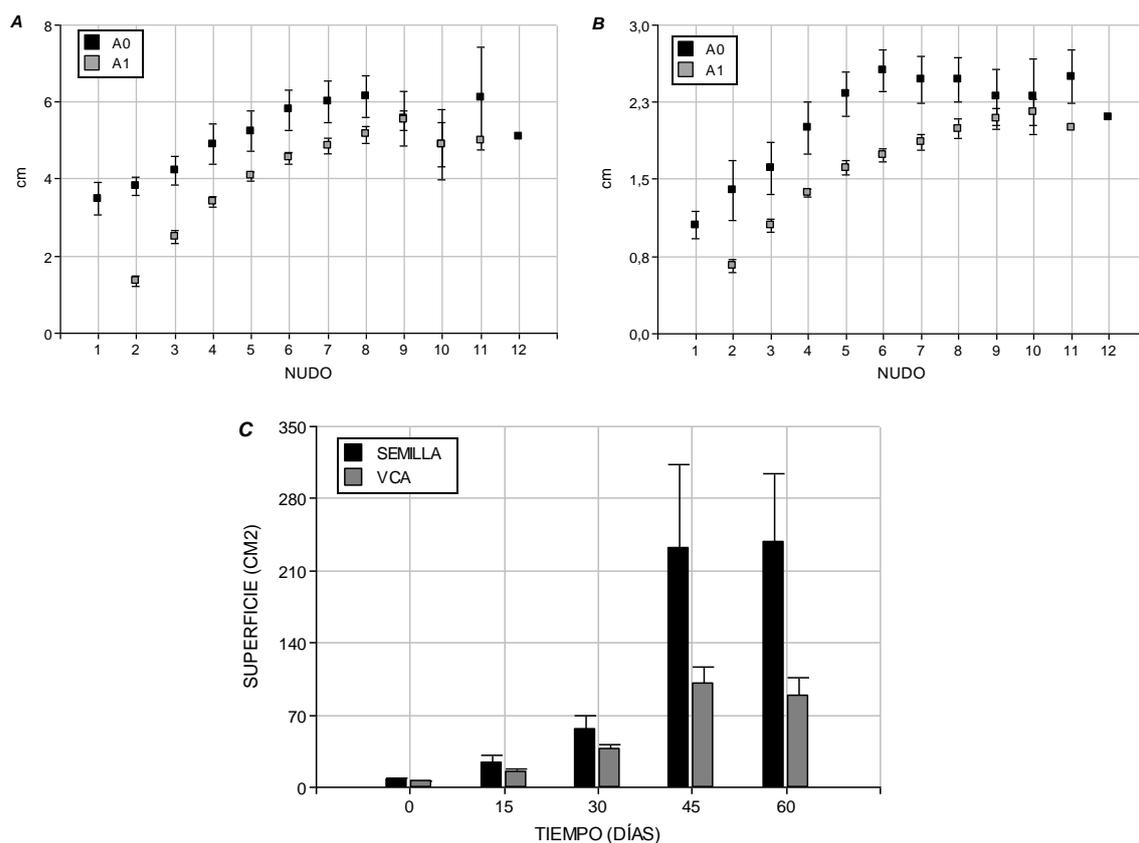


FIGURA 1.17. Diferentes características morfológicas de las hojas en *C. erecta*. **A:** Largo promedio de las láminas a lo largo de los entrenudos de los ejes A0 y A1. **B:** Ancho promedio de las láminas a lo largo del entrenudos de los ejes A0 y A1. **C:** Superficie foliar promedio por fecha de muestreos en plantas de semillas y clonadas. Las barras y los puntos representan el valor de la media \pm error estándar.

III. 2. 2.- *EUSTACHYS RETUSA*

A lo largo del eje principal (**A0**) se observan distintos tipos foliares: un coleoptilo pequeño ($0,1 \times 0,1$ cm) y luego nomófilos. El limbo de las primeras hojitas presentó forma oval, con el ápice redondeado y con los nervios más claros, lo que le daba una fisonomía estriada (Fig. 1.12C). Los fitómeros siguientes estuvieron formados por hojas lineares y linear-lanceoladas, sólo con la nervadura central más clara y notoria. La lámina de éstos no superó el centímetro de longitud hasta el 4° entrenudo (Fig. 1.18A). La longitud de la lámina se incrementó gradualmente hasta alcanzar su tamaño máximo en los nudos 16 y 17, a partir de los cuales disminuyó gradualmente.

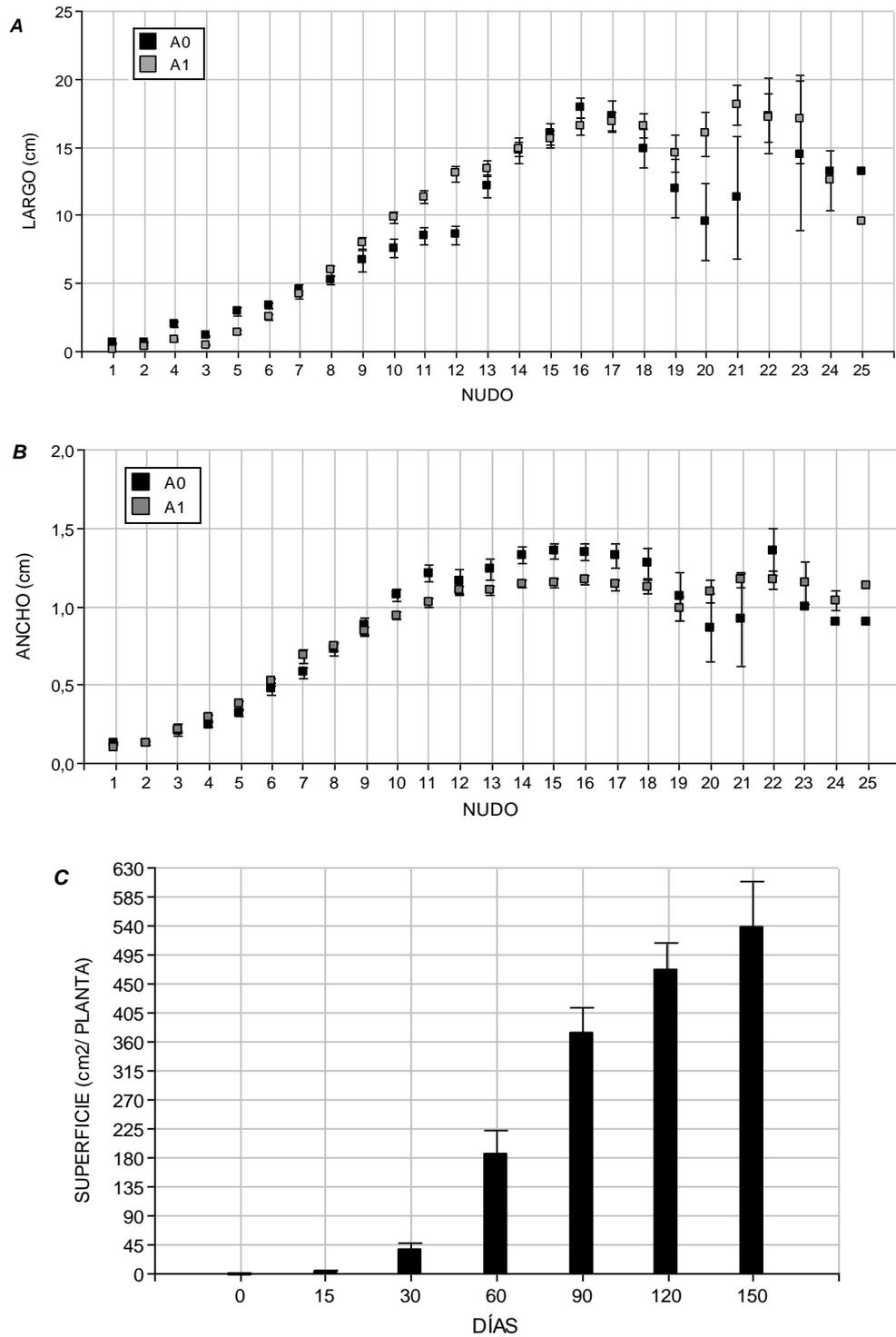


FIGURA 1.18. Diferentes características morfológicas de las hojas en *E. retusa*. **A**: Longitud promedio de las láminas a lo largo de los entrenudos de los ejes A0 y A1. **B**: Ancho de láminas a lo largo de los ejes A0 y A1. **C**: Superficie foliar promedio por fecha de muestreo por planta. Las barras y los puntos representan el valor de la media \pm error estándar.

El comportamiento diferencial que se observa en la figura 1.18 A, a partir del nudo 21 fue consecuencia de los pocos ejes que crecieron más allá de este nudo y por eso la desviación estándar de los datos también es mayor. El ancho de la lámina también muestra una distribución de tipo normal, con el pico máximo de longitud entre los nudos 14 a 16 (Fig. 1.18B).

Los ejes **A1** presentaron un perfil pequeño, 1 a 3 catafilos y luego hojas normales (Fig. 1.12I). Estas hojas presentaron un comportamiento en la longitud de largo y ancho similar a los ejes **A0** (Fig. 1.18A), pero se diferenciaron en que la máxima longitud se observó en el nudo 21, y del nudo 12 en adelante el máximo ancho (Fig. 1.18A y B).

En ambos tipos de ejes, las hojas crecen en un mismo plano con filotaxis alterno dística y la prefoliación es conduplicada. Debido a esto, la expansión de las láminas se produjo más o menos de a pares. La superficie foliar aumentó progresivamente durante todo el muestreo. El ritmo de crecimiento entre fechas, fue relativamente más alto entre los primeros muestreos. En las 3 fechas finales, aunque la superficie foliar siguió aumentado, el ritmo de crecimiento tendió a desacelerarse (Fig. 1.18C).

III. 2. 3.- *ALTERNANTHERA PHILOXEROIDES*

En esta especie se observaron diferentes formas de láminas entre ejemplares, las que variaron de obovado, oblongo-lanceoladas a elípticas o lanceoladas. La filotaxis es opuesta y varió desde decusada en los entrenudos más jóvenes a dística en los más viejos. Los perfiles fueron imperceptibles. Las hojas de un mismo fitómero alcanzaron dimensiones similares y los tamaños a lo largo de un eje se distribuyeron de igual manera, independientemente del orden de ramificación. En las Figuras 1.19 A, B y C, se observa que las diferencias de longitudes y anchos, fue mínima entre las 2 hojas de un mismo nudo para ramas de distinto orden. Al igual que en los entrenudos, las longitudes medias (largo y ancho) de las láminas aumentaron gradualmente desde los nudos basales a los medios, donde se mantuvieron en niveles altos. En esta zona, tanto en ejes madres como de primer orden, se observó 2 pulsos de acortamiento sucesivos de algunas láminas, antes de la disminución esperable en las hojas de la parte apical. En la mayoría de las hojas los valores de longitud cuadruplicaron al del ancho de la lámina.

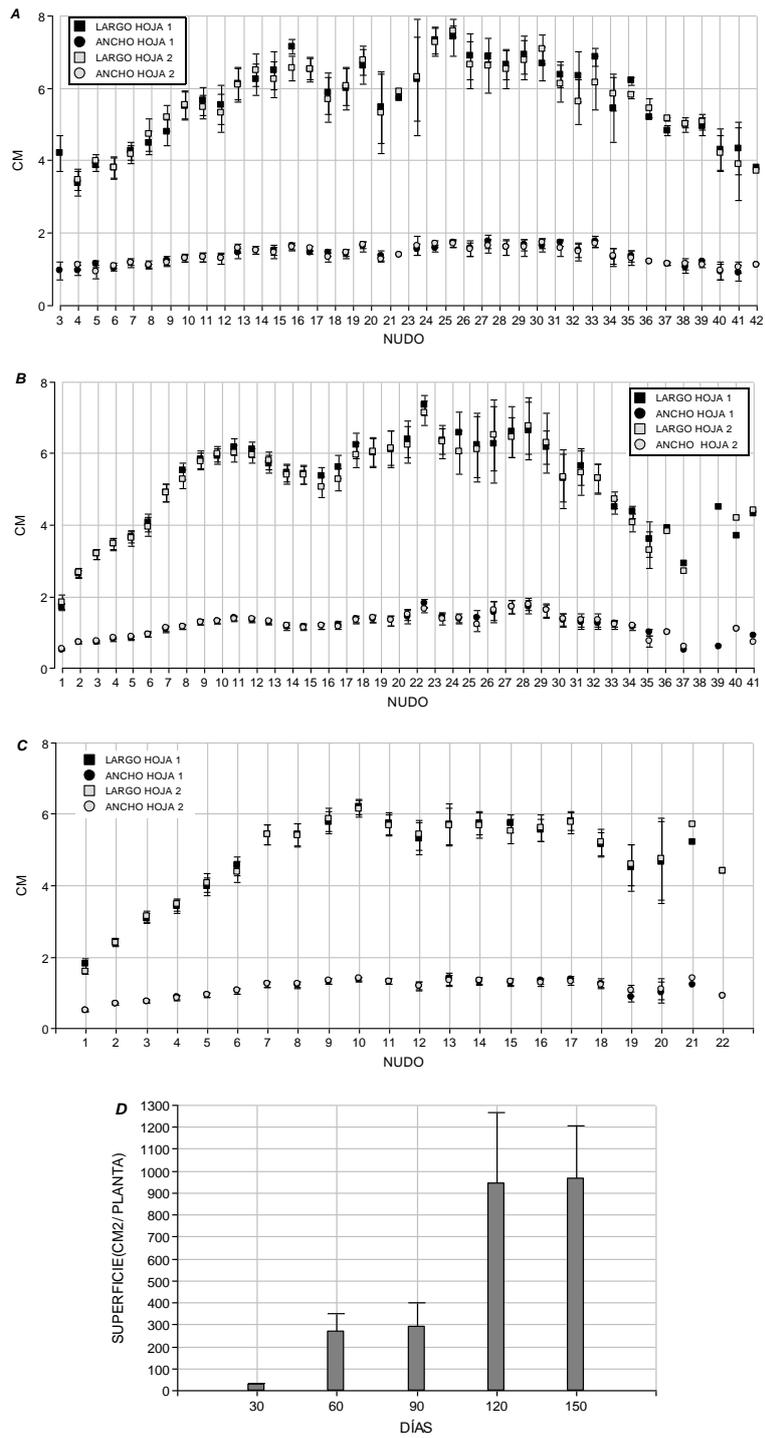


FIGURA 1.19. Diferentes características morfológicas de las hojas en *A. philoxeroides*. **A:** Relación largo y ancho del par de hojas de los fitómeros a lo largo de ejes axilares considerados ejes madres. **B:** Largo y ancho del par de hojas de los fitómeros en ejes de primer orden. **C:** Largo y ancho del par de hojas de los fitómeros en ejes de segundo orden. **D:** Superficie foliar promedio por fecha de muestreos en plantas clonadas. Las barras y los puntos representan el valor de la media + error estándar.

En esta especie la superficie foliar fue considerablemente alta, encontrándose individuos con hasta 1700 cm² a los 90 DPT. Sin embargo, aunque entre individuos hubo una gran variabilidad, la tendencia de todos los clones fue incrementar progresivamente la superficie foliar. Este incremento sólo fue leve entre los 60 y 90 días y entre los 120 y 150 DPT.

IV.- DISCUSIÓN

En las tres especies fue posible la determinación de diferentes categorías de ejes, lo que permitió identificar distintos grados de diferenciación en la estructura jerárquica de sus sistemas ramificados. Esta determinación de ejes se hace a través de su morfología, a través del reconocimiento de sus funciones distintivas dentro de la estructura, e incluso a través de su anatomía, lo que permite describir la arquitectura completa y precisa de una planta (Barthélémy y Caraglio, 2007). Como pudo observarse, los componentes de la unidad arquitectural fueron en cierta medida independientes del orden de ramificación. Esta posibilidad está implícita en los principios que rigen la noción de *categoría de ejes de la unidad arquitectural*, debido a que si bien el concepto se superpone en gran medida con el de orden de ramificación existen otros fenómenos que pueden determinar la naturaleza de una producción axilar (Barthélémy y col., 1997). La unidad arquitectural, al reflejar un nivel de organización fundamental del organismo vegetal, es una fase clave para el desarrollo del mismo; en este estado, la planta expresa todas las categorías de ejes cualitativamente diferentes que se repiten sucesivamente y la relación topológica que existe entre ellos (Barthélémy y Caraglio, 2007). Sin embargo, es importante recordar que estos ejes, que se repiten a lo largo de la ontogenia, no son autónomos y no se producen al azar, sino que el aumento progresivo en la cantidad de los mismos determina una estructura global de complejidad creciente, siguiendo los gradientes morfogenéticos propios de cada especie (Barthélémy y col., 1997).

Como se mencionó anteriormente la unidad arquitectural permite describir completa y precisamente una planta; es la expresión específica del modelo (Barthélémy

y col., 1991) y debe contemplar las variaciones que se producen en la estructura de todos los vástagos y las relaciones de jerarquía que existen entre ellos (Tourn y col., 1999; Barthélémy, 2000). Esto hace que no sea suficiente la determinación de diferentes categorías de ejes para definirla, sino que es fundamental analizar la cantidad y combinación mínima de ejes que se producen al alcanzar el estadio reproductivo. Es por esto que la unidad arquitectural generalmente se define al momento de la primera floración de la planta (Tourn y col., 1999). En especies anuales se considera que el crecimiento total es correspondiente a la unidad arquitectural y que carece del fenómeno de reiteración (Hallé y col., 1978). Si bien las tres especies estudiadas son especies perennes, su comportamiento en zonas templadas se asemeja al de las plantas anuales, por la pérdida total de las estructuras aéreas durante la estación desfavorable. Esto hace que la unidad arquitectural de las tres deba ser tomada como toda la producción de ejes que se generaron durante la primera estación de crecimiento. Este comportamiento ya fue descrito en otras herbáceas, aún sin pérdida de las estructuras foliares durante la estación desfavorable, donde el encadenamiento de la totalidad de ejes producidos anualmente genera la estructura de perennización basal (Perreta, 2004). Esta unidad se regenera al inicio de cada nueva estación de crecimiento y repite la secuencia de ramificación a partir de meristemas ubicados en la estructura de perennización (un tallo reservante); por lo que presenta el fenómeno de reiteración.

La reiteración es la repetición de la arquitectura elemental (unidad arquitectural) durante la ontogenia (Oldeman, 1974). En función de varios criterios la reiteración puede ser clasificada en completa o parcial, retardada o inmediata, traumática o adaptativa, y en oportunística o secuencial (Hallé y col., 1978; Edelin, 1984; Nicolini, 1997). Cada especie expresa su propia estrategia de reiteración de acuerdo a su arquitectura elemental, a la velocidad de expresión de la reiteración o a la naturaleza y posición de los meristemas involucrados en este proceso (Mouliá y col., 1999). En las tres especies el proceso de reiteración estuvo relacionado con una respuesta a la destrucción de la mayor parte de su estructura aérea en *C. erecta* y *E. retusa*, o más expuesta en *A. philoxeroides*. Por lo que debería ser considerada una reiteración de tipo traumática. Solo en *A. philoxeroides* se pudo comprobar la existencia de otro tipo de reiteraciones como son la adaptativa y la secuencial.

El patrón global de desarrollo (o modelo arquitectural) expresa la naturaleza y la secuencia de funcionamiento de los procesos morfogénicos endógenos del organismo (o secuencia de diferenciación endógena) y corresponde al programa fundamental de crecimiento sobre el cual se establece toda la arquitectura de la planta (Barthélémy y col., 1991). Estos modelos se desarrollaron para el estudio de árboles tropicales por lo que su aplicación a herbáceas es incipiente. Para Commelinaceae, Castro Dos-Santos (1981) describe tres posibles modelos: el de Corner, el de Mc Clure y el de Tomlison. Su trabajo no incluye todos los géneros, y *Commelina* no es analizada por este autor. En *C. erecta* los ejes A0 y A1 produjeron ramificaciones en la zona basal, media y apical. Fournier (1982) considera que toda especie que produzca ramificaciones en la zona basal (de innovación; según Weberling, 1989) debe ser considerada dentro del modelo de Tomlison, aunque desarrolle ramas por fuera de esta zona, siempre que estas últimas sean sólo una amplificación de la región floral que senesce al finalizar la floración. Como en *C. erecta* los ejes de la zona media y apical son sólo los ejes de enriquecimiento con trofotagma (con hojas) (*sensu* Vegetti y Müller Doblies, 2004) que no aportaron a la estructura de perennización de la mata, la especie crece conforme al modelo de Tomlinson. En el modelo de Tomlinson, la característica principal es la presencia de ramificaciones basales, es decir de ramificación basítona (Hallé y col., 1978; Hallé, 2004) y junto al modelo de Bell (Hallé, 2004) son los únicos que admiten crecimiento desde la zona basal de los ejes principales. En las Poaceae el esquema de organización más difundido entre las cespitosas es también el modelo de Tomlinson (Fournier, 1982) modelo al que se ajusta *E. retusa*. Es notoria la particular frecuencia del mismo en las Monocotiledóneas (Castro dos Santos, 1981). Las plantas que conforman este modelo están constituidas por ejes aéreos idénticos, que nacen de la base de su precedente (Cremers y Edelin, 1995). En la definición del modelo no deben tomarse en cuenta las características particulares o variaciones de la ramificación aérea de los ejes ortótopos que se producen desde la base de la planta, ya que las mismas estarían comprendidas dentro de la descripción de la unidad arquitectural (Edelin, 1977; Barthélémy, 1991). El encadenamiento sucesivo de ejes basales posibilita la adquisición de autonomía trófica (Cremers y Edelin, 1995).

Las Dicotiledóneas, por otra parte, presentan una gran diversidad arquitectural; a diferencia de las Monocotiledóneas, donde la constancia de ciertos elementos morfológicos marca una cierta monotonía arquitectural (Castro-Dos Santos, 1981). *Alternanthera philoxeroides* presentó cierta dificultad para la delimitación de su modelo de crecimiento, debido a la imposibilidad de obtener ejemplares de semilla. En otras Amarantáceas pertenecientes al género *Gomphrena* que se desarrollan en Argentina, Acosta (2012) encontró muchas variaciones en el desarrollo del eje epicotilar. Por ejemplo, especies que presentan un eje ortótropo bien desarrollado como *Gomphrena boliviana* Moq., especies con ejes epicotilares que se vuelven plagiótrofos como en *Gomphrena celosioides* Mart, y otras con crecimiento totalmente plagiótrofo a partir de ejes axilares por el desarrollo de un eje epicotilar muy reducido como en *Gomphrena mendocina* (Phil.) R.E.Fr. También *A. polygonoides* R. Br. muestra un eje epicotilar reducido que florece con dos pares de hojas y el desarrollo principal de la planta es producido por ramas axilares plagiótrofas (Jeannoda-Robinson, 1977). La imposibilidad en la determinación del modelo en *A. philoxeroides* se centra en las posibles variaciones en el comportamiento del eje principal, las que determinarían varios modelos diferentes como posibles. Una de las principales limitantes fue la de poder determinar si la presencia de ejes monopodiales con una porción plagiótrofa proximal y otra distal ortótropa de *A. philoxeroides* fueron la repetición del eje principal o de las ramas de primer orden que se disponen sobre el mismo.

La base de la organización modular típica de las plantas clonales es la morfogénesis repetitiva, pero no el conocimiento detallado de las unidades que se repiten (Marfenin, 1999). En el crecimiento de las plantas clonales influye el número de meristemas capaces de producir estructuras, por ser una limitante intrínseca de crecimiento, así como todas las variaciones inducidas por el ambiente (Herben y Hara, 1997). El patrón genético superpuesto al ambiente, determina en definitiva el distinto grado de activación de yemas, la formación de nuevos *ramets*, la longitud de los *spacers* (rizomas, estolones, etc.), los cambios en el tamaño de los *ramets*, los cambios en la producción de tipos de módulos en los *ramets* (lo que refuerza la reproducción sexual o la vegetativa) y los cambios en las relaciones de integración/autonomía (Herben y col., 1994). La forma en que se generan y desarrollan los *ramets* tiene consecuencias

importantes sobre la forma en la que el *genet* explora y aprovecha los recursos ambientales y el tipo de interacción que realiza con sus vecinos (relaciones de competencia intra e interespecífica) (Grime y col., 1986; Aaviksoo y col., 1995). Es por esto que conceptos como el de modelo arquitectural, unidad arquitectural y reiteración son las herramientas adecuadas para lograr este conocimiento.

El análisis arquitectural es una herramienta que permite esclarecer las distintas adaptaciones que presentan las especies en lo que concierne a la ocupación del espacio, competencia y resistencia a perturbaciones (Fournier, 1982). Adoptar una estrategia de crecimiento, que en la ZONA BASAL privilegie el desarrollo de ejes laterales largos estructuralmente similares a su parental, la presencia de un rizoma, el mantenimiento de yemas axilares como meristemas y una menor elongación de los entrenudos, potencialmente puede favorecer la recuperación luego de cualquier disturbio en las tres especies. La presencia de un banco de yemas o un conjunto de meristemas axilares que pueden ser usados en la regeneración vegetativa, (Klimešová y Klimeš, 2007), asociado a la presencia de un rizoma que provee de las reservas necesarias (Tuffi Santos y col., 2004; Magné y col., 2006) aseguran para la planta la recuperación de la biomasa aérea.

En la ZONA MEDIA, las tres especies presentaron entrenudos más alargados que los basales, con alternancia de entrenudos largos y cortos en *E. retusa* y *A. philoxeroides*. Teniendo en cuenta la actividad de los meristemas axilares, esta zona funcionaría como una zona de inhibición facultativa (Perreta y col., 2011), en las 2 especies monocotiledóneas, mientras que en *A. philoxeroides* se comportaría como una zona de innovación secundaria a la basal (que sería la principal), desplazando a la zona de inhibición hacia la región distal. La zona de inhibición es característica en la estructura general de los ejes, ya que es una zona de transición entre la que produce innovaciones y la que produce ramificaciones florales (Weberling, 1985). La zona de inhibición tiene una extensión variable pues las yemas axilares brotan facultativamente, fuertemente influenciadas por las condiciones ambientales (Rua y Weberling, 1998).

La ZONA APICAL mostró un comportamiento diferencial según la especie. En *C. erecta* se comportó como zona de enriquecimiento ya que su función fue aumentar la cantidad de ejes florales. El meristema apical terminal produce una bráctea con forma

de espata que encierra a la inflorescencia, por debajo de ésta se desarrollaron vástagos de muy pocos entrenudos que remataron a su vez en inflorescencias. *Eustachys retusa* sólo produce la inflorescencia terminal, careciendo de meristemas axilares. Al tener *A. philoxeroides* crecimiento monopodial esta zona es la encargada de la exploración.

La orientación de las ramas determina el modo de ocupación del espacio y, por consiguiente de captación de la energía lumínica (Tourn y col. 1999). En un eje ortótropo la disposición de sus órganos laterales le otorga simetría radial, si la disposición de las hojas es espiralada o decusada (Tourn y col. 1999), lo cual se observó en los primeros estadios de crecimiento de *C. erecta* y *A. philoxeroides*, respectivamente. Por el contrario, un eje plagiótropo presenta neta dorsiventralidad y simetría bilateral, con filotaxis dística o sus hojas en un plano (Edelin, 1984). En ambas especies, la inclinación de los ejes produjo que los nomófilos se reorientan hacia la luz y su filotaxis varió de alterno espiralada a alterno dística.

Las hojas son unidades funcionales de la fotosíntesis y la transpiración de las plantas vasculares, y su tamaño es relevante para el crecimiento, dado que tiene implicancias funcionales (Calabria y Puntieri, 2008). Si bien entre las tres especies hubo diferencias cuantitativas, la forma en que los tamaños se distribuyeron a lo largo de los ejes adoptó forma acampanada. Es decir, en las unidades estructurales A0 y A1 se observó un incremento del tamaño foliar hacia la zona media, seguido de una disminución hacia el ápice. Estas variaciones en el tamaño de las hojas podrían explicarse mediante un argumento adaptativo: la distribución del área foliar en cada eje tendería a maximizar la intercepción de radiación y minimizar el solapamiento entre hojas de un mismo eje; siendo importante destacar la presencia de gran cantidad de entrenudos elongados en la zona media, con lo cual se optimizaría la utilización del espacio entre dos nudos (Calabria y Puntieri, 2008). Sin embargo, este hecho también podría ser explicado a partir de los gradientes morfogenéticos. Uno de estos gradientes es el denominado *fenómeno de establecimiento* que se manifiesta por la modificación progresiva de las características biológicas de estructuras sucesivamente emitidas desde la germinación y por el aumento progresivo del vigor de estas estructuras (Barthélémy y col., 1997), lo que solo se aplicó a las estructuras foliares. El mismo tipo de evolución se asocia al aumento del tamaño del meristema primario a lo largo del tallo principal de

las Monocotiledóneas monopodiales o también de un módulo en las plantas de este grupo con desarrollo simpodial (Castro dos Santos, 1981). En muchas plantas herbáceas o en las plantas monocaulas este fenómeno es notable por un cambio progresivo de la forma de las hojas, manifestado por aumento del tamaño de los entrenudos y/o de los órganos foliares (Barthélémy y col., 1997).

Las características arquitecturales estudiadas fueron variables entre especies. Sin embargo, en las tres especies fue posible reconocer características de crecimiento comunes. La presencia de caracteres morfométricos y arquitecturales comunes en especies de familias filogenéticamente distintas, pero que comparten la misma comunidad tiene implicancias ecológicas importantes (Lavorel y Garnier, 2002). Cuando distintas especies vegetales poseen un conjunto de caracteres similares pueden ser agrupadas en tipos funcionales de plantas (Urcelay y Battistella, 2007). La búsqueda de reglas generales que permitan asociar especies con condiciones ambientales particulares en una comunidad dada, ha preocupado a los ecólogos durante décadas (Lavorel y Garnier, 2002). Este tipo de clasificación intenta simplificar la complejidad biótica para así poder comprender la dinámica de las comunidades y ecosistemas (Urcelay y Battistella, 2007).

Varios de los caracteres vegetativos medidos y descritos para estas 3 especies, han sido propuestos por Cornelissen y colaboradores (2003) para ser empleados en la definición de estos grupos funcionales. En este tipo de trabajo, dentro de los caracteres frecuentemente utilizados se halla la arquitectura, el área foliar, y los patrones fenológicos entre otros (Urcelay y Battistella, 2007). Si bien estos caracteres no poseen un rol funcional directo en el ecosistema, su importancia radica en que son fáciles de medir para un gran número de especies y sitios, y que a través de ellos se puede evaluar la respuesta de las plantas a diversos factores (Lavorel y Garnier, 2002), como predecir la respuesta al manejo (Klimesova y col., 2008).

V.- CONCLUSIONES

La determinación de ejes de diferentes categorías según su morfología permitió describir la arquitectura. Un número importante de características arquitecturales resultaron comunes en las especies de malezas tolerantes a glifosato: una unidad arquitectural formada por distintas categorías de ejes, el reconocimiento en estos ejes de una zona de innovación, inhibición y enriquecimiento, la existencia de reiteración, un modelo arquitectural donde es crucial el papel que juega la zona basal de los ejes, ramificaciones basales que repiten la estructura del eje que las porta, la presencia de órganos reservantes, así como la retención de yemas latentes. Estas características comunes podrían aportar ventajas adaptativas en los ambientes bajo disturbio en los que habitualmente crecen.

La investigación sobre este grupo de plantas, se centró en aspectos relacionados al control, a las dosis de herbicidas, al uso de combinaciones de herbicidas con diferente tipo de acción y utilización de coadyuvantes, y en algunos casos sobre los mecanismos fisiológicos involucrados. Muy pocos son los trabajos que han abordado el estudio en detalle de las características arquitecturales y de crecimiento de las malezas, y ninguno intentó agruparlas dentro de un grupo funcional. Abordar el estudio de las malezas desde estos enfoques, permitió en primer lugar agrupar especies no emparentadas y por otro, reconocer las características morfológicas comunes que juegan un rol no menor, en el mecanismo de tolerancia al herbicida.

CAPÍTULO 2

EL GLIFOSATO INDUCE CAMBIOS MORFOLÓGICOS EN *COMMELINA ERECTA*

Resumen

Commelina erecta es una maleza tolerante a glifosato. El objetivo de este capítulo es identificar las variaciones originadas por acción del glifosato en individuos de diferentes edades u orígenes. Para esto se trabajó con plantas originadas de semilla, con 5 hojas y ejes clonados (de rebrote de rizoma de plantas viejas) y dos concentraciones de glifosato marca Estrella® (1200 y 2400 g a.i. ha⁻¹). Después del tratamiento herbicida, se observaron variaciones cuanti y cualitativas en todos los órganos aéreos, lo que determinó una disminución importante en el crecimiento, y cambios en los patrones estructurales del sistema de vástago de *C. erecta*. Además el efecto herbicida fue diferente entre los dos orígenes de plantas. Si bien las plantas de semillas tuvieron una mayor cantidad de ramas, inflorescencias, superficie foliar y altura que las clonadas, estas últimas mostraron síntomas más leves y mayor biomasa aérea. En *C. erecta*, la capacidad de tolerar el glifosato podría estar relacionada con la reserva de almidón en el tallo, el cual se moviliza rápidamente y posibilita la recuperación post- aplicación.

I.- INTRODUCCIÓN

El uso adecuado de diversos métodos de control en malezas, es uno de los factores responsables de la optimización de la productividad, ya que se obtiene una mejor eficiencia, disminuyendo el impacto ambiental y los costos de producción (Tuffi Santos y col., 2007). La principal estrategia de manejo para malezas en campos cultivados de Argentina es la aplicación de métodos químicos, especialmente mediante el uso intensivo de glifosato (Vila-Aiub y col., 2007). Esta situación particular, que también tiene lugar en el resto de los países de América del Sur, ha ayudado a reducir la densidad de muchas especies de malezas, mientras que ha aumentado la de algunas otras (Christoffoleti y col., 2008). El uso repetido de un mismo herbicida, a una dosis constante crea las condiciones de presión de selección adecuadas sobre el agroecosistema, para que especies de malezas resistentes y tolerantes sean más frecuentes (Ulloa y Owen, 2009). *Commelina erecta* es un ejemplo de estas especies de

malezas tolerantes (Leguizamón, 1997; Vitta y col., 1999, 2004; Rainero, 2004; Rodríguez, 2004; Panigo y col., 2012).

Commelina erecta es una monocotiledónea herbácea perenne que se distribuye desde el sur de los Estados Unidos a la Argentina (Hunt, 1994). Es una especie adaptada a suelos no laboreados, por lo que se la encontraba en ambientes poco perturbados cerca de las tierras cultivadas (Nisensohn y Tuesca, 2001). Sin embargo, al difundirse la labranza cero y al generalizarse el uso de glifosato, *C. erecta* se expandió hacia el centro de los lotes ocupando áreas cedidas por las malezas que sí controla el glifosato (Rodríguez, 2004). Actualmente es posible encontrar plantas de diferentes orígenes y tamaños creciendo juntas en lotes utilizados para la producción de soja en sistemas de siembra directa durante toda la estación de crecimiento (Nisensohn y Tuesca, 2001). Además de *C. erecta*, varios miembros de la familia Commelinaceae se han convertido en malezas difíciles de controlar para los agricultores de todo el mundo (Ulloa y Owen, 2009), debido a que también toleran al glifosato.

La tolerancia es la capacidad innata de algunas especies para sobrevivir a dosis de herbicidas que sí controlan otras especies de malezas en el mismo agroecosistema (Zelaya y Owen, 2005). La tolerancia puede ser consecuencia de características histoquímicas que reducen su penetración y/o translocación, de un metabolismo diferencial, de variaciones en la actividad de ciertas enzimas (Monquero y col., 2004), o de diferentes formas de crecimiento que aseguren la supervivencia de las yemas, lo que garantiza la regeneración después de la aplicación del herbicida (Malpassi, 2005; Panigo y col., 2012). Bajo condiciones óptimas de crecimiento, sin perturbaciones, el desarrollo de la planta refleja estrictamente su arquitectura, pero ante factores estresantes puede desviarse de ella, modificando su fisiología y redirigiendo el crecimiento (Malpassi, 2005; Klimešová y Klimeš, 2007).

Investigaciones previas demostraron que la tolerancia a glifosato en *C. erecta* varía según el estado de desarrollo de las plantas. Los controles con glifosato fueron siempre deficientes en plantas originadas de semilla con más de 5 hojas, y en aquellas originadas de rebrote (Rainero, 2004; Panigo y col., 2012). En *C. erecta*, esta variación de sensibilidad fue relacionada con las ceras epicuticulares (Traggiay, 2007), con diferencias en el tamaño del rizoma, con las reservas de almidón (Gareto y col., 2011;

Panigo y col., 2012) y la cantidad de yemas disponibles para rebrotar (Panigo y col., 2012). Es bien conocido que la reserva de almidón en el tallo, se relaciona con la capacidad de tolerar al glifosato (Santos y col., 2002; Tuffi Santos y col., 2004).

Varios estudios sobre malezas utilizan parámetros morfológicos y de crecimiento para evaluar la respuesta de las especies al herbicida (Tuffi Santos y col., 2004, 2007; Puricelli y Papa, 2006; Westhoven y col., 2008; Correia y col., 2011; Acosta, 2012; Panigo y col., 2012). Incluso la concentración de clorofila (Chl) en hojas ha sido también utilizada como un indicador del estado de la planta (Porra, 2002), o de su potencial estrés (Zarco-Tejada y col., 2002). Uno de los síntomas visibles de toxicidad en plantas expuestas a herbicidas es el cambio del contenido de Chl en las hojas (Fuchs y col., 2002; Wang y col., 2009). El glifosato inhibe la enzima 5-enol piruvil shikamato-3-fosfato sintetasa, y conduce a la acumulación de shikimato-3-fosfato, lo que resulta en la disminución de fosfato libre; a causa de esto la ribulosa 1,5-bisfosfato no se regenera y el ciclo de Calvin se bloquea (Søbye y col., 2010).

En Argentina, informes publicados de control ineficaz de *C. erecta* con glifosato han sido frecuentes desde 1997 (Leguizamón, 1997). Varios estudios se han llevado a cabo sobre esta maleza y el glifosato. Sin embargo, ninguno de ellos ha analizado integradamente las variaciones morfológicas, estructurales y de crecimiento que resultan de la aplicación de glifosato. Por esta razón, el objetivo de este capítulo es caracterizar las variaciones morfológicas, de crecimiento y estructurales del sistema de vástagos de *C. erecta* post- aplicación de glifosato, para establecer las posibles razones de su persistencia en el sistema. Además se analizarán si las mismas son dependientes o no del origen de las plantas.

II.- MATERIALES Y MÉTODOS

II.a.- MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO

La respuesta de *C. erecta* al glifosato fue evaluada comparando diferentes orígenes de plantas: semillas y ejes clonados (VCA) y diferente concentración de herbicida. Las plantas y semillas utilizadas se coleccionaron en comunidades sin

historia de aplicación de glifosato, en Emilia (31° 29' S - 60° 43' O) y Esperanza (31° 26'S- 60° 55'O), en la provincia de Santa Fe, Argentina. La superficie de las semillas puestas a germinar fue lavada con una solución de Hipoclorito de Sodio al 0,05% a fin de evitar la aparición de hongos durante la germinación (Schroeder Murphy y col., 1990; Wang y col., 2009). Luego fueron sembradas en speedlings, en condiciones de total oscuridad, a 25-30 °C. Las plántulas obtenidas, se seleccionaron por uniformidad de tamaño (hasta 2 hojas) y se trasplantaron a macetas de plástico de 1 l de volumen, llenas de 2/3 de sustrato comercial, y 1/3 horizonte A de un suelo Argiudol Típico, serie Esperanza, con textura franco-limosa, al igual que los VCA.

Ambos tipos de ejemplares utilizados se mantuvieron en sala de crecimiento, hasta el fin del ensayo. Las condiciones de crecimiento a lo largo del experimento fueron 27° C durante el día y 19° C en la noche, con un fotoperiodo de 14 horas, la irradiación fue de 180 µE. Las macetas se regaron diariamente con agua desmineralizada. La fecha de trasplante se tomó como día de inicio de los muestreos.

Se trabajó con 90 plantas en total: 15 provenientes de semillas, y 15 VCA por dosis de herbicida, las que se destinaron a evaluar los síntomas, el efecto del herbicida sobre los órganos y las variaciones estructurales. Además de estas 90 plantas, se utilizaron 10 plantas por origen y por dosis en cada formulación para la determinación de la biomasa y Chl (5 plantas por cada uno de estos dos parámetros).

II.b.- TRATAMIENTO HERBICIDA

Se trabajó con glifosato marca Estrella® (Asociación de Cooperativas Argentinas Limitada/N° de registro: 30.450), que contiene en su formulación la sal isopropilamina del ácido N-(fosfometil) glicina. Las dosis utilizadas fueron 0, 1200 y 2400 g a.i.ha⁻¹ de glifosato aplicado como solución acuosa. Las dosis seleccionadas como subletal y letal, corresponden a la dosis recomendada para tratamiento de cultivos y para ambientes no cultivados (CASAFE, 2005), respectivamente. Las plantas fueron tratadas, en todos los casos, cuando tenían 5 hojas expandidas, estadio a partir del cual se observaron problemas de tolerancia (Rainero, 2004). El herbicida fue aplicado uniformemente sobre la superficie de las plantas a los 15 días post- trasplante (DPT). Se empleó un pulverizador con presión constante de 275 kPa, impulsado por dióxido de

carbono y provisto de una barra portapicos equipada con pastilla de tipo abanico plano, utilizando un volumen de caldo equivalente a 200 litros/hectárea (1 ha^{-1}).

II.c.- EVALUACIÓN DE LOS SÍNTOMAS

Se evaluó la aparición de síntomas característicos descriptos para plantas tratadas con glifosato (García Torres y Fernández-Quintanilla, 1989; Nisensohn y Tuesca, 2004; Wang y col., 2009) diariamente durante los primeros 15 días luego de la aplicación (DPA).

II.d.- EFECTO DEL HERBICIDA SOBRE LOS ÓRGANOS AÉREOS

Para evaluar la repuesta de *C. erecta* a la aplicación de herbicida las plantas fueron examinadas desde el día 0 (día del trasplante), y cada quince días hasta finalizar el ensayo (60 DPT). Los parámetros registrados para cada tratamiento y fecha fueron:

- ❖ altura del vástago principal (altura hasta la inserción de la vaina de la última hoja expandida),
- ❖ tipo de estructura foliar presente en cada nudo, y estado de las producciones axilares presentes,
- ❖ largo y ancho de lámina de cada estructura foliar,
- ❖ cantidad, posición y distribución de las ramificaciones,
- ❖ cantidad y posición de las flores.

II.e.- EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y BIOQUÍMICOS

Se cuantificaron cambios en la biomasa, superficie foliar y Chl. La biomasa fue evaluada como el peso de todos los órganos aéreos, sólo a los 30 DPA (o 45 DPT). La Chl se cuantificó según la metodología propuesta por Arnon (1949), sobre la quinta hoja de 5 plantas. Estas hojas se trituraron con material abrasivo (arena), acetona (extractante) y carbonato de magnesio (para preservar las moléculas de Chl) en un mortero. La solución se filtró con papel Whatman N° 1. Se midió absorbancia a los 645 y 663 nanómetros (nm) utilizando un espectrofotómetro (Hitachi®). La extracción de Chl se realizó a las 24, 48 y 168 horas post- aplicación (HPA) del herbicida.

La superficie foliar se calculó a los 30 DPA (45 DPT) como el producto de la longitud (cm) \times el ancho (cm) en cada hoja, según la metodología expuesta por Lauri y Terouanne (1991). La ecuación de regresión lineal utilizada para *C. erecta* fue:

$$y = 0,6223x + 0,7134; R^2 = 0,9938$$

donde y es igual a superficie foliar y x es el producto “longitud de hoja” \times “ancho de hoja”. Para el cálculo de la ecuación de regresión, la superficie foliar real de cada hoja fue determinada mediante el software analizador de imágenes ImageJ® sobre 100 hojas de *C. erecta*.

II.f.- VARIACIONES ESTRUCTURALES

Para analizar la evolución del sistema de ramificación en las plantas tratadas y no tratadas con herbicida, se realizaron esquemas de la estructura completa de todas las plantas desde el trasplante hasta el final del ensayo. Esto se logró mediante el marcado de las estructuras foliares desde el momento de la germinación hasta el final del ensayo (60 días). En cada muestreo se asignó distinto color a cada orden de ramificación, a fin de lograr la ubicación de las distintas estructuras en cualquier momento. La pintura usada fue acrílico, la que presenta dos ventajas sobre otro tipo de pinturas: la primera es que no afecta el crecimiento de los tejidos de las plantas (no produce necrosis ni deformación de los mismos); y la otra, que se adhiere a la superficie de la hoja y no es afectada por el agua de riego. A partir de esta información y de la caracterización realizada en el ítem (II. a) se identificaron y describieron variaciones en el sistema de vástagos y arquitecturales post- aplicación.

II.g.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de la varianza (ANAVA) se realizó con el software InfoStat® (Di Rienzo y col., 2010). Los resultados de la misma se resumen en tablas, en las que se presenta el valor del estadístico F , con sus grados de libertad y la significancia al 0,05 %. Se utilizó un diseño de factorial 2×3 , que corresponde a 2 orígenes de plantas (semillas y VCA) y 3 dosis, con un arreglo completamente aleatorizado. Diferencias significativas entre medias de tratamientos (origen \times dosis) fueron evaluadas utilizando la prueba de LSD de Fisher con un nivel de significación de 5%. Los datos mostrados

en las figuras corresponden a las medias de cada tratamiento en cada fecha (+/- error estándar).

Las variables analizadas se muestrearon en diferentes fechas. Para el efecto del herbicida sobre los órganos los muestreos se llevaron a cabo en cinco momentos: 0, 15, 30, 45 y 60 DPT. La aplicación de glifosato corresponde al día 15, por lo que los datos se registraron hasta los 45 DPA o 60 DPT. Los muestreos de Chl se realizaron a las 24, 48 y 168 HPA del herbicida y la biomasa y la superficie foliar sólo se evaluaron a los 30 DPA. Las variables cualitativas como la evaluación de los síntomas y la variación estructural no se analizan estadísticamente, y las fechas de muestreos coinciden con la de evaluación del efecto sobre los órganos.

III.- RESULTADOS

III. 1.- SÍNTOMAS

Los síntomas principales fueron: i) presencia de áreas necróticas y clorosis en hojas desarrolladas y en expansión (Fig. 2.1 A, B, C), ii) brotes abultados (Fig. 2.1 F), iii) disminución de la rigidez de los vástagos, lo que indujo su vuelco y muerte entre los 45 y 60 DPA en plantas tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹.

El momento de aparición de los síntomas para ambos tipos de plantas y para los dos tratamientos fue a los 7 DPA. Con respecto al nivel de daño en la estructura vegetativa fue variable entre individuos de un mismo tratamiento, pudiendo ser de leve a muy intenso. Esto fue más notorio en las plantas de semilla y VCA tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹, que fueron las más afectadas, registrándose la muerte de algunos individuos. Por el contrario, en las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹, especialmente las VCA, los síntomas fueron más tardíos, y poco perceptibles (Fig. 2.1 C, D y E).



FIGURA 2.1: Síntomas post-aplicación en *C. erecta*. **A** y **B**: clorosis y necrosis en hojas expandidas, **C**: clorosis en hojas nuevas, **D**: Comparación de plantas de semillas tratadas a diferentes dosis a 45 DPT. **E**: Comparación de plantas VCA tratadas a diferentes dosis a 45 DPT. **F**: Brote abultados. **G**: Nomófilos post-aplicación, **H**: Láminas enrolladas, **I**: Muerte del meristemo apical. **J**: Muerte de inflorescencias. **K** y **L**: Fallas en el desarrollo normal en las ramas de la inflorescencias. *Referencias*: es: espata. G: g a.i.ha⁻¹. Las flechas señalan el órgano modificado. La línea corresponde a 1 cm.

III.2.- EFECTO DEL HERBICIDA SOBRE LOS ÓRGANOS AÉREOS

III.2.1.- HOJA

Las dimensiones de los nomófilos formados con posterioridad a la aplicación del herbicida fueron menores, ya que las láminas fueron más estrechas (Fig. 2.1 G), algunas hojas carecieron de láminas, y otras presentaron láminas arqueadas, plegadas o enrolladas (Fig. 2.1 H) como resultado del desigual crecimiento de sus caras. También se observaron hojas senescentes luego del día 45 en las plantas tratadas con la mayor dosis. De igual forma, en las vainas foliares el crecimiento fue menor, y al no acompañar el crecimiento en grosor del tallo, se desgarraron. Estos cambios fueron menos intensos en las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹, que en general no mostraron hojas incompletas, ni senescencia.

III.2.2.- TALLO

Morfológicamente, post-aplicación se observaron diversas variaciones en las plantas tratadas como: la muerte de meristemas apicales en plantas tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ (Fig. 2.1 I), gran desarrollo de ramas largas o A1 (*sensu* Capítulo 1) sólo en las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹, y menor número de ramas florales o tipo A2 (*sensu* Capítulo 1).

La producción de ramas en *C. erecta* se inició antes de la aplicación (día 15) y salvo en las tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹, creció exponencialmente luego del día 30 post-trasplante (Fig. 2.2 A y B). El ANAVA detectó diferencias significativas por origen de plantas en todas las fechas (Tabla 2.1). El número de ramas fue siempre mayor en las plantas de semillas, y dentro de éstas, en las plantas control y tratadas con la menor dosis (Fig. 2.2 A). En función del tratamiento herbicida, las diferencias importantes se encontraron luego del día 45 (30 DPA). Sin embargo, post- aplicación el promedio de ramas por planta en las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ fue siempre mayor al del resto de las tratadas, superando también, aunque no considerablemente, los valores del control (Fig. 2.2 A y B). En ambos tratamientos, el orden máximo de ramificación fue el quinto.

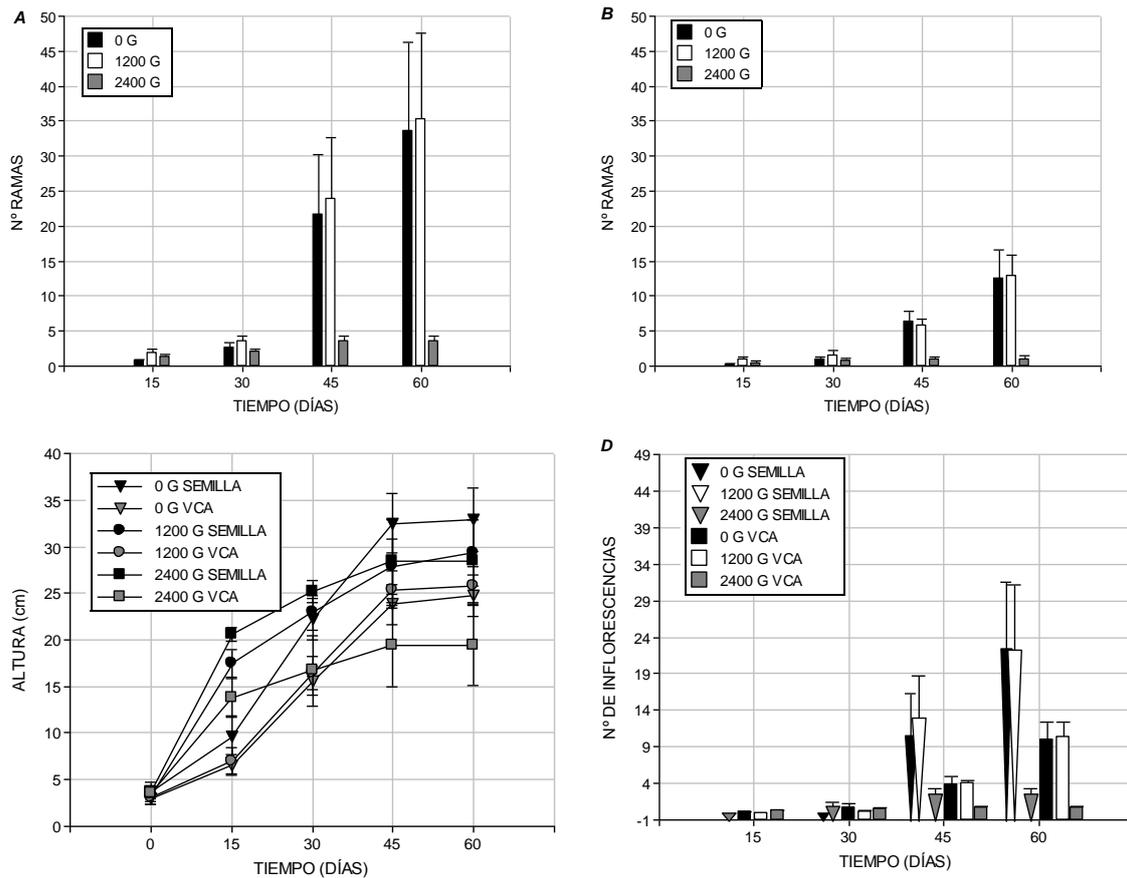


FIGURA 2.2. Efecto del herbicida sobre parámetros cuantificables de órganos en *Commelina erecta*. **A:** Número de ramas totales sobre plantas de semillas tratadas con diferente concentración de herbicida. **B:** Número de ramas totales sobre plantas VCA tratadas con diferente concentración de herbicida. **C:** Altura media total de ejes principales de plantas de diferente origen y con diferente concentración de herbicida. **D:** Número de inflorescencias totales en plantas de diferente origen y con diferente concentración de herbicida. Referencias: G: g a.i.ha⁻¹. Las barras y los puntos representan el valor de la media \pm error estándar.

Tabla 2.1: Resultados de ANAVA para número total de ramas, altura y número inflorescencia en *Commelina erecta*

			0 DÍAS	15 DÍAS	30 DÍAS	45 DÍAS	60 DÍAS
Ramas Totales		<i>F</i>	s/d	6 *	16,77*	11,62*	9,35*
	<i>Origen</i>	gl		1	1	1	1
		<i>F</i>	s/d	3,04	0,0968	5,53*	8,68*
	<i>Dosis</i>	gl		2	2,43	2	2
	<i>Origen *</i>	<i>F</i>	s/d	0,19	0,16	1,9	1,77
	<i>Dosis</i>	gl		2	2	2	2
Altura		<i>F</i>	0,36	20,34*	14,6*	6,42*	5,92*
	<i>Origen</i>	gl	1	1	1	1	1
		<i>F</i>	0,17	12,6*	0,42	0,84	1
	<i>Dosis</i>	gl	2	2	2	2	2
	<i>Origen *</i>	<i>F</i>	0,1	2,38	0,11	0,65	0,34
	<i>Dosis</i>	gl	2	2	2	2	2
Inflorescencias totales		<i>F</i>	s/d	s/d	9,9 ⁻⁴	6,05*	5,92*
	<i>Origen</i>	gl			1	1	1
		<i>F</i>	s/d	s/d	1,16	3,31*	8,04*
	<i>Dosis</i>	gl			2	2	2
	<i>Origen *</i>	<i>F</i>	s/d	s/d	3,63	0,84	1,01
	<i>Dosis</i>	gl			2	2	2

* Significativo al 0.05%

s/d: sin dato

F: valor calculado del test de *F*

g: grados de libertad

No obstante, el herbicida afectó de manera considerable el desarrollo de ramas en las tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹, cuyas plantas llegaron a tener entre 5 y 10 veces

menos ramas que sus respectivos controles, siendo la gran mayoría de segundo orden. Si bien las plantas de semilla control y las tratadas con la menor dosis, tuvieron un alto número promedio de ramas, entre individuos la producción de ramas fue cuantitativamente heterogénea (lo cual se observa por las dimensiones de las barras de error estándar en la Fig. 2.2 A).

En promedio, las plantas de semillas fueron significativamente más altas que las VCA (Tabla 2.1). Si bien las plantas fueron trasplantadas en igual estado fenológico es lógico que las VCA sean las que menos se alarguen, ya que se originaron de producciones axilares de los rizomas (ver capítulo 1). Las dosis de herbicida afectaron diferencialmente la altura total de los ejes principales, aunque post-aplicación el ANAVA no detectó diferencias significativas (Fig. 2.2 C). En ambos orígenes, antes de la aplicación herbicida hasta los 30 DPT, las plantas tratadas con las mayores dosis fueron las más altas. Sin embargo, en fechas posteriores, estas plantas tuvieron valores promedios comparativamente menores (Fig. 2.2 C), y las tratadas con la menor dosis, mostraron distinto comportamiento entre orígenes. Las de semillas alcanzaron alturas similares a sus homólogas tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹, mientras que las VCA tuvieron valores semejantes a su testigo.

III.2.3.- INFLORESCENCIA

A nivel reproductivo se observaron fallas en el desarrollo de las flores y de las ramas de las inflorescencias, y muerte de las mismas principalmente entre los 45 y 60 días (Fig. 2.1 J). Entre las plantas tratadas se pudieron distinguir inflorescencias con un menor número de flores, flores sin semillas y desarrollo de dos inflorescencias, desde el pequeño eje estéril que se halla encerrado dentro de la espata (Fig. 2.1 K y L). En consecuencia, se observó repetición de estructuras dentro de las espatas lo que no es normal para la especie. Si bien la floración en algunas plantas empezó a los 15 DPT, fue más notoria a los 45 DPT, fecha a partir de la cual se observaron diferencias significativas entre orígenes y dosis (Fig. 2.2 D).

Las VCA producen menor número de fitómeros totales y por tanto florecen antes. A pesar de esto, a los 45 y 60 DPT mostraron un número significativamente menor de inflorescencias que las plantas de semillas (Tabla 2.1). Entre los 45 y 60 DPT, en las plantas tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹, el promedio de inflorescencia por planta fue

significativamente menor, como consecuencia de la muerte de los meristemas apicales y del menor número de ramas totales por planta (Fig. 2.2 D). En el resto de los tratamientos, al igual que para el número de ramas, el número de inflorescencias promedio por planta fue mayor en las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹, teniendo el control valores muy parecidos.

III.3.- EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y BIOQUÍMICOS

III.3.1.- BIOMASA

Esta variable fue significativamente influenciada por la concentración de herbicida aplicada a los 30 DPA (Tabla 2.2), donde las plantas control, en promedio duplicaron en peso a las tratadas con la mayor dosis. Dentro de cada origen, el efecto de la menor dosis sobre la biomasa aérea fue diferente, aunque no hubo interacción. En las de semilla, las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ acumularon la mayor cantidad de biomasa, mientras que en las VCA, las de mayor peso fueron las plantas control, y las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ tomaron valores intermedios (Fig. 2.3 A). En otras palabras, el tratamiento herbicida redujo la biomasa aérea en todos los tratamientos a excepción de las plantas de semillas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹. Entre orígenes no se observaron diferencias significativas.

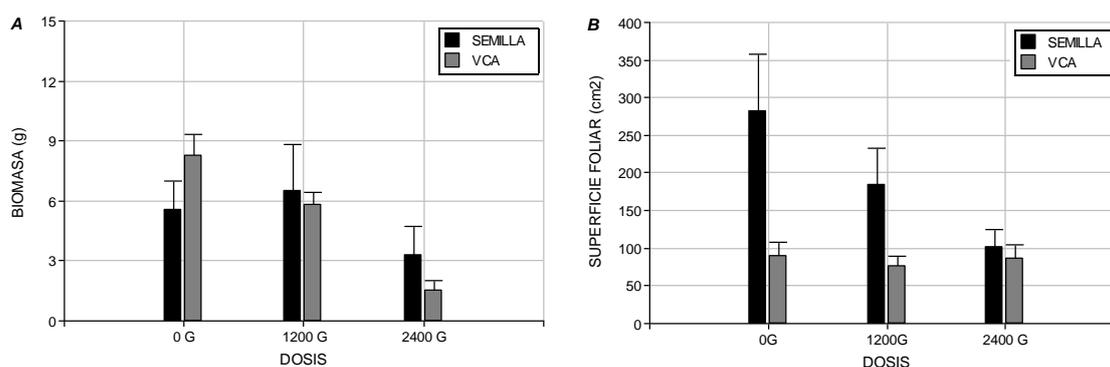


FIGURA 2.3: Variación de parámetros de crecimiento en en *Commelina erecta*: **A**: Biomasa. **B** Superficie foliar. Referencias: G:g a.i.ha⁻¹. Las barras y los puntos representan el valor de la media \pm error estándar.

Tabla 2.2. Resultados del ANAVA para biomasa y superficie foliar en *Commelina erecta*

	<i>Fecha</i>	<i>Dosis</i>		<i>Origen</i>		<i>Dosis*Origen</i>	
		<i>F</i>	<i>gl</i>	<i>F</i>	<i>gl</i>	<i>F</i>	<i>gl</i>
Biomasa	30 DPA	4.36*	2	4.7 ³	1	1.13	2
Superficie foliar	30 DPA	3,6*	2	12,37*	1	3,23*	2

* Significativo al 0.05%

F: valor calculado del test de *F*

g: grados de libertad

s/d: sin dato

III.3.3.- SUPERFICIE FOLIAR

El análisis de la varianza identificó variaciones significativas de la superficie foliar a los 30 DPA (o 45 DPT) para ambos factores estudiados así como para la interacción entre éstos (Tabla 2.2). En consecuencia, la aplicación de herbicida afectó de manera diferente la superficie foliar total en las dos edades de plantas. En ambas el control exhibió la mayor superficie, pero en las plantas de semilla la menor superficie correspondió a las tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹, mientras que en las VCA fueron las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ (Fig. 2.3 B). En ambos orígenes la superficie foliar varió negativamente con la aplicación de herbicida, siendo la magnitud de variación más intensa en las plantas de semillas. En éstas el control triplicó la superficie foliar de las tratadas con la menor dosis y, a su vez, éste último triplicó la superficie de las tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹. En las VCA estas diferencias fueron más tenues y las tres dosis mostraron valores semejantes.

II.3.3.- CLOROFILA

La variación en la concentración de Chl mostró escasas diferencias entre fechas de extracción, como se puede ver en la Tabla 2.3. A las 24 HPA las plantas control de ambos orígenes presentaron la concentración más alta, y se diferenciaron estadísticamente de las plantas de semillas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹, que presentaron la menor concentración. El resto exhibió concentraciones intermedias. A las 48 y 168

HPA no hubo diferencias significativas entre los diferentes tratamientos, pero al igual que en la fecha anterior la mayor concentración la presentaron las VCA control y la más baja las plantas de semillas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹.

Tabla 2.3: Efecto de la aplicación de glifosato sobre la concentración de Chl en *Commelina erecta*. (media \pm error estándar)

ORIGEN	DOSIS	24 HPA	48 HPA	168 HPA
SEMILLA	Control	1,37 \pm 0,22 B	1,11 \pm 0,18 A	1,12 \pm 0,22 A
	1200 G	0,74 \pm 0,20 A	0,85 \pm 0,20 A	0,72 \pm 0,25 A
	2400 G	0,90 \pm 0,18 A B	1,06 \pm 0,20 A	0,90 \pm 0,25 A
VCA	Control	1,42 \pm 0,26 B	1,35 \pm 0,25 A	1,33 \pm 0,29 A
	1200 G	0,91 \pm 0,22 A B	0,88 \pm 0,18 A	1,13 \pm 0,25 A
	2400 G	1,01 \pm 0,18 A B	1,23 \pm 0,20 A	0,82 \pm 0,25 A

Medias de una misma columna con una letra común no son significativamente diferentes ($p \geq 0,05$)

Los valores de media corresponden a miligramos de clorofila total por g de biomasa foliar

Referencias: G:g a.i.ha⁻¹

En ambos tipos de plantas la disminución de Chl ocurrió a las 24 HPA. No obstante, en las plantas de semilla las tratadas con la menor dosis tuvieron la menor concentración en los tres muestreos. En las VCA, también las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ tuvieron la menor concentración a las 24 HPA y 48 HPA; siendo las tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ las más afectadas a las 168 HPA. Independientemente de estas diferencias entre orígenes, el tratamiento herbicida tuvo efecto negativo sobre la concentración de Chl en ambos, el cual sólo fue notorio inmediatamente luego de la aplicación del herbicida.

III.4.- VARIACIONES ARQUITECTURALES

Post- aplicación del herbicida las plantas tratadas mantuvieron un modelo y una unidad arquitectural muy similar al control, aunque en esta última se detectaron algunas modificaciones. Estructuralmente se distinguieron las mismas zonas y los mismos tipos de ejes descritos en el Capítulo 1. En las plantas de semillas control y tratadas con

1200 g a.i. ha⁻¹, el número de ramas (y consecuentemente el de inflorescencias) fue muy variable, encontrándose plantas con 3 a 10 ramas, y otras con entre 30 y 70 ramas a los 60 DPT. En estas últimas, la ramificación varió de difusa a continua, por lo que en la zona de inhibición también hubo desarrollo de ramas largas. Por el contrario, en las VCA de ambos tratamientos, no se observaron estas modificaciones, los individuos presentaron un número similar de ramas.

En ambos orígenes, las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ fueron cuali y cuantitativamente semejantes a las plantas control, no así las tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ que fueron las más afectadas. Estas últimas además exhibieron: una menor concentración de ramas, pues desarrollaron ejes hasta el segundo orden; senescencia; y escaso desarrollo de rizomas y raíces contráctiles. En conjunto, estas variaciones provocaron modificaciones en la forma de la mata, lo que determinó que el modo de exploración ya no fuera circular.

IV.- DISCUSIÓN

La aplicación de glifosato afectó todos los caracteres testeados, causando una disminución en el crecimiento de las plantas, principalmente con la mayor dosis. Sin embargo, a pesar de este efecto negativo sobre el crecimiento, los individuos tratados continuaron creciendo y produjeron semillas y nuevos rizomas, lo que a campo garantizaría la permanencia de *C. erecta*. Esta baja sensibilidad, ha llevado a los agricultores a utilizar concentraciones cada vez mayores, requiriéndose para el control total de las plantas adultas concentraciones de glifosato superiores a 2.880 g a.i.ha⁻¹ (Rainero, 2004). Esta tendencia tiene un efecto adverso en el agroecosistema dado que: i) hace a la población cada vez más tolerante con el tiempo (Vitta y col., 2004), y ii) crea las condiciones adecuadas para la aparición de resistencia a glifosato (Kniss y col., 2007). *Commelina erecta*, al igual que las otras especies de este género, es una maleza muy persistente, cuyo manejo debe hacerse desde un enfoque integrado, utilizando estrategias alternativas como las prácticas culturales y mecánicas, sin negar el uso de herbicidas (Isaac y Brathwaite, 2007).

Los síntomas, los efectos sobre los órganos, y parámetros de crecimiento analizados, se manifestaron de forma diferente entre los dos tipos de plantas estudiadas y entre dosis analizadas. Algunos de los síntomas y respuestas observados en *C. erecta* como consecuencia de la aplicación de glifosato ya han sido reportados para otras especies: clorosis (Wang y col., 2009), necrosis (Nisensohn y Tuesca, 2004; Tuffi Santos y col., 2004), hojas curvadas (Ulloa y Owen, 2009) y menor producción de flores (Baucom y Rodney, 2004; Thomas y col., 2005; Dellaferrera, 2007; Acosta, 2012). En el presente trabajo, independientemente del tipo de planta, el grado de daño y el ritmo de crecimiento, fueron determinantes para diferenciar a las dos concentraciones de glifosato. En las plantas tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ la intensidad de los síntomas fue mayor, las plantas elongaron menos, desarrollaron menor número de ramas y flores, acumularon menor cantidad de biomasa aérea y su superficie foliar también fue la más afectada. En cambio, las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹, alcanzaron valores promedios semejantes al testigo, salvo en la concentración de Chl.

Si bien los efectos principales de la aplicación operaron en el mismo sentido para todas las plantas, existieron diferencias debidas al origen de las mismas. Las plantas originadas de semillas tuvieron una mayor cantidad de ramas, de inflorescencias, una mayor superficie foliar y altura. Las VCA post- aplicación tuvieron síntomas más leves, y no se diferenciaron significativamente en peso de las de semilla. Estas diferencias se relacionan con la diferente forma de crecimiento que tienen ambos tipos de plantas, por ejemplo las VCA siempre presentan un número de nudos y longitud menor (Capítulo 1); lo que puede observarse al comparar el comportamiento de los controles. Sin esta consideración, podría pensarse a priori que las VCA son estructuralmente más afectadas por el herbicida, sin embargo, como se menciona al inicio de este párrafo fueron las menos afectadas.

Las diferentes respuestas entre plantas VCA y de semillas indican distintos mecanismos de tolerancia entre edades. En la mayoría de las especies, las plantas en avanzadas etapas de desarrollo, son menos sensibles a la aplicación de glifosato (Ulloa y Owen, 2009). Teniendo en cuenta que en *C. erecta*, el rizoma es más prominente cuanto mayor es la edad de la planta, en las VCA la mayor parte de la estructura aérea de la planta correspondería a tallo. Así la capacidad de tolerar más el glifosato podría estar relacionada con la reserva de almidón en el tallo, el cual posiblemente se movilice

rápida y posibilite la recuperación post- aplicación, al igual que lo que ocurre en *Commelina diffusa* Burm. f. y *Commelina benghalensis* L. (Tuffi Santos y col., 2004). El glifosato, inhibe la enzima 5-enol piruvil shikamato-3-fosfato sintetasa, lo que conduce al bloqueo del ciclo de Calvin (Søbye y col., 2010) disminuyendo indirectamente la cantidad de almidón producido foliarmente. Sumado a esto, la translocación del herbicida por el floema destruye las células vivas de este tejido, y por tanto también interrumpe la circulación de los fotoasimilados (Mársico, 1980). Así, el almidón de los rizomas funcionaría como una fuente de reservas alternativa, dado que se reduce la cantidad de almidón proveniente de las hojas. Las VCA cuentan con reservas propias, mientras que las plantas de semilla están en proceso de construcción de su estructura fotosintética. Esta variación en las estructuras formadas durante la fase de establecimiento permite a las plantas lograr su implantación y una mínima ocupación del espacio para competir (Barthélemy y col. 1997; Perreta, 2004). Además, en *C. erecta*, la tolerancia al glifosato sólo se observa en las plantas con más de 5 hojas (Rainero, 2004), momento en el cual se forma el rizoma e inicia la producción de ramificaciones (Capítulo 1). La biomasa de las VCA tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ fue significativamente menor que en las de semillas, debido a que en estas plantas, el tamaño del rizoma fue menor y el desarrollo de ramas muy escaso.

La concentración de clorofila en todas las plantas aplicadas, disminuyó inmediatamente luego de la aplicación, pero sólo fue significativo respecto al testigo a las 24 HPA. Es decir, el glifosato afectó la concentración de clorofila de la hoja poco después del tratamiento (Fuchs y col., 2002; Kempenaar, y col., 2010) mucho antes de que las hojas comenzaran a verse cloróticas. El amarillamiento de las hojas es un efecto secundario debido a la disminución en el contenido de Chl (Kaur y col., 2010), lo que puede deberse a la disminución de la síntesis o al aumento de la degradación de clorofila (Lee, 1981; Tuffi Santos y col., 2007), aunque la fotosíntesis no ha sido considerada como un blanco de inhibición primaria del glifosato. Otros estudios mostraron que el glifosato inhibe la síntesis del ácido amino-levulínico, un precursor de anillos porfirínicos, inhibiendo de esta manera la síntesis de clorofila (Kitchen y col., 1981). El efecto del glifosato en la fotosíntesis está soportado por un cese en la asimilación de CO₂ en plantas tratadas dentro de la hora luego de aplicado el herbicida (Ali y Fletcher, 1978; Muñoz-Rueda y col., 1986; Madsen y col., 1995).

Post- aplicación de glifosato se detectó en las plantas de semillas tratadas con 1200 y 2400 g a.i. ha⁻¹ y las VCA tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ dos respuestas o síndromes morfológicos denominados **tipo I** y **tipo II** por Panigo y col. (2012). Estos autores clasifican a las plantas en **tipo I** si desarrollan pocas ramas en las tres regiones en las que puede ser dividido el vástago (Capítulo 1) pero manteniendo su estructura y zonación. Mientras que consideran plantas **tipo II** a aquellas que producen gran cantidad de ramas en todas las zonas del vástago por lo que la ramificación pasa de difusa (Capítulo 1) a continua, haciéndose difícil la detección de la zona de inhibición presente en la región distal de la zona media. En este trabajo se utilizaron 2 poblaciones y los ejemplares fueron etiquetados manteniendo diferenciado su origen, si bien no fue el objetivo de este trabajo analizar biotipos, encontramos que las plantas pertenecientes a la población “Emilia” mostraron todas un fenotipo tipo II, y por el contrario, las de la población “Esperanza” tuvieron un fenotipo tipo I. La presencia de biotipos con sensibilidad diferencial a glifosato, ya ha sido reportado en otras malezas como *Chenopodium album* L. (Westhoven y col., 2008), *Ipomoea purpurea* (L.) Roth. (Baucom y Rodney, 2004), *Senecio vulgaris* L. (Leiss y Müller-Schärer, 2001), *Stellaria media* (L.) Cirillo (Sobey, 1987), *Oriza sativa* L. (Burgos y col., 2011) y *Gomphrena perennis* (Acosta, 2012). Estas variaciones hacen referencia tanto a cambios morfológicos, en la asignación de recursos, en el fitness, como en la susceptibilidad al herbicida. El glifosato es una fuente importante de la selección, dado que su extensiva y continua aplicación aumenta significativamente la frecuencia de los genotipos no susceptibles con el tiempo (Baucom y Rodney, 2004).

En la bibliografía es posible encontrar variados trabajos sobre *C. erecta* y glifosato, que abarcan aspectos relacionados al control, pero unos pocos analizan la respuesta desde una visión más integrada (Rainero, 2004; Rodríguez, 2004; Papa, 2005a, 2005b; Arregui y col., 2006; Panigo y col., 2012). Sin embargo, estos trabajos presentan importantes variaciones entre sí en los resultados alcanzados, como consecuencia de la utilización de diferentes dosis, formulaciones, estadios de planta y condiciones de crecimiento. Esto permite explicar, por ejemplo, el hecho de que si bien en este trabajo los efectos son similares a los obtenidos en trabajos previos (Panigo y col., 2012), estos fueron más leves lo cuál puede ser explicado, en este caso, por la diferente formulación de glifosato. Gareto y col. (2011) compararon el efecto de

diferentes formulaciones sobre el crecimiento de *C. erecta*, concluyendo que Glifotop Zamba®, formulación utilizada por Panigo y col. (2012), inhibe de manera más pronunciada el crecimiento de *C. erecta*, que la formulación Estrella® que es la utilizada en este trabajo. Esto resalta la importancia de incorporar a los estudios de biomasa afectada, otros parámetros estructurales más descriptivos a fin de encontrar la fuente en la variación de la biomasa y poder comparar así diferentes formulaciones y estadios. A esto se le suma que en los estudios de campo otros factores entran en juego afectando la dosis efectiva aplicada (Sandberg y col, 1980; Cole, 1983; Souza y col., 2007), lo cual enmascara también los resultados.

La comprensión de cómo las especies se adaptan a hábitats agrícolas puede resultar en un mejor manejo (Jordan y Jannink, 1997) y es imprescindible para la elaboración de estrategias integrales (Rausher, 2001). Un cambio en la forma de manejo, que implique una rotación entre herbicidas y entre cultivos (resistentes al glifosato con no resistentes) teniendo en cuenta el tamaño de la maleza al momento del tratamiento, ya ha sido recomendado por otros autores (Monquero, 2003; Storkey, 2004; Tuffi Santos y col., 2007). Dilucidar los mecanismos moleculares y ecológicos que subyacen a esta respuesta, ayudaría a entender las diferencias fisiológicas y ecológicas entre edades y poblaciones de plantas de *C. erecta*. Además, para comprender integralmente el mecanismo de tolerancia, deberían efectuarse estudios adicionales sobre los carbohidratos disponibles, sobre la absorción y translocación del glifosato en cada biotipo, ya que la baja sensibilidad a dicho herbicida estaría asentada en un conjunto de caracteres morfológicos, fisiológicos y ecológicos.

V.- CONCLUSIONES

No se observó el control efectivo de esta especie a las dosis analizadas. El herbicida provocó una disminución del crecimiento, lo que se correlacionó positivamente con el aumento de la dosis aplicada. En las plantas tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ la intensidad de los síntomas, los efectos sobre los órganos y parámetros de crecimiento analizados fueron mayores, mientras que las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹, alcanzaron valores promedios semejantes al testigo, salvo en la concentración de Chl.

Sin embargo, no todas las plantas respondieron igual, existiendo variaciones en función del origen. Las plantas originadas de semillas tuvieron una mayor cantidad de ramas e inflorescencias, mayor superficie foliar y altura que las originadas de rebrotes, aunque estas últimas mostraron síntomas más leves y mayor biomasa aérea. Estas diferentes respuestas entre plantas VCA y de semillas indican distintos efectos tóxicos o mecanismos de tolerancia entre edades.

Post aplicación, si bien las características arquitecturales no variaron, se observaron modificaciones en las plantas tratadas con la mayor dosis, a nivel del sistema de ramificación, lo que resultó en un cambio en la forma de la mata y por lo tanto en el modo de exploración.

Es de destacar que si bien en este capítulo los efectos son menores comparados con otros trabajos realizados previamente, el herbicida opera afectando los parámetros en el mismo sentido, sólo que en menor magnitud, debido a la utilización de una formulación diferente. Esto nos lleva a afirmar que los estudios morfológicos detallados son una herramienta de creciente importancia en este campo, dado que permiten reconocer los efectos, aunque su magnitud varíe.

CAPÍTULO 3

MODIFICACIONES MORFOARQUITECTURALES DE *EUSTACHYS RETUSA* (POACEAE) POST-APLICACIÓN DE GLIFOSATO

Resumen

El objetivo de este capítulo es evaluar e identificar los caracteres morfoarquitecturales que facilitan la regeneración vegetativa en *E. retusa* post-aplicación de glifosato. Se determinaron diferentes características morfométricas, bioquímicas y arquitecturales de 80 plantas en estadio reproductivo, dado que a partir de un pre-ensayo se confirmó que *E. retusa* en estado vegetativo no tolera el glifosato. Se utilizaron 4 dosis de glifosato: 0 g a.i. ha⁻¹, 240 g a.i. ha⁻¹, 480 g a.i. ha⁻¹ y 1200 g a.i. ha⁻¹. Post aplicación, se visualizaron plantas con hojas con áreas amarillentas y necrosadas, láminas menos desarrolladas, muerte de meristemas o del eje floral en ramas, falta de elongación de entrenudos apicales y fallas en la producción de semillas. Lo más distintivo fue un intervalo de 4-5 hojas muertas, entre regiones de hojas vivas, que eran las que se encontraban en formación al momento de la aplicación. Además, hubo variaciones cuantitativas sobre los órganos, lo que moduló la expresión del modelo arquitectural. En este trabajo sólo se logró cierto grado de control de *E. retusa* a 1200 g a.i.ha⁻¹ con glifosato Estrella®. Mediante la regeneración de nuevos vástagos, a partir del banco de yemas, el resto de las plantas escapó a la acción herbicida y continuó con su estrategia de crecimiento.

I.- INTRODUCCIÓN

La tasa de adopción de los cultivos GR (resistentes al glifosato) por los agricultores ha superado la adopción de cualquier otra tecnología agrícola en la historia (Buttel, 2002). En Argentina, la soja con el gen de resistencia a glifosato fue introducido en 1996 (Arregui y col., 2006), y ha sido adoptada principalmente por la simplicidad de usar un solo herbicida, así como la eficacia y la flexibilidad de aplicación del mismo, la falta de daño de éste al cultivo y al suelo (Kudsk y Streibig, 2003; Vitta y col., 2004). A pesar de la rápida adopción por los agricultores, las diferentes organizaciones gubernamentales y no gubernamentales se han opuesto a esta tecnología, y una de las razones es porque afecta la biodiversidad (Scursoni y col., 2006). A diferencia de otras prácticas de control, los herbicidas tienen un alto potencial para seleccionar fenotipos

que persisten después del tratamiento mediante la destrucción de fenotipos más vulnerables de la población (Cousens y Mortimer, 1995 en Scursoni y col., 2006).

En Argentina, el glifosato se utiliza irracionalmente, ya que en post-emergencia, los agricultores suelen aplicarlo “según sea necesario” (Arregui y col., 2006). Esto, sumado al aumento de la presión selectiva (Culpepper, 2006), provocó cambios cuali y cuantitativos en la comunidad de malezas (Puricelli y Tuesca, 1997). Dentro de estos cambios se hace referencia a la aparición de *Eustachys retusa* (Poaceae) como maleza de difícil control en campos destinados a la siembra directa de soja. Esta gramínea perenne, que tiene un ciclo primavero-estival (Burkart, 1969), incrementó su abundancia en campos destinados a soja en siembra directa; dado que presenta problemas de control con glifosato en estado reproductivo (Puricelli y Faccini, 2005). Existe poca información de esta especie como maleza en nuestro país, sin embargo se sabe que en estado vegetativo se obtiene un control total con dosis 1200 g de producto comercial por hectárea y que en estado reproductivo el control se logra con dosis mayores a ésta. También se sabe que el control se mejora si se agregan aceites o emulsionantes a la formulación del herbicida (Puricelli y col., 2008).

Varios trabajos utilizan caracteres morfológicos, de crecimiento y bioquímicos para evaluar la respuesta de las plantas a sustancias tóxicas (Soda y col., 2000; Fernández, 2003; Muscolo y col., 2003; Tuffi Santos y col., 2004, 2007; Malpassi, 2005; Puricelli y Faccini, 2005; Puricelli y Papa, 2006; Wang y col., 2009; Li y col., 2010; Sjøbye y col., 2010). Dentro de los caracteres más utilizados, se encuentra la altura de la planta. Este carácter es asociado con el vigor competitivo y su importancia radica en que actúa compensando la tolerancia o escape a cualquier situación de estrés, (Cornelissen y col., 2003). Sin embargo, la altura debe ser combinada con otros caracteres relacionados con la estructura del vegetal como lo son el tipo de ramas y cantidad, tamaño de hojas, cantidad y posición de la floración. Estos caracteres en conjunto van a determinar las diferentes compensaciones y combinaciones de caracteres que expresen el síndrome de respuesta a ese estrés (Klimešová y col., 2008). Los estudios estructurales y de desarrollo de la estructura, han brindado en otras especies nuevas herramientas para comprender el éxito de especies invasoras bajo distintas condiciones ambientales y permitieron detectar las estrategias que favorecen su dispersión y/o invasión o su control (Perreta, 2004). Este enfoque puede ser aplicado al

estudio del efecto que ejercen tanto los herbicidas como otros factores ambientales sobre las plantas herbáceas en general (Acosta, 2012).

También los estudios de la variación de la biomasa, cuyos cambios se hallan relacionados directamente con cambios en la fotosíntesis (Li y col., 2010) son de suma importancia. Al respecto la concentración de clorofila (Chl) se utiliza como un indicador de la salud de la planta (Porra, 2002), o de su potencial estrés (Zarco-Tejada y col., 2002). Uno de los síntomas visibles de toxicidad en plantas expuestas a glifosato es el cambio del contenido de clorofila en las hojas (Fuchs y col., 2002; Wang y col., 2009; Sjøbye y col., 2010).

Los objetivos de este capítulo son: (i) evaluar las variaciones morfológicas, de crecimiento, bioquímicas y arquitecturales post- aplicación de glifosato; e (ii) identificar los caracteres morfo-arquitecturales que facilitan la regeneración vegetativa en *E. retusa* en sistemas con aplicación intensiva de glifosato.

II.- MATERIALES Y MÉTODOS

II.a.- MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO

El ensayo se llevó a cabo en los invernaderos del Campo Experimental de FCA (UNL), (31° 26'S- 60° 56'O). Se coleccionaron semillas a partir de plantas provenientes de áreas urbanas no expuestas a aplicaciones de glifosato, en la ciudad de Esperanza (31° 26'S- 60° 55'O) en la provincia de Santa Fe, Argentina.

Previo a evaluar la respuesta al glifosato, se realizaron pre-ensayos para lograr condiciones de germinación y crecimiento adecuadas. La germinación resultó satisfactoria en temperaturas superiores a 25°C, en condiciones de invernadero. Las semillas fueron sumergidas previamente en una solución de hipoclorito de sodio al 0,05% para evitar la aparición de hongos (Schroeder Murphy y col., 1990; Wang y col., 2009). Si bien el ensayo se inició en cámara de crecimiento, debido a que esta especie no toleró las condiciones de irradiación de la misma, los ensayos posteriores fueron realizados íntegramente en invernadero, con registro permanente de la temperatura (Fig. 3.1). Dada la alta mortalidad en plántulas, luego del trasplante a macetas, éstas se

mantuvieron en cámara húmeda y se regaron con solución Hoagland al 50 % (Hoagland y Arnon, 1950) hasta lograr su implantación.

El trasplante se realizó entre los 10 y 20 días posteriores a la siembra. Las plántulas crecieron en macetas de 5 litros rellenas de 1/3 de sustrato comercial, 1/3 arena y 1/3 horizonte A de un suelo Argiudol Típico, serie Esperanza, con textura franco-limosa. El riego, luego del estadio de plántula, se realizó diariamente con agua desmineralizada, hasta alcanzar cada maceta la capacidad de campo.

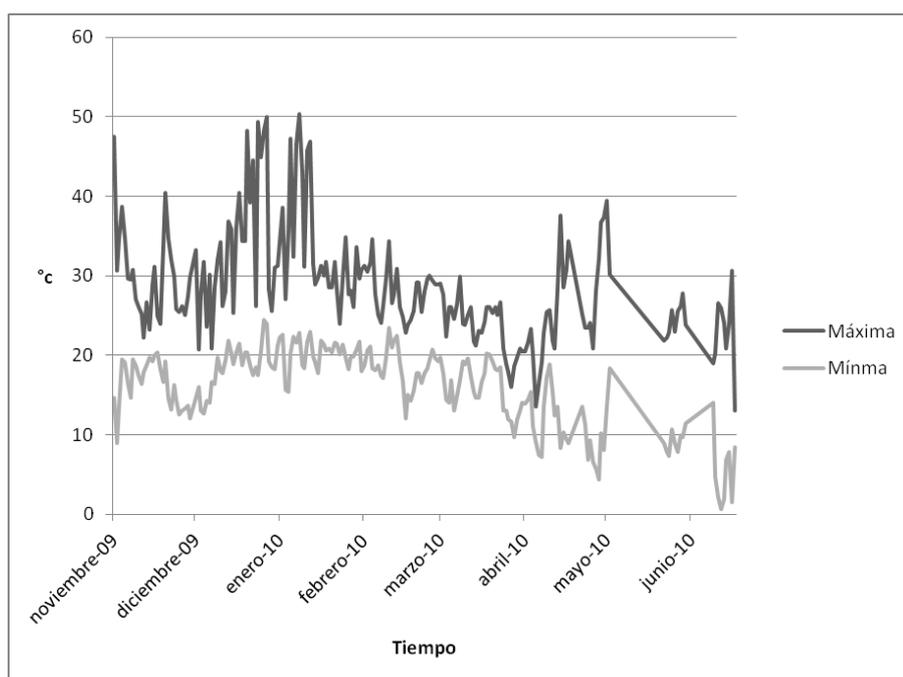


FIGURA 3.1. Valores de las temperaturas máximas y mínimas (°C).

II.b.-. TRATAMIENTO HERBICIDA

Para *E. retusa*, el tratamiento herbicida se realizó con glifosato marca Estrella® (Asociación de Cooperativas Argentinas Coop. Ltda./N° de registro: 30.450), que contiene en su formulación la sal isopropilamina del ácido N-(fosfometil) glicina. El herbicida se aplicó uniformemente sobre la superficie de la planta utilizando un pulverizador de laboratorio a velocidad constante, con un volumen de caldo equivalente de 200 litros/ hectárea (1 ha^{-1}), a presión constante (275 kPa) con pastilla de tipo abanico plano. Debido a que la información disponible sobre dosis y tolerancia a herbicidas es escasa (Puricelli y Faccini, 2005), se determinaron las dosis a evaluar mediante un preensayo de dosis-respuesta. En dicho ensayo se utilizaron concentraciones crecientes

de glifosato, desde 240 g a.i. ha⁻¹ hasta los 3840 g a.i. ha⁻¹. Cada una de las dosis evaluadas fue aplicada a grupos de 20 plantas en estado vegetativo avanzado (más de 10 ramas). A los 7 días post- aplicación se registró el número de organismos muertos para cada concentración. La concentración con el 50% de individuos muertos se tomó como dosis subletal y para la dosis letal se tomó aquella en la que se registró el menor número de plantas vivas. Luego se realizó un ensayo adicional para determinar la conveniencia de estudiar el estadio vegetativo o reproductivo. Para esto se emplearon 10 plantas por dosis, las que fueron tratadas en estado vegetativo cuando tenían entre 8 y 10 ramas y después de la floración en estado reproductivo.

En base a los resultados del pre-ensayo anterior, para el análisis de la respuesta a glifosato se utilizaron 80 plantas de *E. retusa* en estado reproductivo a 4 dosis: 0 g a.i. ha⁻¹(control), 240 g a.i. ha⁻¹, 480 g a.i. ha⁻¹, 1200 g a.i. ha⁻¹ (20 plantas para cada dosis). Las plantas fueron tratadas después de la floración de todos los ejes plumulares, o luego de la muerte de los meristemas de estos ejes (hecho que se produce cuando no se hace efectiva la floración, ver Capítulo 1). La aplicación se realizó el día 60 del ensayo que correspondió a los 135 días post-trasplante (DPT).

II.c- EVALUACIÓN DE LOS SÍNTOMAS

Se evaluó la aparición de síntomas característicos descriptos para plantas tratadas con glifosato (García Torres y Fernández-Quintanilla, 1989; Nisensohn y Tuesca, 2004; Wang y col., 2009) diariamente hasta los 30 días post- aplicación (DPA) y luego quincenalmente hasta 60 DPA, principalmente sobre las hojas.

II.d.- EFECTO DEL HERBICIDA SOBRE LOS ÓRGANOS AÉREOS

Con el fin de tener la ubicación topológica exacta de cualquier eje, en cualquier momento, desde el día del trasplante se registró la ubicación de los fitómeros de los ejes plumulares y axilares de cada planta. Como el objetivo fue evaluar las variaciones postaplicación de glifosato, sólo se trabajó comparativamente con 4 fechas, desde los 75 DPT, que se corresponde al día 0 hasta los 120 días, que se corresponde a los 60 DPA o 195 DPT. En cada muestreo se registraron parámetros cuantitativos y cualitativos para: hoja, tallo e inflorescencia en cada tratamiento y fecha. Los parámetros fueron: altura de todos los ejes, número y tipo de estructura foliar presente en cada nudo, largo y ancho

de hojas completamente expandidas, cantidad y posición de las ramas y de las estructuras reproductivas. La información obtenida se registró en planillas de cálculo por planta y fecha de muestreo siguiendo el sistema de codificación propuesto por Godin y colaboradores (1997).

Al realizarse el tratamiento herbicida luego de la floración (o de la muerte del meristema apical), la altura se evaluó sobre la totalidad de ejes axilares de segundo orden existentes por planta, que fueron los que mostraron la mayor cantidad de síntomas y los que estaban en desarrollo en el momento de la aplicación. En cada eje, la altura corresponde a la longitud total del mismo tomada desde su base hasta la vaina de la última hoja expandida y en cada planta, a la sumatoria de longitudes de todos los ejes de segundo orden que la componen. El número de ramas (de diferentes órdenes y totales) y de inflorescencias, se cuantificó como la cantidad acumulada de ramas e inflorescencias desarrolladas en cada momento de muestreo. Particularmente el número de ramas sólo se evaluó postaplicación.

II.e.- EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y BIOQUÍMICOS

Para evaluar más íntegramente la respuesta de la maleza a la aplicación del herbicida, se cuantificó también la biomasa, la concentración de Chl y la superficie foliar. Se cuantificó biomasa el día 0, 90 y 120 desde el comienzo del ensayo (estos últimos corresponden a los 30 y 60 días post- aplicación) sobre 10 plantas. La Chl se cuantificó a las 24, 48 y 168 horas postaplicación (HPA) del herbicida, según la metodología propuesta por Arnon (1949). Se utilizaron cinco hojas por tratamiento (de las plantas utilizadas en el ensayo de Biomasa), las que individualmente se mezclaron con material abrasivo (arena), acetona (extractante) y carbonato de magnesio para preservar las moléculas de Chl y fueron procesadas en un mortero. La solución se filtró con papel Whatman N° 1. Se midió absorbancia a los 645 y 663 nm utilizando un espectrofotómetro (Hitachi®).

La superficie foliar se calculó a través del producto del valor registrado longitud (mm) × ancho (mm) en cada hoja, según la metodología expuesta por Lauri y Terouanne (1991). La ecuación de regresión lineal utilizada para *E. retusa* es:

$$y = 0,7718x + 0,0639; R^2 = 0,9911$$

donde y es igual a superficie foliar y x es el producto “longitud de hoja” y “ancho de hoja”. Para el cálculo de la ecuación de regresión, la superficie foliar real de 100 hojas fue determinada mediante el software analizador de imágenes ImageJ®.

II.f.- VARIACIONES ARQUITECTURALES

Para analizar la evolución del sistema de ramificación en las plantas tratadas y no tratadas con herbicida, se utilizaron los parámetros registrados en la sección II.b. Para esto, desde el momento de la germinación hasta el final del ensayo (60 DPA), se realizaron muestreos, asignando un color distinto para cada orden de ramificación a fin de realizar el seguimiento del crecimiento a través del tiempo y lograr la ubicación de las distintas estructuras en todos los muestreos. La pintura usada para marcar las hojas, fue acrílico de la marca comercial Monitor, ya que presenta dos ventajas sobre otro tipo de pinturas: la primera es que no afecta el crecimiento de los tejidos de las plantas y no produce necrosis ni deformación de los mismos; y la otra, es que esta pintura se adhiere a la hoja y no es afectada por el agua de riego.

II.g- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El ensayo se realizó durante noviembre 2009- junio 2010, dentro del cual la fase de evaluación de respuesta a glifosato comprendió solamente los 120 días finales, esto fue así por la necesidad de contar con plantas en floración para la misma. El estudio herbicida comenzó a los 75 DPT, fecha que se consideró como día 0 para el ensayo herbicida. La aplicación se realizó el día 60 del ensayo herbicida. Las mediciones post-aplicación se realizaron a los 90 y 120 días del ensayo, lo que correspondió a los 30 y 60 DPA respectivamente. No todos los parámetros fueron registrados en igual momento. El efecto del herbicida sobre los órganos y la superficie foliar se evaluó en 4 momentos: 0, 30, 90 y 120 días y la biomasa en 3 momentos diferentes: 0, 90 y 120 días. La Chl se evaluó a las 24, 48 y 160 HPA, y los síntomas hasta los 60 DPA (es decir hasta el día 120 del ensayo).

El análisis estadístico de las variables cuantitativas se hizo utilizando el software InfoStat® (Di Rienzo y col., 2010). El experimento fue conducido como un diseño completamente aleatorizado. Los datos mostrados en las figuras y tablas corresponden a las medias de cada tratamiento en cada fecha. Diferencias significativas entre medias de

tratamientos (dosis) fue evaluada utilizando la prueba de LSD de Fisher con un nivel de significación del 5%.

III.- RESULTADOS

III. 1.- SÍNTOMAS

Los síntomas en hoja a los 15 DPA mostraron la presencia de áreas intercostales amarillentas, con una apariencia estriada y necrosamiento de áreas localizadas o de la lámina entera (Fig. 3.2 A, B y C). Estos síntomas fueron muy notorios en las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ donde hubo 60% de individuos muertos a los 30 DPA. El 40% restante, aunque mostró daños severos, formó nuevos brotes, al igual que las plantas tratadas de los demás tratamientos (Fig. 3.2 D), donde no se registró muerte de individuos (Fig. 3.2 E).

III.2.- EFECTO DEL HERBICIDA SOBRE LOS ÓRGANOS AÉREOS

III.2.1.- HOJA

Diferentes variaciones pudieron ser registradas a nivel de hoja. En las plantas tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹ y 480 g a.i. ha⁻¹, una cantidad variable de hojas expandidas luego de la aplicación tuvieron diferente forma y menor desarrollo (tamaño) o incluso murieron. Esto determinó que las plantas mostraran en la zona media de sus ejes un intervalo de 4-5 hojas muertas, entre regiones de hojas vivas, luego de los 30 DPA (Fig. 3.3 A).

En las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ sobrevivientes, se produjo la muerte de la mayoría de su estructuras foliares (Fig. 3.2 B). Post- aplicación todas las plantas presentaron menor cantidad de hojas vivas, mayor cantidad de hojas de lámina reducida en la parte distal del eje, incluso algunas presentaron sus hemiláminas plegadas sobre sí mismas (Fig. 3.3 C). A los 60 DPA las hojas nuevas formadas en la región distal del eje alcanzaron longitudes de lámina similares a las del testigo.

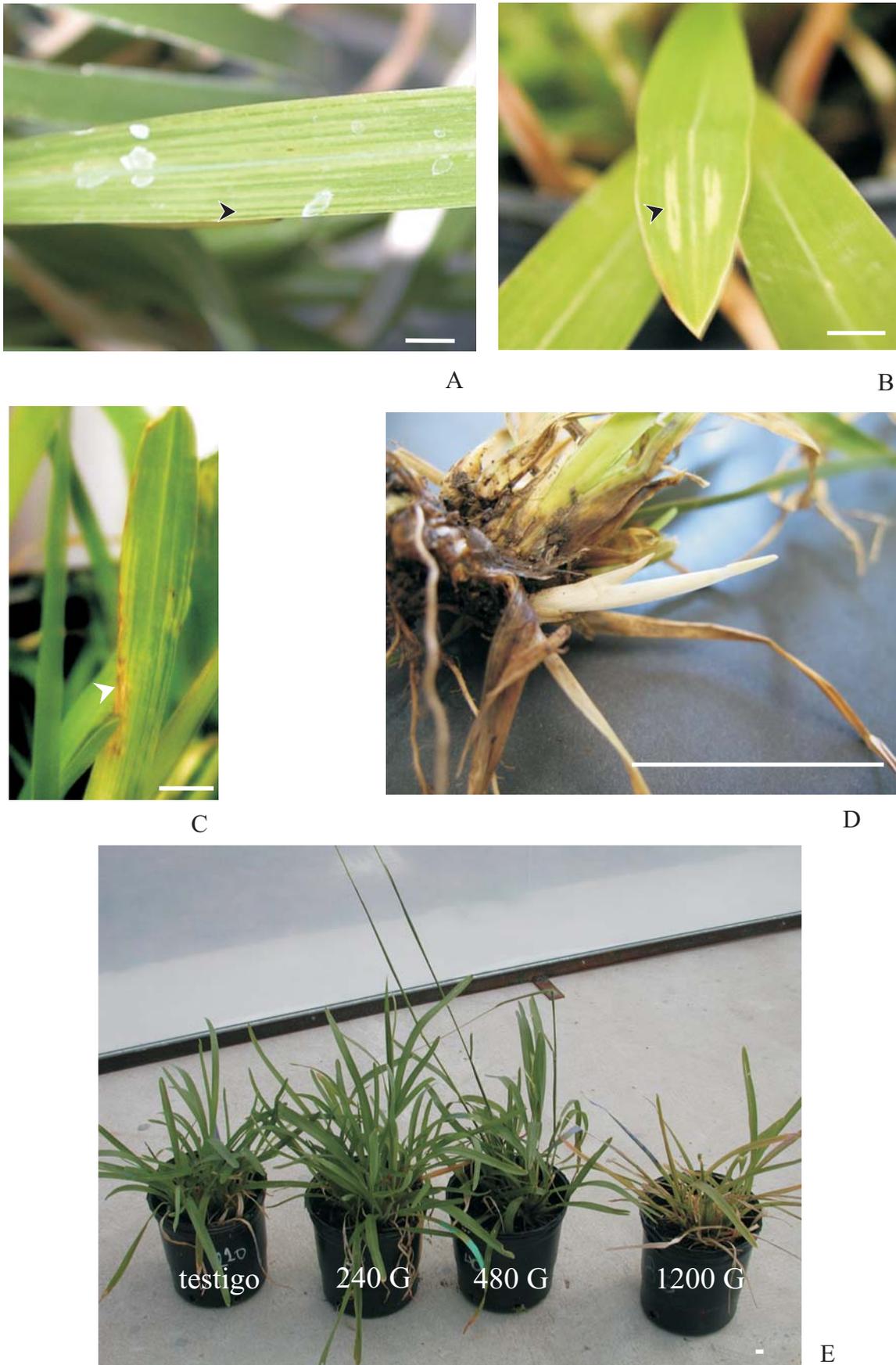


FIGURA 3.2. Síntomas post aplicación en *Eustachys retusa* y estado de las plantas. **A y B:** hoja con apariencia estriada, **C:** Hojas con áreas necrosadas, **D:** Rebrotos en plantas tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹, a los 30 DPA, **E:** Comparación de plantas tratadas a diferentes dosis a los 30 DPA. Referencias: G: g a.i.ha⁻¹. Las flechas señalan el órgano modificado. Las líneas de referencia corresponden a 1 cm.

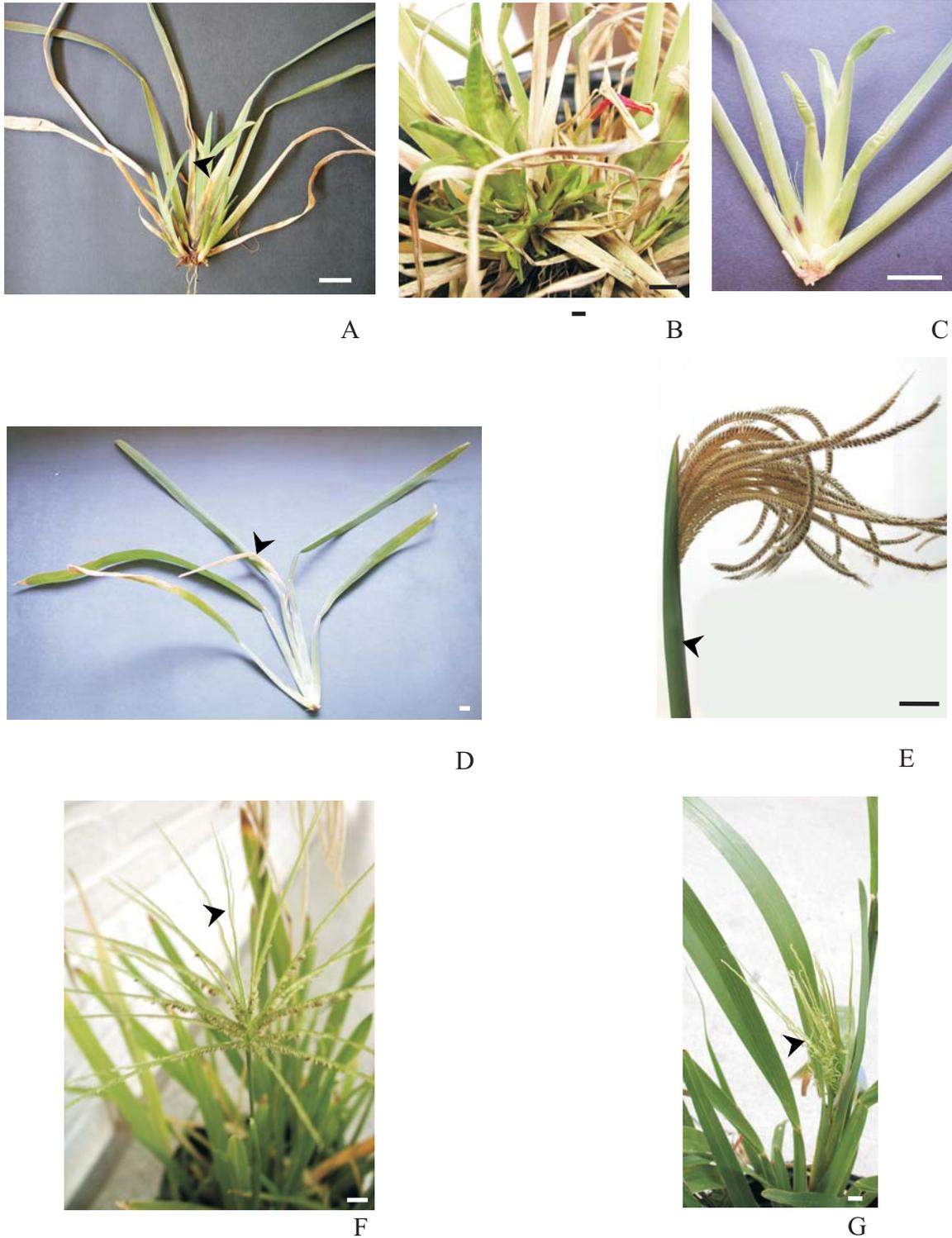


FIGURA 3.3. Efecto del herbicida sobre los órganos en *Eustachys retusa*. **A:** Rama con intervalo de hojas muertas entre hojas vivas. **B:** Rebrote en una planta tratada con 1200 g a.i. ha⁻¹, en el que se observa la muerte de la mayoría de las estructuras foliares. **C:** Hojas formadas postaplicación de lámina reducida y hemiláminas plegadas. **D:** Rama con meristemo apical muerto. **E:** Inflorescencia confinada en la hoja bandera debido a la falta de elongación de los entrenudos apicales. **F:** Inflorescencia con ejes estériles (flecha). **G:** Ejes de inflorescencia estériles. *Referencias:* Las flechas señalan el órgano modificado. La línea de referencia corresponde a 1 cm.

III.2.2.- TALLO

Las plantas tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹ y 480 g a.i. ha⁻¹, luego de los 30 DPA presentaron dos categorías de ramas modificadas independientemente del orden: unas en las que se interrumpió su crecimiento por muerte de su meristema apical (esta senescencia se extiende luego a todo el vástago), y otras con un intervalo de hojas muertas (tal como se describió en el apartado hojas) que sobrevivieron, pero desarrollaron hojas de láminas más reducidas (Fig. 3.3 B y C). Se suma a esto el hecho de que algunos entrenudos apicales de ejes de segundo orden no elongaron, quedando parte de la inflorescencia confinada dentro de la hoja bandera (Fig. 3.3 E).

La sumatoria de alturas de ejes de segundo orden mostró diferencias significativas estadísticamente sólo a los 0 DPA (Tabla 3.1) (Fig. 3.4 A y B). Las plantas control fueron las que mostraron el menor valor difiriendo significativamente del resto. Sin embargo, estas y las tratadas con la menor dosis presentaron los valores más altos a los a los 30 DPA (Fig. 3.4 B). A los 60 DPA se mantiene la tendencia anterior, aunque las diferencias no fueron significativas, mostrando un efecto negativo del herbicida para este parámetro a medida que aumenta la dosis.

El ANAVA para el número total de ramas sólo mostró diferencias significativas a los 120 días ó 60 DPA (Tabla 3.1), donde el número de ramas totales por plantas fue significativamente mayor en las plantas tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹ (63,71) que el resto de los tratamientos. El menor valor fue para las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ (39,44), seguidas por las plantas control (44, 75) y las tratadas con 480 g a.i. ha⁻¹ (51, 78). Como se mencionó, no es el número de ejes secundarios lo que determina la diferencia (Fig. 3.4 C), sino el número de ejes de órdenes mayores. Las ramas de tercero y cuarto orden fueron más abundantes en las plantas tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹ seguidas por las tratadas con 480 g a.i. ha⁻¹ (Fig. 3.4 D y E). La menor cantidad de ramas que muestra el control con respecto a las tratadas a las dosis más bajas, radica en que las primeras carecen de ramas de quinto orden (Fig. 3.4 F) y en el tercer orden muestra los valores más bajos. Las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ que sobrevivieron, tuvieron una gran proporción de ramas con meristemas apicales muertos, por lo que presentaron el menor número de ramas post- aplicación y gran parte de su biomasa aérea seca a los 30 DPA (Fig. 3.3 B).

Tabla 3.1: Resultado de ANAVA para altura, número de ramas y flores totales en *Eustachys retusa*

			0 DÍAS ¹	30 DÍAS ¹	90 DÍAS ¹	120 DÍAS ¹
					ó 30 DPA	ó 60 DPA
Altura	<i>DOSIS</i>	<i>F</i>	2,75*	0,47	0,57	0,35
		gl	3	3	3	3
Ramas Totales	<i>DOSIS</i>	<i>F</i>			1,69	4,07*
		gl			3	3
Inflorescencias totales	<i>DOSIS</i>	<i>F</i>	s/d	1,56	0,11	0,61
		gl		3	3	3

* Significativo al 0.05%

¹Días de inicio del ensayo

s/d: sin dato

III.2.3.- INFLORESCENCIA

En las plantas tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹ y 480 g a.i. ha⁻¹ se observó: (1) muerte del meristema apical y por tanto no hay desarrollo de la inflorescencia, (2) presencia de flores en ciertos segmentos de las ramas de la inflorescencia, con el resto de los ejes estériles (Fig. 3.3 F), (3) desarrollo de ejes de la inflorescencia sin flores (Fig. 3.3 G) y (4) pedúnculo no elongado, por lo que parte de la inflorescencia queda encerrada dentro de la hoja bandera (como se describió anteriormente, Fig. 3.3 G). Todas estas modificaciones comprometieron la normal producción de semillas, en diferentes medidas.

Post- aplicación (90 y 120 días de ensayo) las tratadas con 480 g a.i. ha⁻¹, presentaron el mayor número de inflorescencias (Fig. 3.5). La producción de inflorescencias en las plantas sobrevivientes tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ fue semejante a las testigos. Esto sumado a la falta de diferencias estadísticamente en el número de inflorescencias, y la falla en la producción de flores muestra que el tratamiento con glifosato sólo comprometería la producción de semillas pero no la aparición de la inflorescencia.

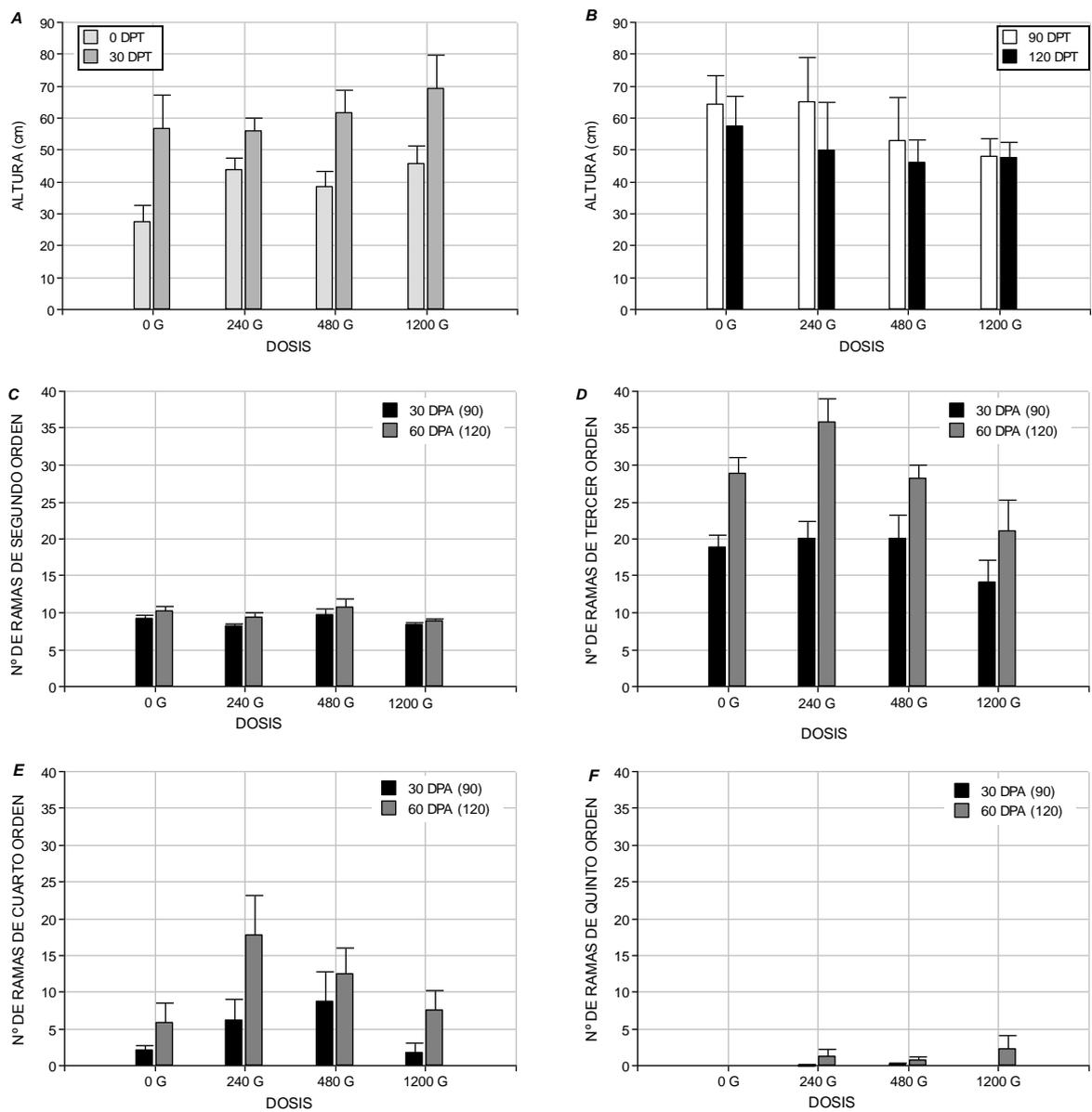


FIGURA 3.4. Efecto del herbicida sobre parámetros cuantificables de tallo *Eustachys retusa*. **A:** Altura media de los ejes secundarios preaplicación. **B:** Altura media de los ejes secundarios post-aplicación. **C:** Número de ramas de segundo orden por planta a los 30 y 60 DPA. **D:** Número de ramas de tercer orden por planta a los 30 y 60 DPA. **E:** Número de ramas de cuarto orden por planta a los 30 y 60 DPA. **F:** Número de ramas de quinto orden por planta a los 30 y 60 DPA. Referencias: G: g a.i.ha⁻¹. Las barras representan el valor de la media \pm error estándar.

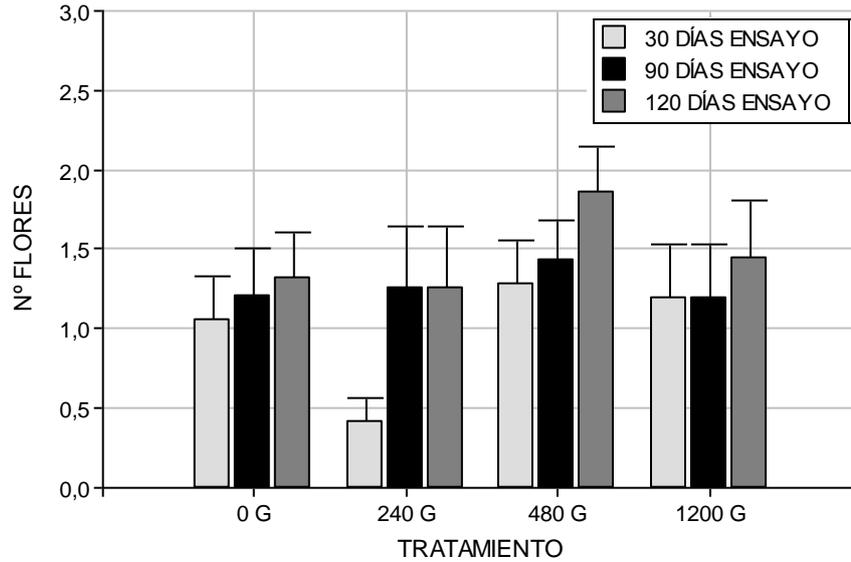


FIGURA 3.5. Número de inflorescencias promedio por plantas en los diferentes tratamientos. Referencias: G: g a.i.ha⁻¹. Las barras representan el valor de la media \pm error estándar.

III.3.- EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y BIOQUÍMICOS

III.3.1.- BIOMASA

En *E. retusa*, la biomasa mostró diferencias significativas tanto a los 30 como a los 60 DPA (Tabla 3.2). En ambas fechas, las plantas control fueron las que acumularon significativamente la mayor biomasa, lo opuesto ocurrió con las tratadas con la mayor dosis. El resto tomó valores intermedios entre ambas, las tratadas con 480 g a.i. ha⁻¹ superaron a las tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹, pero no significativamente (Fig. 3.6 A).

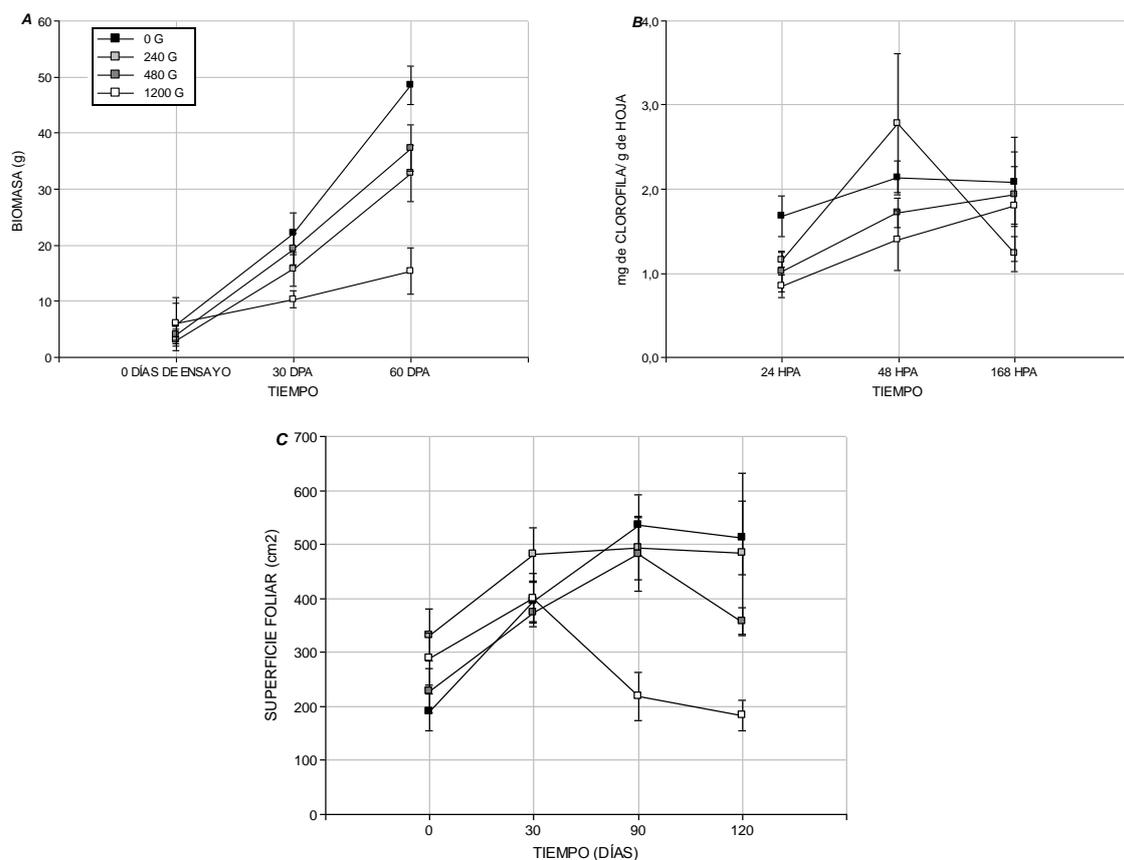


FIGURA 3.6. Variación de parámetros de crecimiento en *E. retusa*: **A**: Biomasa. **B**: Concentración de Chl total. **C**: Superficie foliar. Referencias: G: g a.i.ha⁻¹. Los puntos representan el valor de la media \pm error estándar.

Tabla 3.2. ANAVA para biomasa, Chl y superficie foliar en *Eustachys retusa*

				0 DÍAS	30 DPA	60 DPA	
Biomasa	<i>Dosis</i>	<i>F</i>		0,21	3,46 *	10,51*	
		gl		3	3		
				24 HPA	48 HPA	168 HPA	
Clorofila	<i>Dosis</i>	<i>F</i>		3,70*	1,82	0,56	
		gl		3	3	3	
				0 DÍAS	30 DÍAS	90 DÍAS	120 DÍAS
Superficie foliar	<i>Dosis</i>	<i>F</i>		2,03	1,22	2,75	3,66*
		gl		3	3	3	3

* Significativo al 0.05%

II.3.2.- CLOROFILA

La concentración de Chl en todos los tratamientos, a excepción de las plantas tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹, aumentó con las horas y disminuyó con la aplicación de herbicida (Fig. 3.6 B). El análisis estadístico reveló que existen sólo diferencias significativas a las 24 HPA (Tabla 3.2). En esta fecha, las plantas control tuvieron concentraciones de Chl significativamente más altas que las tratadas, las que mostraron valores estadísticamente similares entre sí. A las 48 HPA, el test de media detectó diferencias estadísticas solamente entre las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹, y las tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹, que presentaron la menor y mayor concentración respectivamente. El resto tuvo valores intermedios entre ambas. A las 168 HPA no hubo diferencias entre tratamientos, mostrando el control la mayor concentración y las tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹, la menor.

III.3.3.- SUPERFICIE FOLIAR

Los valores de superficie foliar promedio por planta fueron diferentes significativamente luego de la aplicación de herbicida (120 días). Post- aplicación las plantas tratadas 1200 g a.i. ha⁻¹, presentaron siempre una superficie foliar significativamente menor. Los individuos de los demás tratamientos, incluido el testigo, aumentaron su superficie foliar hasta los 30 DPA, y luego decrecieron. Este decrecimiento no se debió sólo a la aplicación de herbicida, sino que también las condiciones climáticas (otoño) y el momento fenológico de las plantas (post-fructificación) podrían haber influido. La menor radiación recibida, el menor requerimiento de fotoasimilados y la aplicación de herbicida atenuaron el aumento de la superficie foliar post- aplicación (Fig. 3.6 C). Esta desaceleración en el aumento de superficie foliar se incrementó con la dosis, presentando el control los mayores valores de superficie, y las tratadas con la mayor dosis el menor valor.

III.4.- VARIACIONES ARQUITECTURALES

No se observaron variaciones arquitecturales que impliquen cambios en la secuencia de diferenciación de las ramas. La unidad arquitectural exhibió los mismos componentes con las mismas características descriptas en el Capítulo 1. El modo de exploración continuó siendo circular, incluso en los rebrotes generados post- aplicación.

La ramificación difusa y la ausencia de rama profilar tampoco sufrieron modificaciones. Sin embargo, la configuración del sistema de ramificación sí varió post-aplicación. Por un lado, las plantas tratadas alcanzaron un orden de ramificación mayor que las plantas testigos. Por otro lado, sólo en 2 plantas tratadas con 480 g a.i. ha⁻¹, la presencia de ramas en la zona media fue el único caso en donde se modificó la estructura típica de la especie.

IV.- DISCUSIÓN

En este ensayo sólo se logró cierto grado de control de *E. retusa* con 1200 g a.i.ha⁻¹ de glifosato Estrella® en estado reproductivo, mientras que el estado vegetativo resultó sensible al herbicida; tal como se reporta en la bibliografía, donde se considera que es el estadio reproductivo el que presenta problemas de control (Puriccelli y Faccini, 2005). La aplicación hasta estadios avanzados de desarrollo, aumenta la probabilidad de sobrevivencia, tal como se observó en *Chenopodium album* L. (Westhoven, y col., 2008). En la mayoría de las especies, las plantas adultas o en avanzadas etapas de desarrollo son menos sensibles a la aplicación de glifosato (Ulloa y Owen, 2009).

Las diferentes dosis provocaron diferentes compensaciones y reasignaciones de recursos, en respuesta al estrés, lo que fue más visible a los 60 DPA. A la dosis más alta se logra el control efectivo del 60% de los individuos, y el 40% restante presentó síntomas intensos y su crecimiento fue más lento, con valores muy bajos en todos los parámetros testeados, excepto en el número de flores. A dosis bajas hubo senescencia foliar y menor crecimiento de las láminas, esterilidad de ejes florales y falta de formación de flores. También se afectó la altura y la superficie foliar. Sin embargo, estas últimas compensaron este efecto con el desarrollo del mayor número de ramas, aunque no más biomasa. La disminución de la biomasa desacelera las tasas de flujo de energía y materiales (Ehrenfeld, 2010), lo que se traduce en un crecimiento más lento de las plantas tratadas, con mayor número de ramas pero más pequeñas y menos vigorosas, menor altura de los ejes secundarios y menor desarrollo de semillas.

Mediante la cuantificación de estos caracteres estructurales podemos estimar la persistencia de las plantas (Klimešová y col., 2008), ya que bajo condiciones de stress, existen compensaciones (*trade-offs*) entre el crecimiento potencial y la performance (Lambers y Poorter, 1992 en Fourcaud y col., 2008). Un aumento en el número de las ramificaciones, aumenta la tasa de crecimiento (Lavorel y Garnier, 2002), ya que el crecimiento es consecuencia del funcionamiento de los meristemas (Fourcaud y col., 2008). Así, las plantas tratadas con la dosis más baja apostaron al crecimiento desarrollando mayor número de ramas, lo que potencialmente le permitiría recuperar su capacidad competitiva. Por el contrario, en las plantas tratadas a dosis intermedias existió un equilibrio, ya que asignaron recursos tanto a lo vegetativo como a las estructuras reproductivas para mantener esa aptitud competitiva. En las sobrevivientes tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹, la respuesta fue mucho más lenta debido al mayor daño sufrido, pero también asignaron recursos al crecimiento vegetativo y aseguraron la producción de semillas, dado que a diferencias de las anteriores no exhibió fallas en la producción de flores.

La presencia de un banco de yemas, con alto número de yemas viables asegura el rebrote luego de un periodo de condiciones desfavorables (Horvath y col., 2003). Si bien el patrón de ramificación está determinado genéticamente, se caracteriza por tener plasticidad (Shimizu-Sato y Mori, 2001) y ser modificado post-aplicación. El desarrollo de ramas más pequeñas y menos vigorosas apoya la suposición de que el herbicida afecta el normal desarrollo de ramas. No obstante, este mayor grado de ramificación implica mayor complejidad arquitectural de la canopia (Cornelissen y col., 2003). Una canopia más compleja en las malezas se relaciona con el aumento del perjuicio hacia los cultivos (Acosta, 2012). La plasticidad es un carácter complejo que permite a las plantas adaptarse a demandas particulares del ambiente, minimizando el estrés (Bradshaw, 2006).

Para dilucidar el mecanismo de acción de los herbicidas sobre la fisiología del vegetal se han utilizado numerosos parámetros, entre los que se encuentra el contenido de pigmentos (Frankart y col., 2003). Se sabe que el glifosato afecta la fotosíntesis de la hoja poco después del tratamiento (Kempenaar y col., 2010), mostrando un decrecimiento esperado en la concentración de Chl entre las 24- 48 HPA (Fuchs y col., 2002), mucho antes de que las hojas se vuelvan cloróticas. El amarillamiento de las

hojas de las malezas es un efecto secundario debido a la disminución en el contenido de Chl (Kaur y col., 2010). En plantas tratadas con glifosato la causa de esto puede ser una disminución de la síntesis o un aumento de la degradación o ambas (Tuffi Santos y col., 2007). Evidentemente, la disminución inmediata en el contenido de Chl, desencadenó una serie de procesos que influyeron directamente sobre el resto de los parámetros.

La presencia de un intervalo de hojas muertas entre hojas vivas en los ejes presentes al momento de la aplicación, probablemente se relacione con el movimiento del glifosato en el floema. El glifosato es translocado por el floema hacia los tejidos destinos (Gougler y Geiger, 1981). Sin embargo, en especies tolerantes al glifosato, este herbicida puede limitar su propia translocación, por la interrupción de un proceso que impulsa la exportación de carbono (Geiger y col., 1999). En estos ejes no hubo muerte de yemas apicales, a pesar de que son los principales destinos. A causa de esto, los síntomas de clorosis en general, son más acentuados y ocurren primero en el ápice y zona meristemáticas, luego se extienden a partes más viejas de las plantas (Nisensohn y Tuesca, 2004). Sin embargo, es probable que el destino activo fueran las hojas, ya que ellas resultaron ser las más afectadas, ya sea por senescencia o por defectos en la elongación de la lámina. En otros ejes, por el contrario, fue el meristema el afectado y por eso se encontraron gran cantidad de ejes muertos. Estos efectos a nivel foliar reducen de forma importante la superficie foliar activa post- aplicación, lo que afecta la acumulación de biomasa y la longitud de los ejes secundarios. En la dosis más alta, todas estas variaciones fueron más intensas, y se logró el control efectivo del 60 % de los individuos. Sin embargo, la aparición de rebrotes en plantas tratadas con todas las dosis posibilita el escape a la acción del herbicida en estado reproductivo y, por lo tanto, su regeneración post-aplicación.

V.- CONCLUSIONES

En *E. retusa*, el glifosato aplicado a bajas dosis afectó principalmente el desarrollo floral; a las hojas, produciéndoles senescencia o afectando la elongación de la lámina, y al desarrollo de ramas. Por el contrario, las plantas tratadas con la mayor dosis presentaron valores muy bajos en todos los parámetros, excepto en el número de

flores. Es decir, todas las dosis utilizadas alteraron el crecimiento de la maleza, aunque en diferente medida.

El escape a la acción herbicida se logra principalmente mediante la producción de nuevas ramas/rebrotes post- aplicación, lo que potencialmente le permitiría recuperar su capacidad competitiva.

La secuencia de diferenciación del sistema de ramificación en todos los tratamientos fue cualitativamente similar. Sin embargo, entre tratamientos se reconocieron variaciones cuantitativas, que modularon la expresión del modelo arquitectural observado en el Capítulo 1.

CAPÍTULO 4

RESPUESTA DE *ALTERNANTHERA PHILOXEROIDES* A LA APLICACIÓN DE GLIFOSATO

Resumen

El objetivo de este capítulo es analizar la susceptibilidad y la respuesta de *Alternanthera philoxeroides* a la aplicación de glifosato. Las concentraciones de herbicida utilizadas y el estadio de planta a tratar se obtuvieron mediante un pre-ensayo. En base a estos resultados se utilizaron 45 plantas obtenidas por clonación con más de 7 ramas a 3 dosis: 0 g a.i. ha⁻¹, 240 g a.i. ha⁻¹ y 1200 g a.i. ha⁻¹. La severidad de los síntomas y el porcentaje de individuos muertos diferenciaron a los tratamientos. El 100% de los individuos tratados con la mayor dosis murieron a los 15 días post aplicación, mientras que a la menor dosis los síntomas fueron menos severos y se observó muerte del 50% y 61 % de los individuos a los 30 y 60 DPA, respectivamente. En los sobrevivientes se redujo la altura, el número de ramas, la biomasa, la superficie foliar y el contenido de clorofila. Estos resultados demuestran que la población utilizada es poco tolerante a glifosato. Sin embargo, en base a los antecedentes de esta maleza en otros países, estudios ulteriores con poblaciones que crecen en hábitats agrícolas deberían ser realizados.

I.- INTRODUCCIÓN

Alternanthera philoxeroides (Amaranthaceae) es una planta erguida o rastrera de hasta 30- 80 cm de altura, nativa de la parte meridional de América de Sur (Lorenzi, 2000). Presenta tallos fistulosos (Burkart, 1987), generalmente rojizos y radicantes en algunos nudos; hojas elíptico-lanceoladas, lineares, espatuladas u oblongas, subpecioladas (Burkart, 1987) y opuestas; flores hermafroditas o femeninas de color blanco, agrupadas en espigas capituliformes (Burkart, 1987). Es una hierba perenne estolonífera y rizomatosa, de rápida capacidad de crecimiento tanto en hábitats acuáticos como terrestres (Sainty y col., 1998). En condiciones donde el agua ni los nutrientes son limitantes, su crecimiento es altamente influenciado por la temperatura y el fotoperiodo; su máximo crecimiento se produce en verano y no tolera bien las heladas, las cuales afectan los ejes más expuestos (Eberbach y Bowmer, 1995). La producción de semilla viable es escasa (Sainty, 1973; Center y Balciunas, 1975; Julien y col., 1995; Wilson y col., 2007) y, consecuentemente, la forma de reproducción predominante es la vegetativa (Eberbach y Bowmer, 1995).

En Australia genera grandes problemas a nivel productivo y su crecimiento es relativamente poco afectado por los herbicidas (Sainty y col., 1998; Clements y col., 2012). Las plantas que crecen en libre flotación se controlan mediante las aplicaciones de glifosato a dosis estándar (Sainty y col., 1998), pero las terrestres son difíciles de controlar (Bowmer y Eberbach, 1993), debido a que no es controlada por el glifosato (Bowmer y col., 1989). Varios procesos parecen afectar la tolerancia de esta maleza al glifosato, como la dilución del herbicida translocado por la biomasa subterránea, la metabolización del glifosato a metabolitos no tóxicos, la exudación de glifosato en las raíces (Eberbach y Bowmer, 1995) y una baja translocación a raíces y rizomas (Bowmer y Eberbach, 1993). Su rápida capacidad de rebrote, explica su gran predominio dentro de algunos de los sistemas productivos (Wilson y col., 2007), tanto acuáticos como terrestres. En hábitats acuáticos, luego de la aplicación de glifosato se observa la producción de un alto número de fragmentos de tallos que son viables y capaces de rebrotar, comprometiendo la efectividad del herbicida (Clements y col., 2012). En Argentina, la magnitud del problema no parece alcanzar tales niveles, aunque diferentes trabajos mencionan a *A. philoxeroides* como una especie con tendencia a predominar en situaciones de monocultivo de soja resistente a glifosato (De La Fuente y col., 1999; Papa, 2005b; Dellaferrera y col., 2007).

La soja es la especie más cultivada en la Argentina, y una alta proporción se hace bajo siembra directa con variedades de soja resistente al glifosato (SIIA, 2011). Como consecuencia de esto el control de malezas se logra principalmente a través del uso intensivo del glifosato (Vila-Aiub y col., 2007). Con el tiempo, el uso continuado de herbicidas con igual mecanismo de acción, incrementa la presión de selección hacia biotipos de malezas menos sensibles (Correia y col., 2011), reduciendo significativamente la frecuencia de los genotipos susceptibles e incrementando los tolerantes y/o los resistentes (Ulloa y Owen, 2009). Por ejemplo, *Parietaria debilis* G. Forst., una maleza tolerante a glifosato, antes de la introducción de la soja genéticamente modificada estuvo ausente en áreas cultivadas en las que ahora abunda (Puricelli y Papa, 2006). De igual modo, *A. philoxeroides* ha manifestado el mismo tipo de comportamiento, mostrando un aumento de su abundancia en zonas donde antes no era tan frecuente encontrarla (De La Fuente y col., 1999; Dellaferrera y col., 2007).

En la caracterización de malezas, es importante cuantificar variables que nos indiquen cómo las especies exploran y explotan el medio (Kropff y van Laar, 1992), es decir otros atributos biológicos más allá de la supervivencia a las aplicaciones y comportamiento de la biomasa. Son varios atributos los que permiten a las malezas adaptarse y prosperar en los agroecosistemas: crecimiento rápido, maduración temprana, alta partición de recursos a reproducción, facultad de rebrotar desde sus estructuras de perennización, entre muchos otros (Patterson, 1985). El análisis de desarrollo de la planta es vital si queremos comprender cómo responden a su entorno y optimizar las prácticas agrícolas (Lebon y col., 2004). En base a lo expuesto y a la poca información disponible que relaciona el efecto del herbicida a nivel estructural, es que en este capítulo se propone (i) evaluar la susceptibilidad y el efecto de la aplicación de glifosato sobre los órganos aéreos de *Alternanthera philoxeroides* y (ii) relacionar esta información con su posible tolerancia al herbicida.

II.- MATERIALES Y MÉTODOS

II.a.- MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO

Para este trabajo se coleccionaron ejemplares de plantas de poblaciones silvestres, en áreas urbanas, alejadas de áreas agrícolas expuestas a aplicaciones de glifosato, en la ciudad de Esperanza (31° 26'S- 60° 55'O) en la provincia de Santa Fe, Argentina. La imposibilidad de obtener semillas viables de *A. philoxeroides* determinó que el ensayo se realice sólo con ejemplares clonados, por lo que las plantas fueron reproducidas a partir de un fitómero.

Estos ejes clonados crecieron en macetas de 1 l, en cámara de crecimiento durante 150 días desde el trasplante (febrero a junio de 2011). El sustrato en las macetas consistió en una mezcla de sustrato comercial, arena y horizonte A de un suelo Argiudol Típico, serie Esperanza, con textura franco-limosa, a una relación de volumen 1:1:1. El riego se realizó diariamente con agua desmineralizada, a capacidad de campo. En la cámara de crecimiento la temperatura se ajustó a valores de 28 grados centígrados (°C) / 18°C (día/noche), programándose un fotoperiodo de 16 horas. Se utilizaron lámparas de vapor de Sodio de alta presión, las cuales aportaron una radiación de $15,47 \pm 0,55$

$\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$. Si bien el seguimiento de las plantas se hizo desde el día 15 después del trasplante (15 DPT), las mediciones se iniciaron a los 30 DPT y se repitieron cada 30 días.

II.b.-. TRATAMIENTO HERBICIDA

El tratamiento herbicida se realizó con glifosato marca Estrella® (Asociación de Cooperativas Argentinas Ltda./N° de registro: 30.450), que contiene en su formulación la sal isopropilamina del ácido N-(fosfometil) glicina. En nuestro país, la información disponible sobre la susceptibilidad de esta especie es escasa, por esto la dosis a evaluar y el estadio de aplicación se determinó mediante un pre-ensayo. En dicho ensayo se utilizaron plantas clonadas como se explicó en II.a, 6 concentraciones crecientes de glifosato: 0, 240, 480, 960, 1200 y 1920 g a.i. ha^{-1} y 2 estadios de planta: (i) plantas con hasta 5 ramas y (ii) plantas con entre 7-10 ramas. Cada una de las dosis evaluadas fue aplicada a grupos de 20 plantas (10 para cada estadio de planta). A los 7 días post-aplicación (DPA) se registró el número de organismos muertos para cada concentración. La concentración con menos del 50 % de individuos muertos se tomó como dosis subletal (240 g a.i. ha^{-1}) y para la dosis letal se tomó aquella en la que se registró el menor número de plantas vivas (1200 g a.i. ha^{-1}).

En base a los resultados de este pre-ensayo, para el análisis de la respuesta a glifosato se utilizaron 45 plantas de *A. philoxeroides* a 3 dosis: 0 g a.i. ha^{-1} (control), 240 g a.i. ha^{-1} y 1200 g a.i. ha^{-1} (15 plantas para cada dosis). La aplicación se realizó a los 90 DPT, cuando las plantas contaban con 7-10 ramas. Todas las aplicaciones se realizaron con una cámara de asperjado de laboratorio equipada con pastillas de abanico plano, calibradas para asperjar 200 l ha^{-1} a una presión de 275 kPa.

II.c.- EVALUACIÓN DE LOS SÍNTOMAS

Se evaluó la aparición de síntomas característicos descriptos para plantas tratadas con glifosato (García Torres y Fernández-Quintanilla, 1989; Nisensohn y Tuesca, 2004; Wang y col., 2009) diariamente durante los 30 DPA.

II.d.- EFECTO DEL HERBICIDA SOBRE LOS ÓRGANOS AÉREOS

Con el fin de tener la ubicación topológica exacta de cualquier eje, en cualquier momento, desde el día del trasplante se registró la ubicación de los fitómeros de todos los ejes (madre -generado del fitómero sembrado- y los axilares) de cada planta. Para esto, se realizaron marcaciones de colores diferentes, asignando un color distinto para cada orden de ramificación a fin de realizar el seguimiento a través del tiempo y de tener la ubicación topológica de las distintas estructuras. La pintura usada fue acrílico de la marca comercial Monitor, ya que no afecta el crecimiento de los tejidos de las plantas, no produce necrosis ni deformación de los mismos; y tampoco es afectada por el agua de riego.

Para evaluar la respuesta de *A. philoxeroides* a la aplicación de glifosato, los muestreos se realizaron en 5 fechas, desde los 30 DPT hasta los 150 DPT o 60 DPA. Los muestreos se efectuaron cada 30 días y se registró: altura del eje madre, cantidad y posición de las ramas y de las estructuras reproductivas, número y tipo de estructura foliar presente en cada nudo de cada eje, y largo y ancho de hojas completamente expandidas. La información obtenida se registró en planillas de cálculo por planta y fecha de muestreo siguiendo el sistema de codificación propuesto por Godin y colaboradores (1997).

La altura en cada tratamiento corresponde a la suma promedio del largo de entrenudos de cada eje madre. El número de ramas se tomó como la sumatoria de ramas de diferentes órdenes y se registró como cantidad acumulada de ramas desarrolladas en cada momento de muestreo. La cantidad de inflorescencias no fue evaluada estadísticamente debido al escaso número desarrollado.

II.e.- EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y BIOQUÍMICOS

La biomasa se cuantificó a los 60 DPA sobre los individuos sobrevivientes (corresponde a los 150 días desde el momento del trasplante de los fitómeros). La clorofila (Chl) se cuantificó a las 24, 48 y 168 horas post- aplicación (HPA) del herbicida, según la metodología propuesta por Arnon (1949). Se utilizaron cinco hojas por tratamiento, las que se mezclaron con material abrasivo (arena), acetona (extractante) y carbonato de magnesio, y se trituraron en un mortero. La solución se

filtró con papel Whatman N° 1. Se midió absorbancia a los 645 y 663 nm utilizando un espectrofotómetro (Hitachi®).

La superficie foliar se cálculo según la metodología expuesta por Lauri y Terouanne (1991), a los 90, 120 y 150 DPT. La ecuación de regresión lineal utilizada para *A. philoxeroides* es: ($y = 0,643x + 0,2705$, $R^2 = 0,9866$) donde y es igual a superficie foliar y x es el producto “longitud de hoja” y “ancho de hoja”. Para el cálculo de la ecuación de regresión, se determinó la superficie foliar real de 100 hojas, mediante el software analizador de imágenes ImageJ®.

II.f.- VARIACIONES ARQUITECTURALES

Para analizar las variaciones estructurales del sistema de ramificación en las plantas tratadas y no tratadas con herbicida, se utilizaron los parámetros y las marcaciones descritas en la sección II.b. Además se realizaron esquemas de la estructura completa de todas las plantas desde el trasplante hasta el final del ensayo. Con esta información se efectuaron comparaciones y se describieron variaciones en el sistema de vástagos y en los caracteres arquitecturales post- aplicación.

II.g.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de las variables cuantitativas se hizo utilizando el software InfoStat® (Di Rienzo y col., 2010). El experimento fue conducido como un diseño completamente aleatorizado. Los datos mostrados en las figuras y tablas corresponden a las medias de cada tratamiento (\pm error estándar) en cada fecha. Diferencias significativas entre medias de tratamientos (dosis) fueron evaluadas utilizando la prueba de LSD de Fisher con un nivel de significación del 1% y 5%.

El ensayo tuvo una duración total de 150 días desde la fecha de trasplante, la aplicación de herbicida se realizó a los 90 DPT y los muestreos se realizaron en cinco momentos: a los 30, 60, 90, 120 y 150 DPT. Sin embargo, las variables se analizan en diferentes fechas; el efecto del herbicida sobre los órganos en los cinco momentos, a excepción de las ramas que se realizó a los 90, 120 y 150 DPT; la biomasa a los 60 DPA (150 DPT), la superficie foliar a los 30 y 60 DPA (120 y 150 DPT). Los muestreos de Chl se realizaron a las 24, 48 y 168 HPA del herbicida.

III.- RESULTADOS

III. 1.- SÍNTOMAS

La severidad de los síntomas y el porcentaje de individuos muertos diferenciaron a los tratamientos (Fig. 4.1 A). El 100% de los individuos tratados con la mayor dosis murió a los 15 DPA. En la menor dosis la intensidad de los síntomas varió entre los diferentes individuos, observándose la muerte del 50% de los individuos a los 30 DPA y del 60% a los 60 DPA.

Los síntomas post- aplicación fueron visibles desde los 5 DPA. Inmediatamente luego de la aplicación, los efectos visibles se relacionaron con cambios en el contenido de clorofila en hojas. En las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ las hojas expandidas se volvieron totalmente cloróticas, para terminar de secarse por completo (Fig. 4.1 B y C). Las tratadas con la menor dosis, inicialmente sólo mostraron de color amarillento la parte basal de las hojas, que eran fuente de fotoasimilados (y por tanto las que más herbicida recibieron), pero luego también presentaron hojas con manchas o totalmente amarillentas. En cuanto a los tallos, en ambos tratamientos, se observaron cambios de color, flacidez y una drástica disminución en el número de estructuras foliares vivas (Fig. 4.1 D y E).

III.2.- EFECTO DEL HERBICIDA SOBRE LOS ÓRGANOS AÉREOS

III.2.1.- HOJA

Entre los 30 y 60 DPA, las dimensiones de las hojas fueron menores debido a un menor crecimiento (Fig. 4.1 E), lo que, consecuentemente, disminuyó la superficie foliar en cada tratamiento. En las plantas sobrevivientes las hojas se localizaron sólo en el extremo de ejes axilares largos basales (Fig. 4.1 A y E), dado que los ejes cortos se necrosaron por completo. Las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ fueron las más afectadas (Fig. 4.1 A). Sus láminas rápidamente se necrosaron, no observándose láminas verdes más allá de los 5 DPA (Fig. 4.1 B y C).

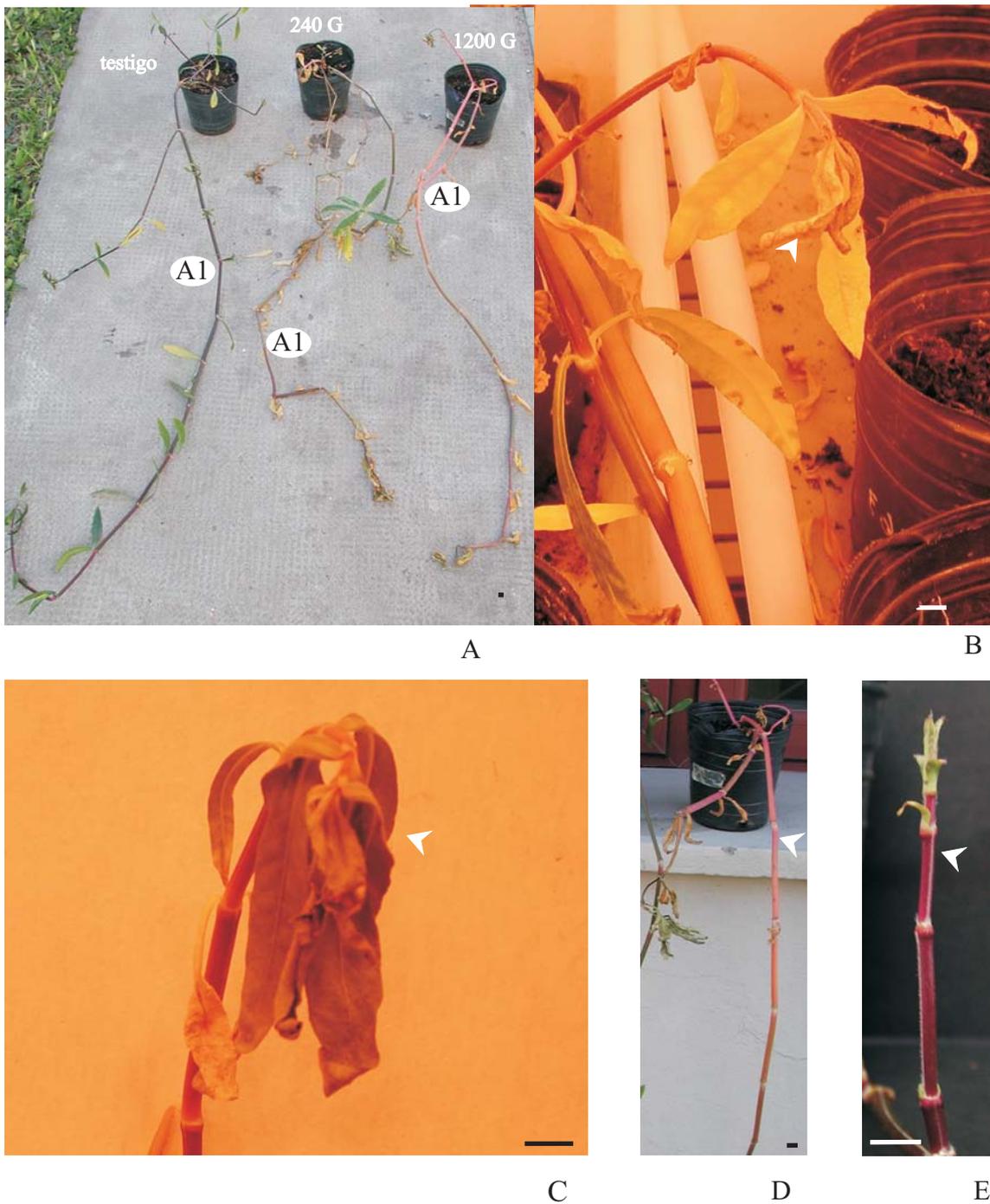


FIGURA 4.1. Síntomas post- aplicación y efecto del herbicida sobre los órganos de *Alternanthera philoxeroides*. **A**: Comparación de los diferentes tratamientos a los 15 DPA. Se observa que las plantas tratadas con 1200 g a.i.ha⁻¹ fueron las más afectadas y que en las plantas sobrevivientes tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹ las hojas se localizaron en el extremo de algunos ejes. **B** y **C** : Síntomas en hojas de plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹. **D** y **E**: Síntomas post- aplicación en tallos. *Referencias*: A1: eje madre. G: g a.i.ha⁻¹. Las flechas señalan el órgano modificado. La línea de referencia corresponde a 1 cm.

III.2.2- TALLO

Los síntomas visuales de la toxicidad del herbicida en los tallos, fueron muy evidentes tempranamente. Por un lado, el color de los tallos viró de verde- rojizo a bordó, o a rosa, adquiriendo estos últimos una notable flacidez (Fig. 4.1 A, F y G). Por otro lado, el crecimiento de este órgano se desaceleró y/o redujo extremadamente. A los 30 DPA, las plantas sobrevivientes mostraron 2 tipos de ejes, unos casi áfilos con la porción apical muerta y otros sólo con 1 o 2 pares de hojas apicales de variada longitud (Fig. 4.1 A, E y F).

Tanto a los 30 como a los 60 DPA hubo una reducción significativa de la altura, (Tabla 4.1). Es decir, en el periodo post- aplicación la altura total de los ejes de las plantas sobrevivientes fue significativamente menor que la del control (Fig. 4.2), debido a la muerte de los entrenudos apicales. El número de ramas, también se vio reducido significativamente (Tabla 4.1; Fig. 4.2), tanto por el deterioro de los ejes como por la falta de producción de nuevas ramas.

Tabla 4.1: ANAVA para altura y número de ramas en *Alternanthera philoxeroides*.

			30 DPT	60 DPT	90 DPT	120 DPT	150 DPT
Altura	<i>Dosis</i>	<i>F</i>	2,68	2,78	3,53*	63,54**	74,07**
		gl	2	2	2	2	2
			90 DPT	120 DPT	150 DPT		
Ramas	<i>Dosis</i>	<i>F</i>	0,44		3,90		5,26*
Totales		gl	2		2		2

* Significativo al 0.05%

**Significativo al 0.01%

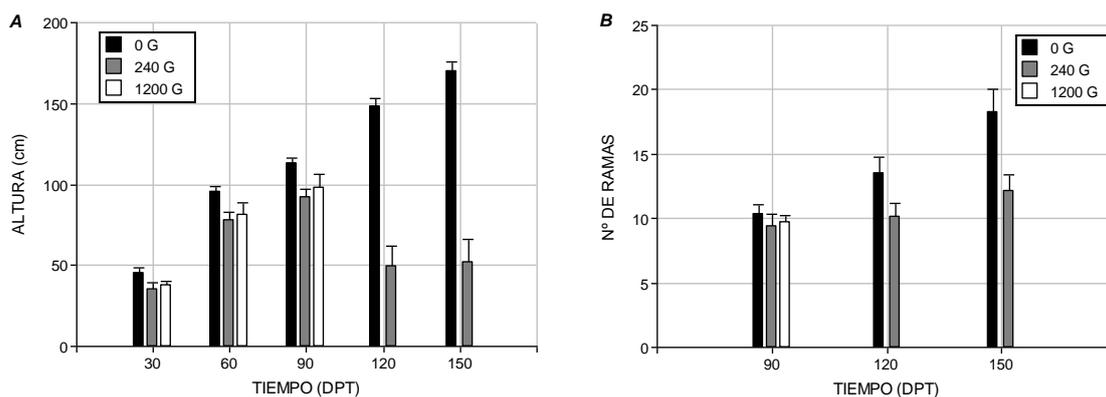


FIGURA. 4.2. Efecto del herbicida sobre parámetros cuantificables de tallo en *Alternanthera philoxeroides*. **A:** Altura media de los ejes madres en todas las fechas de muestreo. **B:** Número de ramas totales por planta a los 90, 120 y 150 DPT. Referencias: G: g a.i.ha⁻¹. Las barras representan el valor de la media \pm error estándar.

III.2.2.- INFLORESCENCIA

El desarrollo de inflorescencias sólo se observó en 4 plantas testigos a los 60 DPA, contando cada planta con una sola inflorescencia.

III.3.- EVALUACIÓN DE PARÁMETROS DE CRECIMIENTO Y BIOQUÍMICOS

III.3.1.- BIOMASA

El crecimiento de esta especie fue inhibido por la aplicación de glifosato. La Fig. 4.3 A muestra que en las plantas sobrevivientes, la biomasa aérea disminuyó significativamente con la aplicación de herbicida a los 60 DPA (Tabla 4.2). Debido a que la superficie foliar resultó muy afectada, la mayor parte de esa biomasa aérea correspondió a tallo.

II.3.2.- CLOROFILA

Comparado con el control, el contenido de clorofila de las plantas tratadas disminuyó inmediatamente post- aplicación (Fig. 4.3 B). ANAVA no mostró diferencias significativas entre dosis de herbicida (Tabla 4.2), no obstante el contenido de clorofila

en hoja fue negativamente dependiente de la concentración utilizada, incluso una semana luego de la aplicación.

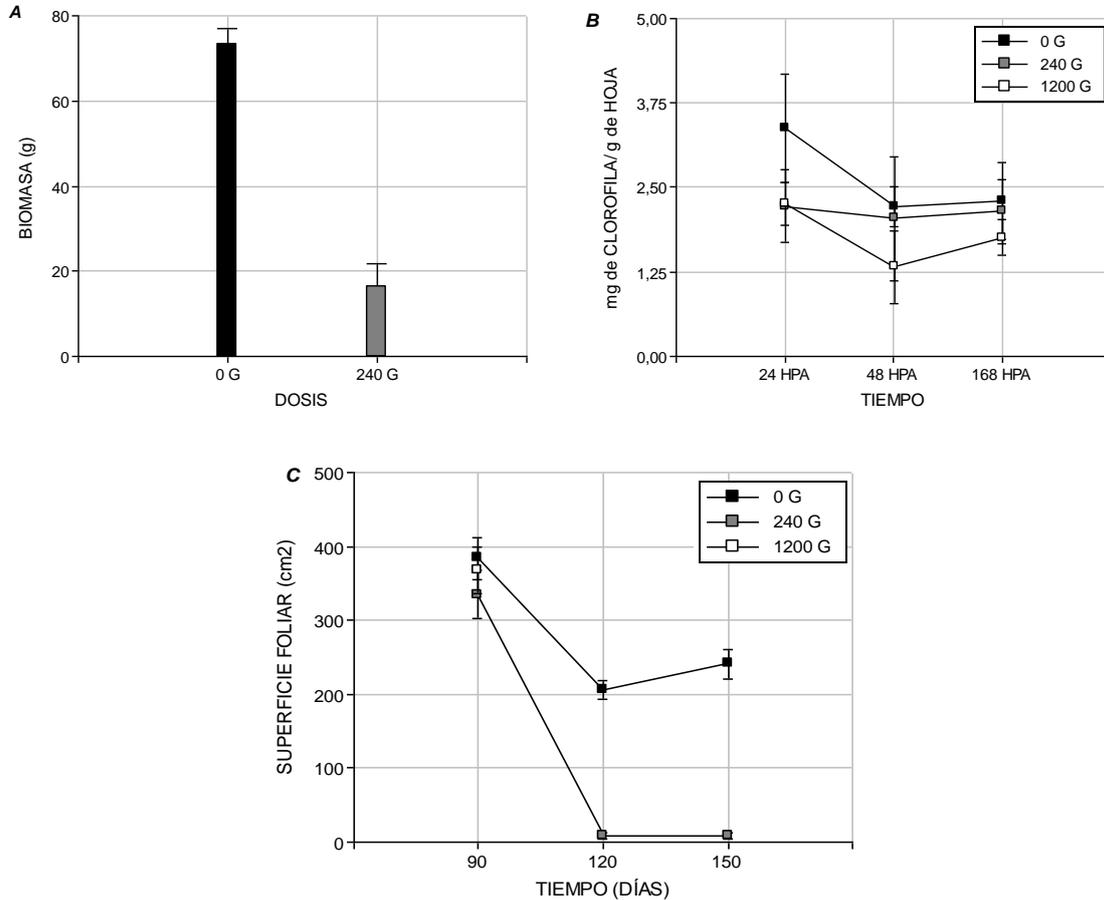


FIGURA 4.3. Variación de parámetros de crecimiento en *A. philoxeroides*: **A:** Biomasa, **B:** Concentración de clorofila total, **C:** Superficie foliar. Referencias: G: g a.i.ha⁻¹. Las barras y los puntos representan el valor de la media \pm error estándar.

III.3.3.- SUPERFICIE FOLIAR

La superficie foliar promedio al igual que el resto de los parámetros disminuyó significativamente en las plantas tratadas (Fig.4.3 C y Tabla 4.2). Bajo condiciones control también se produjo una disminución luego de los 90 DPT, lo que probablemente se relacione con las condiciones de crecimiento utilizadas en este ensayo.

Tabla 4.2. ANAVA para biomasa, clorofila y superficie foliar de *A. philoxeroides*.

		60 DPA			
Biomasa	<i>Dosis</i>	<i>F</i>	86,05**		
		gl	1		
		24 HPA	48 HPA	168 HPA	
Clorofila	<i>Dosis</i>	<i>F</i>	1,25	1,25	1,62
		gl	2	2	2
		90 DÍAS	120 DÍAS	150 DÍAS	
Superficie foliar	<i>Dosis</i>	<i>F</i>	2,41	198,66**	74,34**
		gl	1	1	1

**Significativo al 0.01%

III.4- VARIACIONES ARQUITECTURALES

La baja tolerancia al herbicida causó el deterioro de la mayor parte de los órganos aéreos. Las plantas sobrevivientes mostraron un crecimiento muy lento, lo que sumado al alto porcentaje de mortandad, dificultó el análisis de las variaciones en el modelo, la unidad arquitectural, el modo de exploración y la forma de la mata. Sí se observó que la ramificación continuó siendo lateral, difusa y basítona. Como consecuencia de la muerte de la zona apical de los ejes, estas plantas sólo conservaron vivas ramas basales largas con o sin estructuras foliares, algunas de las cuales hacia el final del ensayo pudieron desarrollar nuevas estructuras foliares y ramas en su porción basal. Las ramas cortas, a diferencia de las largas, se deterioraron tempranamente.

En cuanto a la secuencia foliar, si bien las dimensiones de las hojas fue menor; al igual que en el testigo, las hojas de un mismo fitómero alcanzaron tamaños similares.

IV.- DISCUSIÓN

Todos los individuos a los que se le aplicó glifosato fueron severamente afectados, siendo el nivel de daño positivamente dependiente de la dosis de herbicida. A 1200 g a. i. ha⁻¹ el glifosato controló la maleza totalmente, pero a 240 g a. i. ha⁻¹, si bien controló un alto porcentaje de plantas de *A. philoxeroides*, se observaron sobrevivientes. En éstas, el glifosato afectó su crecimiento, observándose una disminución significativa en el número de ramas totales, la altura, la biomasa y la superficie foliar. Además fue posible reconocer una variedad de síntomas desde los 5 DPA, como cambios en el color de la planta, en el vigor de los tallos y hojas, lo que ya fue visto en otras especies luego de la aplicación herbicida (Lipok, 2009; Pan y col., 2009). Resultados del pre-ensayo indicaron que los individuos de más de 7 ramas eran capaces de tolerar estas dosis. Sin embargo esta evaluación se había realizado a los 7 DPA, y la muerte ocurrió a los 10 DPA.

Para alcanzar el sitio de acción, el glifosato tiene que pasar varias barreras, por lo que la eficacia del control en las malezas está a menudo relacionada con la etapa de crecimiento de las plantas, las relaciones fuente-destino, la cantidad de herbicida absorbido, así como los factores ambientales y la formulación utilizada (Sandberg y col., 1980; Cole, 1983; Li y col., 2005). La conjunción de estos factores, sumado al uso de un biotipo silvestre y de macetas pequeñas para su estudio, ha jugado un rol considerable en la respuesta observada. Biotipos con diferente sensibilidad a glifosato ya han sido reportadas en otras malezas como *Chenopodium album* L. (Westhoven y col., 2008), *Ipomoea purpurea* (L.) Roth. (Baucom y Rodney, 2004), *Senecio vulgaris* L. (Leiss y Müller-Schärer, 2001), *Stellaria media* (L.) Cirillo (Sobey, 1987), *Oriza sativa* L. (Burgos y col., 2011) y *Gomphrena perennis* (Acosta, 2012). En respuesta a las diferentes fuerzas selectivas, la diferenciación en ecotipos es un proceso común en las malezas (Snaydon, 1971; Ransom y col., 1998; Tasrif y col., 2011). En EE.UU., algunos investigadores han identificado dos formas de *A. philoxeroides* que son diferentes, tanto en su morfología como en la sensibilidad a los herbicidas (Wain y col., 1984; Kay, 1992). En China, esta maleza posee muy bajos niveles de variación genética, y sin embargo, se ha adaptado a una amplia gama de hábitats (Geng y col., 2007). Por lo anteriormente expuesto, probablemente la utilización de una población silvestre pudo haber favorecido su alta sensibilidad. Por otro lado, *A. philoxeroides* crece

monopodially, producing stolons, which allows it to develop clones to maintain and renew its populations (Pan et al., 2007). The impossibility of developing stolons, due to the use of small pots, could also have hampered its survival, as has been seen by Dong et al. (2010), as plants that have stolons with long internodes have a significantly higher survival and growth rate in terrestrial environments subjected to disturbances.

Photosynthetic pigments in higher plants, are the basic material for the realization of the photosynthesis process (Pan et al., 2009). Chlorophyll content can indicate the growth state and photosynthetic capacity of the plant (Liu et al., 2006). A positive correlation between chlorophyll decrease and increase in herbicide concentration implies that glyphosate had detrimental effects on the growth of *A. philoxeroides*. Even so, *A. philoxeroides* plants reduced chlorophyll content in leaves immediately after glyphosate application, long before any visual symptom of toxicity was significant. Most herbicides kill weeds by inhibiting photosynthesis and thus their growth (Wang et al., 2009). Glyphosate inhibits the enzyme 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, leading to the accumulation of shikimate-3-phosphate, which results in the decrease of free phosphate; because of this, ribulose 1,5-bisphosphate is not regenerated and the Calvin cycle is blocked (Søbye et al., 2010).

The qualitative comparison of these results, with those obtained in Chapter 1 (although the growth conditions were not the same), allows us to recognize the importance of the basal zone and the development of stolons in the response to glyphosate application in this species. Glyphosate affected the growth of the surviving plants, but in the basal zone these plants preserved a rhizome and viable buds, which at the end of the experiment allowed some plants to regrow. The ability to possess vegetative structures that persist viable in regularly disturbed environments can be considered an advantage over species that establish only from seeds (Vesk and Westoby, 2004). This advantage can be considered not only from the point of view of a rapid re-establishment but also from the greater competitive ability they present (Vít et al., 2008). The ability to regrow rapidly is based on the capacity of some plants to

retener lugares potenciales, yemas, a partir de los cuales hacerlo; y reservas suficientes para llevarlo a cabo (Vesk y Westoby, 2004).

V.- CONCLUSIONES

Si bien el tratamiento herbicida utilizado controló un alto porcentaje de plantas de *A. philoxeroides*, se observaron sobrevivientes a 240 g a. i. ha⁻¹. Debido a que en otros países *A. philoxeroides* es una maleza de difícil erradicación, en Argentina, debe prestarse un especial cuidado en el manejo de esta especie. Las futuras investigaciones deben centrarse en el estudio comparado de poblaciones silvestres y agrícolas, para constatar la existencia de ecotipos. El uso de poblaciones con diferente origen e historia de aplicación de herbicida nos permitirá analizar la posible evolución de esta tolerancia desde los ambientes naturales hacia los agrícolas. También habría que evaluar la importancia del desarrollo de estolones y reservas en la respuesta a glifosato.

CAPÍTULO 5

CARACTERIZACIÓN DEL BANCO DE YEMAS EN *COMMELINA ERECTA* Y *EUSTACHYS RETUSA*

Resumen

En las plantas, el banco de yemas consiste en todos aquellos meristemas que pueden ser usados en la regeneración vegetativa, y su rol es crucial luego de un disturbio. El objetivo de este capítulo fue evaluar morfología, destino, cantidad, tamaño, y viabilidad de las yemas de *Commelina erecta* y *Eustachys retusa* para interpretar el rol que juegan estas estructuras en la regeneración vegetativa post-aplicación de glifosato. El ensayo fue conducido en cámara de crecimiento, para la primera especie y en invernadero para la segunda. Se evaluaron 120 ejes reproductivos de *C. erecta* y 80 ejes reproductivos de *Eustachys retusa*, a los 30 y 60 días post- aplicación. Las dosis utilizadas en *C. erecta* fueron 0, 1.200 y 2.400 g a.i. ha⁻¹ y en *Eustachys retusa*, 0, 240, 480 y 1200 g a.i. ha⁻¹. Ambas especies mantuvieron un número sustancial de yemas latentes y viables, en la zona basal y media de los ejes, aun con las hojas totalmente necrosadas. Estas zonas aportaron la mayor cantidad de ejes al momento del rebrote en ambas especies, siendo *Commelina erecta* la especie más plástica por tener la capacidad de desinhibir un número importante de yemas de la zona media. No obstante, en ambas, la capacidad de rebrotar no se encuentra limitada post- aplicación de glifosato, lo que ayuda a explicar, al menos en parte, su persistencia.

I.- INTRODUCCIÓN

El banco de yemas fue definido por Harper (1977) como poblaciones ocultas de meristemas latentes, que se forman en los rizomas, cormos, bulbos, bulbillos y tubérculos en el suelo. En 2007, Klimešová y Klimeš retomaron este concepto y lo redefinen como todas las yemas que pueden ser utilizadas para la regeneración vegetativa, incluyendo las yemas adventicias, que aparecen sólo después de una lesión, las de renuevo y los fragmentos de plantas acuáticas con yemas que son transportados por el agua. Además, consideran que no necesariamente estas yemas deben ser subterráneas, sino que también hay que incluir las que se ubican por sobre la superficie del suelo (Klimešová y Klimeš, 2007). El banco de yemas constituye una fuente de tejido meristemático, y es esencial para la longevidad de la planta (Busso y col., 2011).

El banco de yemas está estrechamente vinculado con la arquitectura de la planta (Klimešová y Klimeš, 2007) debido a que la arquitectura no es más que el resultado del funcionamiento de sus meristemas (Tourn y col., 1999). La descripción de la arquitectura de un vegetal permite sintetizar el patrón de desarrollo de las plantas, a partir de la caracterización de la morfología de las unidades estructurales elementales

que las forman (Perreta y Vegetti, 2005). Dentro de las unidades de construcción las yemas forman parte del metámero, la mínima unidad (Perreta y Vegetti, 2005), que al repetirse sucesivamente formará el sistema de vástagos (Barlow, 1994). La actividad de los meristemas axilares va modificando el patrón de ramificación del vástago (Shimizu-Sato y Mori, 2001), y por tanto la arquitectura de la planta.

Como muchos procesos de desarrollo, la ramificación y /o el rebrote del vástago están bajo el control de múltiples factores (Horvath y col., 2003; Waldie y col., 2010) y si bien el patrón de ramificación está determinado genéticamente, se caracteriza por tener plasticidad ante diferentes señales ambientales (Barthélémy y Caraglio, 2007; Shimizu-Sato y Mori, 2001). Bajo control genético, la plasticidad permite a las plantas adaptarse a la heterogeneidad espacial y temporal (Fourcaud y col., 2008). Las yemas vegetativas aseguran a la planta el rebrote posterior a un periodo de condiciones ambientales desfavorables (Horvath y col., 2003); convirtiéndose así en partícipes necesarios de la plasticidad fenotípica.

El rebrote es un comportamiento complejo (Vesk y Westoby, 2004), por eso diversos caracteres deben ser considerados en su estudio. Uno es el tamaño de las yemas, el que se halla íntimamente relacionado con la velocidad de respuesta, por ejemplo, las yemas axilares preformadas más grandes que incluyen primordios foliares o profilos representan una inversión inicial relativamente grande en la construcción y mantenimiento, con costos relativamente bajos de activación y una rápida respuesta (Vesk y Westoby, 2004). En diferentes especies, y en las distintas posiciones a lo largo del tallo, las yemas axilares pueden exhibir diferentes grados de desarrollo durante la fase vegetativa (Waldie y col., 2010). Otro, es la posibilidad de distinguir entre meristemas vivos y muertos, lo que mejora ampliamente la estimación de la capacidad de rebrote de una especie (Klimešová y Klimeš, 2007). El total de las yemas axilares por tallo se utiliza como medida indirecta de la capacidad de rebrote (Klimešová y Klimeš, 2007).

La habilidad de rebrote varía a lo largo de la ontogenia (Vesk y Westoby, 2004), lo que se encuentra relacionado no sólo con el tamaño de las yemas sino también con la cantidad de reservas. Esta cantidad varía a lo largo del año, alcanzando su mínimo en primavera y máximo en otoño (Klimešová y Klimeš, 2003). La posibilidad de rebrotar

rápida se basa, en definitiva, en la capacidad de algunas plantas de retener lugares potenciales, yemas, a partir de los cuales brotar; y reservas suficientes para llevarlo a cabo (Vesk y Westoby, 2004).

La tolerancia a un herbicida involucra diversos mecanismos que posibilitan la permanencia de la maleza en el agroecosistema. La regeneración vegetativa desde el banco de yemas es una estrategia exitosa en los hábitats perturbados (Hendrickson y Briske, 1997; Klimešová y Klimeš, 2003), por lo que también podría ser uno de los mecanismos que refuerzan la persistencia de una maleza en el agrosistema. Muchas especies consideradas malezas suelen rebrotar luego de la aplicación de herbicida (Malpassi, 2005; Acosta, 2012; Panigo y col., 2012) dado que tienen formas de crecimiento que aseguran la supervivencia de yemas (Malpassi, 2005; Panigo y col., 2012), así como órganos reservantes que posibilitan la brotación aún cuando gran parte de la masa foliar ha sido afectada (Panigo y col., 2012). De la misma manera, Latzel y col. (2008), en su trabajo en ambientes urbanos encontraron que la regeneración vegetativa a partir del banco de yemas puede jugar un papel importante en el restablecimiento de la vegetación después de perturbaciones, como la aplicación de herbicida, en especies de ambientes urbanos. Bajo condiciones traumáticas, la producción, viabilidad y/o activación de las yemas axilares, y por tanto el rebrote potencial de una especie, podrían estar limitados (Busso y col., 1989). Diversos trabajos han evaluado la importancia ecológica del banco de yemas frente a situaciones traumáticas como la defoliación, el pastoreo, la sequía, (Busso y col., 1989; Becker y col., 1997; Hendrickson y Briske, 1997; Flemmer y col., 2002; Busso y col., 2011). Sin embargo, ningún estudio ha evaluado la importancia del banco de yemas en una especie maleza después de la aplicación de glifosato. Entender los mecanismos que controlan el crecimiento vegetal y la latencia/viabilidad es crucial para la solución de muchos problemas en la agricultura (Horvath y col., 2003). El objetivo de este capítulo es evaluar morfología, destino, cantidad, tamaño, y viabilidad de las yemas de *C. erecta* y *E. retusa* para interpretar el rol que juegan en la regeneración vegetativa post-aplicación de glifosato.

II.- MATERIALES Y MÉTODOS

II.a.- MATERIAL VEGETAL Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO

Se evaluaron en total 120 ejes reproductivos de *C. erecta* y 80 ejes reproductivos de *E. retusa*. Se seleccionaron ejes y/o macollos reproductivos porque la diferenciación de las yemas axilares cesa al momento de la floración (Hendrickson y Briske, 1997).

El ensayo se realizó bajo condiciones similares de crecimiento que los ensayos de respuesta al glifosato. Para *C. erecta* se coleccionaron semillas a partir de plantas provenientes de poblaciones no expuestas en forma directa a aplicaciones de glifosato, en la ciudad de Esperanza (31° 26'S- 60° 55'O) en la provincia de Santa Fe, Argentina. Los ejes de *C. erecta* crecieron en macetas de medio litro en cámara de crecimiento, bajo condiciones constantes de riego, temperatura y luminosidad (27°C de día y 19°C en la noche, con un fotoperiodo de 14 horas, la irradiación fue de 180 μ E). *Eustachys retusa* creció en macetas de dos litros en invernadero; con registro diario de la temperatura (Fig. 5.1). Al ser una especie estival, la siembra se realizó en marzo- abril de 2011. Durante el ensayo las plantas fueron regadas diariamente para mantener un nivel de humedad adecuado en la maceta y no hubo adición de nutrientes. En ambas especies, la unidad de muestreo fue el eje principal o embrionario y hasta 2 ramas en estadio reproductivo por maceta. Estas ramas estuvieron florecidas al momento de la extracción, pero no necesariamente al momento del tratamiento.

II.b.- TRATAMIENTO HERBICIDA

El herbicida fue aplicado como solución acuosa de glifosato Estrella®, con un pulverizador con presión constante de 275 kPa, impulsado por dióxido de carbono y provisto de una barra porta picos equipada con una pastilla de tipo abanico plano, utilizando un volumen de caldo equivalente a 200 L ha⁻¹. En *C. erecta* se evaluaron 10 ejes embrionarios (provenientes de semilla) y 10 ejes clonados (VCA) con 3 diferentes concentraciones de glifosato (0, 1200 y 2400 g a.i.ha⁻¹), en cada fecha de muestreo (30 y 60 DPA). Las plantas fueron tratadas cuando tenían entre 6- 8 hojas expandidas. En *E. retusa* se realizó el tratamiento herbicida cuando el total de los ejes embrionarios se encontraba en floración, lo que se produjo a principio del mes de diciembre, dado que en estado prefloral resultó sensible al glifosato (ver Capítulo 3). Se utilizaron también,

10 ejes por tratamiento, por fecha de muestreo, a los que se les aplicó 4 dosis de herbicida: 0 (control), 240, 480 y 1200 g a.i. ha⁻¹.

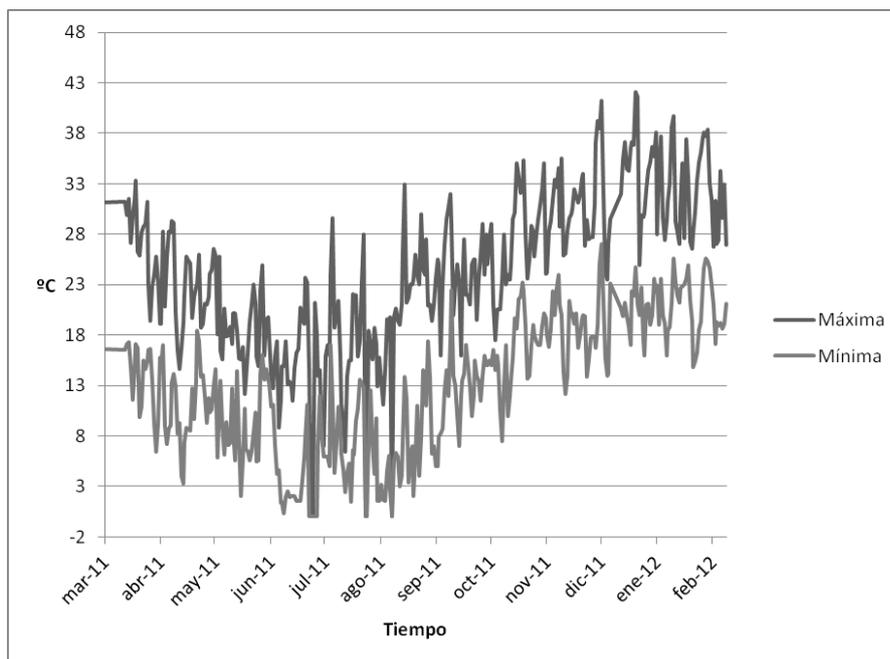


FIGURA 5.1. Valores de las temperaturas máximas y mínimas (°C) en el experimento de *Eustachys retusa*.

II.c.- CARACTERIZACIÓN DE LAS YEMAS

Ambas especies fueron muestreadas a los 30 y 60 días post-aplicación (DPA). Se determinó el efecto de la aplicación del herbicida sobre número, morfología, destino / rol, tamaño y actividad respiratoria de las yemas axilares de la siguiente forma:

- Morfología: se describió la yema teniendo en cuenta su forma y las características del perfilo que la encierra.
- Número de yemas según el destino o rol: (1) yemas que habían crecido para formar tallos, o rizomas (vivos o muertos), (2) meristemas axilares visibles (yemas), (3) ausentes y (4) cicatrices de yemas.
- Número total de yemas: el total de las yemas axilares por tallo resultó de la suma acumulada de las categorías del punto anterior. Se utiliza como medida indirecta de la capacidad de rebrote (Klimešová y Klimeš, 2007).

- Tamaño: las yemas de categoría (2) se diseccionaron, y se determinó en ellas su longitud desde el ápice del profilo hasta el punto de inserción en el tallo. En cada especie, para cada fecha de muestreo, el análisis del tamaño de la yema se exhibió a dos niveles. En el primero se evaluó qué tratamiento tuvo la mayor velocidad de rebrote. En el segundo se diferenció a cada yema según la zona a la que pertenece (basal, media o apical) con el objetivo de examinar qué zona fue potencialmente más dinámica, para así establecer una relación con la velocidad de rebrote.
- Actividad respiratoria/viabilidad: se determinó en las yemas de categoría (2) según el procedimiento de doble tinción con 2, 3, 5 cloruro de trifenil tetrazolio (TTC) y azul de Evans descrito por Busso y col. (1989). A partir del mismo es posible diferenciar tejidos metabólicamente activos y distinguir entre yemas muertas y vivas en latencia. Se distinguieron 3 tipos: (1) muertas (se tiñen con azul de Evans), (2) vivas y activas (se tiñen con TTC) y (3) vivas pero en latencia (no se tiñen con ninguno de los reactivos utilizados) (Fig. 5.2).

II.d.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó el software InfoStat (Di Rienzo y col., 2010). En cada fecha de muestreo el tamaño, el número y la viabilidad de yemas fue analizado usando ANOVA y un test para las diferencias entre medias de los tratamientos utilizando el LSD Fisher con $P = 0,05$. La importancia estadística de las proporciones calculadas para el destino y la actividad respiratoria se analizó mediante el test Chi-cuadrado (con $P < 0,05$) en cada fecha de muestreo. Particularmente en *C. erecta*, al existir tres vías de clasificación se analizó la importancia estadística con la Prueba de Cochran-Mantel-Haensze.

Cada especie se analiza estadísticamente de forma separada, la desigual forma de crecimiento entre especies imposibilita un análisis estadístico comparativo en la categorización de yemas. *C. erecta* se trabajó como un arreglo factorial 3×2 (3 dosis de herbicida y 2 orígenes de plantas) y en *E. retusa*, como un diseño al azar.

III.- RESULTADOS

III. 1.- MORFOLOGÍA DE LAS YEMAS

Las yemas axilares de *C. erecta* son estructuras triangulares, ovadas o lanceoladas, de ápice y base curvados, siendo las basales más cónicas que el resto. (Fig. 5.2 A). El perfil es delgado y rodea totalmente a la yema (Fig. 5.2 A). El color varía entre blanco translúcido, verde, o marrón, según la edad de la yema; siendo transparente cuando joven y oscureciéndose en los viejos.

En *E. retusa*, la forma de las yemas es también triangular pero menos redondeada. Se encuentran encerradas por un perfilo endurecido (Fig. 5.2 D y E). Al igual que en *C. erecta*, el color de la yema varía con la edad entre verde pálido, amarillento y marrón (de joven a viejo) (Fig. 5.2 E).

En ambas especies, la morfología descrita no se modificó post- aplicación de glifosato. Sólo se observó, en plantas tratadas con gran parte de la biomasa aérea necrótica, mayor número de yemas con tonalidades marrones, las que no estaban necesariamente muertas.

III. 2.- CATEGORIZACIÓN DE LAS YEMAS SEGÚN SU DESTINO

En ambas especies, la mayoría de los ejes presentaron una alta proporción de yemas que formaron ramas o que permanecieron como meristemas axilares visibles y un porcentaje bajo de yemas ausentes (observándose su cicatriz) o no formadas. En *E. retusa* el valor de yemas no formadas fue casi constante, porque en los últimos 2-3 nudos que forman la zona apical de estos ejes nunca se observó la formación de yemas.

En *C. erecta* las proporciones de yemas entre los principales destinos variaron de manera diferente en función del origen de las plantas (Fig. 5.3), existiendo relación entre el origen de las plantas, la dosis aplicada y el destino de la yema sólo a los 30 DPA (Tabla 5.1). En ambas fechas de muestreo el control y las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ originadas de semilla tuvieron mayor proporción de yemas sin rebrotar mientras que en las tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ la mayor proporción de nudos presentan ramas desarrolladas.

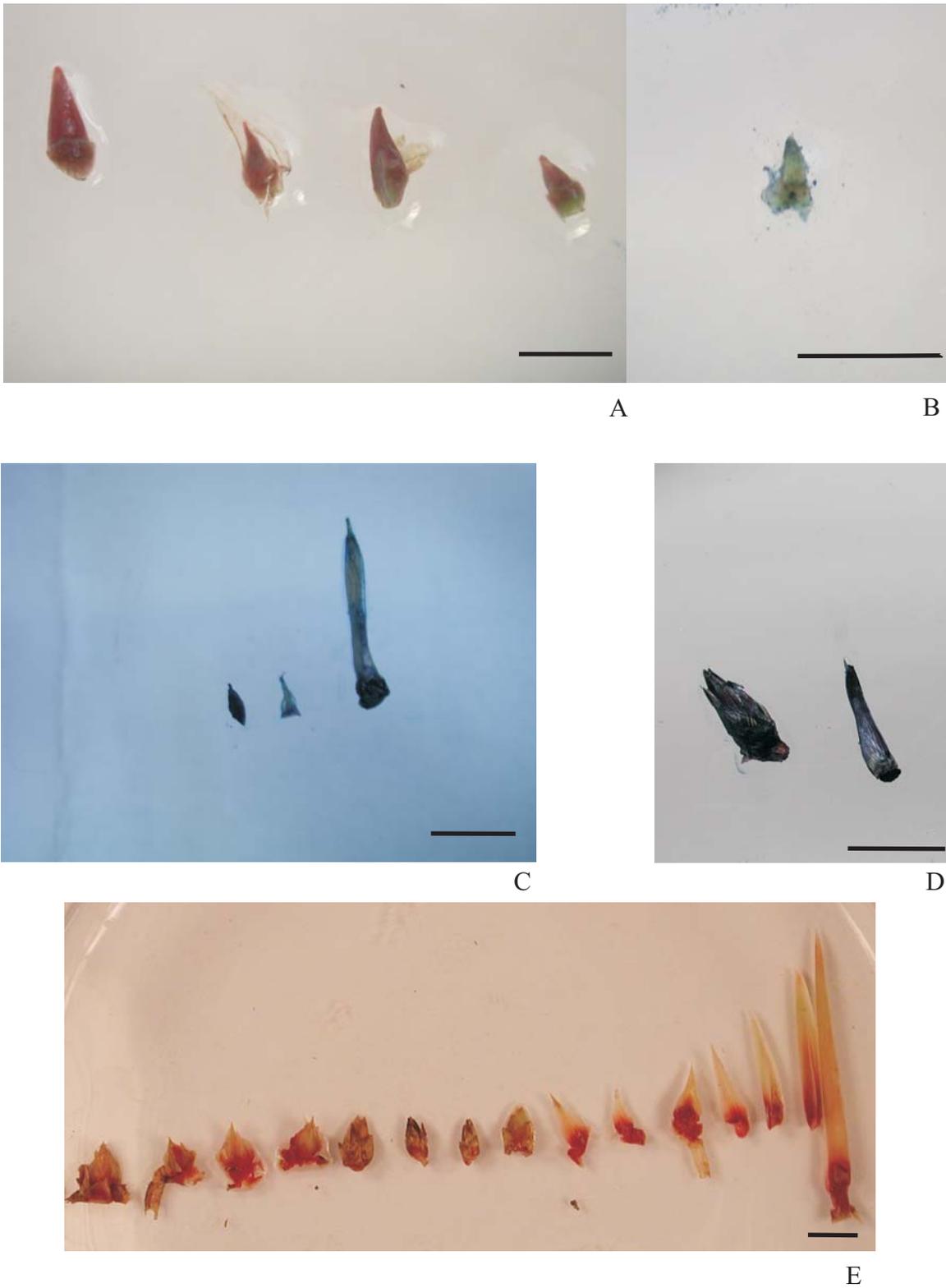


FIGURA 5.2. Morfología de yemas en *C. erecta* y *E. retusa*. **A:** Yemas viables de *C. erecta*. **B:** Yema latente de *C. erecta*. **C:** Yemas muertas (izquierda) y latentes (derecha) de *C. erecta*. **D:** Yemas muertas de *E. retusa*. **E:** Yemas viables de *E. retusa*. La línea de referencia corresponde a 0,5 cm.

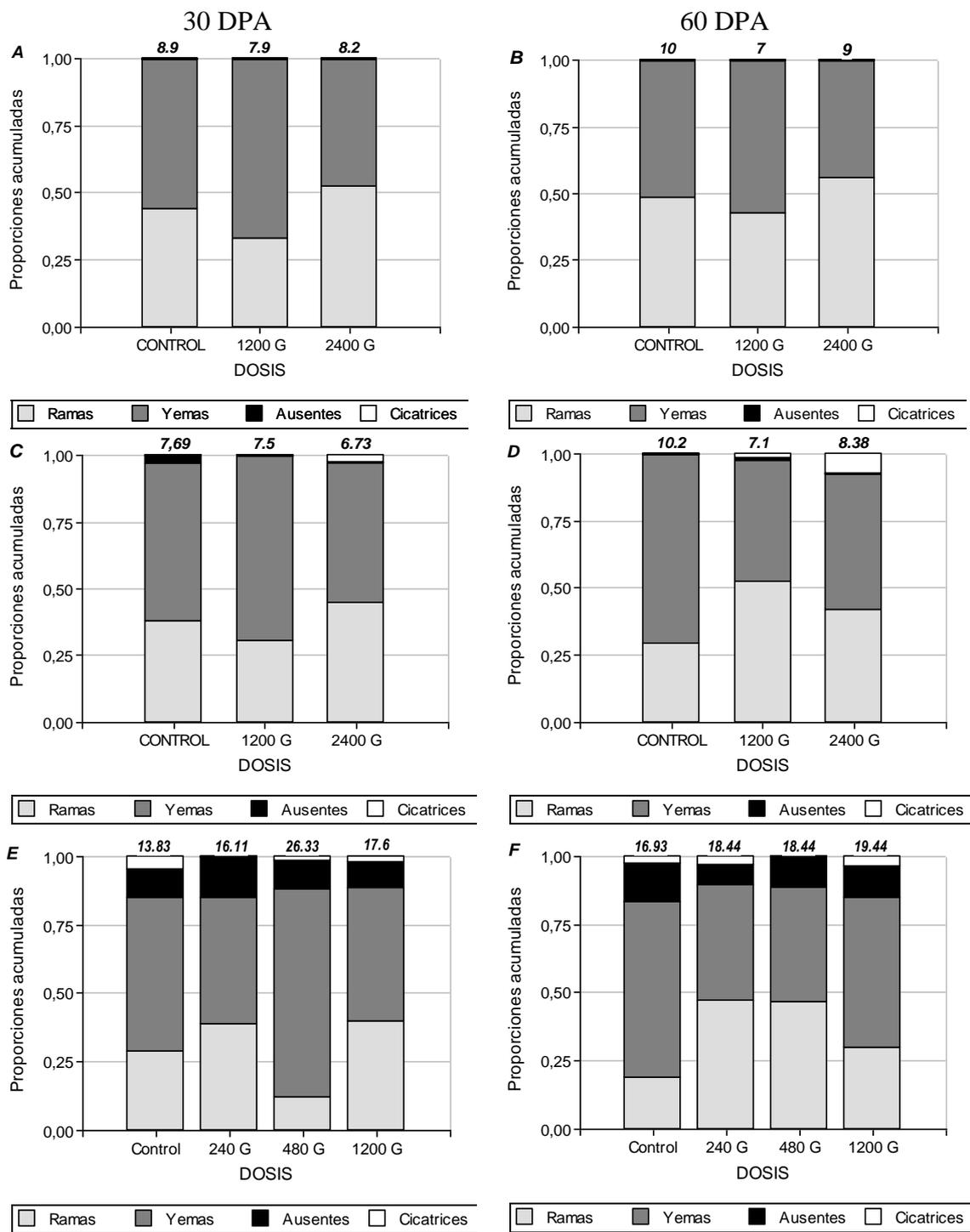


FIGURA. 5.3. Número promedio de yemas por ejes en cada tratamiento (números arriba de las barras) y porcentaje relativo de las funciones de esas yemas: **A** y **B**: Plantas de semilla de *C. erecta*. **C** y **D**: Plantas VCA de *C. erecta*. **E** y **F**: Plantas de *E. retusa*. Referencias: G: g a.i.ha⁻¹

Tabla 5.1. Chi- cuadrado para el destino de las yemas

		<i>C. erecta</i>		<i>E. retusa</i>	
		30 DPA	60 DPA	30 DPA	60 DPA
Chi- cuadrado	<i>Estadístico</i>			53,76	52,35
Pearson	<i>p-valor</i>			<0,0001*	<0,0001*
Cochran-Mantel- Haenszel	<i>Estadístico</i>	20,65	11		
	<i>p-valor</i>	0,0021*	0,0884		

* Significativo al 0.05%

Por el contrario, en las plantas VCA el comportamiento varió entre fechas. A los 30 DPA todos los tratamientos conservaron una mayor proporción de yemas mientras que 60 DPA las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ se comportaron en forma distinta desarrollando mayor proporción de ramas.

Entre las diferentes dosis podemos ver que: en las plantas control la mayor proporción de yemas persistió como meristema axilar, en las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ la mayoría de los meristemas axilares permanecieron como yemas, excepto para las plantas VCA a los 60 DPA, mientras que en la dosis más alta (2400 g a.i. ha⁻¹) en las plantas de semilla la mayor proporción de meristemas generó ramas y en las plantas VCA hubo mayor proporción de yemas axilares visibles. El tratamiento herbicida tendió a aumentar la proporción de meristemas que desarrollan ramas en la dosis letal y que permanecen como yemas en la subletal, excepto en los VCA a los 60 DPA.

En *E. retusa* en ambas fechas de muestreo existió relación entre la dosis aplicada y la proporción de cada destino (Tabla 5.1). Sin embargo el destino predominante varió entre fechas y tratamientos. Del total de meristemas axilares por eje, la mayor proporción se mantuvo como yema en todos los tratamientos, excepto a los 60 DPA en las plantas tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹ y 480 g a.i. ha⁻¹ (Fig. 5.3 F). La aplicación herbicida aumentó la proporción de ramas en todos los tratamientos, excepto en las plantas tratadas con 480 g a.i. ha⁻¹, a los 30 DPA (Fig. 5.3 E). Éstas constituyen un caso especial, donde si bien la proporción destinada a ramas es menor, el número total de

yemas es significativamente mayor (Tabla 5.2) que el de los restantes tratamientos, lo que provocaría tal desviación.

III. 3. - NÚMERO TOTAL DE YEMAS POR EJE

En *C. erecta* el número total de yemas por eje reproductivo a los 30 DPA fue significativamente menor en las VCA (Tabla 5.2), mientras que a los 60 DPA ambos orígenes exhibieron valores similares pero con diferencias significativas entre las diferentes dosis para cada tipo de planta (Tabla 5.2). Tanto en plantas de semilla como en VCA, el control tuvo mayor número de yemas y las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ el menor (Tabla 5.3).

En *E. retusa* sólo se encontraron diferencias significativas entre dosis a los 30 DPA (Tabla 5.2), donde las plantas tratadas con 480 g a.i. ha⁻¹ presentaron el mayor número, valor que duplicó al del control (Tabla 5.3). Si bien a los 60 DPA no existieron diferencias significativas el tratamiento herbicida aumentó el número total de yemas en todas las dosis con respecto al control.

Tabla 5.2. ANAVA para el número total de yemas por eje a los 30 y 60 DPA

			30 DPA	60 DPA
<i>C. erecta</i>	DOSIS	<i>F</i>	1,03	9,97*
		gl	2	2
	ORIGEN	<i>F</i>	4,27 *	0,04
		gl	1	1
	DOSIS X ORIGEN	<i>F</i>	0,41	0,21
		gl	2	2
<i>E. retusa</i>	DOSIS	<i>F</i>	8,26*	1,33
		gl	3	3

* Significativo al 0.05%

Tabla 5.3. Número total de yemas por ejes en cada tratamiento a los 30 y 60 DPA (media \pm error estándar)

	DOSIS	30 DPA	60 DPA
<i>C. erecta</i> SEMILLA	Control	8,90 \pm 0,63 B	10,0 \pm 0,65 B
	1200 G	7,90 \pm 0,63 A B	7,00 \pm 0,71 A
	2400G	8,20 \pm 0,63 A B	9,00 \pm 0,71 A B
<i>C. erecta</i> VCA	Control	7,69 \pm 0,63 A B	10,2 \pm 0,85 B
	1200 G	7,50 \pm 0,63 A B	7,10 \pm 0,60 A
	2400G	6,73 \pm 0,63 A	8,38 \pm 0,67 A B
<i>E. retusa</i>	Control	13,83 \pm 1,93 A	6,93 \pm 0,81 A
	240 G	16,11 \pm 1,57 A	18,14 \pm 1,01 A
	480G	26,33 \pm 1,93 B	18,44 \pm 1,01 A
	1200 G	17,60 \pm 1,93 A	19,44 \pm 1,01 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Referencias: G: g a.i.ha⁻¹

III. 4.- TAMAÑO DE LAS YEMAS POR TRATAMIENTO

En *C. erecta*, a los 30 DPA hubo diferencias significativas entre dosis de herbicida (Tabla 5.4). Todas las plantas tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ y las VCA control presentaron las yemas de mayor tamaño, difiriendo significativamente de las plantas de semillas control que tuvieron las más pequeñas. Las plantas de semillas y VCA tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ tuvieron tamaños intermedios. A los 60 DPA existieron diferencias bien claras entre orígenes, siendo las yemas de las plantas de semillas significativamente más grandes que las de los VCA (Tabla 5.4). Sin embargo, hubo interacción entre factores ($P < 0.05$), debido a que la variación de tamaño entre orígenes no fue igual. En las de semillas, al igual que en la fecha anterior, el mayor tamaño lo exhibieron las tratadas con las menor dosis y el menor, el control. En las VCA, por el contrario se invirtió el efecto. Las tratadas con la menor dosis tuvieron el menor valor promedio y el control, el mayor. Es decir, a excepción de las VCA a los 60 DPA, el herbicida aumentaría la velocidad de rebrote a dosis bajas, mientras que a dosis alta, la aumentaría en la de semillas, pero la disminuiría en las VCA.

Tabla 5.4. Tamaño promedio (cm) de yemas por tratamiento a los 30 y 60 DPA (medias \pm error estándar)

	DOSIS	30 DPA	60 DPA
<i>C. erecta</i> SEMILLA	Control	0,31 \pm 0,04 A	0,50 \pm 0,04 B
	1200 G	0,51 \pm 0,04 B	0,63 \pm 0,06 B
	2400G	0,42 \pm 0,04 A B	0,53 \pm 0,05 B
<i>C. erecta</i> VCA	Control	0,46 \pm 0,04 B	0,38 \pm 0,05 A
	1200 G	0,50 \pm 0,04 B	0,26 \pm 0,05 A
	2400G	0,43 \pm 0,06 A B	0,35 \pm 0,05 A
<i>E. retusa</i>	Control	0,85 \pm 0,08 A	0,88 \pm 0,05 A B
	240 G	1,16 \pm 0,08 B	0,93 \pm 0,08 A B
	480G	0,68 \pm 0,06 A	0,99 \pm 0,07 B
	1200 G	0,69 \pm 0,09 A	0,79 \pm 0,06 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p \leq 0,05$). Análisis independiente en cada especie.

Referencias: G: g a.i.ha⁻¹

En *E. retusa* a los 30 DPA, las yemas de las plantas tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹ fueron significativamente más grandes que el resto (Tabla 5.4). A los 60 DPA, las tratadas con 480 g a.i. ha⁻¹ fueron significativamente más grandes que las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹, y el resto tuvo tamaño intermedio. En *E. retusa* el tamaño tendió a aumentar con las dosis más bajas y a disminuir con la dosis más alta.

III. 5.- TAMAÑO DE LAS YEMAS SEGÚN ZONAS ESTRUCTURALES

En *C. erecta*, el ANAVA sólo detectó diferencias significativas por origen a los 30 DPA en la zona apical y a los 60 DPA en la basal y media (Tabla 5.5). Por dosis hubo diferencias significativas a los 30 DPA en la zona media y apical, y a los 60 DPA en la basal (Tabla 5.5). Como muestra la Fig. 5.4, el efecto de la dosis de herbicida fue diferente entre orígenes. En las plantas de semillas tratadas la zona de mayor velocidad de rebrote sería la media, mientras que en el control sería la basal, a los 30 DPA (Fig. 5.4 A). Por el contrario, a los 60 DPA, en las plantas tratadas las yemas de mayor tamaño de encuentran en la zona basal, mientras que en el control es la media. Es decir, en ambas fechas el tratamiento herbicida pareció alterar el tamaño de las yemas.

Tabla 5.5. ANAVA para el tamaño de yemas por zonas

<i>C. erecta</i>			30	60
BASAL	Origen	<i>F</i>	0,84	37,02**
		gl	1	1
	Dosis	<i>F</i>	0,15	4,11*
		gl	2	2
	Origen x Dosis	<i>F</i>	3,55*	5,97**
		gl	2	2
MEDIA	Origen	<i>F</i>	0,38	15,13**
		gl	1	1
	Dosis	<i>F</i>	6,82**	2,03
		gl	2	2
	Origen x Dosis	<i>F</i>	9,36**	1,07
		gl	2	2
APICAL	Origen	<i>F</i>	5,58*	0,23
		gl	1	1
	Dosis	<i>F</i>	4,25*	1,30
		gl	2	2
	Origen x Dosis	<i>F</i>	2,96	3,20
		gl	2	2
<i>E. retusa</i>				
BASAL	Dosis	<i>F</i>	20,91**	13,68**
		gl	3	3
MEDIA	Dosis	<i>F</i>	7,13**	1,84
		gl	3	3
APICAL	Dosis	<i>F</i>	-	-
		gl	-	-

* Significativo al 0.05%

**Significativo al 0.01%

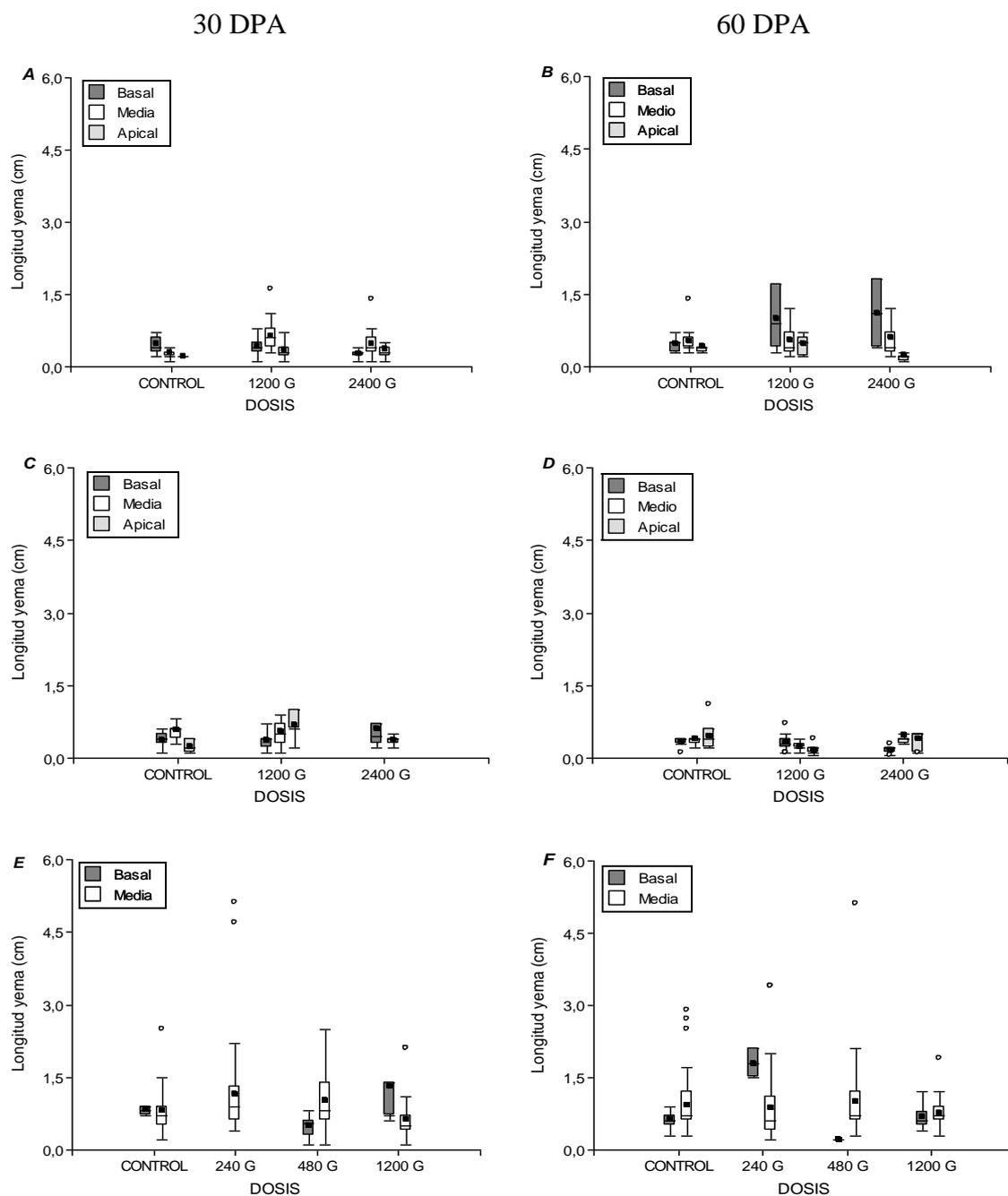


FIGURA. 5.4. Longitud de yema según la posición que ocupan en el eje reproductivo y la concentración de glifosato utilizada. **A** y **B**: Plantas de semilla de *C. erecta*; **C** y **D**: Plantas VCA de *C. erecta*; **E** y **F**: Plantas de *E. retusa*. El cuerpo de la caja representa el rango entre el percentil 25 y 75. Las líneas en el cuerpo de la caja representa la mediana y los bigotes marcan el percentil 5 y 95. (○): valores extremos fuera de los bigotes. (■): Valor de la Media. Referencias: G: g a.i.ha⁻¹

En las VCA la zona de mayor velocidad varió con el tratamiento y la fecha (Fig. 5.4 B y C). A los 30 DPA, en el control fueron las yemas de la zona media y las apicales a los 60 DPA. En las tratadas con la menor dosis fueron las apicales a los 30 DPA y las basales a los 60 DPA. En las tratadas con la mayor dosis fueron las basales a los 30 DPA y las de la zona media a los 60 DPA.

Como se observa en la Fig. 5.4, existió una disminución progresiva de tamaño hacia la parte apical del tallo, a los 30 DPA sólo en las plantas de semillas control, y a los 60 DPA en las de semilla y VCA tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹. Por el contrario, se observó un aumento progresivo de tamaño hacia la parte apical del tallo, en las VCA tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ a los 30 DPA y en las VCA control a los 60 DPA.

En *E. retusa*, el ANAVA detectó diferencias significativas de tamaño tanto en la zona basal como media a los 30 DPA y sólo en la zona basal a los 60 DPA (Tabla 5.5). Las diferencias fueron inherentes a la cantidad de glifosato aplicado, dado que las plantas control tuvieron tamaños intermedios en ambas zonas. En esta especie, las yemas con la mayor velocidad de rebrote a los 30 DPA, serían las basales en las plantas control y en las tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ y las medias en las tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹ y 480 g a.i. ha⁻¹. A los 60 DPA las de mayor velocidad de rebrote serían las basales en las tratadas con 240 g a.i. ha⁻¹ y las medias en el control, las tratadas 480 g a.i. ha⁻¹ y 1200 g a.i. ha⁻¹.

III. 6.- ACTIVIDAD RESPIRATORIA/ VIABILIDAD

En *C. erecta* a los 30 DPA, en ambos orígenes, las plantas tratadas con la mayor dosis, tuvieron la mayor proporción de yemas viables y la menor de latentes (Fig. 5.5 A y B). Las plantas de semilla tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ fueron las únicas de semilla que presentaron yemas muertas, mientras que en las VCA, la proporción de muertas fue similar entre tratamientos. El ANAVA no detectó diferencias significativas para el número de yemas en cada actividad respiratoria (Tabla 5.6), sin embargo, se sí detectaron diferencias significativas entre las proporciones relativas de yemas viables, no viables y latentes, por lo que la proporción de yemas para cada la actividad respiratoria fue dependiente del origen y de la dosis aplicada (Tabla 5.7).

Tabla 5.6. ANAVA para la actividad respiratoria de las yemas

<i>C. ERECTA</i>	FACTOR		30	60
VIABLES	Origen	<i>F</i>	0,13	0,46
		gl	1	1
	Dosis	<i>F</i>	0,97	4,85*
		gl	2	2
	Origen x Dosis	<i>F</i>	0,03	1,43
		gl	2	2
NO VIABLES	Origen	<i>F</i>	0,02	0,63
		gl	1	1
	Dosis	<i>F</i>	1,92	1,71
		gl	2	2
	Origen x Dosis	<i>F</i>	1,87	3,6*
		gl	2	2
LATENTES	Origen	<i>F</i>	0,12	0,07
		gl	1	1
	Dosis	<i>F</i>	2,30	0,13
		gl	2	2
	Origen x Dosis	<i>F</i>	0,04	2,14
		gl	2	2
<i>E. RETUSA</i>				
VIABLES	Dosis	<i>F</i>	10,29**	0,97
		gl	3	3
NO VIABLES	Dosis	<i>F</i>	-	1,11
		gl	-	3
LATENTES	Dosis	<i>F</i>	2,07	0,42
		gl	3	3

* Significativo al 0.05%

**Significativo al 0.01%

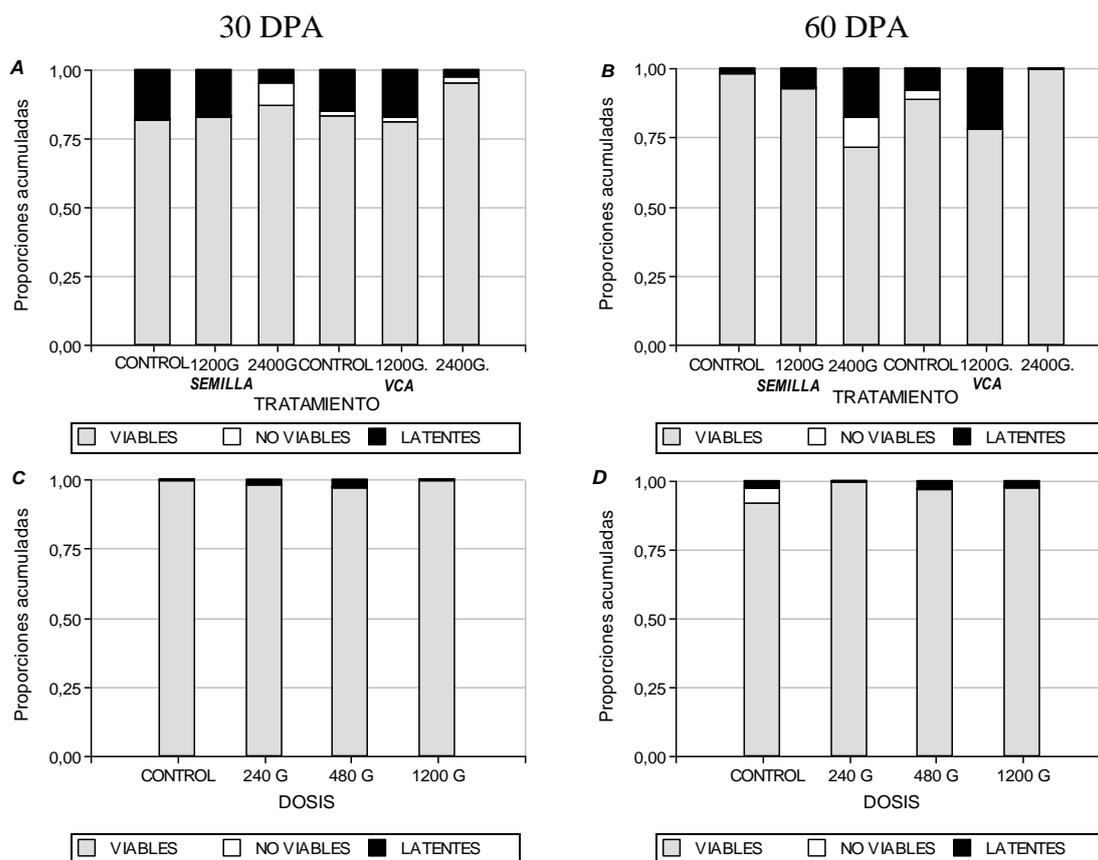


FIGURA 5.5. Proporción relativa de yemas viables, no viables y latentes, en cada tratamiento a los 30 y 60 DPA: **A y B:** Plantas de *C. erecta*; **C y D:** Plantas de *E. retusa*. Referencias: G: g a.i.ha⁻¹

Tabla 5.7. Chi- cuadrado para la actividad respiratoria de las yemas

		<i>C. erecta</i>		<i>E. retusa</i>	
		30 DPA	60 DPA	30 DPA	60 DPA
Chi- cuadrado	<i>Estadístico</i>			4,22	13,44
Pearson	<i>p-valor</i>			0,2391	0,0365*
Cochran-Mantel- Haenszel	<i>Estadístico</i>	14,28	19,30		
	<i>p-valor</i>	0,0064*	0,0007*		

* Significativo al 0.05%

A los 60 DPA al igual que la fecha anterior las plantas VCA tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹, tuvieron una cantidad significativamente mayor de yemas viables (100 %) (Tabla 5.6). El resto de los tratamientos presentaron además, yemas latentes, siendo las VCA tratadas con 1200 g a.i. ha⁻¹ las que mostraron la mayor proporción. Yemas muertas sólo se encontraron en VCA control y en las plantas de semilla tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹. Si bien no se observaron diferencias significativas debidas al origen (Tabla 5.6), en la Fig. 5.5 A y B se puede ver que en las plantas de semilla, la proporción de yemas latentes aumentó con la dosis de glifosato; mientras que en las plantas VCA, se elevó la proporción de yemas viables con la mayor dosis y la proporción de yemas latentes con la menor dosis. Al igual que a los 30 DPA, existió relación entre todas las variables (Tabla 5.7).

En *E. retusa* sólo se observaron diferencias importantes estadísticamente a los 30 DPA, donde las plantas tratadas con 480 g a.i. ha⁻¹ tuvieron un número significativamente mayor de yemas viables al resto (Tabla 5.6), pero no la mayor proporción (Fig. 5.5 C). En esta especie, a diferencia de la anterior hubo una alta proporción de yemas viables, llegando al cien por ciento en las plantas control, en las tratadas con la mayor dosis a los 30 DPA y en las tratadas con la menor dosis a los 60 DPA (Fig. 5.5 C y D). El resto de los tratamientos conservó un pequeño porcentaje de yemas latentes, y no presentó yemas muertas, a excepción del control a los 60 DPA (Fig. 5.5 D). Esta respuesta determinó que sólo en esta fecha la actividad respiratoria de la yema sea dependiente de la dosis aplicada (Tabla 5.7).

IV.- DISCUSIÓN

Uno de los factores que contribuye a la persistencia y adaptación de estas especies en los agroecosistemas con uso intensivo de glifosato, es la elevada capacidad de rebrote que poseen, gracias a la alta proporción de yemas viables que presentaron. Sólo se observó muerte de yemas en plantas de *C. erecta* (1) de semilla tratadas con 2400 g a.i. ha⁻¹ a los 30 y 60 días y (2) en las todos los tratamientos de las VCA a los 30 DPA, y a los 60 DPA sólo en el control. El aumento de la proporción de yemas muertas

en plantas de *C. erecta* a altas dosis, muestra que el herbicida afecta potencialmente el número de ramificaciones. La presencia de yemas muertas en las VCA en el control a 30 y 60 DPA, probablemente se relacionó con la edad de estos meristemas. Para *E. retusa*, se observaron unas pocas yemas muertas sólo en el control y para la última fecha por lo que el herbicida no tendría efecto sobre la muerte de yemas en esta especie.

Los elevados niveles de yemas viables con respecto al número de yemas muertas y latentes en todos los tratamientos, potencialmente determina que estas especies puedan rebrotar desde el banco de yemas, alterando su patrón de crecimiento y escapando así a la acción del herbicida. La planta puede modificar su fisiología y redirigir su crecimiento a través del desarrollo de distintas yemas vegetativas ante la aplicación de un herbicida (Malpassi, 2005). Así, la arquitectura de la planta es modificada por los meristemas axilares que se activan (Shimizu-Sato y Mori, 2001). En *C. erecta*, en este capítulo y en trabajos anteriores (Panigo y col., 2012), se observó un aumento en la producción de ramificaciones, sobre todo en tratamientos con altos niveles de herbicida a través del desarrollo de meristemas normalmente inhibidos. En *E. retusa* se observó también el desarrollo de nuevas ramas, aún cuando el vástago madre está aparentemente muerto. En otras especies, como *Gomphrena perennis* L. e *Iresine diffusa* Humb. & Bonpl. ex Willd. post- aplicación de glifosato muestran un cambio en el destino de los meristemas aunque el efecto sobre las estructuras foliares presentes es bajo (Acosta, 2012). Sin embargo, no todas las especies tienen esta capacidad, *Agropyron desertorum* (Fisch. ex Link) Schult. y *Agropyron spicatum* (Pursh) Scribn. & J.G. Sm. no pueden romper la latencia en sus yemas e iniciar el crecimiento después de la senescencia de los macollos parentales (Hendrickson y Briske, 1997) debido probablemente a que los tejidos que las portan son afectados.

El glifosato no afectó la forma de las yemas. En condiciones de crecimiento no estresantes Ott (2009) reconoce en *Andropogon gerardii* Vitman, tres tipos de yemas en función de su forma: (1) las que se encuentran en desarrollo, que son deltoides, blancas y curvadas siguiendo la forma del eje parental; (2) las latentes, que presentan una forma más cónica y con perfiles marrones y (3) las activas, que son rojizas y con el perfilo elongado. Para las especies aquí estudiadas, las variaciones en la forma fueron poco evidentes y presentaron cambios de coloración en función de la edad y en función de su posición en la estructura del sistema del vástago.

El glifosato es capaz de controlar eficazmente muchas malezas, sin embargo otras pueden escapar a su acción (Scursoni y col., 2007). El hecho de que las yemas sigan vivas y activas puede ser consecuencia del bajo costo de mantenimiento de las mismas (Hendrickson y Briske, 1997) y de la baja vascularización que presentan. Las yemas no llegarían a ser afectadas por el herbicida debido a que no son tejidos de fuerte demanda de fotoasimilados (Malpassi, 2005). Dado que el glifosato se mueve principalmente a través del floema (Dinelli y col., 2007) desde tejidos productores de fotoasimilados hacia los centros metabólicos como son los meristemas apicales y órganos reservantes (Bromilow y col., 1990); al no recibir gran cantidad de fotoasimilados, las yemas tampoco reciben una concentración de glifosato suficiente para lograr daño. Este tipo de respuesta explicaría la presencia de un gran número de yemas vivas (con actividad respiratoria) después de la aplicación de glifosato encontrada en este trabajo para ambas especies.

En ambas especies el tratamiento con herbicida modificó el número total de yemas, y por tanto el número de nudos, a partir de la generación de ejes con diferente cantidad de nudos. Sin embargo, el tratamiento afectó en forma diferente a ambas especies aumentando el número respecto al control en *E. retusa* y disminuyéndolo en *C. erecta*. Por macetas, en ambas especies, se tomaron hasta 2 ramas florecidas para el estudio, esto no quiere decir que las mismas necesariamente estaban en floración al momento del tratamiento y por lo tanto, la disminución o aumento del número implica que el herbicida tuvo efecto sobre el crecimiento de las ramas, como se mencionó anteriormente. Esta disminución en la cantidad de fitómeros producidos bajo la acción del herbicida glifosato que se observó en *C. erecta* también ha sido reportada para dos biotipos de *Gomphrena perennis* (Acosta, 2012) y para la especie *Parietaria debilis* G. Forst. (Dellaferrera, 2007).

El destino en *C. erecta* varió con la dosis y el origen. El número de ramas aumentó con la aplicación de la dosis mayor, mientras que a 1200 ga.i. ha⁻¹ aumentó el número de meristemas como yemas axilares. Con respecto al origen, en las VCA la mayoría de los meristemas permaneció como yemas, no obstante en plantas de semilla hubo mayor proporción de meristemas destinados a ramas. Teniendo en cuenta la zonación de los ejes (capítulo 1), el aumento en el desarrollo de las ramificaciones se produjo en la zona basal y en la media, donde se concentran las yemas que normalmente

no desarrollan ramas. Sin embargo, que destine mayor proporción de sus meristemas a ramas, no implica que aumente necesariamente la cantidad de semillas producidas debido a que el glifosato tiene un efecto degenerativo de estas estructuras (Panigo y col., 2012). En *E. retusa* la proporción de yemas axilares visibles fue generalmente mayor que de ramas, sin embargo, hubo un marcado aumento de las ramificaciones en las tratadas con 480 g a.i. ha⁻¹ a los 30 DPA y a dosis intermedias a los 60 DPA. En esta especie, el aumento de las ramificaciones se concentró en los meristemas de la zona basal. En otras palabras, en ambas especies las ramificaciones que se generan desde la zona de innovación, modifican su estructura sólo cuantitativamente (aumentando la cantidad de ramas no la posición en la que se desarrollan). Al igual que reporta Malpassi (2005), trabajando con otro herbicida sistémico, la zona basal de ambas especies es la encargada principal de la recuperación de la biomasa. Sin embargo, el hecho de que las especies estudiadas mantengan la posibilidad de ramificar en todas las zonas, hace que el rebrote sea en cierta medida dependiente de la intensidad del disturbio ya que la planta podría brotar desde diferentes partes (Vesk y Westoby, 2004). La distribución vertical de las yemas refleja la capacidad de escapar del disturbio por lo que los cambios estacionales que se producen en el banco de yemas, hacen que la regeneración de la biomasa sea sensible no sólo a la intensidad sino al momento del año en el cual se produce (Klimešová y Klimeš, 2007). Para Klimešová y Klimeš (2007) el aporte estacional de yemas a partir de los vástagos aéreos de plantas herbáceas (banco de yemas estacional) es siempre menor y más variable que el del banco de yemas ubicado en la zona perenne de la planta, debido a que estas yemas no están disponibles en determinados momentos del año.

En los vegetales, la habilidad de rebrote varía a lo largo de la ontogenia (Vesk y Westoby, 2004), lo que se encuentra relacionado principalmente con el tamaño de las yemas y cantidad de reservas. En *C. erecta* y *E. retusa*, el tamaño aumentó a dosis intermedias en ambas especies. Yemas preformadas, por tanto más grandes, incluyen primordios de hojas y profilo, lo que implica un alto costo de producción y mantenimiento pero poco gasto y rápida respuesta de activación (Vesk y Westoby, 2004). La asociación de una mayor velocidad con una zona en particular, es difícil de establecer en estas especies. En los distintos tratamientos las zonas mostraron una gran variación de tamaño y fue difícil establecer un único gradiente de tamaño, como

observaron Busso y col. (1989) y Ott y Hartnett (2011) en otras monocotiledóneas. El rebrote también se encuentra influenciado por la cantidad de reservas, la que varía a lo largo del año, alcanzando su mínimo en primavera y máximo en otoño (Klimešová y Klimeš, 2003).

A pesar de que las zonas de producción de ramificación sean principalmente las descritas arriba, ésta no es exclusivamente la única en estas especies. Esto, sumado a la baja tasa de mortalidad de yemas observado, muestra el alto potencial de rebrote post-aplicación del herbicida que ambas tienen. A igual que en *Iresine diffusa*, la tolerancia estaría relacionada a su desarrollo vegetativo más que a la reproducción por semillas (Acosta, 2012). El importante rol que juega el banco de yemas en la regeneración vegetativa hace que ambas sean malezas difíciles de erradicar en sistemas de labranzas con siembra directa y aplicación intensiva de glifosato. Su capacidad para sobrevivir al tratamiento herbicida se debe a varios factores que incluyen (1) un gran número de yemas viables post-aplicación del herbicida y (2) un sistema de rizomas con capacidad de almacenamiento de hidratos de carbono. La disponibilidad de yemas viables y reservas resulta crítica para recuperar la biomasa cuando no hay tejido fotosintético disponible como resultado de un disturbio (Busso y col., 1990). La habilidad de acumular reservas le permite desarrollar rápidamente rebrotes y así explotar mejor los recursos ambientales (Vesk y Westoby, 2004; Kraus y col., 2007). Que las plantas de *C. erecta* VCA posean órganos con yemas debajo de la tierra les posibilita rebrotar más rápidamente cuando las condiciones de crecimientos son favorables, y les brinda una ventaja sobre las plantas que nacen de semilla debido a que éstos poseen reservas de almidón y cierta aclimatación al ambiente. El hecho de rebrotar rápidamente luego de un disturbio hace que las malezas sean más difíciles de controlar (Wilson y col., 2007), ya que aumenta el potencial de una planta para ser invasiva (Sakai y col., 2001).

La importancia de poseer un banco de yemas en la regeneración post-disturbio se encuentra bien documentada (Klimešová y Klimeš, 2007). Numerosas comunidades dependen del mismo fundamentalmente cuando las condiciones de establecimiento a partir de semillas son adversas (Benson y col., 2004). El banco de yemas no es más que todas las yemas axilares y adventicias presentes en la planta, capaces de crecer, ramificar, reemplazar o regenerar vástagos luego de un daño, (Klimešová y Klimeš, 2007). El rebrote es parte de un complejo balance demográfico de vástagos y

potencialmente puede variar con el tipo de disturbio y su intensidad, y con la riqueza de nutrientes del ambiente, entre otras cosas (Vesk y Westoby 2004). Uno de los factores que contribuye a la persistencia y adaptación de estas especies en los agroecosistemas con uso intensivo de glifosato es la alta capacidad de rebrote que poseen. En ambientes tan variables como los agroecosistemas (Nisensohn y col., 2011b), donde las especies están sometidas a perturbaciones frecuentes, las plantas que rebrotan representan una buena y exitosa forma de crecimiento (Klimešová y Klimeš, 2003) ya que pueden recolonizar rápidamente esos ambientes. Sin embargo, la producción de ramas y el rebrote están bajo el control de múltiples factores internos y externos de la planta, (Horvath y col., 2003; Waldie y col., 2010) por lo que es imposible evaluarlo unidimensionalmente.

Si incrementamos el conocimiento sobre la biología de estas especies, podríamos desarrollar programas de control integrado, que no sólo incluyan el uso de herbicida. La comprensión de los mecanismos que alteraran la dinámica del banco yemas en las poblaciones de malezas es necesaria para encarar prácticas de manejo más eficaces. El conocimiento de los factores que determinan el flujo de emergencia y la persistencia de malezas en las condiciones ambientales y de manejo de cada región, abre una oportunidad para el desarrollo de sistemas de alerta para el control de *E. retusa*, *C. erecta* y otras malezas con el objetivo de poder encarar un manejo de manera sostenible en el tiempo. El rebrote a partir de una reserva de meristemas facilita el uso oportunista del espacio y de los recursos (Vesk y Westoby, 2004). Una población puede persistir en el sistema, sustentada por diferentes estrategias de tolerancia y de escape que dependen de su forma de crecimiento, plasticidad, fisiología, de la severidad del disturbio y el momento fenológico en el que se produce. La información aquí presentada sobre el banco de yemas debería ser complementada con estudios de la dinámica a campo del mismo, debido a que en este ambiente otros factores afectan el comportamiento del banco de yemas. Las precipitaciones y altas temperaturas, por ejemplo, reducen la actividad metabólica de las yemas (Busso y col., 2011) pudiendo ocasionar diferentes respuestas a medida que avanza la estación de crecimiento.

V.- CONCLUSIONES

El herbicida afecta escasamente las yemas de ejes reproductivos de *C. erecta* y *E. retusa* por lo que ambas especies mantienen un importante banco de yemas durante la estación de crecimiento que les permite rebrotar rápidamente y recuperar la masa foliar afectada.

La zona basal y media aportan la mayor cantidad de ejes al momento del rebrote en ambas especies, sin embargo, *C. erecta* es más plástica porque tiene la capacidad de desinhibir un número importante de yemas de la zona media.

En estas especies, la estrategia de escape al herbicida resulta de la coordinación de varias características morfológicas, fisiológicas y ecológicas estrechamente vinculadas, en las que el banco de yemas jugaría un rol no menor.

El banco de yemas funcionaría como una póliza de seguro en ambientes sometidos regularmente a disturbios, cuyos costos se pagarían con el desarrollo de yemas de tamaño considerable y de órganos con reservas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

1.- DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo de este trabajo fue identificar los caracteres morfológicos que facilitan la regeneración vegetativa de *Commelina erecta*, *Eustachys retusa* y *Alternanthera philoxeroides* en los sistemas de producción con mínima labranza y uso intensivo de glifosato, para predecir su comportamiento. Para esto, en primer lugar se aplicó el análisis arquitectural al desarrollo del sistema de ramificación de las tres malezas consideradas tolerantes a glifosato. Luego se evaluó la respuesta de estas especies a la aplicación de herbicida y se caracterizó el banco de yemas.

Los criterios utilizados en este trabajo para caracterizar estas especies herbáceas perennes, en este caso malezas invasoras de campos de soja en siembra directa con aplicaciones intensivas de glifosato (De La Fuente y col., 1999; Papa, 2005b; Puricelli y Faccini, 2005; Dellaferrera y col., 2007, entre otros), nos permitieron reconocer la importancia de la arquitectura para explicar, al menos en parte, la permanencia de estas especies en los agroecosistemas actuales. Consecuentemente, nuestra hipótesis fue demostrada parcialmente, dado que en *A. philoxeroides* la población utilizada resultó ser poco tolerante a glifosato.

1.1.- ANÁLISIS ARQUITECTURAL E IMPLICANCIAS

La arquitectura de una planta puede ser considerada como una estructura jerárquica en la cual, los diferentes ejes se pueden agrupar en categorías según sus características anatómicas, morfológicas, o funcionales distintivas (Barthélémy y Caraglio, 2007). En las tres especies fue posible determinar diferentes categorías de ejes implicados en la construcción de la planta, que al repetirse en una determinada secuencia, conforman la estructura de la planta. Estos ejes son los componentes de la unidad arquitectural que es la que representa la arquitectura elemental específica y la unidad funcional y morfológica de una especie (Barthélémy y col., 1991), la cual está

determinada genéticamente (Grosfeld, 2002), por lo que los factores externos sólo modifican algunos de sus aspectos cuantitativos,

En las tres especies analizadas los componentes de la unidad arquitectural fueron en cierta medida independiente del orden de ramificación, sin embargo la forma y posición en la que derivan unos de otros fue constante. Por este motivo no es suficiente la determinación de diferentes categorías de ejes para definirla, sino que es fundamental analizar la cantidad y combinación mínima de los ejes que se producen hasta alcanzar el estadio reproductivo (Tourn y col., 1999). En especies anuales se considera que el crecimiento total es correspondiente a la unidad arquitectural (Hallé y col., 1978). En especies herbáceas perennes, donde la floración inicia cuando la planta adquiere un tamaño mínimo (teniendo en cuenta su desarrollo desde la germinación a primera floración) (Barthélémy y col., 1997), la unidad arquitectural suele consistir en toda la producción de ejes formados durante la primera estación de crecimiento (Perreta, 2004). Las tres especies estudiadas se ajustan a este criterio, ya que si bien son malezas perennes, su comportamiento en zonas templadas se asemeja al de las plantas anuales, al menos en relación con su biomasa aérea, la que se pierde completamente durante la estación desfavorable; mientras que la porción más basal de los vástagos permanece en estado latente a la espera de condiciones favorables de desarrollo. Cuando esto se produce, la planta repite su estructura en la siguiente estación a partir de las yemas axilares presentes en la estructura de perennización. La presencia del fenómeno de reiteración representa una ventaja con respecto a las plantas anuales, ya que les permite rápidamente brotar dentro de un ambiente en el cual la especie ya se encontraba, regenerando el sistema de vástagos, pero sin necesidad de lograr un tamaño mínimo para florecer.

La presencia de reiteración implica que, luego de la expresión de su unidad arquitectural, el crecimiento ulterior se realiza a través de la formación de tipos de ejes ya representados en alguna etapa previa del desarrollo (Puntieri y col., 1995). La reiteración puede ser clasificada como: completa, si repite íntegramente toda la unidad arquitectural o parcial si lo hace sólo en parte; retardada, si se produce a través de yemas que se encuentran en reposo, o inmediata, si se genera a través de una yema en activo crecimiento; secuencial, forma parte de la secuencia de desarrollo innata de la especie, oportunística o adaptativa, si es ocasionada por un aumento en el nivel de

recursos o traumática si es en respuesta a un daño (Hallé y col., 1978; Edelin, 1984; Nicolini, 1997). En las tres especies el proceso de reiteración estuvo relacionado con una respuesta a la destrucción de la mayor parte de su estructura aérea, o sea fue traumática y parcial. En *A. philoxeroides* también se pudo establecer la existencia de reiteraciones de tipo adaptativa y secuencial. La reiteración como carácter implicado en la multiplicación vegetativa ha sido encontrada en numerosas especies de Monocotiledóneas (Casto-Dos Santos, 1981).

En las Monocotiledóneas, la constancia de ciertos elementos morfológicos marca una monotonía arquitectural, y es notoria la particular frecuencia del modelo de Tomlinson (Casto-Dos Santos, 1981), tal como se observó en *C. erecta* y *E. retusa*. En las Dicotiledóneas, existe mayor diversidad arquitectural (Jeannoda-Robinson, 1977; Castro-Dos Santos, 1981). Para *A. philoxeroides* no fue posible establecer el modelo; el más adecuado dependerá del tipo de crecimiento y del desarrollo del eje principal, ya que la variación en el desarrollo del mismo en otras especies de Amarantáceas es muy amplia (Jeannoda-Robinson, 1977; Acosta, 2012). El modelo de esta especie no necesariamente corresponderá a los modelos de Tomlinson o Bell, únicos que aceptan ramificación basal (Hallé, 2004); sino que podría ser una variación postrada o una fragmentación (Jeannoda-Robinson, 1977) de alguno de los otros 22 modelos posibles de encontrar en la naturaleza (Hallé, 2004). Es importante destacar que el modelo sólo representa la estrategia de crecimiento global y dentro de un modelo, cada especie presenta una estructura que le es propia, expresando sus propias características, es decir su unidad arquitectural (Barthélémy y Caraglio, 2007).

El análisis arquitectural es una herramienta que permite esclarecer las distintas adaptaciones que presentan las especies en lo que concierne a la ocupación del espacio, competencia y resistencia a perturbaciones (Fournier, 1982). Si bien las características arquitecturales estudiadas fueron variables entre especies, las tres adoptaron estrategias de crecimiento donde fue posible reconocer, además de una unidad arquitectural con diferentes categorías de ejes y la presencia de reiteración, otras características como:

- La presencia de una ZONA BASAL con desarrollo de ejes laterales largos, de estructura similar a su parental, con entrenudos poco elongados, con reservas y yemas axilares sin desarrollar. Los ejes largos tienen la función de explorar y explotar el medio

(Acosta, 2012) y son capaces de reemplazar a toda la estructura luego de disturbios. La presencia de un banco de yemas o un conjunto de meristemas axilares sin desarrollar que pueden ser usados en la regeneración vegetativa (Klimešová y Klimeš, 2007). Esta característica asociada a la presencia de un tallo reservante asegura a la planta la recuperación de la biomasa aérea.

Particularmente, en las dos Monocotiledóneas la presencia de un gran número de yemas sin desarrollar, que se mantuvieron viables y con un tamaño considerable post-aplicación de glifosato, mejora las posibilidades de rebrotar rápidamente. Las yemas axilares preformadas más grandes, que incluyen primordios foliares o profilos, representan una inversión inicial relativamente grande en la construcción y mantenimiento, con costos relativamente bajos de activación y una rápida velocidad de respuesta (Vesk y Westoby, 2004).

- La presencia de una ZONA MEDIA con yemas axilares no desarrolladas. En el caso de las dos especies Monocotiledóneas, esta zona también funcionó como banco de yemas, ya que pueden brotar facultativamente, influenciadas por las condiciones ambientales (Rúa y Weberling, 1998). En *A. philoxeroides*, esta zona funciona como una zona de innovación secundaria, que complementa a la basal.

- La influencia de la ORIENTACIÓN y POSICIÓN de las ramas determinaron el modo de exploración de las especies, y la forma de ocupación del espacio y, por consiguiente de captación de la energía lumínica (Tourn y col., 1999).

- Una FASE DE ESTABLECIMIENTO marcada por una variación constante y predecible en la distribución del tamaño de las hojas, que tiende a maximizar la intercepción de radiación y minimizar el solapamiento entre hojas de un mismo eje. Las hojas son unidades funcionales de la fotosíntesis y su tamaño es relevante para el crecimiento, dado que tiene implicancias funcionales (Calabria y Puntieri, 2008). Es típico en muchas plantas herbáceas el aumento progresivo del vigor de las estructuras sucesivamente emitidas desde la germinación (Barthélémy y col., 1997).

La presencia de caracteres comunes en especies de familias filogenéticamente distintas, pero que comparten la misma comunidad, tiene implicancias ecológicas importantes (Lavorel y Garnier, 2002), dado que nos permite comprender la dinámica

de las comunidades (Urcelay y Battistella, 2007). Cuando distintas especies vegetales poseen un conjunto de caracteres similares pueden ser agrupadas en tipos funcionales de plantas (Urcelay y Battistella, 2007). El estudio de la variación interespecífica de ciertos caracteres vegetales ha generado importantes conocimientos sobre la aparición de síndromes (Lambers y Poorter 1992). En las tres especies de malezas en cuestión, el set de características morfológicas comunes identificadas en el estudio estructural nos permitió reconocer los caracteres morfológicos del posible síndrome que facilitaría la persistencia de estas especies en sistemas de producción con uso intensivo de glifosato.

El valor de los caracteres funcionales en plantas, como una herramienta para predecir respuestas, ha sido el objetivo de un largo número de estudios (Klimešová y col., 2008), porque puede ayudar a resolver cuestiones relacionadas al manejo y a la conservación de la naturaleza (Cornelissen y col., 2003). Dentro de este marco conceptual, el análisis arquitectural cobraría importancia porque permite reconocer y evaluar cómo determinado conjunto de caracteres morfológicos se relacionan con ciertas estrategias adaptativas y competitivas en determinadas condiciones ambientales o disturbios.

1.2.- CONTROL DE MALEZAS CON GLIFOSATO

La combinación del uso de siembra directa con soja genéticamente modificada (GR) tolerante a glifosato integra dos conceptos tecnológicos: la modificación de la interacción del cultivo con el recurso suelo y el uso de herbicidas totales, altamente efectivos para el control de todo tipo de malezas y de poco poder residual (Trigo y Cap, 2006). La tasa de adopción de los cultivos GR por los agricultores ha superado la aceptación de cualquier otra tecnología agrícola en la historia (Buttel, 2002). Esta particular situación, consecuencia de la aplicación intensiva de glifosato, ayudó a reducir la densidad de muchas especies malezas; mientras que al mismo tiempo incrementó la cantidad de otras que previamente no formaban parte de la comunidad. Como consecuencia, la biodiversidad se mantuvo o aumentó (Christoffoleti y col., 2008), generando nuevos problemas y necesidades de control. Otros autores consideran que esta práctica de homogeneización de técnicas agrícolas generará, por el contrario, una homogeneización del ambiente, con pérdida en la riqueza de especies y en las

funciones del ecosistema (De La Fuente y col., 2006). A pesar de estas diferencias, la mayoría concuerda en que se producirá el desarrollo o un aumento en la abundancia de especies tolerantes al herbicida (Puricelli y Tuesca, 2005; Christoffoleti y col., 2008).

Las tres especies trabajadas en esta tesis son reportadas como malezas invasoras de campos de soja en siembra directa con aplicaciones intensivas de glifosato (De La Fuente y col., 1999; Papa, 2005b; Puricelli y Faccini, 2005; Dellaferrera y col., 2007, entre otros). En las tres especies, la estrategia de escape resulta de la coordinación de varias características morfológicas y ecológicas estrechamente vinculadas. Esto no excluye la existencia de otras características que pueden estar involucradas en la tolerancia de las especies a este herbicida, como son las características histoquímicas que reducen su penetración y / o translocación, o un metabolismo diferencial o variaciones en la actividad de ciertas enzimas (Monquero y col., 2004), entre otras. Los resultados demuestran que las especies difieren en el nivel de susceptibilidad al herbicida, lo que determina rangos en la intensidad de las respuestas morfológicas. En *A. philoxeroides* la población utilizada resultó ser poco tolerante a glifosato. Sin embargo, *C. erecta* y *E. retusa* demostraron ser malezas muy difíciles de erradicar en estado vegetativo avanzado, a la dosis recomendada de uso (CASAFE, 2005). Es conocido que el control con la dosis recomendada de uso no siempre es el adecuado porque depende del espectro de malezas presentes y del estado de desarrollo de las mismas (Puricelli y Faccini, 2009).

En la caracterización de malezas, es importante cuantificar variables que indiquen cómo las especies exploran y explotan el medio (Kropff y van Laar, 1992), es decir otros atributos biológicos más allá de la supervivencia a las aplicaciones y comportamiento de la biomasa. En las dos Monocotiledóneas la arquitectura no resultó diferente a la del control. En todos los ambientes la unidad arquitectural se mantiene estable en sus aspectos cualitativos, modificándose únicamente algunas características cuantitativas por condiciones ambientales (Grosfeld y col., 1999). Sin embargo, fue posible identificar una serie de variaciones estructurales post-aplicación:

- En *C. erecta*, se distinguieron las mismas zonas y los mismos tipos de ejes descritos en el Capítulo 1, solo que en algunas plantas de semillas tratadas con 1200 g. a.i. ha⁻¹, el alto número de ramas desarrollado provocó que la ramificación

varíe de difusa a continua. Las VCA, también tratadas con la menor dosis, mostraron un número de ramas similar al control, pero no se observaron estas modificaciones. Por el contrario, las plantas tratadas con mayor dosis de ambos orígenes exhibieron una menor concentración de ramas (sólo desarrollaron ramas hasta el segundo orden); senescencia y escaso desarrollo de rizomas y raíces contráctiles. En conjunto, estas variaciones provocaron modificaciones en la forma de estas plantas, lo que determinó un cambio en la forma de exploración.

- En *E. retusa* las plantas tratadas alcanzaron un orden de ramificación mayor que las testigos y hubo desarrollo de ramas en la zona de entrenudos largos solo en las plantas tratadas con 480 g. a.i. ha⁻¹, lo que alteró la sectorización de la unidad estructural en algunos ejemplares. Además en mayor medida en estas, pero también en el resto de las tratadas el número de nudos totales de los ejes reproductivos se vió incrementado, (capítulo 5). La aparición de hojas con lámina reducida en la zona media de los ejes axilares y en la mayoría de los rebrotes, alteró la secuencia foliar normal en las plantas tratada.

En ambas especies, y en los ejemplares sobrevivientes de *A. philoxeroides* la persistencia se centró en la posibilidad de producir ramificaciones, lo cual ya ha sido notado en otros trabajos realizados con glifosato (Acosta, 2012; Panigo y col., 2012) y con otros herbicidas (Malpassi, 2005). Sin embargo, este comportamiento fue variable particularmente en *C. erecta*, donde como se ve en el Capítulo 5, se presentó una alta proporción de ramificaciones, aún con elevados niveles de herbicida, provenientes del desarrollo de meristemas normalmente inhibidos; a diferencia de lo que se observó en el Capítulo 2, donde este aumento solo se produjo a la menor dosis. Teniendo en cuenta que en el Capítulo 2 se utilizaron ejemplares provenientes de dos poblaciones (Emilia y Esperanza), y en el capítulo 5 solo de Esperanza, probablemente estas diferencias morfológicas encontradas no se deban sólo a una alta variabilidad intraespecífica, sino también a que estas poblaciones representen biotipos con una sensibilidad diferencial al glifosato. En el Capítulo 2, las plantas pertenecientes a la población o biotipo “Emilia” mostraron un fenotipo tipo II descrito en Panigo y col. (2012), y por el contrario, las de la población o biotipo “Esperanza” tuvieron un fenotipo tipo I. La diferencia principal entre modalidades de respuestas es el número de ramas desarrolladas post- aplicación y el momento de senescencia (Panigo y col., 2012). La presencia de biotipos con

sensibilidad diferencial a glifosato ya ha sido reportado en otras malezas, donde las variaciones post- aplicación hacen referencia tanto a cambios morfológicos, a la asignación de recursos, al fitness, como a la susceptibilidad al herbicida (Sobey, 1987; Leiss y Müller-Schärer, 2001; Baucom y Rodney, 2004; Westhoven y col., 2008; Burgos y col., 2011; Acosta, 2012). El glifosato es una fuente importante de selección (Baucom y Rodney, 2004), dado que el uso continuado de herbicidas con igual mecanismo de acción, incrementa la presión de selección hacia biotipos de malezas menos sensibles (Ulloa y Owen, 2009; Correia y col., 2011). Teniendo en cuenta esto, en un futuro será necesario encarar nuevos estudios que se focalicen en diferenciar estos biotipos.

Si bien en este trabajo, los efectos sobre hoja, tallo e inflorescencia son similares a los obtenidos en trabajos previos (Panigo y col., 2012), la intensidad es menor. Esto puede ser explicado por la diferente formulación de glifosato. Gareto y col. (2011) compararon el efecto de diferentes formulaciones sobre el crecimiento de *C. erecta*, concluyendo que Glifotop Zamba®, formulación utilizada por Panigo y col. (2012), inhibe de manera más pronunciada el crecimiento de *C. erecta*, que la formulación Estrella® que es la utilizada en este trabajo. Esto resalta la importancia de incorporar otros parámetros estructurales más descriptivos.

El herbicida afectó también la altura de los ejes, el número de ramas, inflorescencias y flores, la biomasa, la concentración de clorofila y la superficie foliar post- aplicación en las tres especies, aunque, la magnitud de estos decrecimientos dependió de la dosis y la especie. En *C. erecta* y *E. retusa* ocurrió principalmente en las tratadas con la mayor dosis, mientras que en *A. philoxeroides*, con la dosis menor, que fueron las únicas sobrevivientes. Consecuentemente, estas plantas continuaron creciendo y produjeron semillas y nuevos rizomas, lo que desde el punto de vista agronómico constituye el mayor problema; dado que el estadio de desarrollo afecta la eficacia del glifosato, y otros herbicidas, incrementando la dosis necesaria para controlar la especie (Puricelli y Faccini, 2009).

En cuanto *A. philoxeroides*, diferentes trabajos mencionan a esta especie con tendencia a predominar en situaciones de monocultivo de soja resistente a glifosato en Argentina (De La Fuente y col., 1999; Papa, 2005b; Dellaferrera y col., 2007) por lo

que es necesario prestar especial cuidado en su manejo, a pesar de que en este trabajo resultó poco tolerante. Este efecto pudo deberse a la existencia de diferentes biotipos en Argentina, debido a que la presencia de formas de *A. philoxeroides* genéticamente diferentes, tanto en su morfología como en la sensibilidad a los herbicidas ya han sido detectado en EE. UU. (Wain y col., 1984; Kay, 1992). En estos últimos existen recomendaciones para prevenir el ingreso de esta maleza en nuevas áreas, ya que una vez establecida, la erradicación es poco probable (Sainty y col., 1998). También habría que evaluar la importancia del desarrollo de estolones en la respuesta a glifosato, tal como fue evaluado por Dong y col. (2010) para otros disturbios. El alto control obtenido en el presente trabajo también podría ser causado por falta de reservas y por el estadio en el cual fueron tratadas las plantas, más las condiciones de crecimiento. La posibilidad de rebrotar rápidamente se basa en la capacidad de algunas plantas de retener lugares potenciales (yemas) a partir de los cuales hacerlo; y reservas suficientes para llevarlo a cabo (Vesk y Westoby, 2004), lo que podría haber influido en el comportamiento obtenido.

Las estrategias de manejo de malezas contemporáneas descansan fuertemente en el empleo de herbicidas, una tecnología de baja complejidad que permite su empleo aún con conocimientos escasos de los fundamentos en que se sustenta (Vitta y col., 2002). Aunque son claros los beneficios del uso de herbicidas en sistemas de labranzas conservacionistas, la consideración de estrategias de manejos integrales, que contemplen los conocimientos sobre la biología y la ecología de cada especie, debe significar más que un distinguido concepto.

2.- CONCLUSIONES

Es evidente, que las características que comparten estas especies les aportan ventajas adaptativas en los ambientes en los que habitualmente crecen. La evaluación de la respuesta a la aplicación de glifosato permitió reforzar esta idea ya que, las plantas tratadas sobrevivieron en su gran mayoría, a excepción de *A. philoxeroides*, y mantuvieron un modelo y una unidad arquitectural muy similar al control. Los caracteres morfológicos más importantes implicados en la regeneración post-aplicación son la presencia de una estructura de reserva y de yemas latentes que puedan retomar el

crecimiento luego de la aplicación, es decir que no sean afectadas por la acción del herbicida.

El glifosato como herbicida sistémico que se mueve principalmente por floema, afecta los órganos de mayor demanda de fotoasimilados al momento de la aplicación, por lo que sus mayores efectos se observaron en la muerte de meristemas apicales, la deformación de las estructuras que se encontraban en formación (láminas, inflorescencias y flores) o elongación (principalmente los entrenudos) y la clorosis o muerte de estructuras foliares.

El análisis arquitectural de estas especies en forma conjunta, resultó una herramienta fundamental para reconocer los posibles caracteres morfológicos, los que junto a otros procesos metabólicos, jugarían un rol importante en el mecanismo de tolerancia al herbicida. Estos caracteres en conjunto determinarían las diferentes compensaciones y combinaciones de caracteres que expresen el síndrome de respuesta a este estrés. Además, mediante la descripción funcional y del banco de yemas, se amplían los criterios utilizados para caracterizar a las malezas. La capacidad y la velocidad de rebrote a partir del banco de yemas, proporciona información importante acerca de la dinámica de crecimiento en los agroecosistemas con uso intensivo de glifosato. El conocimiento de esta dinámica a campo ofrecería información más certera, dada la gran cantidad de los factores ambientales que podrían modificar su comportamiento, para encarar prácticas de manejo más sustentables.

REFERENCIAS

- Aaviksook, K.; Kull, K.; Pall, J. y Trass, H. (1995). *Growth form parameters of clonal herbs*. Scripta Bot. 9: 106-115. <http://www.zbi.ee/~kalevi/growth.htm>. (Acc. 22 feb. 2002).
- Acosta, J. (2012). *Arquitectura y modelo de crecimiento de malezas tolerantes a glifosato. Caracterización de las posibles estrategias de escape a la acción herbicida*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional del Litoral. 238 p.
- Ali, A. y Fletcher, R. A. (1978). *Phytotoxic action of glyphosate and amitrole on corn seedlings*. Can. J. Bot. 56: 2196-2202.
- Arnon, D. I. (1949). *Copper induced enzyme in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in **Beta vulgaris***. Pl. Physiol. 24: 1-15.
- Arregui, M.; Scotta, R. y Sánchez, D. (2006). *Improved weed control with broadleaved herbicides in glyphosate-tolerant soybean (**Glycine max**)*. Crop Protection 25: 653-656.
- Barlow, P. W. (1994). *From cell to systems: repetitive units of growth in the development of roots and shoots*. En: *Growth Patterns in Vascular Plants*. (Ed.: Iqbal, M.). Portland, Dioscorides Press. Pp. 19-58.
- Barthélémy, D. (1988). *Architecture et sexualité chez quelques plantes tropicales: Le concept de floraison automatique*. These Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Montpellier. 262 p.
- Barthélémy, D. (1991). *Levels of organization and repetition phenomena in seed plants*. Acta Biotheor. 39: 309- 323 p.
- Barthélémy, D. (2000). *Análisis, modelización y simulación informática de la arquitectura de las plantas: aplicaciones agronómicas y paisajistas*. En: *Ciudades Arboladas para el siglo XXI*. (Ed. La Población Llarga). Ponencias del IV Congreso ISA Europeo y V Español de arboricultura. Valencia. pp. 45-77.
- Barthélémy, D.; Edelin, C. y Hallé, F. (1991). *Canopy architecture*. En: *Physiology of trees* (Ed.: Raghavendra, A.S.). John Wiley and Sons INC. p.1-20.
- Barthélémy, D.; Blaise, F.; Fourcaud, T. y Nicolini, E. (1995). *Modélisation et simulation de l'architecture des arbres: bilan et perspectives*. Rev. For. Fr. 47: 71-96.

- Barthélémy, D.; Caraglio, Y. y Costes, E. (1997). *Architecture, gradients morphogénétiques et age physiologique chez les végétaux* En: *Modélisation et simulation de l'architecture des végétaux*. (Eds.: Bouchon, J.; de Reffye, P. y Barthélémy, D.). Institut National de la Recherche Agronomique. Science Update. Paris, p. 89-136.
- Barthélémy, D. y Caraglio, Y. (2007). *Plant Architecture: A Dynamic, Multilevel and Comprehensive Approach to Plant Form, Structure and Ontogeny*. *Ann. Bot.* 99: 375-407.
- Bastiaans, L.; Paolini, R. y Baumann, D. T. (2008). *Focus on ecological weed management: what is hindering adoption?* *Weed Res.* 48: 481-491.
- Basu, C.; Halfhill, M.; Mueller, T. y Stewart, C. (2004). *Weed genomics: new tools to understand weed biology*. *Trends Pl. Sci.* 9.
- Baucom, R. S. y Rodney, M. (2004). *Fitness costs and benefits of novel herbicide tolerance in a noxious weed*. *Proceed. Nat. Acad. Sci. Unit. St. Am.* 101: 13386-13390. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0404306101(accessed 10 December 2008)
- Becker, G. F.; Busso, C. A. y Montani, T. (1997). *Effects of defoliating *Stipa tenuis* and *Piptochaetium napostaense* at different phenological stages. I. Axillary bud viability and growth*. *J. Arid Environ.* 35 : 233-250.
- Bell, A. D. (1986). *The simulation of branching patterns in modular organisms*. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 313: 143-159.
- Bell, A. (1991). *Plant form. An illustrated guide to flowering plant morphology*. Oxford University Press, Hong Kong. 341 pp.
- Bell, A. (1993). *Les plantes à fleur: Guide morphologique illustré*. Masson, Paris. 341 pp.
- Benson, E.J.; Hartnett, D.C. y Mann, K.H. (2004). *Belowground bud banks and meristem limitation in tallgrass prairie plant population*. *Am. J. Bot.* 91: 416–421.
- Binimelis, R.; Pengue, W. y Monterroso, I. (2009). *"Transgenic treadmill": Responses to the emergence and spread of glyphosate-resistant johnsongrass in Argentina*. *Geoforum* 40: 623-633.
- Blaise, F.; Barczi, J. F.; Jaeger, M.; Dinouard, P. y De Reffye, P. (1998). *Simulation of the growth of plants. Modelling of metamorphosis and spatial interactions in*

- architecture and development of plants*. In: (Eds.: Kunii, T.L. y Luciani, A.). Cyberworlds. John Wiley & Sons. Tokyo. pp. 81-109.
- Bowmer, K. H.; Mccorkelle, G.; Sale, P. J. M. y Eberbach, P. L. (1989). *Progress in the chemical control of Alligator Weed*. Proc. 5th Biennial Noxious Plants Conference, Lismore, July 1989, Vol. 2, (Eds.: Dyason, R. y Dorham, P.) p. 640.
- Bowmer, K. B. y Eberbach, P. (1993). *Uptake and translocation of ¹⁴C glyphosate *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. (alligator weed) I. Rhizome concentrations required for inhibition*. Weed Res. 33: 53–7.
- Bradshaw, A. (2006). *Unraveling phenotypic plasticity – why should we bother?*. New Phytologist 170: 639–641
- Brashier, C. K. (1966). *A revision of *Commelina* (Plum) L. in the USA*. Bull. Torrey Bot. Club 93: 1- 19.
- Bromilow, R. H.; Chamberlain, K. y Evans, A. A. (1990). *Physicochemical aspects of phloem translocation of herbicide*. Weed Sci. 38: 305-314.
- Burgos, N.; Shivrain, V.; Scott, R.; Mauromoustakos, A.; Kuk, Y.; Sales, M. y Bullington, J. (2011). *Differential tolerance of weedy red rice (*Oryza sativa* L.) from Arkansas, USA to glyphosate*. Crop Protect. 30: 986- 994.
- Burkart, A. (1969). *Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina)*. T. VI, Parte II. Colección Científica del INTA. Bs. As. Pp. 551
- Burkart, A. (1987). *Flora Ilustrada de Entre Ríos (Argentina)*. T. VI, Parte III. Colección Científica del INTA. Bs. As. Pp. 763.
- Busso, C.A.; Mueller, R.J. y Richards, J.H. (1989). *Effects of drought and defoliation on bud viability in two caespitose grasses*. Ann. Bot. 63: 477-485.
- Busso, C.A.; Richards, J.H. y Chatertton, N. J. (1990). *Nonstructural carbohydrates and spring regrowth of two cool-season grasses*. J. Range Manage. 43:336–343.
- Busso, C. A.; Gittins, C.; Becker, G. F. y Ghermandi, L. (2011). *Tiller hierarchy and defoliation frequency determine bud viability in the grass *Poa ligularis**. Ecol. Res. 26: 985–997.
- Buttel, F. (2002). *The adoption and diffusion of GM crop varieties: the “Gen Revolution” in global perspective, 1996–2001*. Staff Paper Series, University of Wisconsin, Paper No. 6.
- Calabria, C. y Puntieri, J. (2008). *Desarrollo foliar y caulinar de las unidades de alargamiento de *Nothofagus dombeyi* (Nothofagaceae) en condiciones de alta y baja luminosidad*. Bol. Soc. Argent. Bot. 43: 19 - 30.

- CASAFE. (2005). *Guía de Productos Fitosanitarios para la República Argentina*. 12° ed. Cámara de Seguridad agropecuaria y Fertilizantes- República Argentina, Buenos Aires.
- Castro Dos-Santos, A. (1981). *L' appareil végétatif des monocotyledones*. These Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Montpellier. 249 p.
- Center, T. D. y Balciunas, J. (1975). *The effects of water quality on the distribution of alligator weed and water hyacinth*. United States Army Engineers Waterways Experimental Station Technical Report No. 10, B3–B13.
- Christoffoleti, P.; Galli, A.; Carvalho, S.; Moreira, M.; Nicolai, M.; Foloni, L.; Martins, B. y Ribeiro, D. (2008). *Glyphosate sustainability in South American cropping systems*. Pest Manag. Sci. 64: 422-427.
- Clark, L. y Fisher, J. (1986). *Vegetative Morphology of grasses: shoots and roots*. Int. Grass. Symp: 37-47.
- Clarke, C.B. (1881). *Commelinaceae*. En: *Monogr. Phan.* 3. (Eds.: De Candolle, A. y De Candolle, C.) pp. 112-324.
- Clements, D.; Dugdale, T. M. y Butler, K. L. (2012). *Using Plant Growth Regulators to Limit Herbicide-Induced Stem Fragmentation of Aquatic Alligatorweed (*Alternanthera philoxeroides*)*. Weed Tech. 26: 89-94.
- Cole, D. J. (1983). *The effects of environmental factors on the metabolism of herbicides in plants*. Asp. Appl. Biol. 4: 245-252.
- Cornelissen, C.; Lavorel, S.; Garnier, E.; Díaz, S.; Buchmann, N.; Gurvich, D.; Reich, P.; Steege, H.; Morgan, H.; van der Heijden, M.; Pausas, J. y Poorter, H. (2003). *A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide*. Austral. J. Bot. 51: 335 – 380.
- Correia, N.; Durigan, J. y Espanhol, M. (2011). *Manejo de plantas daninhas em soja geneticamente modificada tolerante ao glyphosate*. Pesq. Agrop. Trop. 41: 242-247.
- Costes, E. y Guédon, Y. (1997). *Modelling the silleptic branching on one-year-old trunks of apple cultivars*. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 122: 53- 62.
- Cousens, R. y Mortimer, M. (1995). *Dynamics of weed populations*. Cambridge UK. Cambridge University Press. 332 p.

- Cremers, G y Edelin, C.. (1995). *Étude de l'architecture aérienne de quelques plantes tropicales á ramification basitone: vers une révision du modèle de Tomlinson*. Can. J. Bot. 73: 1490- 1503.
- Culpepper, A. S. (2006). *Glyphosate-induced weed shifts*. Weed Tech. 20: 277-281.
- Da Costa, N.V.; Martins, D.; Da Costa, A. C. P. R. y Cardoso, L. A. (2011). *Efficacy of glyphosate and 2,4-d in the control of different kinds of trapoeraba (*Commelina* spp.)* Biosci. J. 27: 718-728.
- De La Fuente, E.; Suárez, S.A.; Ghersa, C.M. y León, R.J.C. (1999). *Soybean Weed Communities: Relationship with Cultural History and Crop Yield*. Agron. J. 91: 234-241
- De La Fuente, E.; Suárez, S.A. y Ghersa, C.M. (2006). *Soybean weed community composition and richness between 1995 and 2003 in the Rolling Pampas (Argentina)*. Agricult. Ecosyst. Environ. 115: 229–236.
- De Reffye, P.; Edelin, C. y Jaeger, M. (1989). *La modelisation de la croissance des plantes*. La recherche 201: 158- 156 p.
- De Reffye, P.; Blaise, F. y Guedon, Y. (1993). *Modélisation et simulation de l'architecture et de la croissance des plantes*. Rev. du Palais de la Decouverte 209: 23- 48 p.
- Dellaferrera, I. (2007). *Variación en la forma de crecimiento de *Parietaria debilis* G. Forst. y *Veronica persica* Poir. producida por glifosato*. Tesina de grado. Universidad Nacional del Litoral, Esperanza. 46 p.
- Dellaferrera, I.; Guarise, N. y Amsler, A. (2007). *Relevamiento de malezas en cultivos de soja en sistema de siembra directa con glifosato del departamento San Justo (Provincia de Santa Fe)*. Rev. FAVE – Sección Agrarias. 5/6, 1-2: 15- 25
- Deytieux, V.; Nemecek, T.; Freiermuth Knuchel, R.; Gaillard, G. y Munier-Jolain, N. M. (2012). *Is integrated weed management efficient for reducing environmental impacts of cropping systems? A case study based on life cycle assessment*. Eur. J. Agro. 36: 55-65.
- Dimitri, M. (1972). *Enciclopedia Argentina de agricultura y jardinería*. ACME. Buenos Aires. 1028 p.
- Dinelli, G.; Marotti, I.; Bonetti, A.; Catizone, P.; Urbano, J. M. y Barnes, J. (2007). *Physiological and molecular bases of glyphosate resistance in *Conyza bonariensis* biotypes from Spain*. Weed Res. 48: 257–265.

- Di Rienzo, J.A.; Casanoves, F.; Balzarini, M.G.; Gonzalez, L.; Tablada, M. y Robledo, C.W. (2010). *InfoStat versión 2010*. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Dong, B. Ch.; Yu, G. L.; Guo, W.; Zhang, M. X.; Dong, M. y Yu, F. H. (2010). *How internode length, position and presence of leaves affect survival and growth of **Alternanthera philoxeroides** after fragmentation?* *Evol. Ecol.* 24:1447–1461
- Dugdale, T.M.; Clements, D.; Hunt, T.D. y Butler, K.L. (2010). *Alligatorweed produces viable stem fragments in response to herbicide treatment*. *J. Aquat. Plant Manage.* 48: 84-91.
- Eberbach, P.; Bowmer, K. H. (1995). *Conversion of 14C-Glyphosate to Carbon Dioxide by Alligator Weed*. *J. Aquat. Plant Manage.* 33: 27-29
- Edelin, C. (1977). *Images de l'architecture des conifères*. These Doctorat 3° cycle. Université de Montpellier II. 255 p.
- Edelin, C. (1984). *L'architecture monopodiale: L'exemple de quelques arbres d'Asie tropicale*. Thèse Doctorat. Université de Montpellier II. France. 258 p.
- Ehrenfeld, J. (2010). *Ecosystem Consequences of Biological Invasions*. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 41: 59–80.
- Evans, T. M. ; Fadden, R. B. ; Simpson, M.G. y Sytsma, K.J. (2000). *Phylogenetic relationships in the Commelinaceae: I. A cladistic analysis of morphological data*. *Syst. Bot.* 25: 668-691.
- Faccini, D. (2004). *Los cambios tecnológicos y las nuevas especies de malezas en soja*. En http://www.produccionbovina.com./produccion_y_manejo_pasturas/ (Acceso diciembre de 2005)
- Faden, R. B. (1998). *Comelinaceae*. En: *The Families and Genera of Vascular Plants*. (Ed.: Kubitzki, K.), Vol. 4. Springer, Berlin. pp. 109-128.
- Faden, R.B. y Evans, T. M. (1999). *Reproductive characters, habitat and phylogeny in African Commelinaceae*. En: *African plants: biodiversity, taxonomy and uses*. (Eds.: Timberlake, J. y Kativu, S.). Kew, Richmond: Royal Botanic Gardens, p. 23–38.
- Fernández, O. (2003). *Establishment of **Cynodon dactylon** from stolon and rhizome fragments*. *Weed Res.* 2003: 130–138.
- Flemmer, A.C.; Busso, C.A. y Fernández, O.A. (2002). *Bud viability in perennial grasses: Water stress and defoliation effects*. *J. Range Manage.* 55: 150-163.

- Fourcaud, T.; Zhang, X.; Stokes, A.; Lambers, H. y Körner, C. (2008). *Plant Growth Modelling and Applications: The Increasing Importance of Plant Architecture in Growth Models*. Ann. Bot. 101: 1053-1063.
- Fournier, A. (1982). *Cycle saisonnier de la biomasse et démographie des feuilles de quelques graminées dans les savanes guinéennes de Ouango-Fitini (Côte d'Ivoire)*. These Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languedoc. Montpellier. 239 p.
- Frankart, C.; Eullaffroy, P. y Vernet, G. (2003). *Comparative effects of four herbicides on non-photochemical fluorescence quenching in Lemna minor*. Environ. Exp. Bot. 49: 159-168.
- Fuchs, M. A.; Geiger, D. R.; Reynolds, T. L. y Bourque, J. E. (2002). *Mechanisms of glyphosate toxicity in velvetleaf (*Abutilon theophrasti medikus*)*. Pesticide Biochem. Physiol. 74: 27-39.
- García Torres, L. y Fernández-Quintanilla, C. (1989). *Fundamentos sobre las malas hierbas y herbicidas*. Coedición Ministerios de Agricultura, pesca y alimentación Servicio de extensión agraria y Ediciones Mundi-Prensa. España. 348 p.
- Gareto, J. I.; Perreta, M. y Panigo, E. (2011) *Efecto de 3 formulaciones de herbicidas sobre *Commelina erecta* L.* Mercosoja. Quinto Congreso de la Soja del Mercosur. Primer foro de la Soja de Asia. Rosario, 2011. Argentina.
- Geiger, D.; Shieh W.-J. y Fuchs, M. A. (1999). *Causes of Self-Limited Translocation of Glyphosate in *Beta vulgaris* Plants*. Pest. Biochem. Physiol. 64: 124–133.
- Geng, Y.-P.; Pan, X.-Y.; Zhang, W.-J.; Li, B.; Chen, J.-K.; Lu, B.-R. y Song, Z.-P. (2007). *Phenotypic plasticity rather than locally adapted ecotypes allows the invasive alligator weed to colonize a wide range of habitats*. Biol. Invasions 9: 245–256.
- Goddard, R.; Webster, T.; Carter, R. y Grey, T. (2009). *Resistance of Benghal Dayflower (*Commelina benghalensis*) Seeds to Harsh Environments and the Implications for Dispersal by Mourning Doves (*Zenaida macroura*) in Georgia, U.S.A*. Weed Sci. 57: 603–612.
- Godin, C.; Guedon, Y.; Costes, E. y Caraglio, Y. (1997). *Measuring and analyzing plants with the AMAPmod software*. En: *Plants to ecosystems - Advances in Computational Sciences*. (Ed.: Michalewicz, M.). Csiro. Australia. pp. 53-84.
- Gougler, J. A. y D. R. Geiger, D. R. (1981). *Uptake and distribution of n-phosphonomethylglycine in sugar beet plants*. Pl. Physiol. 68: 668–672.

- Grabiele, M.; Honfi, A.; Grabiele, M.; Debat, H. J. y Daviña, J. (2009). *Caracterización morfológica y cromosómica de **Commelina benghalensis** L. (Commelinaceae) de Argentina*. Gayana Bot. 66: 18- 27.
- Grime, J. P; Crick, J. C. y Rincon, J. E. (1986). *The ecological significance of plasticity*. En: *Plasticity in Plants*. (Eds.: Jennings, D. H. y Trewavas, A. J.). Biologists Limited. Cambridge. Pp. 5-29.
- Grosfeld, J. (2002). *Análisis de la variabilidad morfológica y arquitectural de **Austrocedrus chilensis** (D. Don) Pic, Sem. et Bizarri, **Fitzroya cupressoides** (Molina) I.M. Johnst., **Pilgerodendron uviferum** (D. Don) Florin y **Cupressus sempervirens** L. (Cupresaceae)*. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Comahue. 298 p.
- Grosfeld, J.; Barthélémy, D. y Brion, C. (1999). *Architectural variations in **Araucaria araucana** (Molina) K. Koch (Araucariaceae) in its natural habitat*. En: *The evolution of plant architecture*. (Eds.: Kurmann, M.H. y Hemsley, A.R.). Royal Botanic Garden, Kew. London. 109-122 pp.
- Grosso, M. (2001). *Formas de crecimiento de especies herbáceas y arbustivas a lo largo de un gradiente altitudinal en el área serrana del suroeste de la provincia de Córdoba*. Tesis doctoral. Universidad Nacional de Río Cuarto. 259 p.
- Guglielmini, A. C., Ghera, C. M. y Satorre, E. H. (2007). *Co-evolution of domesticated crops and associated weeds*. Ecología Austral 17:167-178.
- Hallé, F. (2004). *Architecture de plantes*. Montpellier: JCP. 162 pp .
- Hallé, F. (2010). *Arquitectura de los árboles*. Bol. Soc. Argent. Bot. 45: 405-418.
- Hallé, F. y Oldeman, R.A. (1970). *Essai sur l'architecture et la dynamique de croissance des arbres tropicaux*. Masson. Paris. 198 p.
- Hallé, F.; Oldeman, R.A. y Tomlinson, P. (1978). *Tropical trees and forests: an Architectural Analysis*. Springer, Berlin. 441 p.
- Harper, J. L. (1977). *Population biology of plants*. London Acad. 892 pp.
- Hendrickson, J.R. y Briske, D.D. (1997). *Axillary bud banks of two semiarid perennial grasses: occurrence, longevity, and contribution to population persistence*. Oecologia 110, 584–591.
- Herben, T.; Hara, T.; Marshall, C. y Soukupová, L. (1994). *Plant clonality: biology and diversity*. Folia Geobot. Phytotax. 29: 113-122.

- Herben, T. y Hara, T. (1997). *Competition and spatial dynamics of clonal plants*. En: *The ecology and evolution of clonal plants*. (Eds.: De Kron, H. y Van Groenendael, J.). Backhuys Publishers. Leiden. pp. 331-357.
- Hoagland, D. R. y Arnon, D. I. (1950). *The water-culture method for growing plants without soil*. California Agriculture Experimental Station. Circular 347.
- Hofstra, D.E. y Champion, P.D. (2010). *Herbicide trials for the control of alligatorweed*. J. Aquat. Plant Manage. 48: 79-83.
- Horvath, D.; Anderson, J.; Wun, C. y Foley, M. (2003). *Knowing when to grow signals regulating bud dormancy*. Trends Pl. Sci. 8.
- Hoshikawa, K. (1969). *Underground organs and the systematic of Gramineae*. Bot. Gaz. 130: 192- 203.
- Hunt, D. R. (1994). *Commelinaceae*. En: *Flora mesoamericana 6*. (Eds.: Davidse, G.; M Sousa S. y Chater, A. O.). Universidad Autónoma de México, México, DF, Missouri Botanical Garden, St. Louis; The Natural History Musseum, London. p. 157- 173.
- Isaac, W. y Brathwaite, R. (2007). *Commelina Species – A Review of its Weed Status and Possibilities for Alternative Weed Management in the Tropics*. AgroThesis 5: 3-18.
- Jeannoda-Robinson, V. (1977). *Contribution a l'étude de l'architecture des herbes*. These Doctorat. Université des Sciences et Techniques du Languendoc. Montpellier. 262 p.
- Jordan, N. R. y Jannink, J. L. (1997). *Assesing the pratical importance of weed evolution: a research agenda*. Weed Res. 37: 237-246.
- Jourdan, C.; Michaux-Ferrière, N. y Perbal, G. (2000). *Root system architecture and gravitropism in the oil palm*. Ann. Bot. 85: 861±868.
- Julien, M. H.; Bourne, A. S. y Low, V. H. K. (1992). *Growth of the weed **Alternanthera philoxeroides** (Martius) Grisebach (alligator weed) in aquatic and terrestrial habitats in Australia*. Plant Prot. Q. 7: 102–108.
- Julien, M. H.; Skarratt, S. y Maywald, G. F. (1995). *Potential geographical distribution of alligator weed and its biological control by **Agasicles hygrophila***. J. Aquat. Plant Manag. 33: 55–60.
- Kaur, S.; Singh, H. P.; Mittal, S.; Batish, D. R. y Kohli, R. K. (2010). *Phytotoxic effects of volatile oil from **Artemisia scoparia** against weeds and its possible use as a bioherbicide*. Industr. Crops Prod. 32: 54-61.

- Kay, S.H. (1992). *Response of two alligator weed biotypes to Quinclorac*. J. Aquat. Pl. Manag. 30: 35–40.
- Kempenaar, C.; Lotz, L. A. P.; Snel, J. F. H.; Smutny, V. y Zhan, H. J. (2010). *Predicting herbicidal plant mortality with mobile photosynthesis meters*. Weed Res. 51: 12–2.
- Kitchen, L. M.; Witt, W. W. y Rieck, C. E. (1981). *Inhibition of 6 - aminolevulinic acid synthesis by glyphosate*. Weed Sci. 29: 571-577.
- Klimešová, J. y Klimeš, L. (2003). *Resprouting of herbs in disturbed habitats: is it adequately described by Bellingham–Sparrow’s model?* Oikos 103: 225- 229.
- Klimešová, J. y Klimeš, L. (2007). *Bud banks and their role in vegetative regeneration – A literature review and proposal for simple classification and assessment*. Perspect. Pl. Ecol. Evol. Syst. 8: 115-129.
- Klimešová, J.; Latzel, V.; De Bello, F. y Van Groenendael, J. (2008). *Plant functional traits in studies of vegetation changes in response to grazing and mowing: towards a use of more specific traits*. Preslia 80: 245–253.
- Kniss, A. R.; Miller, S. D.; Westra, P. H. y Wilson, R. G. (2007). *Glyphosate susceptibility in common lambsquarters (*Chenopodium album*) is influenced by parental exposure*. Weed Sci. 55: 572–577.
- Kraus T. A.; Grosso, M. A.; Basconsuelo, S. C.; Bianco, C. A. y Malpassi, R. N. (2007). *Morphology and anatomy of shoot, root, and propagation systems in *Hoffmannseggia glauca**. Pl. Biol. 9: 705–712.
- Kropff, M. J. y van Laar, H. H. (1992). *Modelling crop-weed interactions wallingford*. Oxon, UK: CAB International. 276 p.
- Kudsk, P. y Streibig, J. C. (2003). *Herbicides a two edged sword*. Weed Res. 43: 90–102.
- Lahitte, H.; Hurrel, J.; Belgrano, M.; Jankowski, L.; Mehltreter, K. y otros. (1997). *Plantas de la costa*. L.O.L.A. Buenos Aires. 200 p.
- Lambers, H. y Poorter, H. (1992). *Inherent variation in growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences*. Advances in Ecological Research 23: 187–261.
- Latzel, V.; Mihulka, S. y Klimešová, J. (2008). *Plant traits and regeneration of urban plant communities after disturbance: Does the bud bank play any role?* Appl. Veg. Sci. 11: 387-394.

- Lauri, P. E. y Terouanne, E. (1991). *Éléments pour une approche morphométrique de la croissance végétale et de la floraison : le cas d'espèces tropicales du modèle de Leeuwenberg*. Can. J. Bot. 69: 2095-2112.
- Lavorel, S. y Garnier, E. (2002). *Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail*. Funct. Ecol. 16: 545–556.
- Lebon, E.; Pellegrino, A.; Tardieu, F. y Lecoœur, J. (2004). *Shoot development in grapevine (*Vitis vinifera*) is affected by the modular branching pattern of the stem and intra- and inter-shoot trophic competition*. Ann. Bot. 93: 263-274.
- Lee, T. T. (1981). *Effects of glyphosate on synthesis and degradation of chlorophyll in soybean and tobacco cells*. Weed Res. 21: 161-164.
- Leguizamón, E. (1997). *La commelina se hace notar*. AAPRESID. Gacetilla Informativa de la Asociación de Productores en Siembra Directa. 7: 4-5.
- Leguizamón, E.S. y Ferrari, G. (2005). *Relevamiento de las comunidades de malezas en sistemas de producción de soja bajo siembra directa*. Soja en siembra directa. Rev. Técnica AAPRESID, septiembre: 124-127.
- Leiss, K. A. y Müller-Schärer, H. (2001). *Adaptation of *Senecio vulgaris* (Asteraceae) to ruderal and agricultural habitats*. Am. J. Bot. 88: 1593-1599.
- Li, J.; Smeda, R.; Sellers, B. y Johnson, W. (2005). *Influence of formulation and glyphosate salt on absorption and translocation in three annual weeds*. Weed Sci. 53: 153-159.
- Li, Q.; Cai, S.; Mo, C.; Chu, B.; Peng, L. y Yang, F. (2010). *Toxic effects of heavy metals and their accumulation in vegetables grown in a saline soil*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 73: 84- 88.
- Lipok, J. (2009). *Dual action of phosphonate herbicides in plants affected by herbivore. Model study on black bean aphid *Aphis fabae* rearing on broad bean *Vicia faba* plants*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 72: 1701–1706.
- Liu A.; Zheng, Y. y Chen, D. (2006). *Effects of salt stress on the growth and the antioxidant enzyme activity of *Thellungiella halophila**. Bull. Bot. Res. 3: 216–221.
- Longstreth, D.; Bolanos, J. y Smith, J. (1984). *Salinity effects on photosynthesis and growth in *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb*. Pl. Physiol. 75: 1044-1047.

- Lorenzi, H. (2000). *Plantas danhinas do Brasil terrestres, aquáticas, parásitas e tóxicas*. 3ª edic. Editora Plantarum Ltda. Nova Odessa. 608 p.
- Madsen, K. H.; Heitholt, J. J.; Duke, S. O.; Smeda, R. J. y Streibig, J. C. (1995). *Photosynthetic parameters in glyphosate-treated sugarbeet (*Beta vulgaris* L.)*. Weed Res. 35: 81-88.
- Magné, C.; Saladin, G. y Clément, C. (2006). *Transient effect of the herbicide flazasulfuron on carbohydrate physiology in *Vitis vinifera* L.* Chemosphere 62: 650–657.
- Malpassi, R. (2004). *Efecto de la aplicación de herbicidas sobre la morfología y anatomía de *Eleusine indica* y *Portulaca oleracea**. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Río Cuarto. 133 p.
- Malpassi, R. (2005). *Efectos de la aplicación de quizalofop sobre la arquitectura y anatomía foliar de *Eleusine indica**. Agriscientia XXII: 55–62.
- Marfenin, N.N. (1999). *The development of modular organization concept*. J. Gen. Biol. 60.
- Mársico, O. (1980). *Herbicidas y fundamentos del control de malezas*. Editorial Hemisferio Sur. 298 p.
- Mas, M. T.; Verdú, A. M. C.; Kruk, B. C.; De Abelleira, D.; Guglielmini, A. C. y Satorre, E. H. (2010). *Weed communities of transgenic glyphosate-tolerant soyabean crops in ex-pasture land in the southern Mesopotamic Pampas of Argentina*. Weed Res. 50: 320-330.
- Mcgill, B.; Enquist, B.; Weiher, E. y Westoby, M. (2006). *Rebuilding community ecology from functional traits*. Trends Ecol. Evol. 21: 178- 185.
- Meusel, H. (1952). *Über Wuchsformen, Verbreitung und phylogenie einiger mediterranmittel europäischen Agiospermen- Gattungen*. Flora 139: 333- 393.
- Meusel, H. (1970). *Wuchsformenriehen Mediterranean-mitteuropäischer Angiosperm-Taxa*. Feddes Repert. 81: 41-59.
- Meusel, H.; Jäger, E. y Mörchen, G. (1977). *The Study of growth-forms of high plants in relation to application of biocides*. En: *Vegetation Science and Environmental Protection I*. (Eds.: Miyawaki, A. y Tüxen, R.), Tokyo. p. 71–76.
- Molina, A. M. (1996). *Revisión taxonómica del género *Eustachys* Desv. (Poaceae: Chloridoideae, Cynodonteae) in Sudamérica*. Candollea 51: 246–254.

- Monquero, P. (2003). *Dinámica poblacional y mecanismos de tolerancias de especies de plantas dañinas al herbicida glifosato*. Tesis doctoral .Universidad de Sao Pablo. Brasil. 111 pp.
- Monquero, P.; Christoffoleti, P.; Osuna, M. y De Prado, R. (2004). *Absorção, translocacão e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida*. *Planta Daninha* 22: 445–451.
- Montenegro, G. y Ginocchio, R. (1992). *Modular interpretation of architecture in shrub species*. *An. Acad. Bras . Ci.* 65: 189-202.
- Mouliá, B.; Edelin, C.; Loup, C. y Jeuffroy, M.. (1999). *Architectural analysis of herbaceous crop species: a comparative study of maize (*Zea mays* L.) and garden pea (*Pisum sativum* L.)*. *Agronomie* 19: 305-312.
- Muñoz-Rueda, A.; Gonzalez-Murua, C.; Becerril, J. M. y Sánchez-Díaz, M. F. (1986). *Effects of glyphosate [N-(phosphonomethyl)glycine] on photosynthetic pigments, stomatal response and photosynthetic electron transport in *Medicago sativa* and *Trifolium pratense**. *Physiol. Plant.* 66: 63-68.
- Muscolo, A.; Panuccio, M.R. y Sidari, M. (2003). *Effects of salinity on growth, carbohydrate metabolism and nutritive properties of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum* Hochst)*. *Pl. Sci.* 164: 1103-1110.
- Nicolini, E. (1997). *Aproche morphologique du development du hêtre (*Fagus sylvatica* L.)*. These doctorat. Université de Montpellier.185 p.
- Nisensohn, L. y Tuesca, D. (2001). *Especies de malezas asociadas al nuevo modelo productivo de la región: *Commelina erecta**. *Rev. Agromensajes de la Facultad (UNR)* 4.
- Nisensohn, L. y Tuesca, D. (2004). *Inhibidores de las síntesis de aminoácidos*. En: *Herbicidas: Características y fundamentos de su actividad*. (Ed.: Vitta, J.). UNR Editora, Rosario, Argentina, pp. 51- 58.
- Nisensohn, L.A; Tuesca, D.H. y Vitta, J.I. (2011a). *Características reproductivas de *Commelina erecta* L. asociadas con su propagación en sistemas agrícolas*. *Agriscientia XXVIII*: 51-60.
- Nisensohn, L.A; Tuesca, D.H.; Faccini, D.; Puricelli, E. y Vitta, J. (2011b). *Factores biológicos que determinan la competencia de *Commelina erecta* con otras malezas en sistemas de cultivo*. *Planta Daninha* 29: 97- 106.

- Oldeman, R. (1974). *L'architecture de la forêt guyanaise*. Mém. n° 73, ORSTOM. Paris. 204 p.
- Oliveira, A.R.; Freitas, S.P. y Vieira, H. D. (2009). *Interference of dayflower species in coffee cultura*. *Planta Daninha* 27: 823-830.
- Ott, J. (2009). *Bud bank morphology, dynamics, and production in perennial grasses*. Tesis "Master of Science". Concordia Univ. Kansas State.
- Ott, J. y Hartnett, D. (2011). *Bud production and dynamics of flowering and vegetative tillers in **Andropogon gerardii** (Poaceae): the role of developmental constraints*. *Am. J. Bot.* 98 : 1293–1298.
- Pan, X. Y.; Geng Y. P.; Sosa, A.; Zhang, W. J.; Li, B. y Chen, J. K. (2007). *Invasive **Alternanthera philoxeroides**: biology, ecology and management*. *Acta Phytotaxon. Sin.* 45: 884–900.
- Pan, H.; Li, X.; Xu, X. y Gao, S. (2009). *Phytotoxicity of four herbicides on **Ceratophyllum demersum**, **Vallisneria natans** and **Elodea nuttallii***. *J. Environ. Sci.* 21: 307-312.
- Panigo, E.S.; Dellaferrera, I.M.; Acosta, J. M.; Bender, A.G.; Garetto, J.I. y Perreta, M. G. (2012). *Glyphosate-induced structural variations in **Commelina erecta L.** (Commelinaceae)*. *Ecotoxicol. Environ. Safety* 76: 135–142.
- Papa, J. (2005a). *Detección de especies de malezas de importancia emergente en el centro- sur de la provincia de Santa Fe*. EEA Oliveros INTA. 5p.
- Papa, J. (2005b). *Malezas tolerantes y resistentes a herbicidas*. Área Agronomía, Protección Vegetal, Manejo de Malezas EEA Oliveros INTA. 7p.
- Papa, J. (2010). *Malezas En Cultivos Extensivos: Nuevos problemas o viejos problemas en un contexto novedoso*. <http://agrolluvia.com/wp-content/uploads/2010/06/pdf> Acceso junio 2012.
- Patterson, D. T. (1985). *Comparative ecophysiology of weeds and crops*. En: *Reproduction and Ecophysiology. Weed Physiology Vol I*. (Ed.: Duke, S. O.). Boca Raton, Florida: CRC Press. Pp. 101-130.
- Perreta, M. G. (2004). *Caracterización de los Patrones de desarrollo en **Melica L.** (Meliceae- Poaceae): Análisis Arquitectural*. Tesis doctoral. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral. 185 p.
- Perreta, M. G. y Vegetti, A.C. (2004). *Structure and development of the branching system in **Melica macra** (Poaceae)*. *Flora* 199: 36-41.

- Perreta, M. G. y Vegetti, A.C. (2005). *Patrones estructurales en plantas vasculares: Una revisión*. Gayana Bot. 62: 9- 19.
- Perreta, M.; Ramos, J.; Tivano, J.C. y Vegetti, A. (2011). *Descriptive characters of growth form in Poaceae- An overview*. Flora 206: 283-293.
- Peterson, P.; Romaschenkoa, K. y Johnson, G. (2010). *A classification of the Chloridoideae (Poaceae) based on multi-gene phylogenetic trees*. Mol. Phylogen. Evol. 55: 580–598.
- Poorter, L.; Wright, S.; Paz, H.; Ackerly, D.; Condit, R.; Ibarra-Manríquez, G.; Harms, K.; Licona, J.; Martínez-Ramos, M.; Mazer, S.; Muller-Landau, H.; Peña-Claros, M.; Webb, C. y Wright, I. (2008). *Are functional traits good predictors of demographic Rates? Evidence from five neotropical forests*. Ecol. 89: 1908–1920.
- Porra, R. (2002). *The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b*. Photosynt. Res. 73: 149-156.
- Puntieri, J; Barthélémy, D.; De Reffye, P. y Brion, C. (1995). *Análisis, modelización y simulación de la arquitectura de las plantas. Avances y aplicaciones en la región Andino-Patagónica*. Actas de las IV Jornadas Forestales Patagónicas, Tomo II. San Martín de los Andes. pp. 547-573.
- Puricelli, E. y Tuesca, D. (1997). *Análisis de los cambios en las comunidades de malezas en sistemas de siembra directa y sus factores determinantes*. Rev. Fac. Agron. 102: 97-118.
- Puricelli, E. y Faccini, D. (2005). *Control de Eustachys retusa y Chloris barbata con glifosato. Soja en siembra directa*. Rev. AAPRESID. Set.
- Puricelli, E. y Tuesca, D. (2005). *Weed density and diversity under glyphosate-resistant crop sequences*. Crop Protect. 24: 533–542 .
- Puricelli, E. y Papa, J. C. (2006). *Growth of Parietaria debilis in fallow and in undisturbed areas*. Weed Res. :46: 129–137.
- Puricelli, E.; Faccini, D. y Nisensohn, L. (2008). *Malezas Tolerantes a glifosato en Argentina*. En: *Proceedings of the Seminario Internacional "Viabilidad del Glifosato en Sistemas Productivos Sustentables"*. La Estanzuela, Uruguay: INIA. Pp 61-70.

- Puricelli, E. y Faccini, D. (2009). *Efecto de la dosis de glifosato sobre la biomasa de malezas de barbecho al estado vegetativo y reproductivo*. *Planta Daninha* 27: 303-307.
- Radosevich, S. R. (1998). *Weed Ecology and Ethics*. *Weed Sci.* 46: 642-646.
- Radosevich, S. R. y Ghersa, C. M. (1992). *Weeds, crops and herbicides: a modern-day "neckriddle"*. *Weed Tech.* 6: 788-795.
- Radosevich, S. R.; Holt, J. S. y Ghersa, C. M. (2007). *Ecology of weeds and invasive plants: relationship to agriculture and natural resource management hoboken*. NJ: John Wiley & Sons. 454 p.
- Ragonese, A. (1990). *Caracteres xeromorfos foliares de Nassauvia igascae (Compositae)*. *Darwiniana* 30: 1- 10.
- Rainero, H. (2004). *Avances en el control de malezas con tolerancia al glifosato*. Bol. n° 1, INTA- EEA Manfredi. 12: 5-12.
- Ransom, C. V.; Kells, J. J.; Wax, L. M. y Orfanedes, M. S. (1998). *Morphological variation among hemp dogbane (*Apocynum cannabinum*) populations*. *Weed Sci.* 46: 71-75.
- Rausher, M. D. (2001). *Co-evolution and plant resistance to natural enemies*. *Nature* 411: 857–864.
- REM. (2012). *Red de reconocimiento de malezas*. Aapresid. <http://tecnicos.rem.org.ar>. Acceso junio de 2012.
- Rocha, D.C.; Rodella, R.A. y Martins, D. (2007). *Caracterização morfológica de espécies de trapoeraba (*Commelina* spp.) utilizando a análise multivariada*. *Planta Daninha* 25: 671-678.
- Rodríguez, N. (2002). *Manejo de malezas en barbecho químico*. Exepochacra 2002. INTA EEA Manfredi. 4 p
- Rodríguez, N. (2004). *Malezas nuevas? o viejas que se adaptan a los nuevos sistemas. Malezas con grado de tolerancia al glifosato*. Bol. n° 1, INTA- EEA Manfredi. 12: 1-5.
- Rúa, G. y Weberling, F. (1998). *Growth form and inflorescence structure of *Paspalum L.* (Poaceae: Paniceae): a comparative morphological approach*. *Beitr. Biol. Pflanz.* 69: 363-431.
- Sainty, G.R. (1973). *Aquatic plant identification guide*. Water Conservation and Irrigation Commission of New South Wales, North Sydney. pp. 69–70.

- Sainty, G.; Mccorkelle, G. y Julien, M. (1998). *Control and spread of Alligator Weed **Alternanthera philoxeroides** (Mart.) Griseb., in Australia: lessons for other regions*. *Wetlands Ecol. Manage.* 5: 195–201.
- Sakai, A. K.; Allendorf, F.; Holt, J.; Lodge, D.; Molofsky, J.; With, K.; Baughman, S.; Cabin, R.; Cohen, J.; Ellstrand, N.; McCauley, D.; O’Neil, P.; Parker, I.; Thompson, J. y Weller, S. (2001). *The population biology of invasive species*. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 32: 305–32.
- Sánchez-Del Pino, I.; Motley, T. y Borsch, T. (2012). *Molecular phylogenetics of **Alternanthera** (Gomphrenoideae, Amaranthaceae): resolving a complex taxonomic history caused by different interpretations of morphological characters in a lineage with C₄ and C₃–C₄ intermediate species*. *Bot. J. Linn. Soc.* 169: 493–517.
- Sandberg, D. L.; Meggitt, W. E. y Penner, D. (1980). *Absorption, trans-location, and metabolism of 14C-glyphosate in several weed species*. *Weed Res.* 20: 195-200.
- Santos, I.C.; Meira, R.; Ferreira, F.A.; Santos, L. D. T. y Miranda, G.V. (2002). *Caracteres anatômicos de duas espécies de **Trapaeraba** e a eficiência do glyphosate*. *Planta Daninha* 20: 1-8.
- Schroeder Murphy, S.; Huang, B.; King, R. y Smucker, A. (1990). *Measuret of whole plant reponses to compacted and flooded soil envarioments in the teaching laboratory*. *J. Agron. Educ.* 19: 171- 175.
- Scursoni, J.; Forcella, F.; Gunsolus, J.; Owen, M.; Oliver, R.; Smeda, R. y Vidrine, Y R. (2006). *Weed diversity and soybean yield with glyphosate management along a north–south transect in the United States*. *Weed Sci.* 54: 713–719.
- Scursoni, J. A.; Forcella, F. y Gunsolus, J. (2007). *Weed escapes and delayed weed emergence in glyphosate-resistant soybean*. *Crop Protection* 26: 212-218.
- Shimizu-Sato, S. y Mori, H. (2001). *Control of outgrowth and dormancy in axillary buds*. *Pl. Physiol.* 127: 1405-1413.
- SIIA (2011). *Estimaciones agrícolas: Soja*. Sistema integrado de información agrícola. MAGyP, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación Argentina. <http://www.siiia.gov.ar/index.php/series-portema/agricultura> (acceso Febrero 2011).
- Snaydon, R. W. (1971). *An analysis of competition between plants of **Trifolium repens** L. populations collected from contrasting soils*. *J. Appl. Ecol.* 8: 687-697.

- Sobey, D. G. (1987). *Differences in seed production between **Stellaria media** populations from different habitat types*. Ann. Bot. 59: 543-549.
- Søbye, K. W.; Streibig, J. C. y Cedergreen, N. (2010). *Prediction of joint herbicide action by biomass and chlorophyll a fluorescence*. Weed Res. 51: 23–32.
- Soda, C.; Bussotti, F.; Grossoni, P.; Barnes, J.; Mori, B.; Tani, C. (2000). *Impacts of urban levels of ozone on **Pinus halepensis** foliage*. Env. and Exp. Bot. 44: 69–82
- Souza, R. T.; Velini, E.D. y Palladini, L. A. (2007). *Aspectos metodológicos para análise de depósitos de pulverizações pela determinação dos depósitos pontuais*. Planta Daninha 25:195–202.
- Starfinger, U.; Kowarik, I.; Rode, M.; y Schepker, H. (2003). *From desirable ornamental plant to pest to accepted addition to the flora? – the perception of an alien tree species through the centuries*. Biol. Invasions 5: 323–335.
- Storkey, J. (2004). *Modeling seedling growth rates of 18 temperate arable weeds species as a function of the environment and plant traits*. Ann. Bot. 93: 681-689.
- Tasrif, A.; Juraimi, A. S.; Kadir, J.; Napis, S. y Sastroutomo, S. S. (2011). *Morphological variation of the ecotypes of **Echinochloa crus-galli** var. **crus-galli** (L.) Beauv (Barnyard grass: Poaceae) in Malaysia and Indonesia*. Biotropia 22: 1-14.
- Thomas, W. E.; Plin-Srnić, W. A.; Viator, R. P. y Wilcut, J. W. (2005). *Effects of glyphosate application timing and rate on sicklepod (**Senna obtusifolia**) fecundity*. Weed Technol. 19: 55-61.
- Tillich, H. J. (2000). *Ancestral and derived character states in seedlings of Monocotyledons*. En: *Monocots Systematics and Evolution*. (Eds.: Wilson, K. y Morrison, D.). CSIRO. Melbourne. Pp. 221- 227.
- Tomlinson, P.B. (1987). *Architecture of tropical Plants*. Ann. Rev. Ecol. Syst. 18: 1-21.
- Tourn, G; Barthelémy, D. y Grosfeld, J. (1999). *Una aproximación a la estructura vegetal: conceptos, objetivos, metodología*. Bol. Soc. Argent. Bot. 34: 85-99.
- Traggiay, M. (2007). *Efecto de la temperatura y edad de las plantas sobre las características de la superficie foliar y ceras epicuticulares en **Commelina erecta** y su posible relación con la tolerancia al glifosato*. Beca de iniciación a la investigación. Universidad Nacional de Litoral. 20 p.

- Trigo, E. J. y Cap, E. J. (2006). *Diez Años de Cultivos Genéticamente Modificados en la Agricultura Argentina*. CASAFA. <http://www.casafe.org/novedade/cultivosGM-esp.pdf>. Access 11 jun 10.
- Troll, W. (1964). *Die Infloreszenzen, Tipology und Stellung im Aufbau des Vegetationskörpers I*. Gustav Fischer. Jena.
- Try. (2012). *Plant traits data base*. <http://www.try-db.org/TryWeb/Home.php>. Acceso mayo de 2012.
- Tucker, T.A.; Langeland, K.A. y Corbin, F.T. (1994). *Absorption and translocation of ¹⁴C-Imazapyr and ¹⁴C-Glyphosate in alligatorweed *Alternanthera philoxeroides**. Weed Tech. 8: 32-36.
- Tuesca, D. y Puricelli, E. (2007). *Effect of tillage systems and herbicide treatments on weed abundance and diversity in a glyphosate resistant crop rotation*. Crop Protection 26: 1765-1770.
- Tuffi Santos, L. D.; Meira, R.; Santos, I. y Ferreira, F. (2004). *Efeito do glyphosate sobre a morfoanatomia das folhas e do caule de *Commelina diffusa* e *C. benghalensis**. Planta Daninha 22: 101-107.
- Tuffi Santos, L. D.; Meira, R.; Santos, I.; Ferreira, F.; Sant'anna-Santos, B. y Ferreira, L. (2007). *Morphological responses of different eucalypt clones submitted to glyphosate drift*. Environ. Exp. Bot. 59: 11–20.
- Ulloa, S. y Owen, M. (2009). *Response of asiatic dayflower (*Commelina communis*) to glyphosate and alternatives in soybean*. Weed Sci. 57: 74–80.
- Urcelay, C. y Battistella, R. (2007). *Colonización micorrícica en distintos tipos funcionales de plantas herbáceas del centro de Argentina*. Ecol. Austr. 17:179-188.
- Vegetti, A. C y Müller-Doblies, D. (2004). *The inhibition areas within the synflorescence of Poaceae*. Beitr. Biol. Pflanz. 73: 51 – 74.
- Vesk, P. y Westoby, M. (2004). *Sprouting ability across diverse disturbances and vegetation types worldwide*. J. Ecol. 92: 310 –320.
- Vila-Aiub, M.M.; Balbi, M.C.; Gundel, P.E.; Ghersa, C.M. y Powles, S.B. (2007). *Evolution of glyphosate-resistant Johnsongrass (*Sorghum halepense*) in glyphosate-resistant soybean*. Weed Sci. 55: 566-571
- Vila-Aiub, M.M.; Vidal, R.A.; Balbi, M.C.; Gundel, P.E.; Trucco, F. y Ghersa, C.M. (2008). *Glyphosate-resistant weeds of South American cropping systems: an overview*. Pest Manage. Sci. 64: 366-371.

- Vít, L.; Stanislav, M. y Klimešová, J. (2008). *Plant traits and regeneration of urban plant communities after disturbance: Does the bud bank play any role?* Appl. Veget. Sci. 11: 387-394.
- Vitta, J.; Faccini, L.; Nisensohn, L.; Puricelli, E.; Tuesca, D. y Leguizamón, E.S. (1999). *Las malezas en la región sojera núcleo Argentina: Situación actual y perspectivas*. Cátedra de Malezas. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Rosario. 47 p.
- Vitta, J.; Tuesca, D., Puricelli, E., Nisensohn, L., Faccini, D. y Ferrari, G. (2000). *Consideraciones acerca del manejo de malezas en cultivos de soja resistentes a glifosato*. Cátedra Malezas, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Rosario. UNR Editora. 15 p.
- Vitta, J. I.; Tuesca, D. H.; Puricelli, E. C.; Nisensohn, L. A. y Faccini, D. E. (2002). *El empleo de la información ecológica en el manejo de malezas*. Ecol. Aust. 12: 83-87.
- Vitta, J., Tuesca, D. y Puricelli, E. (2004) *Widespread use of glyphosate tolerant soybean and weed community richness in Argentina*. Agricult. Ecos. Environ. 103: 621-624.
- Wain, R.R.; Haller, W.T. y Martin, D. F. (1984). *Genetic relationship among two forms of alligator weed*. J. Aquat. Pl. Manage. 22: 104-105.
- Waldie, T.; Hayward, A. y Beveridge, C. (2010). *Axillary bud outgrowth in herbaceous shoots: how do strigolactones fit into the picture?* Pl. Mol. Biol. 73: 27-36.
- Wang, M.; Zhou, Q. y Ren, L. (2009). *Toxicological responses in wheat **Triticum aestivum** under joint stress of chlorimuron-ethyl and copper*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 72: 2121-2129.
- Watson, L. y Dallwitz, M. J. (1992). *Grass genera of the world: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval; including synonyms, morphology, anatomy, physiology, phytochemistry, cytology, classification, pathogens, world and local distribution, and references*. Version: 18th August 1999. <http://www.biologie.uni-hamburg.de/bonline/delta/grass/www/eustachy.htm>
Acceso 19 de mayo de 2008.
- Weberling, F. (1985). *Aspectos modernos de la morfología de las inflorescencias*. Bol. Soc. Arg. Bot. 24: 1-28.

- Weberling, F. (1989). *Morphology of flowers and inflorescences*. Trans. By J. Pankhurst. Cambridge University Press. Cambridge. Pp. 1-405.
- Webster, T. M.; Burton, M. G.; Culpepper, A. S.; York, A. C. y Prostko, E. P. (2005). *Tropical spiderwort (**Commelina benghalensis**): A tropical invader threatens agroecosystems of the Southern United States*. Weed Tech. 19: 501 – 508.
- Webster, T. M. y Sosnoskie, L. M. (2010). *Loss of glyphosate efficacy: A changing weed spectrum in Georgia cotton*. Weed Sci. 58: 73-79.
- Weed Science (2012). <http://www.weedscience.org>. Acceso junio de 2012.
- Westhoven, A.; Stachler, J. M.; Loux, M. M. y Johnson, W. G. (2008). *Management of glyphosate-tolerant common lambsquarters (**Chenopodium album**) in glyphosate-resistant soybean*. Weed Technol. 22: 628–634.
- Wilson, J.; Yeates, A.; Schooler, S. y Julien, M. (2007). *Rapid response to shoot removal by the invasive wetland plant, alligator weed (**Alternanthera philoxeroides**)*. J. Environ. Exp. Bot. 60: 20–25.
- Zarco-Tejada P. J.; Miller, J. R.; Mohammed, G. H.; Noland, T. L. y Sampson, P. H. (2002). *Vegetation stress detection through chlorophyll a + b estimation and fluorescence effects on hyperspectral imagery*. J. Environ. Qual. 31: 1433–1441.
- Zelaya, I. A. y Owen, M. D. (2005). *Differential response of **Amarantus tuberculatus** (Moq ex DC) JD Sauer to glyphosate*. Pest Manag. Sci. 61: 936–950.
- Zimdahl, R. (2007). *Fundamentals of Weed Science*. 3rd ed. Elsevier Inc. 666 p

AGRADECIMIENTOS.....

- A mis directores, Mariel y Abelardo, que me enseñaron a andar sobre el camino de la investigación, pero por sobre todo por su confianza, esfuerzo, paciencia y celeridad en este último tiempo.....
- A Alicia, por ayudarme en las interminables mediciones, en la compaginación de las imágenes y por su paciencia para revisar el manuscrito.....
- A la cátedra de Morfología Vegetal, por suplirme en las clases, ayudarme con el riego, por la calidez de grupo y por su apoyo en los momentos más críticos y por sobre todo por su amistad...
- A Ignacio, Gabriel y Juanín, por su ayuda en las tareas de campo.....
- A Agustín, por ayudarme en las cuestiones estadísticas.....
- A los distintos pasantes, especialmente Juan, por su esfuerzo desinteresado....
- A las diferentes instituciones: Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Ciencias Agrarias, CONICET, IAL, por brindarme espacio físico y apoyo económico.....
- A Roberto y Gabriel por soportar horas de ausencia
- A toda mi Familia, de sangre y política, por estar siempre dispuesto a ayudarme y por entenderme....
- A todos mis amigos, por soportar desplantes, ausencias y por estar siempre a pesar de la distancia.....