

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL LITORAL

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas



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

**AQUITECTURA Y MODELOS DE CRECIMIENTO DE
MALEZAS TOLERANTES A GLIFOSATO.
CARACTERIZACIÓN DE LAS POSIBLES
ESTRATEGIAS DE ESCAPE A LA ACCIÓN
HERBICIDA**

Ing. Agr. Juan Manuel Acosta

Director de Tesis: Dr. 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)

-2012-

RESUMEN

La presente tesis analiza el problema que presentan *Gomphrena perennis* e *Iresine diffusa* como malezas invasoras de campos dedicados a la siembra directa con aplicaciones intensivas de glifosato abarcando diferentes enfoques a fin de lograr una caracterización completa del estatus como “maleza” de las mismas. Para lograr este objetivo diferentes factores biológicos y agronómicos fueron analizados. Inicialmente se aplicaron los conceptos del análisis arquitectural a todos los representantes argentinos del género *Gomphrena* e *Iresine* como marco de partida en la comprensión de sus características estructurales. Luego se cuantificó esta estructura para *G. perennis* e *I. difusa* mediante una base de datos morfológicos de plantas sometidas y no al tratamiento herbicida a fin de determinar susceptibilidad y respuestas morfológicas y alométricas, complementando esto con estudios típicos de dosis-respuesta a herbicidas. Para una comprensión mejor del comportamiento de las plantas frente al herbicida, además de las especies bajo estudio, se utilizó a *Amaranthus quitensis* y un ecotipo silvestre de *G. perennis* como controles sensibles. También se trabajó a nivel de la biología de las semillas a fin de aportar mayor información sobre el comportamiento a campo de ambas especies.

La gran variabilidad en la morfología vegetativa observada entre las especies incluidas en el presente estudio ha sido representada por 9 modelos de desarrollo diferentes. Estos modelos expresan el patrón de desarrollo vegetativo de las especies por lo que son de gran utilidad para integrar datos morfológicos con propósitos taxonómicos, filogenéticos y agronómicos. Tanto las semillas de *G. perennis* como de *I. diffusa* están adaptadas para germinar luego de ser dispersadas bajo condiciones ambientales comúnmente encontradas en los campos cultivados de la región, lo cual puede explicar al menos parcialmente su éxito como malezas. Con respecto al desarrollo de las especies sin la acción herbicida *G. perennis* presenta individuos con mayor habilidad competitiva respecto a los de *I. diffusa*, debido tanto a la mayor precocidad en alcanzar el estado reproductivo como a la mayor tasa de crecimiento en el estado de plántula. Además, la distribución de destinos de meristemas indica que *I. diffusa* prioriza el desarrollo de ejes vegetativos mientras que *G. perennis* prioriza la producción de estructuras reproductivas.

Todos los individuos de ambas especies y ecotipos sobrevivieron al tratamiento herbicida. Respecto a la respuesta al mismo, *G. perennis* e *I. diffusa* presentan niveles similares de tolerancia herbicida medida como relaciones dosis-respuesta. Sin embargo, los resultados del Índice de Susceptibilidad y diferencias en la magnitud de las respuestas alométricas basadas en parámetros estructurales muestran que las especies difieren en la capacidad de respuesta frente al efecto del herbicida glifosato siendo mayor la tolerancia de *G. perennis* que la de *I. diffusa*.

Por otra parte, la comparación entre un ecotipo agrícola y uno silvestre de *G. perennis* mostró diferente susceptibilidad al mencionado herbicida entre los mismos. Luego de la aplicación, en etapas de crecimiento más avanzadas (plena floración), se diferencian de manera significativa en sus variables arquitecturales, tanto los testigos como los ejemplares tratados, por lo que *G. perennis* parece haberse adaptado a una situación agrícola particular, diferenciando genotipos con elevada tolerancia a glifosato.

Las comparaciones realizadas a través de los datos arquitecturales obtenidos han provisto de información detallada del crecimiento y la estructura de *G. perennis* e *I. diffusa*. La cuantificación de la arquitectura vegetal relacionada a otras características biológicas y agronómicas permitieron explicar rasgos específicos que están asociados a su éxito ecológico en el modelo productivo actual. Además, han sido explorados y ampliados los criterios utilizados para caracterizar estas especies herbáceas como malezas.

SUMMARY

This thesis examines the problem of *Gomphrena perennis* and *Iresine diffusa* as invasive weeds in fields engaged in no-till soybean systems with glyphosate-intensive applications, including different approaches to achieve a complete characterization of the weeds status of them. To achieve this aim different biological and agronomic factors were analyzed. Initially, the concepts of architectural analysis were applied to all species of the genus *Gomphrena* and *Iresine* present in Argentina as a starting framework for understanding their structural characteristics. After that, structure was quantified in *G. perennis* and *I. diffusa* through a morphological database of plants subjected to herbicide treatment to determine susceptibility and morphological and allometric responses; this work was complemented with typical dose-response studies to herbicides. To show contrasting situations, was used *Amaranthus quitensis* and a wild ecotype of *G. perennis* as sensitive controls to glyphosate. In addition, we worked at the level of seed biology in order to provide information about the possibility of seedlings to escape from herbicide application in both species.

The great variability in vegetative morphology observed among the species included in this study was represented by 9 different development models. They express the pattern of vegetative development of each species, therefore they are useful to integrate studies with taxonomic, morphological, phylogenetic and agronomic purposes. Regarding the development of species without the herbicide action, *G. perennis* presents individuals with higher competitive ability compared to those of *I. diffusa*, due both to increased precocity to reach reproductive stage and a higher growth rate at the seedling level. Furthermore, meristem allocations indicate that *I. diffusa* prioritizes the development of vegetative axes while *G. perennis* prioritizes the production of reproductive structures. Moreover, the seeds of *G. perennis* and *I. diffusa* find a suitable environment in non-till soybean field, where seeds remaining on the surface have the required temperature, light and depth needed for germination, and are adapted to germinate at environmental conditions commonly found in cultivated fields in the region, which may explain at least in part their success as weeds.

All individuals of both species and ecotypes survived the herbicide treatment. At dose-response studies, *G. perennis* and *I. diffusa* have shown similar levels of herbicide tolerance. However, the results based on structural patterns, namely the susceptibility index and allometric response in meristem allocation, showed that both species differ in their response to glyphosate, being herbicide tolerance greater in *G. perennis* than *I. diffusa*.

Moreover, the comparison between an agricultural ecotype and a wild ecotype of *G. perennis* showed different susceptibility to the herbicide between them. After application, in more advanced growth stages (full bloom), the architectural variables differed between ecotypes, either treated or untreated. *Gomphrena perennis* seems to have adapted to a particular agricultural situation (no-till soybean), differentiating genotypes what also show high tolerance to glyphosate.

Comparisons through architectural data have provided detailed information on growth and structure of *G. perennis* and *I. diffusa*. Quantification of plant architecture related to other biological characteristics have allowed the explanation of specific agronomic traits and their association with their ecological success in the current production model. Besides, the criteria used to characterize these herbaceous species as weeds have been explored and expanded.

AGRADEZCO ...

... a Mariel y Abelardo, quienes aunque sin conocerme han confiado en mi, por haberme brindado el apoyo necesario, por sus consejos, correcciones, paciencia, por haberme escuchado siempre, por brindarme todas sus capacidades para aprovechar esta oportunidad.

... a la Universidad Nacional del Litoral, especialmente a la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas y a la Facultad de Ciencias Agrarias, por brindarme el espacio académico y físico necesario para llevar a cabo este plan de investigación.

... a CONICET, debido a que las becas otorgadas posibilitó mi formación doctoral.

... al Decano de la FCA, Luis Rista, por el apoyo económico en algunos viajes necesarios para poder completar parte de mi formación.

... a Yves Caraglio, del laboratorio AMAP de Montpellier (INRA-CIRAD) por brindarme su ayuda para el manejo de datos arquitecturales.

... a Alicia, por las incalculables horas de trabajo, por tolerar mis dictados y mis propias correcciones a los mismos, por su comprensión y amistad, y también por las charlas sobre literatura, música, etc, etc, etc.

... a todos mis compañeros del grupo de trabajo de la cátedra de Morfología Vegetal, por su comprensión, apoyo, por la ayuda que en uno u otro momento y en diferentes maneras cada uno de ellos cálidamente me han brindado, y sobre todo por su amistad, por tantos buenos momentos compartidos.

... a las cátedras de Ecología, Botánica Sistemática, Sanidad Vegetal y Estadística de la FCA-UNL, por su desinteresado apoyo a mis reiteradas consultas.

... a Pedro y Cecilia, ya que por “culpa” de ellos inicié el trabajo con las “benditas” *Gomphrenas*.

... a Panchito, Mauro y Julián, por su invaluable ayuda en momentos que mas manos necesitaba.

... a Javier Grosfeld, del grupo de Arquitectura Vegetal de Bariloche (Universidad Nacional de Comahue-CONICET), por su lectura crítica y valiosos comentarios.

... a Osvaldo Fernández por brindarme la posibilidad de realizar parte de los estudios en el CERZOS (Bahía Blanca).

... a Diego Bentivegna por haberme recibido con gran amabilidad y colaborar activamente en el trabajo llevado a cabo en el CERZOS, también por las charlas y cenas compartidas.

... a Omar Vignatti, de la Cooperativa Agrícola de San Justo, por sus comentarios y asistencia en las visitas a campos cultivados donde se encontraban mis malezas.

... a Osvaldo y Alicia, quienes marcaron mi afición a la morfología vegetal y por brindarme todo su apoyo y estímulo para embarcarme y llevar a cabo esta etapa.

... a la Cátedra de Botánica General y a la FCA de la UNJu, por posibilitar mi formación de base necesaria y apoyarme para encarar este posgrado.

... a mis amigos, por el tiempo compartido, necesarios siempre, por su apoyo, consejos, risas, charlas, divagaciones y partidos de fútbol.

... a Andrea, por estar conmigo siempre, por brindarme toda su ayuda cada vez que necesitaba, por su ayuda también en la lectura crítica de algunos capítulos... por estar en mi vida y acompañarme siempre en todo momento. Gracias por todo!!!

... a toda mi querida familia, sin su apoyo, confianza, cariño, visitas, llamadas, etc no hubiese sido posible llevar a cabo este trabajo.

... en especial a mis queridos viejos, por su gran comprensión y por enseñarme a vivir.

Índice

Introducción general	1
I - Como surge una maleza.....	2
II - Aporte de estudios sobre el desarrollo estructural de una especie en la caracterización de su <i>status</i> “maleza”	5
III - Soja y Glifosato en contexto - perspectiva socioeconómica y ambiental....	8
IV - Biodiversidad y Malezas de baja susceptibilidad al Glifosato.....	10
V - Biología de <i>Gomphrena perennis</i> e <i>Iresine diffusa</i> y su tolerancia a glifosato	12
VI – Arquitectura y modelos de crecimiento.....	17
VII – Objetivos y estructura de este trabajo.....	19
Parte I: Estudios sobre características biológico-morfológicas de las especies	21
Capítulo 1 – Arquitectura y modelos de desarrollo en las especies argentinas de los géneros <i>Gomphrena</i> L. e <i>Iresine</i> P. Browne (Amaranthaceae)	22
Capítulo 2 – Cuantificación de factores estructurales relativos al estatus de maleza de <i>G. perennis</i> e <i>I. diffusa</i> aplicando AMAPmod software.....	67
Capítulo 3 – Factores que afectan la germinación y emergencia de semillas de <i>G perennis</i> e <i>I. diffusa</i>	90
Parte II: Estudios sobre la respuesta de las especies al herbicida glifosato	122
Capítulo 4 – Estudios Dosis-Respuesta - Caracterización de la tolerancia a herbicida de <i>I. diffusa</i> y <i>G. perennis</i> mediante biomasa producida	123
Capítulo 5 – Estructura del sistema de ramificación de <i>G. perennis</i> e <i>I. diffusa</i> bajo aplicación del glifosato.....	142
Capítulo 6 – Análisis arquitectural comparativo entre poblaciones de <i>G. perennis</i> de hábitats silvestres y agrícolas	164
Discusión General y Conclusión	209
Discusión General.....	210

Conclusión.....	221
Índice de Abreviaturas.....	228
Bibliografía.....	232

Introducción General

En las últimas décadas, la Morfología Vegetal ha tenido innovaciones filosóficas, teóricas y conceptuales que enfatizan la importancia del estudio de la dinámica de la forma y estructura de las plantas por su aplicación en muchos campos de las ciencias biológicas (Sattler & Rutishauser, 1997; Perreta & Vegetti, 2005). La Morfología Vegetal tradicionalmente ha adoptado un enfoque reduccionista al trabajar sobre órganos aislados, ignorando aspectos integrales y dinámicos de los sistemas de ramificación (Bell, 1991). Sin embargo, la morfología del desarrollo del vegetal en el espacio y en el tiempo tiene implicancias ecológicas y de manejo agronómico muy importantes. En las últimas décadas han ido surgiendo importantes aportes que hacen al aspecto dinámico e integral del crecimiento de la planta, trabajando con un enfoque morfológico del desarrollo.

Una visión integradora de la estructura y de la dinámica del desarrollo de los vegetales es la concepción básica del análisis arquitectural (Hallé & Oldeman, 1970; Oldeman, 1974; Hallé *et al.*, 1978). Esta rama de la Morfología Vegetal permite llegar a una síntesis del modo de desarrollo de una especie, utilizando conceptos relativamente simples basados en las características morfológicas comunes a todos sus individuos (Hallé & Oldeman, 1970; Oldeman, 1974; Hallé *et al.*, 1978; Barthélémy *et al.*, 1989; Barthélémy, 1991).

Este tipo de análisis, de gran poder predictivo sobre la ontogenia general de los individuos de una especie, se basa principalmente en señalar las características morfológicas compartidas por los ejemplares de una especie, más que en examinar sus diferencias individuales. Si bien este enfoque fue desarrollado inicialmente para analizar la forma de los árboles tropicales, los conceptos arquitecturales han demostrado ser una herramienta útil para estudiar la forma y ontogenia de plantas herbáceas (Jeannoda-

Robinson, 1977; Blanc, 1978; de Castro e Santos, 1981; Gay, 1993; Cremers & Edelin, 1995; Puntieri & Pyšek, 1998; Perreta, 2004).

Por su visión dinámica y global del desarrollo de los vegetales, el análisis arquitectural también permite analizar la influencia de factores externos que condicionan su desarrollo (Puntieri & Pysek, 1998; Seleznyova *et al.*, 2002; Perreta, 2004). A partir del conocimiento de la secuencia de diferenciación de la especie en condiciones no limitantes, es posible reconocer las reacciones que las plantas desarrollan a las restricciones impuestas por factores externos y deducir aspectos morfológicos relacionados con la expresión del genotipo (Nicolini, 1997; Pastorino *et al.*, 2010). La interrelación entre el potencial genético y las condiciones ejercidas por el medio ambiente en los diferentes elementos que componen la estructura vegetativa de una especie y su dinámica de construcción, ha sido demostrada claramente en muchos estudios tanto de especies arbóreas como herbáceas a través del análisis arquitectural (Grosfeld, 2002; Perreta, 2004; Damascos *et al.*, 2008; Williams *et al.*, 2008; Segura *et al.*, 2009).

I - ¿Cómo surge una Maleza?

Definir a las malezas es un tema controversial en ciencias vegetales, debido a que más que un grupo botánico son una categoría artificial de carácter antropocéntrico dentro del reino vegetal (Fernandez, 1979). En general, las plantas que son perjudiciales a las actividades del hombre se catalogan como “malezas”. Aunque no todos parecen convenir en precisar qué es una “maleza”, siempre se concuerda en que no son deseables. Su importancia económica (afectando cultivos agrícolas, ganadería y forestación) y social (afectando caminos, lugares de recreación, parques, canales de

agua potable o riego) es de tal magnitud, que su manejo no puede ser evitado (Baker, 1974; Fernandez, 1979; Bastiaans *et al.*, 2008). En los agroecosistemas las malezas constituyen “la otra parte” de plantas asociadas a los cultivos, donde compiten por recursos limitados, reducen la cosecha y exigen que se invierta en tecnología, elevando los costos de producción, con el fin de lograr su control y reducir las pérdidas (Cousens & Mortimer, 1995; Radosevich *et al.*, 2007). Las malezas comparten ciertas características biológicas que las distinguen de otras plantas. Específicamente, “malezas son aquel tipo de plantas que tienen éxito en colonizar ambientes disturbados potencialmente productivos, y que tienen la capacidad de regeneración a largo plazo bajo condiciones de disturbios repetidos” (Mohler, 2001).

Las definiciones de malezas generalmente enfatizan directa o indirectamente el rol negativo de las mismas, pero es importante para todo aquel que se encuentra involucrado en los problemas derivados de la presencia de malezas y su manejo, comprender como principio básico de acción los comentarios que hicieron Harlan y de Wet (1965): “las leyes que gobiernan las relaciones entre cultivos como organismos útiles y las malezas como organismos indeseables, son las mismas que gobiernan todos los sistemas ecológicos naturales. Así, la presencia de una maleza se identifica mejor con un fenómeno natural relacionado con adaptación ecológica y la evolución de dichos organismos a ambientes modificados por el hombre, y sólo incidentalmente puede vincularse a la consideración de que una especie sea indeseable o no”. En este sentido, las malezas constituyen poblaciones adaptadas a ecosistemas altamente perturbados como son los ambientes agrícolas. Desde el punto de vista ecológico, las malezas pueden definirse como especies pioneras de una sucesión secundaria, entendiendo como sucesión a la manifestación (dentro de un sistema) de los ajustes paulatinos entre la información genética de los organismos que tienen acceso al sistema y la información

ecológica del lugar (Soriano, 1975). En este sentido, la agricultura constituye la mayor fuerza selectiva en la evolución de las malezas, siendo actualmente los herbicidas uno de los factores más influyentes debido a los elevados volúmenes de aplicación (Gressel & Levy, 2006).

Debido a la presión de selección generada por la agricultura, nuevas taxas (razas, biotipos, ecotipos o especies) evolucionan como malezas a partir de plantas silvestres o domesticadas (De Wet & Harlan, 1975; Barrett, 1991; Martínez-Ghersa *et al.*, 2000). Se considera que una especie que tiene el potencial de convertirse en maleza debe estar hasta cierto punto “preadaptada” a las condiciones impuestas por los disturbios ocasionados por los sistemas agrícolas y perpetuarse en los mismos (Cousens & Mortimer, 1995). Suponiendo un área prístina que es sometida a la acción antrópica para implementar un cultivo, de las decenas o cientos de especies vegetales presentes en su condición natural, solamente unas pocas tienen el potencial de superar el disturbio o verse favorecidas por el mismo y convertirse en malezas. Sin esta preadaptación, es difícil concebir que la especie desarrolle aquellas características que le permiten prosperar en sistemas cultivados (Cousens & Mortimer, 1995).

El éxito en los programas de manejo de malezas depende en gran medida de la capacidad de predecir diferentes aspectos de la fenología de las mismas, como por ejemplo la emergencia de plántulas y vástagos o el crecimiento y desarrollo comparativo de las especies (Ghersa & Holt, 1995). A pesar de esto, el control químico de malezas, ampliamente cuestionado a nivel ambiental y ético, es el actual paradigma en el que se basa la estrategia de control de las mismas (Radosevich & Ghersa, 1992; Radosevich, 1998; Bastiaans *et al.*, 2008; Deytieux *et al.*, 2012). Sin embargo, la fuerte dependencia en el control químico de malezas, hoy se considera inaceptable (Radosevich *et al.*, 2007; Bastiaans *et al.*, 2008). Un sistema de cultivo con un enfoque

centrado en el empleo de herbicidas es poco sustentable, ya que implica un amplio uso de compuestos químicos con efectos negativos sobre la salud pública y el medio ambiente (Radosevich *et al.*, 2007; Bastiaans *et al.*, 2008).

Los modelos que representan el comportamiento biológico de las malezas son un área de investigación muy importante en la actualidad para avanzar sobre estrategias de manejo de malezas, ya que los mismos pueden ser usados para evaluar la efectividad de diferentes acciones para controlarlas (Bastiaans *et al.*, 2008). Por esta razón es necesario realizar estudios que permitan determinar de una manera objetiva las características biológicas de las especies presentes en el agroecosistema que ayuden a establecer métodos de manejo más racionales.

II - Aporte de estudios sobre el desarrollo estructural de una especie en la caracterización de su estatus como “maleza”

Una de las limitaciones mayores que existen para llevar a cabo un programa de manejo integrado, es la falta de conocimientos sobre la biología de malezas. La investigación básica es la que puede proveer la información necesaria sobre las razones de la presencia de malezas, contribuyendo al hallazgo de las estrategias adecuadas para su control. Los estudios sobre la biología y ecología, dirigidos a aquellos aspectos que hacen al objetivo final del manejo de la plaga en relación al cultivo y a las medidas de control apropiadas, deben ser una parte fundamental del manejo integrado de malezas (Radosevich *et al.*, 2007).

En este contexto, para planificar e implementar nuevos sistemas mejorados de manejo de malezas, necesitamos tener un mínimo de comprensión del comportamiento temporal y espacial de las poblaciones de malezas, tanto en ausencia de medidas de

control como en respuesta a varios tipos de prácticas de control. La comprensión de la dinámica temporal y espacial ha permitido que ciertos grupos de especies asociados a cultivos incluso sean considerados como “malezas benéficas”, por ser especies que compartían las características de ser relativamente poco perjudiciales a los cultivos y tener un gran valor como aporte al sostenimiento de la biodiversidad (Storkey, 2006).

El control químico de malezas no está exento de la necesidad de conocer la biología y las características de crecimiento de las malezas. Principalmente, es importante poder determinar las características de crecimiento en los estadios tempranos de desarrollo, debido a que es el momento donde son más susceptibles de ser controladas con herbicidas. El estado de desarrollo de una planta afecta la capacidad de absorción, transporte y procesos bioquímicos del herbicida dentro de la misma (Storkey, 2004).

En Argentina existe buena cantidad de información sobre los aspectos de control, dosis de herbicidas, combinaciones de herbicidas con diferente tipo de acción y utilización de coadyuvantes para el control de malezas (Papa & Felizia, 2001; Papa *et al.*, 2002; Monquero, 2003; Arregui *et al.*, 2006; Puricelli *et al.*, 2008; Puricelli & Faccini, 2009). Sin embargo, son pocos los trabajos que han abordado el estudio en detalle de las características arquitecturales y de crecimiento de las mismas (Malpassi, 2004; Panigo *et al.*, 2012). En respuesta al daño producido al aplicarse un herbicida, la planta puede modificar su estructura (Meusel *et al.*, 1977; Panigo *et al.*, 2012). La muerte de tejidos metabólicamente activos, hace que la planta deba redirigir su crecimiento al desarrollo de nuevas yemas vegetativas para asegurar su supervivencia (Meusel *et al.*, 1977; Berleth & Sachs, 2001; Horvath *et al.*, 2003; De Smet & Jürgens, 2007). Por otra parte, una especie puede sobrevivir a la aplicación de un herbicida pero no ser lo suficientemente competitiva como para alcanzar un umbral de daño económico

al cultivo (Tardif *et al.*, 2006; Vila-Aiub *et al.*, 2009). La tolerancia o resistencia necesariamente debe estar acompañada de otros atributos propios de su biología que le permitan alcanzar un nivel de perjuicio considerable a los cultivos para ser considerada “maleza”.

Son varios atributos los que permiten a estas especies “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). Estos atributos pueden ser determinados adecuadamente mediante el estudio del desarrollo estructural. El análisis arquitectural es una útil herramienta para comprender el desarrollo y contribuye a la comprensión de la capacidad de crecimiento de una especie, y puede ser usado para estudios sobre la biología de especies consideradas como malezas potenciales. Tanto las diferencias estructurales de las malezas como la variabilidad en su morfología afectan la manera en que ellas adquieren recursos del medio y también, en el caso particular de herbicidas, contribuyen a diferencias en la intercepción cuando los agroquímicos son pulverizados sobre las mismas. 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), posibilitando también, la exploración de la variabilidad intraespecífica de la arquitectura de las plantas y su respuesta a condiciones ecológicas y/o tratamientos agronómicos (De Reffye *et al.*, 1998; Seleznyova *et al.*, 2003). La comprensión del rol de aquellas características de las plantas que determinan el crecimiento en estadios tempranos permitiría identificar las diferentes estrategias utilizadas por las malezas para su establecimiento (Storkey, 2004).

III - Soja y Glifosato en contexto - Perspectiva socioeconómica y ambiental

La literatura indica que, a nivel global, la difusión de la tecnología de organismos genéticamente modificados (OGM) tuvo lugar bajo tres pilares neoliberales: privatización, comoditización y desregulación (Lyson, 2002; McAfee, 2003; Kloppenburg, 2004; Salleh, 2006; Roff, 2008). En Argentina, desde la década de 1990 se continúa en la Región Pampeana con una intensificación agrícola acompañada por un proceso de modernización que, a diferencia del modelo anterior con intervención del Estado, fue y sigue siendo promovido fundamentalmente por el sector privado (Rosenstein *et al.*, 2007). De esta manera, la tecnología OGM se volvió el pilar fundamental para el modelo de desarrollo agrícola que domina en la Argentina (Binimelis *et al.*, 2009). Este proceso difundió, a nivel regional, un modelo tecnológico para el cultivo de soja basado en: 1-la aparición de nuevas variedades de soja, que ostentan la característica de ser resistentes al herbicida de acción total glifosato, y 2-el reemplazo de las labranzas tradicionales por la siembra directa (Rosenstein *et al.*, 2007).

Desde su introducción en 1996, los cultivares de soja resistente a glifosato han sido rápidamente adoptados por los agricultores en Argentina y en otros países del mundo. La soja resistente al herbicida glifosato es el cultivo transgénico de mayor importancia global: en 2009 el 52 % del área sembrada con cultivos transgénicos correspondió a este cultivo (Heap, 2011). Actualmente, la soja es el mayor cultivo de Argentina y el uso de cultivares de soja transgénicos resistentes a glifosato se ha incrementado notablemente durante la última década (SIIA, 2011). En 2010 el área sembrada con soja en Argentina superó las 18.000.000 ha, y de esta superficie una alta

proporción (> 95%) fue bajo sistemas de siembra directa con variedades resistentes a glifosato (SIIA, 2011).

La alta tasa de adopción de esta tecnología está basada en que los cultivares de soja transgénica resistentes a glifosato ofrecen una opción de control en pos-emergencia de malezas de hoja ancha (dicotiledóneas) y de hoja angosta (monocotiledóneas) con la simplicidad provista por el uso de este único herbicida de alta eficacia en muchas malezas (Reddy, 2001; Duke & Powles, 2008). Otra ventaja que menciona la literatura es el menor costo en el control de malezas comparado con cultivares convencionales (Kudsk & Streibig, 2003; Vitta *et al.*, 2004a; Duke & Powles, 2008). Además, como el glifosato no tiene acción residual en el suelo sobre otras especies vegetales no transgénicas, permite que los agricultores puedan elegir la rotación de cultivos en la siguiente temporada sin restricciones (Reddy, 2001; Arregui *et al.*, 2006). La siembra directa, que está incluida dentro del paquete tecnológico de cultivares transgénicos, reemplazó la labranza del suelo. La labranza del suelo es considerada una práctica perjudicial para el mismo, ya que por un lado causa pérdida de suelo del horizonte superficial y gran mineralización de la materia orgánica, y por otro lado la utilización de implementos de labranza resulta en un aumento significativo en el consumo de combustibles fósiles con grandes emisiones de CO₂ (Duke & Powles, 2008).

Las citadas ventajas de los cultivos resistentes a glifosato, permitieron un gran incremento en su uso como cultivos extensivos. Junto al aumento en superficie cultivada la cantidad de glifosato utilizado ha sido elevada en una relación directa. Solo en Argentina el volumen aplicado de este herbicida en la campaña 2009/2010 superó los 200 millones de litros de producto comercial (Kleffmanngroup-Argentina, 2010). Inicialmente se promocionó al glifosato como un herbicida “amigable para el ambiente” por ser ecotoxicológicamente seguro (para una revisión de todas las ventajas del uso de

glifosato ver Della-Cioppa & Callan, 2000; Duke & Cerdeira, 2005; Cerdeira & Duke, 2006; Duke & Powles, 2008; Bonny, 2009). Sin embargo, hay numerosos estudios asociados a los efectos ecotoxicológicos nocivos producidos por las aplicaciones intensivas del mismo, con consecuencias socio-ambientales a escala regional, teniendo en cuenta los efectos sobre la biota, el suelo y el agua (para una revisión actualizada ver UNL, 2010). En el citado informe se expresa que "no existen agroquímicos inocuos. Todas las sustancias de uso fitosanitario, entre las que se incluye el glifosato, presentan toxicidad y por ende algún grado de peligrosidad tanto respecto a la exposición aguda como crónica. Resulta de notable importancia la realización de estudios que, desde el punto de vista agronómico, aporten al objetivo de optimizar las aplicaciones de herbicidas solo a situaciones realmente útiles".

IV - Biodiversidad y Malezas de baja susceptibilidad al Glifosato

Si bien es cierto que el empleo extensivo de glifosato ha significado el uso de una práctica cuyas ventajas agronómicas están fuera de discusión, también lo es el hecho que el problema de las malezas no ha desaparecido y en numerosos casos particulares se ha agravado (Vitta *et al.*, 2004a). Además, es de gran preocupación el impacto que puede tener sobre el ambiente el uso repetido y/o indiscriminado de cualquier tipo de agroquímico (Deytieux *et al.*, 2012).

Muchos cuestionamientos han surgido por el riesgo de pérdida de biodiversidad en regiones agrícolas. La biodiversidad tiene una marcada importancia sobre la productividad, eficiencia en el uso de recursos, resiliencia y otras propiedades del agroecosistema (Jordan & Vatovec, 2004); incluso las comunidades de malezas pueden ser utilizadas como indicadores de rendimiento y calidad de sitio (Suarez *et al.*, 2001).

Además, el uso de un simple herbicida con una elevada eficacia puede reducir los recursos alimenticios provistos por las malezas a otros organismos (Watkinson *et al.*, 2000; Wolfenbarger & Phifer, 2000; Conner *et al.*, 2003; Marshall *et al.*, 2003; Bohan *et al.*, 2005; Garcia & Altieri, 2005). La expansión de la agricultura puede ser uno de los mayores contribuyentes respecto a la pérdida de biodiversidad, o al menos de muchos grupos funcionales tales como los morfotipos y fisiotipos (Benton *et al.*, 2003). Hay que agregar también que la mayoría de las prácticas agronómicas tienden a reducir la diversidad de plantas a favor de una única especie cultivada (Légère *et al.*, 2005).

La introducción e intensa adopción de una nueva herramienta de manejo de malezas dentro del agroecosistema a menudo resulta en un cambio de composición en la flora de malezas (Vitta *et al.*, 2004b). Estos cambios en las composición de comunidades de malezas son desde especies más susceptibles hacia especies más tolerantes, y esto se da tanto para métodos de control químico como no-químico (Culpepper, 2006).. La tecnología “resistente a glifosato” (RG) es una de las prácticas de manejo de malezas que actualmente se usa extensivamente, y la respuesta respecto a los cambios en la composición y abundancia de poblaciones de malezas, denominada “weed-shifts”, ha sido reportada en muchos estudios de diferentes regiones agrícolas del mundo (Tuesca *et al.*, 2001; Culpepper, 2006; Johnson *et al.*, 2009).

En los últimos años a partir de relevamientos de malezas realizados en la zona centro y sur de la provincia de Santa Fe, se han registrado cambios en la flora de malezas asociadas al cultivo de soja RG. (Vitta & Satorre, 1999; Vitta *et al.*, 2000; Papa & Felizia, 2001; Tuesca *et al.*, 2001; Papa *et al.*, 2002; Rodriguez, 2004; Dellaferrera *et al.*, 2007; Dellaferrera *et al.*, 2009). Dentro de este gran grupo de especies se encuentran citadas *Gomphrena perennis* L. e *Iresine difussa* Humb. & Bonpl. ex Willd. Ambas especies pertenecen a la familia botánica Amaranthaceae (Pedersen, 1987). Sin

embargo, aparte de descripciones taxonómicas (Pedersen, 1987) no existe prácticamente información sobre la biología y características de crecimiento de estas especies debido a que recién, en la última década, empezaron a tomar notoriedad al comportarse como malezas problemáticas de manejar en los campos cultivados (Papa & Felizia, 2001; Tuesca *et al.*, 2001; Papa *et al.*, 2002; Rodriguez, 2004).

V - Biología de *G. perennis* e *I. diffusa* y su tolerancia a Glifosato

Gomphrena perennis es una planta herbácea perenne que pertenece a la familia Amaranthaceae. Es nativa de Sudamérica subtropical y se encuentra distribuída en Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay, y Uruguay (Pedersen, 1976, 1987). Es una planta monoica, erguida, de hasta 1,2 m de altura, posee hojas enteras, subpecioladas, aovado-lanceoladas, con ambas caras densamente revestida de pelos largos uniseriados. Además, se caracteriza por su raíz principal de tipo axonomorfa que en la parte proximal a la superficie presenta un notable engrosamiento debido a la acumulación de sustancias de reserva (Acosta *et al.*, 2009a), lo que le permite rebrotar a partir de yemas de innovación después de sequías e incendios en campos naturales (Kristensen & Frangi, 1995) o después de algún disturbio como la aplicación de herbicidas (Acosta & Perreta, 2009). Sus inflorescencias son muy numerosas, una planta desarrollada proveniente de semilla llega a producir 1000 a 1500 unidades de inflorescencias (Acosta & Perreta, 2009). Cada unidad de inflorescencia se presenta en forma de cabezuela (espiga capituliforme) con 30-40 flores, y produce utrículos de apenas 3 mm de longitud (Pedersen, 1987). Es alógama, con polinización de tipo entomófila, no presenta ningún tipo de reproducción vegetativa y sólo se reproduce a través de la producción de semillas (Pedersen, 1987; Exner *et al.*, 2004).

En Argentina, se comporta como maleza de campos cultivados extendiéndose por toda la región Norte y Centro, abarcando 13 provincias, siendo las serranías de la provincia de Buenos Aires su límite sur (Pedersen, 1987). *Gomphrena perennis* esta catalogada como especie de baja susceptibilidad al herbicida glifosato (Nisensohn *et al.*, 2007; Puricelli *et al.*, 2008). Un aumento importante de su densidad poblacional se registró principalmente en cultivos de soja resistentes a glifosato en la zona centro y sur de la provincia de Santa Fe (Rodríguez, 2004; Puricelli *et al.*, 2008; Dellaferrera *et al.*, 2009; Lámina V.1), donde los agricultores la reconocen bajo el nombre vulgar de “copito”.

Iresine diffusa es una planta herbácea perenne que también pertenece a la familia Amaranthaceae. Es nativa del continente Americano. Se encuentra ampliamente distribuída en ambientes tropicales y subtropicales de Norteamérica (EUA y México), Centroamérica y Sudamérica (Robertson, 1981; Pedersen, 1987, 1990; Sanchez del Pino *et al.*, 1999). En Argentina se encuentra en 17 provincias y presenta como límite sur de su distribución geográfica la región del Plata (Pedersen, 1999). Es una planta subarborescente, apoyante o erecta, diclino-dioica, de hasta 3 mts de altura. Presenta numerosas ramificaciones, las de la base con crecimiento plagiótropo de tipo estolonífero o rizomatoso. Las hojas son simples, pecioladas, obovado-lanceoladas, agudas, esparcidamente pilosas en el haz y sobre los nervios del envés. Inflorescencias en panoja amplia de espigas alargadas (Pedersen, 1987). Presenta reproducción sexual y polinización anemófila. Puede producir una elevada cantidad de semillas, que son fácilmente dispersadas por el viento debido a los largos tricomas basales que presenta el utrículo (Borsch, 1995) y puede reproducirse vegetativamente a través de estolones o rizomas (Pedersen, 1987). Además, ha sido citada como una especie invasiva



Lámina V.1 - Algunos campos cultivados con soja resistente a glifosato de la región centro de Santa Fe con problemas de control en *G. perennis*. Las áreas mas claras en cada fotografía corresponde a poblaciones de *G. perennis*, que contrasta con áreas de color verde que corresponde al cultivo de soja.

importante en sucesiones secundarias en diferentes regiones de México y Brasil (Castillo & Moreno-Casasola, 1996; Markesteijn, 2002; Toledo & Salick, 2006) y sus semillas poseen la capacidad de generar un banco de semillas persistente (Markesteijn, 2002; Etchepare & Boccanelli, 2007; Ferri *et al.*, 2009). Es una especie a la cual se le atribuyen propiedades medicinales. En estudios etnobotánicos ha sido citada por ser usada en medicina popular contra la fiebre (Leonti *et al.*, 2002). En farmacobotánica sus extractos son utilizados por poseer actividad anti-malaria (Céline *et al.*, 2009) y propiedades alexitéricas (Houghton & Osibogun, 1993).

Iresine diffusa se comporta como maleza de campos cultivados en toda la región pampeana argentina, donde es conocida con el nombre vulgar de “pluma” (Papa & Felizia, 2001; Dellaferrera *et al.*, 2009; Puricelli & Faccini, 2009; Mas *et al.*, 2010; Lámina V.2) y está catalogada como especie tolerante al herbicida glifosato (Papa & Felizia, 2001; Papa *et al.*, 2002; Vitta *et al.*, 2004b; Faccini *et al.*, 2008) Además, como maleza presenta problemas de control con otros herbicidas de diferentes sitios de acción. Bajos porcentajes de control fueron obtenidos para *I. diffusa* con los herbicidas 2,4-D y metsulfuron-methyl + dicamba tanto en estado de desarrollo reproductivo como vegetativo (Faccini & Puricelli, 2007; Faccini *et al.*, 2008).

A pesar de lo que se conoce sobre estas especies, expuesto en los párrafos anteriores, no se dispone de información sobre su biología y factores que la afectan, ni sobre el desarrollo de ambas especies. El conocimiento de estas características resultan cruciales para optimizar su manejo debido a los grandes problemas de control que presentan.



Lámina V.2 - a) Individuos de *Iresine diffusa* (plantas notablemente verdes y de gran tamaño) que sobrevivieron a la aplicación de glifosato (realizada 14 días antes de tomada la fotografía) en campo en preparación para ser cultivado con soja resistente a glifosato cercano a la localidad de Esperanza (Pcia. de Santa Fe), b) detalle de un individuo (vista arriba), c) detalle de un individuo (vista lateral) donde se pueden observar algunos ápices y hojas amarillentas por el efecto herbicida y d) rebrote desde estructura de perennización.

VI - Arquitectura y Modelos de Crecimiento

Hallé y colaboradores a partir del estudio de un gran número de especies vegetales han puesto de manifiesto los diferentes patrones que determinan el desarrollo de las plantas (Hallé *et al.*, 1978). Este último puede ser visto como una secuencia precisa y ordenada de eventos, determinada principalmente por el funcionamiento coordinado del conjunto de meristemas (Hallé *et al.*, 1978).

Aunque la estructura de una planta resulta de procesos repetitivos (White, 1979; Barthélémy, 1991), el crecimiento y desarrollo de la misma varía en función de factores oportunistas, factores deterministas, y de sus interacciones. Mientras los factores deterministas (o genéticos) predisponen a una planta hacia una arquitectura específica, los componentes oportunistas causan su modificación en respuesta al ambiente (Seleznýova *et al.*, 2002; Segura *et al.*, 2009).

El objetivo del análisis arquitectural es identificar la secuencia endógena de desarrollo de una especie. La determinación del patrón endógeno de desarrollo se realiza teniendo en cuenta principalmente individuos que crecen en condiciones libres de restricciones ambientales, de forma que expresen todo su potencial morfogenético (Hallé *et al.*, 1978). Al determinar estos patrones y diferenciarlos de los efectos debidos a la influencia del medio se logra una verdadera cartografía de la estructura vegetal (Puntieri *et al.*, 1995; Barthélémy, 2000). Cualquiera sea su complejidad, la planta es examinada en su totalidad, mostrando los elementos básicos que constituyen su arquitectura (Tourn *et al.*, 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 (Barthélémy *et al.*, 1989; Barthélémy, 1991). En la actualidad ya se han aislado y caracterizado en las plantas

superiores genes que están directamente involucrados en la formación de la arquitectura como ser los que controlan la iniciación y crecimiento de yemas axilares, elongación de tallos y estructura de inflorescencias (Ratcliffe *et al.*, 1998; Sussex & Kerk, 2001; Wang & Li, 2006; Wang & Li, 2008). Para estos autores la arquitectura de las plantas es un método apropiado para identificar especies debido a su alto grado de determinación genética. El conocimiento arquitectural y la secuencia de diferenciación de los ejes de cada especie permite simular el desarrollo de plantas bajo condiciones subóptimas de crecimiento o predecir las respuestas poblacionales a diferentes factores bióticos o abióticos que modifiquen el desarrollo de los individuos (Barthélémy, 2000).

La arquitectura de una planta es el resultado del funcionamiento de sus meristemas y es determinada por el número, tamaño y disposición relativa de sus ejes vegetativos aéreos y subterráneos, así como también por la reorientación activa que estos ejes puedan sufrir en el medio en el cual se desarrollan (Hallé & Oldeman, 1970; Bell, 1994; Tourn *et al.*, 1999). El estudio de las formas a partir de principios dinámicos de construcción es inicialmente cualitativo, pero provee de información básica que permite la cuantificación (Tomlinson, 1987; Barthélémy, 1991). A partir de dicha cuantificación es posible la elaboración de modelos y la simulación del crecimiento de una especie (De Reffye *et al.*, 1998). Los modelos son una representación simplificada del sistema en estudio que posibilitan la comprensión del fenómeno analizado, permitiendo la interpretación de las leyes que rigen el crecimiento (Niklas, 1994). Estos modelos de crecimiento describen el funcionamiento de los meristemas a través de procesos estocásticos; de esta forma contemplan las variaciones intra e interindividuales debidas a procesos aleatorios, lo cual les permite simular la variabilidad de las poblaciones naturales (De Reffye & Hu, 2003). Se logra así una simulación de la dinámica poblacional, ya que cada módulo dentro de la población tiene su propia edad,

o estado, una probabilidad específica de sobrevivir o reproducirse, y una distribución estadística propia para cada parámetro de crecimiento (Callaghan *et al.*, 1990).

El conocimiento de las “reglas” que gobiernan la estructura de las plantas es importante para entender el funcionamiento de las mismas. Al proveer datos estructurales para la parametrización de modelos, el análisis arquitectural facilita el desarrollo de un enfoque funcional-estructural formalizado (Fernandez Quiroga, 2005), enfoque de gran utilidad para investigar como interactúan las malezas con los cultivos dentro del agroecosistema (Karley & Marshall, 2007; Bastiaans *et al.*, 2008).

VII - Objetivos y estructura de este trabajo

Considerando el problema que representan *G. perennis* e *I. diffusa* como malezas invasoras de campos dedicados a la siembra directa con aplicaciones intensivas de glifosato, y la falta de estudios sobre la biología de dichas especies, este trabajo se centrará en identificar cuales son las características biológicas y morfológicas que permiten su desarrollo como “malezas”. Basados en el análisis arquitectural, se estudiarán sus sistemas de ramificación desde la germinación a fin de determinar sus patrones estructurales, para luego analizar el efecto que la aplicación de glifosato tiene sobre dichos patrones y generar modelos de crecimiento de las especies. El objetivo general de esta tesis es evaluar en *G. perennis* e *I. diffusa* diferentes factores biológico-morfológicos que les permiten desarrollarse como malezas y que puedan estar influyendo en sus bajas susceptibilidades al herbicida glifosato.

Con el fin de abordar el objetivo mencionado, el presente trabajo se ha organizado de acuerdo a las siguientes secciones:

- En la primera parte se abarca el estudio de aspectos biológico-morfológicos de las especies. Esta sección incluye el estudio del desarrollo estructural a nivel cualitativo de las especies Argentinas de los géneros *Gomphrena* e *Iresine*. Luego se abordó a nivel cuantitativo el estudio arquitectural de *G. perennis* e *I. diffusa*. En el último capítulo de esta primera parte se trabajó sobre la biología de sus semillas.

- En la segunda parte se abarca la caracterización de *G. perennis* e *I. diffusa* frente al factor “aplicación de glifosato”. Esta sección incluye el efecto del herbicida desde una perspectiva estructural cuantitativa y desde una perspectiva clásica mediante ensayos dosis-respuesta.

- En el capítulo final se realiza un análisis de las implicancias de los resultados obtenidos en su conjunto sobre la caracterización y el manejo de ambas especies como malezas y se proponen posibles líneas futuras de investigación.

Parte I

*Estudios sobre características
biológico-morfológicas de las especies*

Capítulo 1

Arquitectura y modelos de desarrollo en las especies argentinas de los géneros *Gomphrena* L. e *Iresine* P. Browne (Amaranthaceae)

Resumen

Los conceptos del análisis arquitectural fueron aplicados para describir el desarrollo estructural de las especies argentinas de los géneros *Gomphrena* e *Iresine*. La gran variabilidad en la morfología vegetativa observada entre las especies incluidas en el presente estudio ha sido representada por un patrón de crecimiento y ramificación particular. Se determinaron 9 modelos de desarrollo diferentes. Las características arquitecturales más remarcables para la determinación de los mismos son las categorías de ejes que la integran y el tipo de crecimiento del eje epicotilar. La repetición basítona para estas especies herbáceas es una característica de gran importancia arquitectural que permitió la asignación de modelos arquitecturales. Los modelos determinados expresan el patrón de desarrollo vegetativo de las especies por lo que serán de utilidad para integrar datos morfológicos con propósitos taxonómicos y filogenéticos.

INTRODUCCIÓN

Gomphrena L. es el segundo género en número de especies de la familia Amaranthaceae, y está distribuido en América, Australia y la región Indo-Malaya, con aproximadamente 125 especies (Siqueira, 1992; Palmer, 1998; Ortuño & Borsch, 2005, 2006). En América se presentan más de 100 especies de las cuales 22 crecen en la Argentina en áreas subtropicales cálidas y templadas, que abarcan desde el norte del país hasta la Patagonia septentrional, ocupando una gran diversidad de hábitats, desde tierras bajas hasta altas montañas y ambientes húmedos cercanos a ríos, hasta ambientes con marcada estacionalidad seca y fría, o lugares sin estacionalidad (Pedersen, 1976, 1987, 1990; 1999).

El género *Iresine* P. Browne se estima que abarca más de 70 especies, distribuidas en los trópicos y subtrópicos del Nuevo Mundo al igual que en Australia y en las Islas Galápagos (Robertson, 1981). Sin embargo, debido a que han existido

controversias acerca de la identidad, es probable que el número verdadero de especies se aproxime a 40 (Eliasson, 1987). Comprende hierbas anuales o perennes, arbustos o lianas, rara vez árboles. Henrickson & Sundberg (1986) mencionan que la mayor problemática taxonómica del género se encuentra en las especies herbáceas. Eliasson (1987) señala que algunas especies son muy variables morfológicamente probablemente a causa de los diferentes niveles de ploidía por lo que la delimitación de los taxa requiere de más estudios. En Argentina este género está representado solamente por la especie *I. diffusa* (Pedersen, 1999).

Muchas de las especies de *Gomphrena* e *Iresine* son ampliamente utilizadas en medicina popular (Hieronymus, 1929). De extractos de diferentes especies argentinas de *Gomphrena* han sido identificados y aislados agentes antimicrobianos y antitumorales (Pomilio *et al.*, 1992; Pomilio *et al.*, 1994). Respecto a *Iresine*, en estudios etnobotánicos ha sido citada *I. diffusa* por ser usada en medicina popular contra la fiebre (Leonti *et al.*, 2002). En Farmacobotánica los extractos de esta especie son utilizados por poseer actividad anti-malaria (Céline *et al.*, 2009) y propiedades alexitéricas (Houghton & Osibogun, 1993).

Estos géneros comprenden especies con una considerable diversidad en su morfología vegetativa la cual ha sido descrita de diferentes maneras (Standley, 1922; Holzhammer, 1955, 1956; Pedersen, 1976, 1987, 1990, 1999; Robertson, 1981; Eliasson, 1987; Eliasson, 1988; Siqueira, 1992). En los citados estudios taxonómicos, las descripciones acerca de la morfología vegetativa de las especies de los géneros *Gomphrena* e *Iresine* han estado limitadas a características estáticas como formas de órganos y sus patrones de distribución. Datos sobre la ontogenia del sistema de vástagos, que abarquen el aspecto dinámico e integral del crecimiento y ramificación que conduce el desarrollo de la estructura de cada especie no han sido tenidos en cuenta.

Sin embargo, en las últimas décadas, la morfología vegetal se ha visto impulsada debido a innovaciones filosóficas, teóricas, conceptuales y metodológicas que enfatizan la importancia del estudio de la dinámica de la forma y estructura de las plantas para su aplicación en diversos campos de las ciencias biológicas (Sattler & Rutishauser, 1997; Perreta & Vegetti, 2005).

Entre estas nuevas perspectivas, el análisis arquitectural propuesto por Hallé y colaboradores (Hallé & Oldeman, 1970; Oldeman, 1974; Hallé *et al.*, 1978) y los conceptos desarrollados a posteriori (por una revisión actualizada ver Barthélémy & Caraglio, 2007) han resultado ser una útil herramienta para estudiar la forma de las plantas y su ontogenia. Este enfoque, que analiza las formas de las plantas en términos de patrones de crecimiento y ramificación, fue desarrollado inicialmente para analizar la forma de los árboles, pero posteriormente ha demostrado su utilidad para el estudio de plantas herbáceas (Jeannota-Robinson, 1977; Blanc, 1978; de Castro e Santos, 1981; Gay, 1993; Cremers & Edelin, 1995; Puntieri & Pyšek, 1998; Perreta, 2004).

Aunque existe influencia de factores externos (ambientales), la arquitectura de una planta está determinada principalmente por su programa genético (Sussex & Kerk, 2001; Wang & Li, 2006; Wang, 2008). El análisis arquitectural permite identificar y describir los patrones de crecimiento y ramificación heredables en una especie (su modelo arquitectural). La unidad arquitectural constituye la expresión particular del modelo para cada especie y es considerada una característica endógena muy estable (Barthélémy & Caraglio, 2007). Por esta razón, al ser incluido el aspecto dinámico e integral del crecimiento de las plantas, que abarca la totalidad del programa genético conducente al desarrollo de la estructura de cada especie, las características morfológicas obtenidas desde este enfoque resultarían de gran valor para ser utilizadas en estudios taxonómicos y filogenéticos. Sin embargo, una reseña sobre la literatura

taxonómica y filogenética, indica que la representación de caracteres arquitecturales en este tipo de estudios está más cerca de ser una excepción antes que una regla (Renobales *et al.*, 1999; Stecconi, 2006). Esto se debe en parte, a lo relativamente reciente de la disciplina arquitectura vegetal, y a que muchos de los estudios fueron realizados principalmente sobre ejemplares de herbario y no sobre organismos vivos y en desarrollo. Mientras que los caracteres florales y de inflorescencias son fácilmente obtenidos desde especímenes herborizados, los aspectos arquitecturales sólo pueden visualizarse parcialmente en ejemplares herborizados que, a menudo constituyen fragmentos que incluyen únicamente porciones florecidas o fructificadas..

Por otra parte, aunque algunas especies herbáceas claramente pueden ser representadas por alguno de los modelos descritos por Hallé *et al.* (1978), existen características propias del hábito herbáceo que pueden hacer confusa la asignación del modelo arquitectural que las representa. Se ha observado que varias modificaciones deberían ser introducidas para permitir que muchas especies herbáceas sean interpretadas dentro de este enfoque conceptual. En este sentido, se definieron nuevos conceptos como la fragmentación, la postración e incluso se ha planteado la necesidad de la descripción de nuevos modelos (Jeannoda-Robinson, 1977; Renobales *et al.*, 1999). Además, la constancia de ciertos elementos morfológicos en herbáceas ha llevado a algunos autores a marcar una cierta monotonía arquitectural. Por ejemplo, en Gramíneas, una familia con más de 10000 especies, de los 23 modelos arquitecturales descritos en Hallé *et al.* (1978), solo se hallaron representados los modelos de Tomlinson y de McClure, por ser los únicos que contemplaban la ramificación basítona (de Castro e Santos, 1981). Recientemente se ha propuesto el modelo de Bell (Hallé, 2004), consistente en un eje rizomatoso, subterráneo o aéreo, plagiotrópico y monopodial (a diferencia de los modelos de Tomlinson y McClure cuyos ejes

horizontales son simpodiales), del que derivan ejes ortotrópicos, ramificados o no, con floración (lateral o terminal) o ejes solamente vegetativos. Este modelo comprendería muchas plantas herbáceas, incluyendo algunas de las Bambúceas.

Cremers & Edelin (1995) haciendo una abstracción de la ramificación basítona mostraron que el estudio arquitectural de los módulos aéreos en herbáceas de ramificación basítona expresaban muchos de los modelos ya descritos, y propusieron que el modelo de Tomlinson no es un modelo en sí mismo, sino que sólo debería ser considerado como una variante con reiteración basal de alguno de los modelos reconocidos. Este criterio tiene 2 ventajas, permite aprovechar los modelos arquitecturales ya definidos para describir la diversidad arquitectural en herbáceas sin necesidad de la creación de nuevos modelos, lo que simplifica claramente el análisis, y además posibilitaría remarcar el rol de la reiteración en la filogénesis de las formas de crecimiento de dichas especies (Cremers & Edelin, 1995).

Utilizando los conceptos y el método del análisis arquitectural (Barthélémy & Caraglio, 2007), en este trabajo se determinaron los sistemas de vástagos que caracterizan a las diferentes especies estudiadas de los géneros *Gomphrena* e *Iresine*. El objetivo fue determinar la secuencia de desarrollo estructural de cada una de ellas. Además, según los patrones de crecimiento y ramificación que las representan, esas especies fueron agrupadas en diferentes modelos de desarrollo. La aplicabilidad de los modelos arquitecturales para integrar datos morfológicos vegetativos con propósitos taxonómicos y filogenéticos es discutida. No se analiza en detalle la estructura de la inflorescencia lo que es abarcado por otro trabajo (Acosta *et al.*, 2009b).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal utilizado: Las especies de *Gomphrena* e *Iresine* incluidas en el presente estudio (Tabla 1.1) corresponden a los taxones aceptados para la Flora Argentina (Pedersen, 1999).

Aunque para la determinación del modelo arquitectural es necesario el análisis de la planta desde la germinación (Hallé & Oldeman, 1970; Oldeman, 1974; Jeannoda-Robinson, 1977; Hallé *et al.*, 1978; Barthélémy *et al.*, 1989; Barthélémy & Caraglio, 2007), no todas las especies pudieron ser cultivadas desde la germinación. Por lo tanto en este trabajo se utilizaron plantas vivas cultivadas en el invernadero de la FCA-UNL, pero además se observaron individuos en diferentes estadios de desarrollo encontrados a campo y/o ejemplares herborizados obtenidos de diferentes herbarios argentinos (SF, BAB, SI, JMD, CTES, LIL, LP; MCNS). El tipo de material utilizado con el que se contó para cada taxón estudiado se detalla en Tabla 1.1.

Estudio Arquitectural: según el tipo de material vegetal, las observaciones fueron realizadas de la siguiente manera: (1) al material vivo cultivado en invernadero se le hizo un seguimiento periódico (cada 15 días) de su desarrollo; (2) al material coleccionado a campo en diferentes estadios de crecimiento se lo diseccionó y analizó; (3) al material herborizado: se utilizaron sólo aquellos ejemplares que correspondieron a individuos completos y se realizaron observaciones bajo microscopio estereoscópico.

Para obtener una secuencia representativa del desarrollo estructural de cada especie, todas las observaciones realizadas fueron esquematizadas, y han sido descritas de acuerdo a los siguientes criterios:

Tabla 1.1 - Especies aceptadas para la flora Argentina y tipo de material utilizado (x) en el presente estudio. Está indicado para cada especie el modelo de desarrollo determinado (ver sección resultados), el modelo arquitectural que lo representa y se señala mediante una x si posee reiteración basítona (ver sección discusión). * Especie tipo del género *Gomphrena* que no pertenece a la flora argentina, pero que fue incluida en el estudio.

Especies estudiadas	Sección (Holzhammer 1955)	Material vegetal utilizado			Modelo de Desarrollo	Modelo Arquitectural	Reiteración Basítona
		cultivado	campo	herbario			
<i>Gomphrena boliviana</i> Moq.	-		x	x	MD3-5	Attims	
<i>G. celosioides</i> Mart.	Gomphrena	x	x	x	MD3-4	Troll	
<i>G. cladotrichoides</i> Suess.	Chnoanthus		x	x	MD3-2	Leeuwenberg	x
<i>G. colosacana</i> Hunz. & Subils	-			x	?	-	x
<i>G. elegans</i> Mart.	Gomphrenula	x	x	x	MD3-5	Attims	
<i>G. ferruginea</i> Pedersen	-		x	x	MD3-5	Attims	
<i>G. graminea</i> Moq.	Stachyanthus		x	x	MD2-1	Holtum	x
<i>G. haenkeana</i> Mart.	-	x	x	x	MD3-5	Attims	
<i>G. martiana</i> Gillies ex Moq.	Gomphrenula	x	x	x	MD3-4	Troll	
<i>G. mendocina</i> (Phil.) R.E.Fr.	Chnoanthus	x	x	x	MD3-1	Chamberlain	x
<i>G. meyeniana</i> Walp.	Gomphrenula		x	x	MD2-2	Corner	
<i>G. pallida</i> (Suess.) Pedersen	-		x	x	MD2-3	Holtum	
<i>G. paraguayensis</i> Chodat	-		x	x	MD3-3	Attims	x
<i>G. perennis</i> L.	Gomphrena	x	x	x	MD3-3	Attims	x
<i>G. phaeotricha</i> Pedersen	-		x	x	MD3-3	Attims	x
<i>G. platycephala</i> R.E.Fr.	Gomphrenula		x	x	MD3-3	Attims	x
<i>G. pulchella</i> Mart.	Gomphrena	x	x	x	MD3-3	Attims	x
<i>G. pumila</i> Gillies ex Moq.	Gomphrenula			x	MD2-2	Corner	
<i>G. radiata</i> Pedersen	-	x	x	x	MD2-3	Holtum	
<i>G. tomentosa</i> (Griseb.) R.E.Fr.	Chnoanthus	x	x	x	MD3-2	Leeuwenberg	x
<i>G. umbellata</i> J.Rémy	Chnoanthus		x	x	MD2-3	Holtum	
<i>G. vaga</i> Mart.	Gomphrenula		x	x	MD3-3	Attims	x
<i>G. globosa</i> L.*	Gomphrena	x		x	MD3-5	Attims	
<i>Iresine diffusa</i> Humb. & Bonpl. ex Wild.	-	x	x	x	MD3-5	Attims	

1) Alargamiento del eje epicotilar. Se tuvieron en cuenta las siguientes variaciones en sus características de crecimiento: (1) reducido (el eje epicotilar posee numerosos nudos pero se encuentra reducido debido al escaso alargamiento de los mismos; Figura 1.1a); (2) semi-alargado (presenta dos zonas diferenciadas, una zona proximal de entrenudos de escaso alargamiento que incluye el nudo cotiledonar y 3-5 nudos basales y una zona distal con un número variable de entrenudos, 5 o más, notablemente alargados; Figura 1.1b); (3) alargado (todos los entrenudos notablemente alargados; Figura 1.1c).

2) Características del crecimiento y la ramificación de los ejes: fueron caracterizados siguiendo lo definido en Barthélémy y Caraglio (2007) como de crecimiento indeterminado o determinado, y la ramificación como monopodial o simpodial, y en función del tiempo de alargamiento como inmediata o diferida. Según la posición la ramificación puede ser acrótona, mesótona o basítona.

3) Orientación de crecimiento de ejes vegetativos: (1) Ejes ortótopos (Figura 1.1d) – filotaxis comúnmente opuesta decusada (4 ortósticos); (2) Ejes procumbentes (Figura 1.1e) – inicialmente ortótopos pero luego prostrados por insuficiente tejido de sostén, filotaxis opuesta decusada; (3) Ejes plagiótopos (Figura 1.1f)– filotaxis opuesta, pero con las hojas dispuestas en solo dos ortósticos por reorientación de sus pecíolos o láminas. Para este tipo de filotaxis se utilizará la denominación “opuesta biyugada” utilizada por Bell (1991).

4) Floración. Se tuvo en cuenta la posición terminal o axilar de las unidades de inflorescencias (UIF) para cada categoría de ejes y si la floración se produce de manera escalonada (gradualmente en función del tiempo) o sincronizada (en todos los ejes en el mismo momento).

5) Ciclo de vida: anuales o perennes.

6) Estructura de perennización. Para las especies perennes se caracterizó de la siguiente manera: (1) Pleiocormo (estructura notablemente engrosada conformada por el hipocotilo y nudos basales del tallo no alargados y la parte proximal de la raíz principal; Figura 1.1g); (2) Raíz pivotante (cuando no hay diferencias de grosor evidentes entre las partes proximales del eje epicotilar y la raíz principal; Figura 1.1h) ; (3) Estolón o rizoma con raíces adventicias (porciones plagiótopas de ejes, estolones o rizomas, con desarrollo de raíces caulógenas; Figura 1.1i).

7) Determinación de modelos de desarrollo. El desarrollo de cada especie ha sido descrito de acuerdo a la terminología y los conceptos definidos por Hallé *et al.* (1978) y Barthélémy & Caraglio (2007). En el caso de los “módulos” de origen simpodial, usaremos el término “unidad simpodial” (Bell, 1991). La unidad simpodial aquí denota el fragmento de tallo producido únicamente por un meristema apical, desde el momento

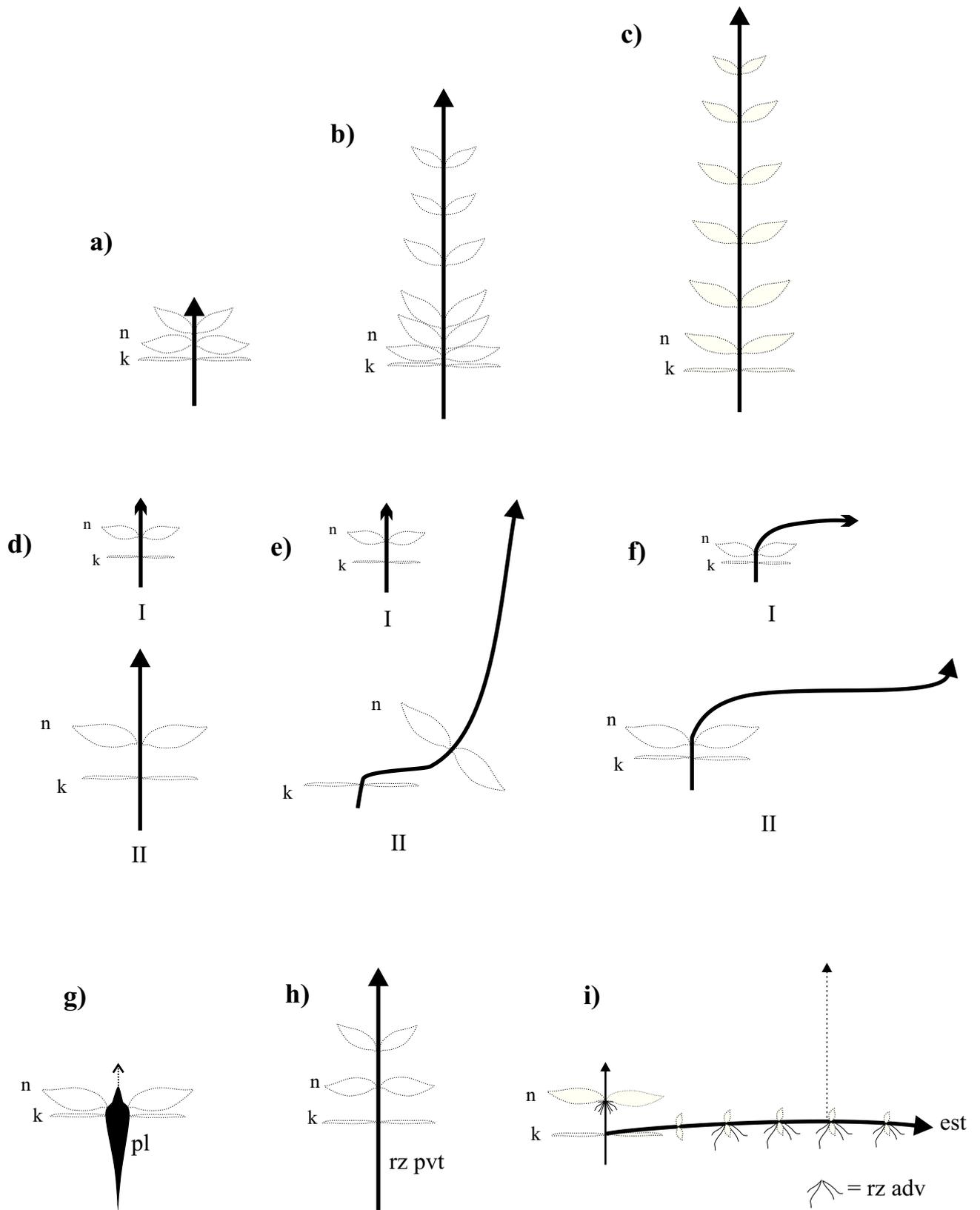


Figura 1.1 - Algunos de los criterios utilizados para caracterizar los modelos de desarrollo. **a-c) alargamiento del eje epicotilar:** a) eje epicotilar reducido, b) eje epicotilar semi-alargado, c) eje epicotilar alargado; **d-f) orientación del crecimiento de ejes:** d) eje ortótropo, e) eje procumbente, f) eje plagiótropo; **g-i) estructura de perennización:** g) pleiocormo (pl), h) raíz pivotante (rz pvt), i) estolón (est) con raíces adventicias (rz adv). k: cotiledón. n: nomofilo. I: orientación inicial del crecimiento del eje. II: orientación final del crecimiento del eje.

en que comienza su crecimiento hasta el momento en que se completa su desarrollo por la aparición de una UIF terminal. El término “eje” identificará no únicamente una estructura construida por un único meristema como inicialmente fue considerado por Hallé et al. (1978) sino a un tallo rectilíneo, cualquiera sea su modo intrínseco de construcción (Barthélémy & Caraglio, 2007).

El término “monopodio” fue utilizado para ejes que se desarrollaron vegetativamente por un meristema apical formando un tallo simple o unidad de vástago, el cual puede tener crecimiento indeterminado o determinado (Bell, 1991). El término “monopodio con crecimiento determinado” fue utilizado estrictamente para ejes que se desarrollaron con un modo de construcción monopodial durante todo su crecimiento, y que sólo al final de su desarrollo florecen en posición terminal. No son monopodiales en el sentido estricto ya que son definidos por la aparición de una UIF en posición terminal, pero luego de florecer mueren, sin relevos distales que continúen su desarrollo, por lo cual su estructura final se corresponde con un modo de construcción monopodial. Hallé *et al.* (1978) hacen referencia a esta situación particular del crecimiento determinado de un monopodio utilizando el término “Neotenia”.

Los taxa aquí estudiados fueron agrupados en función del modelo de desarrollo (MD) representativo de su dinámica estructural. Cada MD fue definido inicialmente en base al número de categorías de ejes que lo componen. Las categorías de ejes fueron diferenciadas a partir de sus correspondientes características morfológicas. En base al conjunto de características se determinó, para cada categoría de eje, su función estructural. Los resultados están resumidos en la Tabla 1.2. Se confeccionaron diagramas que describen y definen la arquitectura específica de cada modelo de desarrollo.

RESULTADOS

1) Discriminación de las categorías de ejes que integran el modelo de desarrollo.

En las especies estudiadas las siguientes categorías de ejes con su correspondiente función estructural han sido reconocidas: ejes A1, A2 y A3.

Ejes A1: eje principal, con una función troncal de sostén o soporte de todo el sistema aéreo de la planta. El eje A1 se corresponde topológicamente tanto con el eje generado a partir de la plúmula del embrión como con los ejes producidos por yemas diferidas ubicadas en la estructura de perennización en especies perennes.

Ejes A2: ejes provenientes del desarrollo de yemas axilares ubicadas en los nudos del eje A1. Tienen una función de exploración y/o explotación del medio. Son ejes largos, con entrenudos alargados en mayor o menor medida. Pueden ser ortótropos, procumbentes o plagiótropos. A esta categoría de ejes corresponden las ramificaciones de primer orden en los modelos de desarrollo con 3 categorías de ejes.

Ejes A3: ejes cortos (de uno a 3 entrenudos, de escaso alargamiento), monocárpico-anuales, netamente herbáceos. Estructuralmente solo aportan UIF, por lo que se les asigna una función de reproducción. Pueden desarrollarse desde yemas axilares ubicadas en los ejes A2 o desde yemas axilares ubicadas en los ejes A1.

Tabla 1.2 - Características arquitecturales definidas en cada modelo de desarrollo que representan a las diferentes especies

	Características morfológicas	Modelos de Desarrollo								
		MD3-1	MD3-2	MD3-3	MD3-4	MD3-5	MD3-6	MD2-1	MD2-2	MD2-3
	Categorías de ejes presentes en el modelo (3 o 2)	3	3	3	3	3	3	2	2	2
	Floración (Sincronizada (Sinc) , Escalonada (Esc))	Esc	Esc	Sinc	Sinc	Sinc	Sinc	Esc	Sinc	Sinc
	Ciclo de vida (anual (a), perenne (p))	a	p	p	a/p	a/p	p	p	p	a
	Estructura de perennización (pl: pleiocormo, rz pvt: raíz pivotante, est/rz adv: estolones con raíces adventicias)	-	pl	pl	pl	rz pvt	est/rz adv	pl	pl	-
Eje A1	Alargado (Ala), Semialargado (SA) y reducido (Red)	Red	Red	SA	SA	Ala	Ala	SA	Red	Red
	Monopodial(Mnp)	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp
	Crecimiento Determinado(Det)vs. Indeterminado(Ind)	Ind	Ind	Det	Det	Det	Det	Det	Ind	Det
	Orientación: Ortótopo (Or) Procumbente (Pro) Plagiótropo (Pla)	Or	Or	Or	Or/Pla	Or	Or/Pro	Or	Or	Or
	Ramificación Continua (C), Difusa (Dif)	Dif	Dif	C	C	C	C	Dif	Dif	Dif
	Ramificación Acrótona (acro), Mesotona (mesot), Basítona (basit)	basit	basit	basit	basit	mesot	basit	acro	acro	basit
Eje A2	Inflorescencia Terminal	no	no	si	si	si	si	si	no	si
	Monopodial(Mnp)	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	-	-	-
	Crecimiento Determinado(Det)	Det	Det	Det	Det	Det	Det	-	-	-
	Orientación: Ortótopo (Or) Procumbente (Pro) Plagiótropo (Pla)	Pla	Pla	Or	Pla	Pla	Pla/Or	-	-	-
	Inflorescencia Terminal	si	si	si	si	si	si	-	-	-
	Ramificación Continua (C), Ritmica (Rit)	Rit	Rit	C	C	C	C	-	-	-
Eje A3	Ramificación Acrótona (acro), Basítona (basit)	acro	acro	basit	basit	basit	basit	-	-	-
	Monopodial(Mnp) Pseudomonopodial (Ps mnp) Simpodial (Smp)	Ps mnp	Smp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp	Mnp
	Crecimiento Determinado(Det)vs. Indeterminado(Ind)	Det	Det	Det	Det	Det	Det	Det	Det	Det
	Orientación: Ortótopo (Or) Procumbente (Pro) Plagiótropo (Pla)	Pla	Pla	Or	Or	Pla	Pla	Pro	Or/Pla/Pro	Pla
	Inflorescencia Terminal	si	si	si	si	si	si	si	si	si

2) Modelos de desarrollo: teniendo en cuenta las diferentes categorías de ejes que se encuentran representadas en las especies estudiadas, se pueden diferenciar modelos de desarrollo constituidos por 2 o 3 categorías de ejes (Tabla 1.2).

Modelos de desarrollo con 3 categorías de ejes (MD3)

MD3-1: eje epicotilar (A1) reducido, ejes (A3) plagiótropos pseudomonopodiales **(Figura 1.2a)**

A1: el eje epicotilar nunca se alarga y es de crecimiento indefinido. En la etapa temprana de formación del sistema de ramificación, luego de la germinación epígea, hay formación de un número variable de 6 a 12 pares de hojas rosuladas.

A2: eje plagiótropo compuesto por 5-7 nudos, siendo el entrenudo proximal (hipopodio) notablemente alargado respecto al resto. Son ejes alargados, de filotaxis opuesta biyugada, que le permiten a la planta la exploración radial. Su modo de ramificación es acrótona. Poseen crecimiento determinado por el desarrollo de una UIF terminal.

A3: eje plagiótropo por sustitución de unidades simpodiales. Cada unidad simpodial de crecimiento determinado desarrolla uno o dos nudos y produce una UIF terminal, y cada una de las dos yemas de cada nudo produce una UIF (UIF laterales). Inicialmente todas las ramificaciones surgidas desde los nudos son idénticas, ya que parecen ser sólo ejes portadores de UIF's laterales, pero en la zona distal de cada unidad simpodial se diferencia del resto una yema axilar debido a una mayor tasa de crecimiento. Esta yema dará origen a una nueva unidad simpodial y de esta manera se forma un sistema simpodial cuyos relevos simpodiales sucesivos son reproductivos. El crecimiento por sustitución es inmediato y la aparición de la UIF terminal se da en una

rápida sucesión. De esta manera se forma un eje de categoría A3 de crecimiento simpodial por sustitución, “pseudomonopodial”, portador de numerosas UIF’s laterales y terminales.

La estructura “pseudomonopodial” de los ejes A3 ha sido determinada mediante un seguimiento periódico del crecimiento y la observación de ejemplares en diferentes fases de desarrollo. Es notable la apariencia axilar de la UIF en ejemplares de edad avanzada, pero en fases tempranas del desarrollo es fácilmente observable la construcción simpodial de cada módulo. Debido a que cada unidad simpodial posee crecimiento determinado por la aparición de la UIF terminal, el relevo se produce desde una de las brácteas de la UIF terminal dando una nueva unidad simpodial de las mismas características que la precedente.

Especie anual: *Gomphrena mendocina*.

Variaciones en **MD3-1**: en los individuos cultivados de *G. mendocina* y en algunos individuos observados a campo la ramificación de los ejes A2 es continua. Aunque inicialmente todas estas unidades simpodiales son idénticas (todas inicialmente parecen dar origen a módulos de categoría A3), desde la zona distal una sola unidad simpodial se diferencia del resto por un mayor desarrollo debido a una mayor tasa de crecimiento. De esta manera de cada eje A2 se desarrolla solo un eje pseudomonopodial de categoría A3, constituido por una sucesión de unidades simpodiales. El resto de las ramificaciones solo dan origen a una unidad simpodial que florece terminalmente y no existe crecimiento posterior.

MD3-2: eje epicotilar (A1) reducido, ejes A3 plagiótrofos simpodiales (Figura 1.2b)

A1: idem MD3-1.

A2: idem MD3-1, pero en los nudos basales se desarrollan inflorescencias laterales agrupadas en cimas dicotómicas.

A3: eje plagiótrofo, cada unidad simpodial de crecimiento definido desarrolla un nudo y produce una UIF terminal. Desde las 2 brácteas de la UIF se desarrollan sendas unidades simpodiales que repiten la secuencia y agrandan la estructura, floreciendo de manera escalonada en el tiempo. A diferencia del modelo anterior, que se desarrolla “pseudo-monopodialmente” por el desarrollo de una sola unidad simpodial en la zona distal, en este caso son 2 unidades simpodiales desarrolladas en la zona distal. Se forman de esta manera ejes simpodiales proliferativos, quedando la UIF terminal sétil entre las 2 unidades simpodiales.

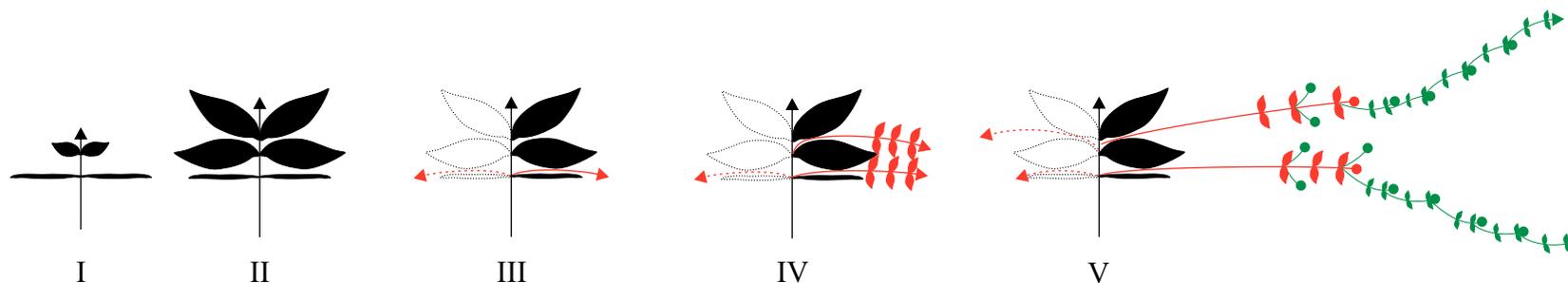
En las especies perennes que presentan este modelo, se desarrollan reiteraciones parciales de ejes A2-A3 desde yemas ubicadas en el pleiocormo, constituido por todos los nudos y entrenudos de A1. El modelo MD3-2 se diferencia de MD3-1 por su desarrollo estructural a nivel de los ejes de categoría A3.

Especies perennes: *Gomphrena tomentosa* y *G. cladotrichoides*.

Es importante destacar que tanto en el modelo MD3-1 como en el MD3-2, las ramificaciones construidas de manera simpodial florecen rápidamente (cada unidad simpodial presenta una UIF terminal), pero su modo de ramificación simpodial le permite una ulterior extensión de los ejes, agrandando su estructura mientras persistan las condiciones favorables. La floración y fructificación de este modo se hace de manera escalonada en el tiempo, y aunque estos individuos alcanzan rápidamente la floración, no se ve impedido su posterior crecimiento.

a) MD3-1

Gomphrena mendocina



b) MD3-2

Gomphrena tomentosa
G. cladotrichoides

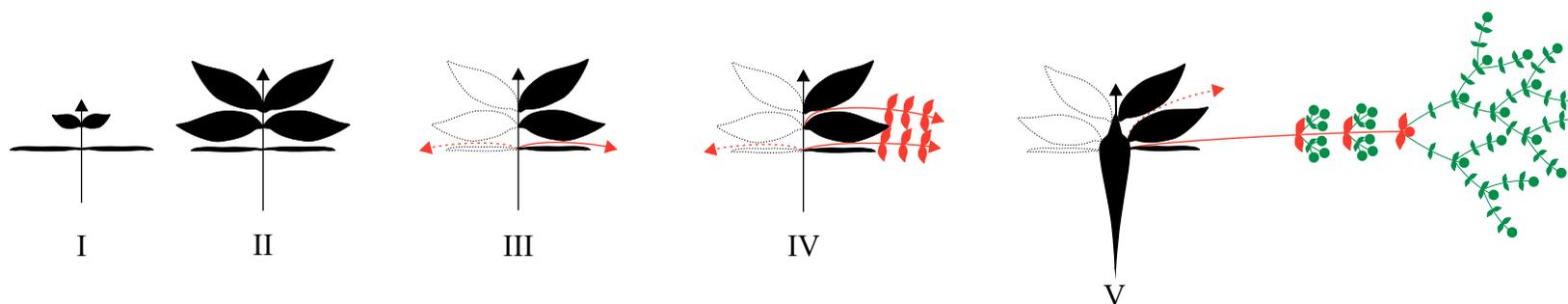


Figura 1.2 - Dinámica del desarrollo desde emergencia de plántula hasta floración en Modelos a) MD3-1 y b) MD3-2. Referencias: — Eje A1, — Eje A2, — Eje A3, —● UIF, —> Eje vegetativo, I Emergencia, II Inicio crecimiento eje principal, III Aparición yemas axilares en eje principal, IV Desarrollo ejes A2, V Desarrollo ejes A3 y floración. Para una mejor visualización, los entrenudos del Eje A1 en MD3-1 y MD3-2 se indican mas alargados de lo que son en realidad. Hojas y ramas con línea de puntos indican similar desarrollo respecto a su opuesta.

MD3-3: eje epicotilar (A1) semi-alargado, con zona de entrenudos alargados ortótropa (Figura 1.3)

A1: eje epicotilar monopodial, ortótropo, con 2 zonas diferenciadas debido al desigual alargamiento de entrenudos: una zona proximal, de 3-4 entrenudos de escaso alargamiento y una zona distal con 8-12 entrenudos alargados. Se ramifica regularmente en cada nudo a partir de los cotiledones, siendo la ramificación inmediata. La floración de los diferentes ejes se da en un orden descendente (basípeto).

A2: ejes monopodiales, con entrenudos alargados, desarrollados con tendencia a la ortotropía, siendo los proximales de menor grado de ortotropía respecto a los distales. Aunque son ejes inmediatos que reproducen el fragmento de secuencia realizado por encima de ellos en los ejes **A1**, se diferencian del eje portador ya que poseen menor longitud y hojas de menor tamaño.

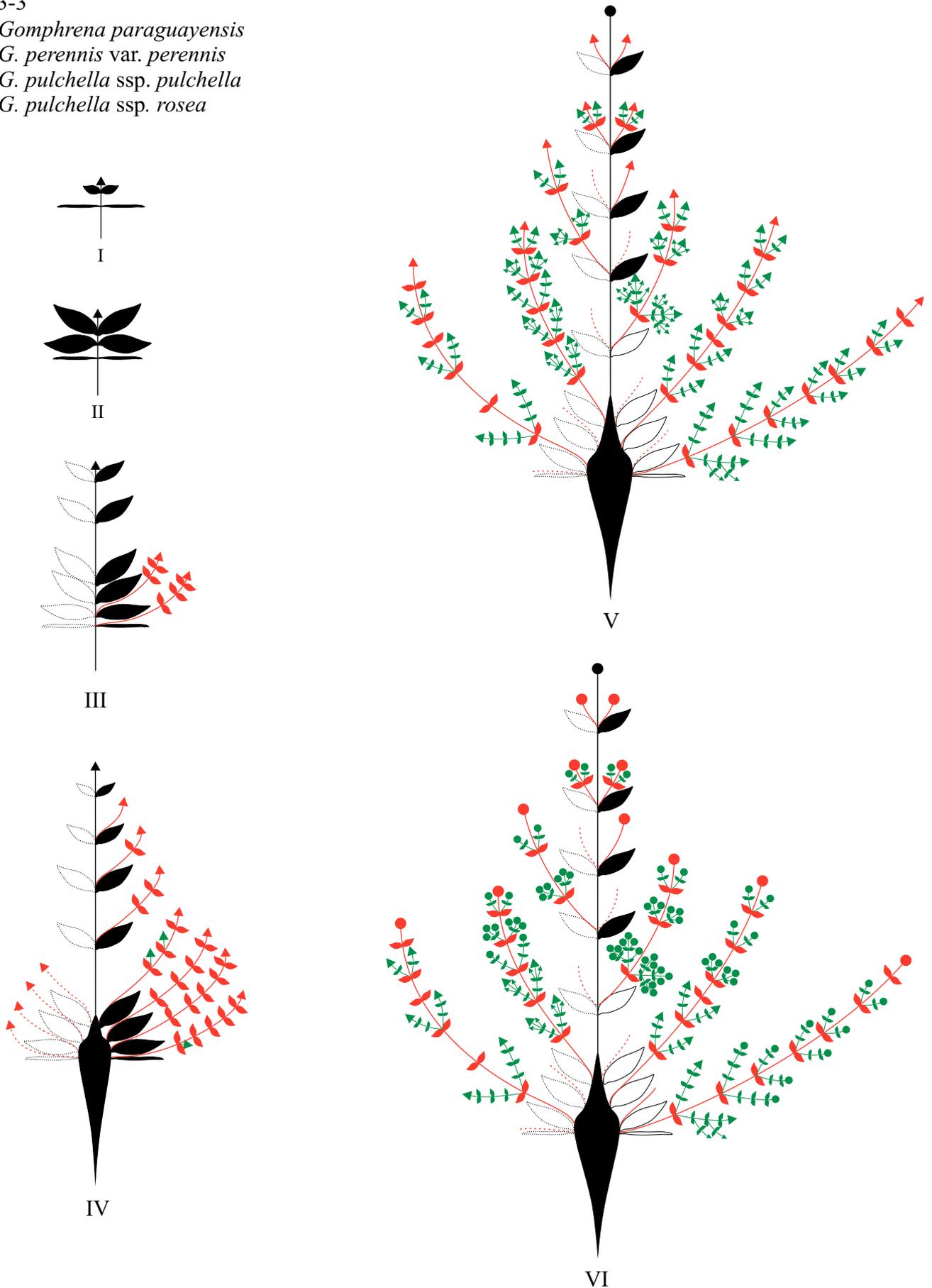
A3: ejes monopodiales, de sólo unos pocos (1-3) entrenudos no alargados. Crecimiento definido. Unidades de inflorescencia terminales agrupadas en cimas dicotómicas sobre perfiles muy reducidos.

Especies perennes: *Gomphrena perennis* var. *perennis*, *G. pulchella* ssp. *pulchella*, *G. pulchella* ssp. *rosea* y *G. paraguayensis*.

En estas especies, la zona de entrenudos no alargados del eje A1 se encuentra engrosada para la acumulación de sustancias de reserva formando un pleiocormo. Luego de la época desfavorable el sistema aéreo será reconstruido por las yemas de innovación (yemas diferidas) ubicadas en el pleiocormo. Estas yemas diferidas, originan ejes de innovación que no tienen capacidad de enraizar pero sus nudos proximales (1-2) permanece en la estructura de perennización aportando mayor número de yemas para el desarrollo de innovaciones (renuevo) de los años subsiguientes. Estos ejes de innovación reconstruyen el sistema aéreo perdido durante la época desfavorable por lo

MD3-3

Gomphrena paraguayensis
G. perennis var. *perennis*
G. pulchella ssp. *pulchella*
G. pulchella ssp. *rosea*



cual son considerados como ejes categoría A1 aunque topológicamente sean ramificaciones de 2^{do} orden.

MD3-4: eje epicotilar (A1) semi-alargado, con zona de entrenudos alargados plagiótropa (Figura 1.4)

A1: eje epicotilar monopodial, inicialmente ortótropo, con 4-6 entrenudos no alargados y hojas basales en roseta. Luego se desarrolla una zona de 5-6 entrenudos alargados netamente plagiótropa, con crecimiento definido por la aparición de la UIF terminal. Se ramifica regularmente en cada nudo a partir de los cotiledones, siendo la ramificación inmediata respecto al desarrollo del eje epicotilar.

A2: ejes monopodiales, con entrenudos alargados, desarrollados en forma plagiótropa. Filotaxis opuesta biyugada. Son ejes inmediatos que reproducen el fragmento de secuencia realizado por encima de ellos en los ejes portadores, aunque poseen menor alargamiento de entrenudos y hojas de menor tamaño que A1. La floración de los diferentes ejes se da en un orden descendente (basípeto).

A3: ejes monopodiales, plagiótropos, con 2-3 entrenudos poco alargados, con crecimiento definido, por aparición de la UIF terminal. Función netamente orientada a la reproducción. La floración de los diferentes ejes se da en un orden descendente (basípeto).

Especie perenne: *Gomphrena celosiodes*.

Especies anuales: *Gomphrena martiana* y *G. platycephala*

MD3-4

Gomphrena celosioides

G. martiana

G. platycephala

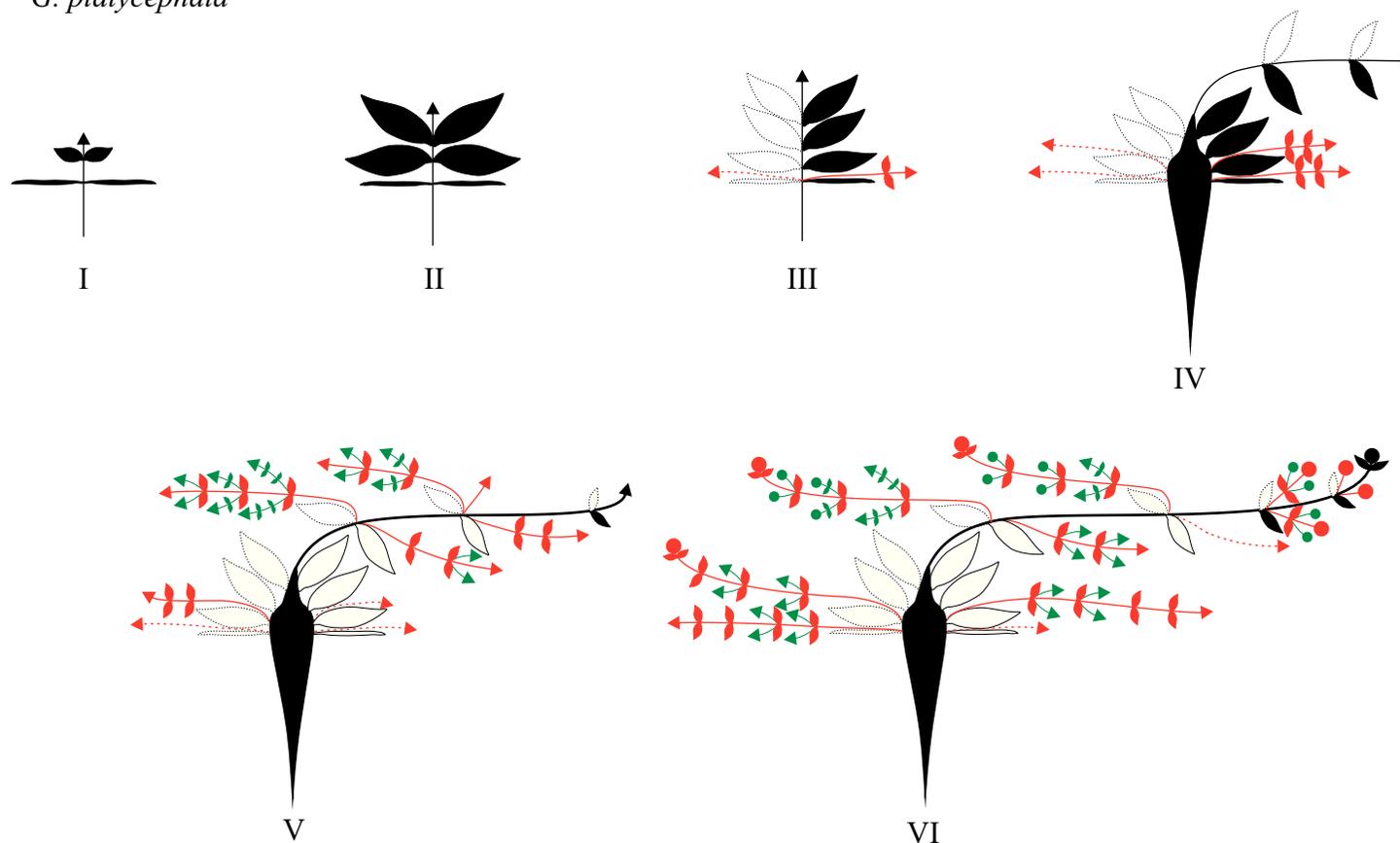


Figura 1.4 - Dinámica del desarrollo desde emergencia de plántula hasta floración en Modelo MD3-4. Referencias: — Eje A1, — Eje A2, — Eje A3, —• UIF, —> Eje vegetativo, I Emergencia, II Inicio crecimiento eje principal, III Aparición yemas axilares en eje principal, IV Desarrollo ejes A2, V Desarrollo ejes A3, VI Plena floración. Para una mejor visualización, hojas y ramas con línea de puntos indican similar desarrollo respecto a su opuesta.

MD3-5: eje epicotilar (A1) alargado, ortótrofo (Figura 1.5)

A1: eje epicotilar monopodial, ortótrofo, con 6-10 entrenudos alargados y la floración es terminal. Ramifica regularmente en cada nudo a partir de los cotiledones, siendo la ramificación inmediata respecto al desarrollo del eje epicotilar. Debido al mayor desarrollo de las ramificaciones en la zona media, se considera que la ramificación es mesótona. No presenta hojas basales en roseta ni zona de entrenudos cortos.

A2: ejes monopodiales, con entrenudos alargados, inicialmente desarrollados en forma ortótrofa pero luego procumbentes. Aunque son ejes inmediatos que reproducen el fragmento de secuencia realizado por encima de ellos en los **A1**, se diferencian del eje portador ya que poseen menor alargamiento de entrenudos y hojas de menor tamaño. La floración de los diferentes ejes se da en un orden descendente (basípeto).

A3: ejes monopodiales, de sólo unos pocos (1-3) entrenudos poco alargados. Crecimiento definido. Unidades de inflorescencias terminales agrupadas en cimas dicotómicas sobre perfiles muy reducidos.

Especies perennes: *Gomphrena perennis* var. *suffruticosa*, *G. pulchella* ssp. *albisericea*, *G. elegans* var. *elegans* y *G. vaga*.

Especies anuales: *Gomphrena ferruginea*, *G. boliviana*, *G. haenkeana* y *G. globosa* (especie tipo del género que no pertenece a la flora argentina). Además, si bien presentan un tamaño notablemente menor, también son representadas por este modelo *G. pallida* ssp. *pallida* y *G. phaeotricha*.

MD3-5

Gomphrena boliviana
G. elegans var. *elegans*
G. ferruginea
G. globosa
G. haenkeana
G. pallida ssp. *pallida*
G. perennis var. *suffruticosa*
G. phaeotricha
G. pulchella ssp. *albisericea*
G. vaga

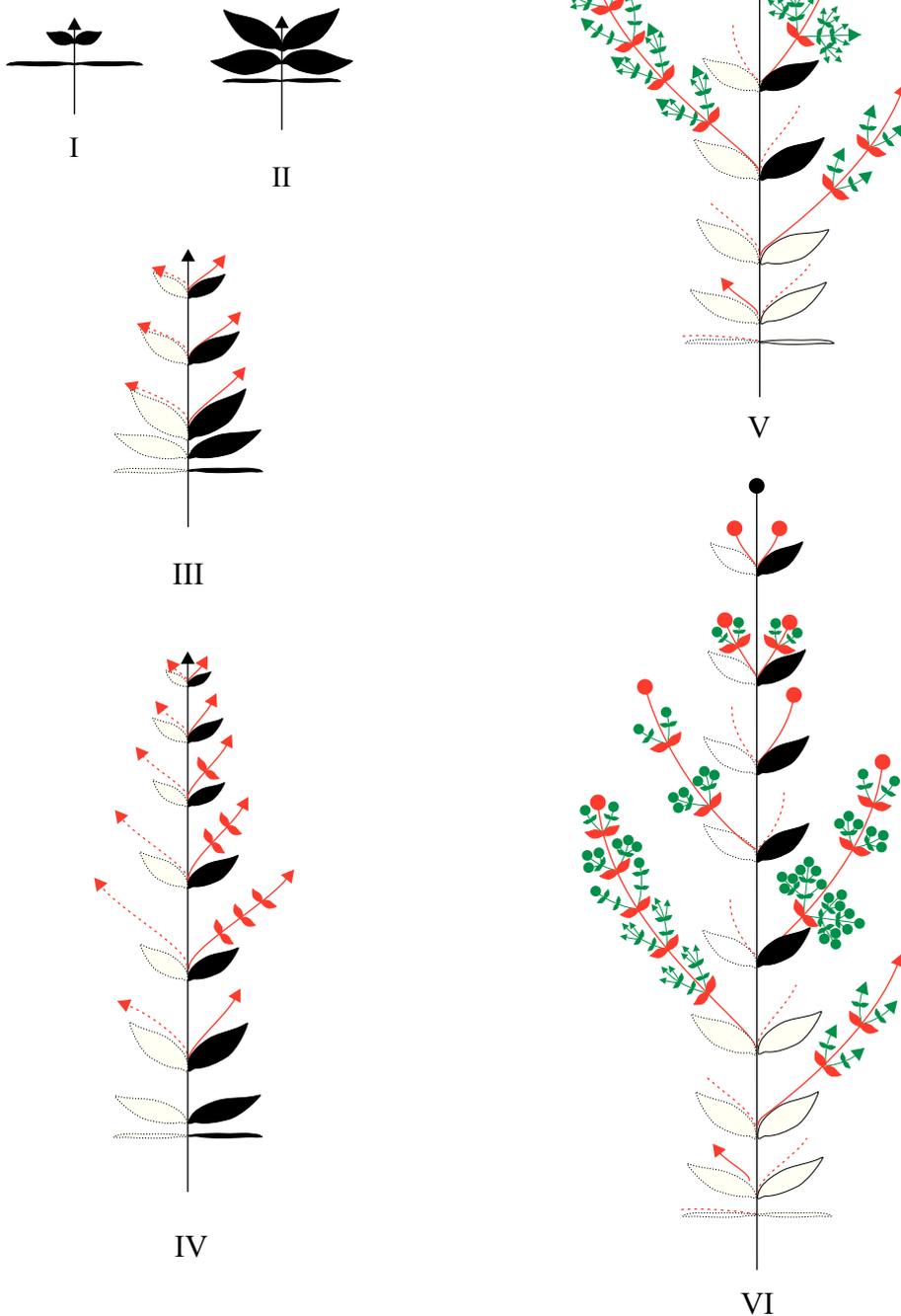


Figura 1.5 - Dinámica del desarrollo desde emergencia de plántula hasta floración en Modelo MD3-5. Referencias: — Eje A1, — Eje A2, — Eje A3, —●UIF, — Eje vegetativo, I Emergencia, II Inicio crecimiento eje principal, III Aparición yemas axilares en eje principal, IV Desarrollo ejes A2, V Desarrollo ejes A3, VI Plena floración. Para una mejor visualización, hojas y ramas con línea de puntos indican similar desarrollo respecto a su opuesta.

MD3-6: eje epicotilar (A1) desarrollado, procumbente, estolonífero o rizomatoso (Figura 1.6)

A1: eje epicotilar monopodial, inicialmente ortótropo, luego procumbente, se ramifica regularmente en cada nudo a partir de los cotiledones, siendo la ramificación inmediata. Existe un desarrollo de raíces adventicias de manera continua en los nudos basales y medios hacia el final de su crecimiento. Aunque el eje es procumbente la zona distal presenta cierto grado de ortotropía para luego diferenciar una UIF en posición terminal.

A2: ejes monopodiales, con entrenudos alargados, inmediatos. Dentro de esta categoría de ejes pueden considerarse 2 subcategorías según su orientación del crecimiento. Los ejes de la zona proximal son plagiótropos, de filotaxis opuesta biyugada, con raíces adventicias en cada nudo, desarrollados en forma estolonífera, mientras que los ejes de la zona media inicialmente poseen cierto grado de ortotropía pero luego se vuelven procumbentes y desarrollan raíces adventicias en sus nudos proximales. La floración de los diferentes ejes se da en un orden descendente (basípeto). Ambas subcategorías son consideradas dentro de A2 y no como categorías diferentes debido a que cumplen la función de exploración del medio.

A3: ejes monopodiales, ortótropos con sólo 2-3 entrenudos poco alargados, con crecimiento definido, por aparición de la UIF terminal. Función netamente orientada a la reproducción.

Especies perennes: *Gomphrena elegans* var. *mesopotamica*, *Iresine diffusa* var. *diffusa*, *I. diffusa* var. *marcrophylla*.

MD3-6

Gomphrena elegans var. *mosopotamica*

Iresine diffusa var. *diffusa*

I. diffusa var. *macrophylla*

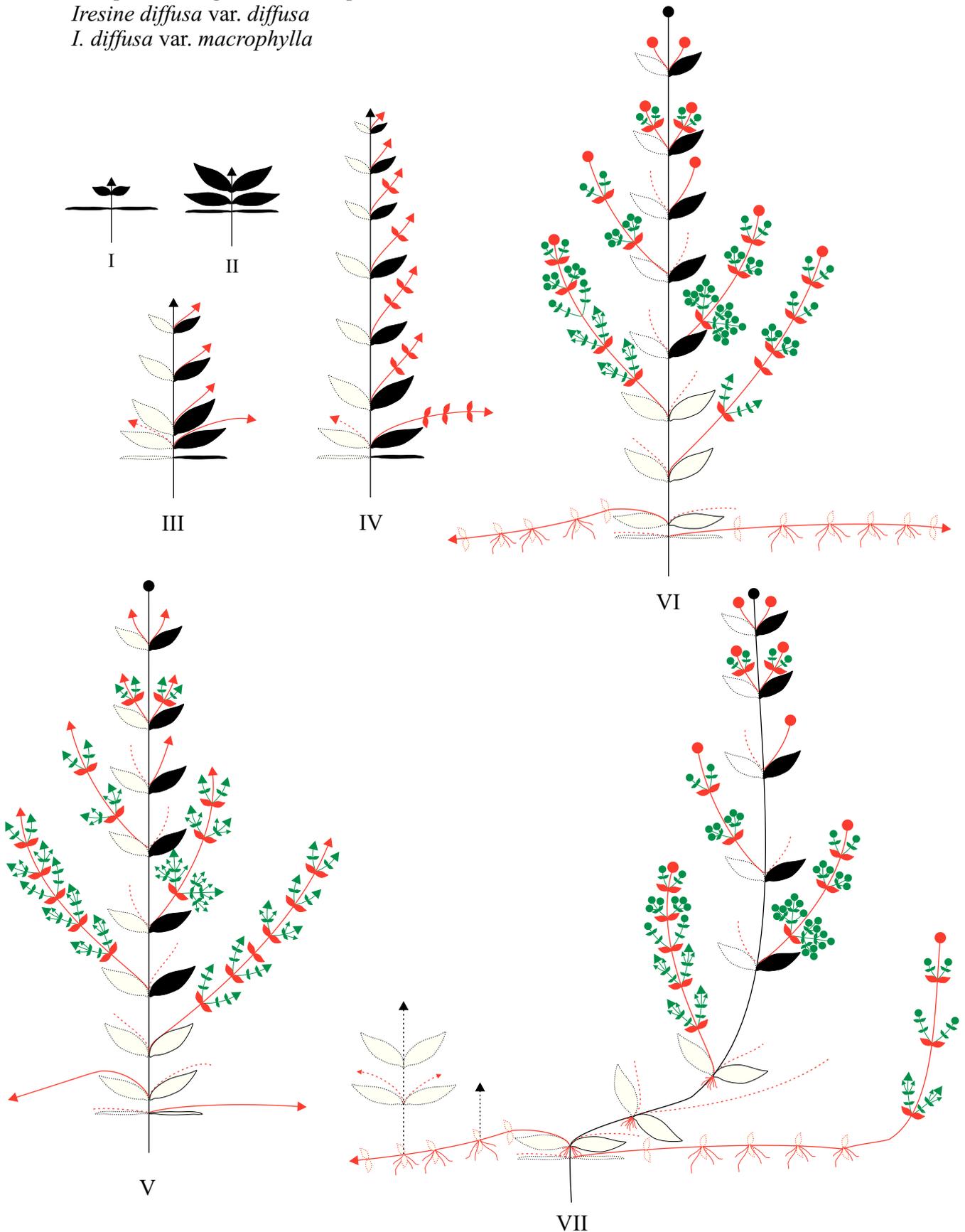


Figura 1.6 - Dinámica del desarrollo desde emergencia de plántula hasta floración en Modelo MD3-6. Referencias: — Eje A1, — Eje A2, — Eje A3, —● UIF, —> Eje vegetativo, I Emergencia, II Inicio crecimiento eje principal, III Aparición yemas axilares en eje principal, IV Desarrollo ejes A2, V Desarrollo ejes A3, VI Inicio desarrollo de estolones y floración, VII Ramificación estolones y plena floración. Para una mejor visualización, hojas y ramas con línea de puntos indican similar desarrollo respecto a su opuesta.

Modelos de desarrollo con 2 categorías de ejes (MD2)

MD2-1: Eje epicotilar (A1) semi-alargado, de crecimiento determinado (Figura 1.7a)

A1: eje monopodial, ortótropo, con zona proximal de entrenudos no alargados notablemente engrosada formando un pleiocormo. La zona distal de entrenudos alargados es ortótropa, de crecimiento determinado por UIF terminal. Las ramificaciones A3 son escasas y de posición acrótona.

A3: eje monopodial procumbente, con pocos entrenudos (2-3). Aunque posee entrenudos algo alargados, sus hojas son de tamaño reducido. Son ejes que sólo aportan estructuras reproductivas ya que su crecimiento queda definido por la aparición de la UIF terminal.

Especie perenne: *Gomphrena graminea*.

Variaciones: aunque se han observado ejemplares de ejes A1 que presentaron alguna ramificación, en estos casos siempre la ramificación fue netamente basítona. Estos ejes serían reiteraciones inmediatas desde el pleiocormo, en la zona de entrenudos no alargados de A1.

MD2-2: Eje epicotilar (A1) reducido, de crecimiento indeterminado (Figura 1.7b)

A1: eje monopodial, ortótropo, con entrenudos muy acortados formando un pleiocormo de crecimiento indeterminado. La ramificación es lateral y escasa (decumbente). La filotaxis en este eje es alterno-espiralada.

A3: ejes monopodiales, decumbentes, de crecimiento determinado, escaposo o con hojas (de 1-3 nudos escasamente alargados), son ejes anuales, sobre los que puede llegar a observarse o no el desarrollo de UIF desde yemas axilares.

Especies perennes: *Gomphrena pumila* y *G. meyeniana*.

Variaciones: en *G. meyeniana* se han observado algunos individuos cuyo eje A1 presenta ramificaciones en la zona distal (1 o más). Éstos poseen las mismas características que el eje A1 portador, por lo cual son considerados como reiteraciones totales.

MD2-3: eje epicotilar (A1) reducido, de crecimiento determinado (Figura 1.7c)

A1: eje epicotilar reducido de crecimiento determinado. En la etapa temprana de formación del sistema de ramificación, luego de la germinación epígea, hay formación de un número variable de 3 a 6 pares de hojas rotuladas; luego el eje epicotilar desarrolla un par de entrenudos y remata en una UIF.

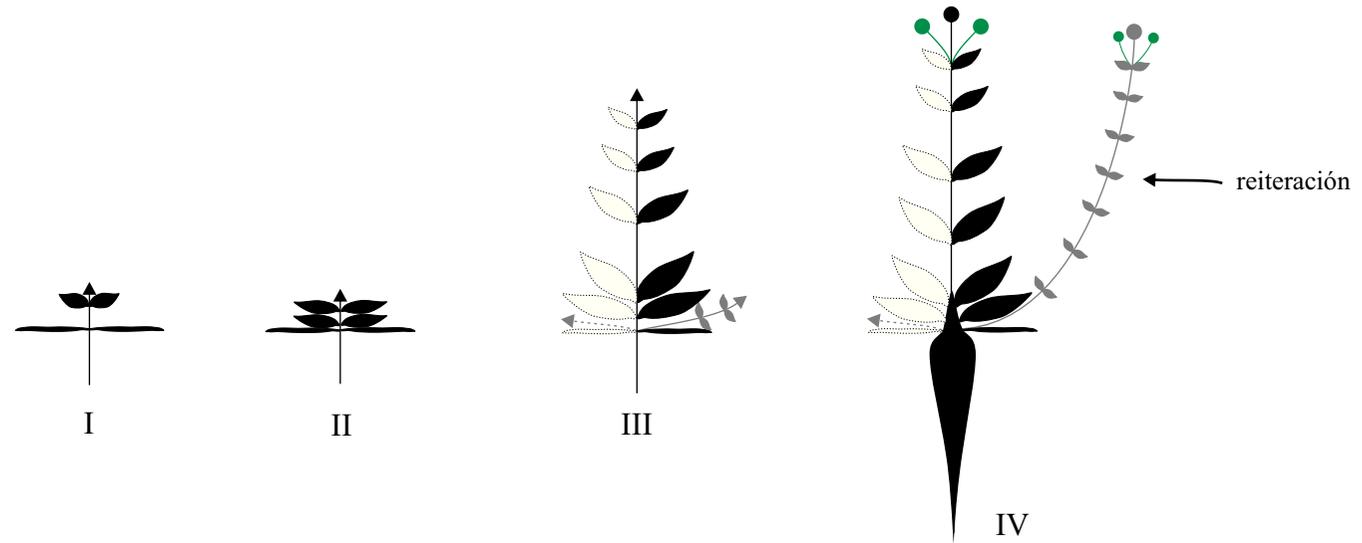
A3: son ejes con entrenudos algo alargados, plagiótrofos de crecimiento determinado. Estas ramificaciones surgen desde yemas axilares de A1 en forma simultánea, en direcciones opuestas y decusadas, dando el aspecto radiado característico de estas especies, el número de ramas puede variar desde 2 a 4. En todas las especies representadas por este modelo la floración está notablemente sincronizada y luego de su fructificación las plantas mueren.

Especies anuales: *Gomphrena pallida* ssp. *munda*, *G. radiata* y *G. umbellata*.

Variaciones: en *G. umbellata* es importante remarcar que los ejes A3 son ejes que desarrollan un hipopodio notablemente alargado y un epipodio con entrenudos escasamente alargados. Desde las yemas axilares solo se desarrollan UIF, no se desarrollan ejes que puedan continuar el alargamiento de manera simpodial. De esta manera, los ejes A3 se desarrollan con ramificación acrótona de inflorescencias, razón por la cual el agrupamiento de numerosas UIF semeja una umbela (a esta característica hace referencia el epíteto específico).

a) MD2-1

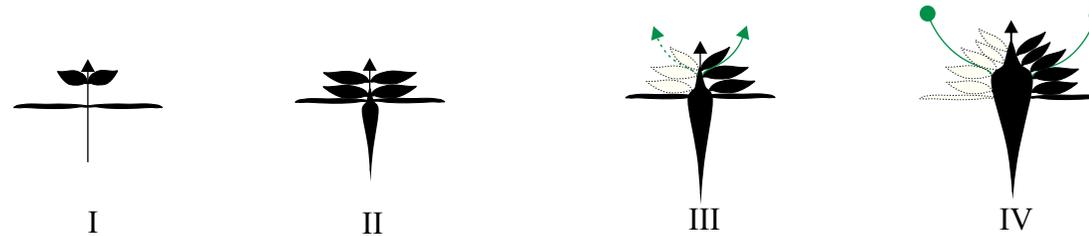
Gomphrena graminea



b) MD2-2

Gomphrena meyeniana

G. pumila



c) MD2-3

Gomphrena pallida ssp. munda

G. radiata

G. umbellata



Figura 1.7 - Dinámica del desarrollo desde emergencia de plántula hasta floración en Modelos a) MD2-1, b) MD2-2 y c) MD2-3. Referencias: — Eje A1, — Eje A3, — Reiteración, —● UIF, —> Eje vegetativo, I Emergencia, II Inicio crecimiento eje principal, III Aparición yemas axilares en eje principal, IV Desarrollo ejes A3 y floración. Para una mejor visualización, hojas y ramas con línea de puntos indican similar desarrollo respecto a su opuesta.

Para la especie *G. colosacana*, no se pudo determinar con claridad su modelo de desarrollo, ya que no fueron observados ejemplares en diferentes estadios ontogenéticos. Esta especie es perenne y ha sido descrita como caméfita o subarbusto, densamente ramificada, ramas con entrenudos en su mayoría brevísimos, raro más de 1 cm, presentando arrosamiento de hojas. Entre las características arquitecturales que han podido determinarse en este trabajo se observa una estructura de perennización constituida por un eje epicotilar reducido (ya que es el único que enraiza). Además posee ramificaciones plagiótropas con notorio engrosamiento secundario. Estos ejes engrosados son perennes, de entrenudos poco a escasamente alargados, aparentemente simpodiales. Estos ejes engrosados portan ejes herbáceos de crecimiento determinado debido a la presencia de UIF terminal, con arrosamiento de hojas. Solo sobre estos ejes herbáceos se ha observado que el eje florece terminalmente. Esta especie podría ser representada probablemente por el modelo MD3-2.

DISCUSIÓN

Categorías de ejes

Los conceptos de “gradiente morfogenético” y “edad fisiológica de los meristemas” (Barthélémy *et al.*, 1997) tienen en cuenta las reglas intrínsecas de organización vegetativa, de acuerdo a la estructura y grado de desarrollo de la planta. En función de estos gradientes, la organización detallada de un eje lateral depende de su posición topológica en el eje portador y del estadio ontogenético de la planta. La noción de gradientes morfogenéticos permitió ilustrar dos situaciones comúnmente observadas sobre un individuo: 1) en un estado de desarrollo dado, entidades botánicas homólogas

con características muy diferentes coexisten en el mismo individuo, mientras que, en contraste, 2) los mismos tipos de entidades botánicas con características similares pueden ser encontradas en diferentes etapas del desarrollo. A su vez, un meristema, del que derivará una determinada entidad botánica, puede ser caracterizado por una combinación particular de atributos morfológicos, anatómicos y funcionales. Esta “edad fisiológica del meristema” es determinada *a posteriori* por el análisis morfológico de la entidad botánica elemental que éste produce.

De esta manera, la determinación de los ejes de diferentes categorías (A1, A2 y A3) en las especies incluidas en el presente estudio expresa distintos grados de diferenciación en la estructura jerárquica de su sistema ramificado. El eje A1, originado por la plúmula del embrión, al presentar tres situaciones de alargamiento diferentes (reducido, semialargado y alargado) tiene una gran influencia en la determinación del modelo de desarrollo de cada especie. Estos ejes A1, además, pueden ser generados en plantas perennes por yemas axilares que tienen la potencialidad de regenerar toda la estructura aérea de la planta. Los meristemas que originan ejes A2 permiten el crecimiento y desarrollo de ejes largos que exploran y explotan el medio. Además, se desarrollan meristemas que, por su edad fisiológica originan ejes de categoría A3: ejes cortos con función de reproducción. Éstos pueden estar ubicados sobre ejes categoría A1 o ejes categoría A2, ya que no dependen estrictamente de su ubicación topológica sino del tipo de estructura que éstos producen.

Los modelos de desarrollo propuestos, según las categorías de ejes que pueden integrar una unidad arquitectural, permiten diferenciar 2 grandes grupos. Los modelos de desarrollo con 2 categorías de ejes son modelos cuyos meristemas aunque estén ubicados sobre el eje A1 (en yemas axilares) son fisiológicamente más diferenciados (“viejos”), ya que sólo tienen la potencialidad de desarrollar ejes cortos, netamente

herbáceos, portadores de UIF y de corta vida. Estos modelos son mucho menos competitivos respecto a los modelos con 3 categorías de ejes, ya que no presentan ejes intermedios (A2). Especies incluidas en los modelos de 3 categorías de ejes han sido citadas como importantes plantas invasoras, como *I. diffusa* (Castillo & Moreno-Casasola, 1996), *G. perennis* (Dellaferrera *et al.*, 2009), *G. pulcella* (Cabido *et al.*, 1989; Rainero, 2008) y la cosmopolita *G. celosioides* (Cruz *et al.*, 2009).

Los ejes A2 son ejes provenientes de meristemas fisiológicamente menos diferenciados (más “jóvenes”), ya que tienen la potencialidad de producir ejes cuya función es la explotación y exploración del medio y tienen mayor tiempo de vida. En la mayoría de los modelos estos ejes A2 se corresponden con la denominada “zona de enriquecimiento” (Sell, 1969; Acosta *et al.*, 2009b), y aunque presentan un trofotagma bien desarrollado, son de duración anual y no enraizan (salvo en MD3-6).

La identificación de estas entidades botánicas es fundamental para comprender la arquitectura de cada una de las especies estudiadas, y poder determinar modelos arquitecturales representativos de su desarrollo.

Modelos de desarrollo

Los modelos arquitecturales descritos por Hallé *et al.* (1978) fueron elaborados para describir la secuencia de desarrollo de una planta sin tener en consideración el tamaño. Aunque originalmente fueron basados en árboles tropicales, no existen limitaciones teóricas en su uso para describir el crecimiento de plantas herbáceas. En algunos estudios realizados sobre estas últimas (Jeannoda-Robinson, 1977; Renobales *et al.*, 1999) se ha demostrado que existen plantas que poseen sistemas de ramificación que pueden ser directamente comparables a alguno de los modelos arquitecturales de Hallé *et al.* (1978), aunque, en estos estudios también se ha indicado cierta dificultad en

determinar el modelo arquitectural para muchas de las especies herbáceas estudiadas. Sin embargo, Jeannoda-Robinson (1977) menciona que las herbáceas que no son fácilmente comparables a algún modelo, pueden ser interpretadas dentro de este enfoque conceptual siempre que se introduzcan ciertas modificaciones. En este sentido, algunas plantas herbáceas fueron referidas como “paralelo plagiótropo” o variantes postradas de un modelo (Jeannoda-Robinson, 1977). Algunas otras, fueron interpretadas por Jeannoda-Robinson (1977) como “modelos fragmentados”, es decir, representadas únicamente por un fragmento de un modelo ya descrito. Por último, algunas herbáceas no se encuentran representadas por ninguno de los modelos existentes y se concluyó que necesitarían de uno nuevo para una apropiada descripción (Jeannoda-Robinson, 1977; Renobales *et al.*, 1999).

Al estudiar la morfología vegetativa de las especies argentinas de *Gomphrena* e *Iresine*, todas estas variantes están bien ilustradas, pero en algunas ocasiones el reconocimiento de un modelo no es evidente. Algunas de las especies estudiadas están representadas de manera precisa por alguno de los modelos arquitecturales. Por ejemplo *G. meyeniana* (MD2-2) se desarrolla conforme al modelo de Corner, mientras que *G. celosioides* (MD3-4) presenta claramente su desarrollo conforme al modelo de Troll. Sin embargo, el desarrollo de otras especies muestra ciertas dificultades para ser interpretado en base a los modelos arquitecturales, ya que en muchos casos solo lo expresarían parcialmente, como por ejemplo *G. mendocina* (MD3-1), o *G. cladotrichoides* y *G. tomentosa*, ambas portadoras del modelo MD3-2.

Siguiendo el criterio de fragmentación de modelos (Jeannoda-Robinson, 1977; Hallé *et al.*, 1978) *G. mendocina* (MD3-1) podría representarse de manera fragmentada por el modelo de Fagerlind, el cual está caracterizado por un tronco monopodial y pisos de ramas plagiótropas por aposición de unidades simpodiales (Hallé *et al.* 1978). El

modelo para *G. mendocina* correspondería a una fragmentación, ya que sólo existe un único nivel de ramas plagiótropas debido a que el eje epicotilar nunca se alarga. Algo similar sucedería para *G. cladotrichoides* y *G. tomentosa* (MD3-2). En el caso de estas especies el desarrollo es semejante a lo descrito para el modelo de Scarrone. Debido a que el eje epicotilar, aunque posee crecimiento indeterminado, nunca se alarga, la planta completa podría corresponder a una fragmentación del mencionado modelo arquitectural.

En las plantas leñosas, el modo de desarrollo del tronco es obviamente un factor importante en la determinación del modelo arquitectural. Incluso, debido a la importancia del tronco, hay modelos que parecen ser exclusivos de árboles de gran tamaño, como los modelos de Fagerlind, Prevost, Aubreville, Massart y Nozeran (Hallé *et al.* 1978). Los mencionados modelos, en los que existe el desarrollo de un tronco que incluso exhibe crecimiento rítmico, no son factibles que sucedan en herbáceas. Sólo sería posible encontrar estos modelos en herbáceas si los consideramos de manera fragmentada, lo cual genera varias dudas sobre la interpretación de los modelos: ¿hasta qué punto se los puede fragmentar?; ¿fragmentamos el modelo hasta que represente a la especie en cuestión? Esto último sería actuar como Procrustes, quién en la mitología griega tortura a sus huéspedes para ajustarlos al catre.

Cremers & Edelin (1995), haciendo una revisión del modelo de Tomlinson, proponen que este modelo no debería ser considerado como un modelo único a distinguir, sino como una variante de otros modelos con ramificación basítona. Debido a que gran parte de las especies abarcadas en nuestro estudio presentan ramificación basítona (Tabla 1.1), y sumado a las variaciones encontradas al analizar su morfología, resulta muy útil aplicar el criterio de Cremers & Edelin (1995) para poder determinar el modelo arquitectural que las representa. Este criterio, evidentemente, fue tomado en

cuenta por Hallé (2004), quien excluye al modelo de McClure, descrito por Hallé *et al.* (1978) como un modelo arquitectural particular. Al considerar la ramificación basítona como un “criterio mayor”, según lo expuesto en Cremers & Edelin (1995), los ejes aéreos generados a partir de la misma pueden ser construidos conforme a diferentes modelos arquitecturales. De esta manera evitamos, por un lado, la necesidad de postular nuevos modelos y, por otro lado, la “monotonía arquitectural” de la ramificación basítona.

Los modelos de desarrollo definidos por un eje epicotilar reducido o semi-alargado debido al escaso alargamiento de entrenudos expresado en muchas de las especies que hemos estudiado podrían ser tomados como variaciones de ramificación basítona de diferentes modelos arquitecturales. A diferencia del criterio de fragmentación, por el cual “ajustamos” a *G. mendocina* al modelo de Fagerlind y a *G. cladotrichoides* y *G. tomentosa* al modelo de Scarrone, el criterio de Cremers & Edelin nos conduce a otros resultados. Siguiendo este último, en *G. mendocina* (MD3-1) las ramificaciones (conjunto de ejes categoría A2-A3) aunque crecen de manera plagiótropa, siguen su desarrollo conforme al modelo de Chamberlain, mientras que en *G. cladotrichoides* y *G. tomentosa* (MD3-2), también de manera plagiótropa, se desarrollan conforme a lo descrito para el modelo de Leeuwenberg, por lo cual los modelos de desarrollo determinados serían sólo variaciones con repetición basítona de estos modelos arquitecturales.

Otra característica del hábito herbáceo es la producción de un gran número de tallos de crecimiento determinado por la diferenciación del meristema apical en estructuras reproductivas, ya sea una inflorescencia o una flor. Esto se debe a que la estrategia de las herbáceas generalmente no incluye la elaboración de un “tronco” de larga vida, sino que tiene la capacidad de producir de manera teóricamente indefinida

numerosos ejes de corta vida que puedan alcanzar rápidamente la floración (Hallé *et al.* 1978, de Castro e Santos, 1981). Este hábito puede dificultar la determinación del modelo arquitectural cuando es interpretado en plantas herbáceas. Esta precocidad en florecer de todos o de la mayoría de los ejes aéreos puede manifestarse cuando el eje primario de un modelo arquitectural, que permanece estéril en árboles (por ej. el modelo de Attims), se vuelve fértil en su equivalente herbáceo (Jeannoda-Robinson, 1977). Evidentemente, el modelo, al expresarse de una manera modificada en plantas herbáceas, puede tornar confusa su determinación. En los modelos MD3-3, MD3-4, MD3-5 y MD3-6 los ejes desarrollados crecen por extensión vegetativa de un meristema apical formando un tallo simple (unidad de vástago). Cada unidad de vástago y sus propios tallos axilares poseen un potencial de desarrollo determinado debido a la diferenciación del meristema apical para dar origen a la UIF y no existen yemas axilares que asuman una ulterior extensión del eje. Luego de florecer, estos ejes terminan su desarrollo y mueren. Por esta razón, aunque su crecimiento está determinado por el desarrollo de una UIF terminal, son considerados como ramificaciones monopodiales y el eje portador es un monopodio (Bell, 1991).

En los modelos MD3-3 y MD3-5, el patrón de ramificación está definido por el crecimiento continuo de los ejes, diferenciados en eje principal (A1), netamente ortótropo, y ejes A2 equivalentes a A1 con ortotropía decreciente en forma basípeta, siendo la ramificación continua a lo largo del eje principal. Tanto los ejes A1 como los ejes A2 funcionan en primer lugar como monopodios con crecimiento continuo, conforme a lo descrito para el modelo de Attims. La aparición de UIF terminales, detiene el crecimiento de los ejes, lo que determina que éstos sean ejes monocárpicos. Sin embargo, el modelo de desarrollo MD3-5 presenta un eje epicotilar alargado a diferencia de MD3-3 que presenta una zona de entrenudos no alargada en el eje

epicotilar (eje A1 semialargado) formando un pleiocormo perenne. Este pleiocormo presenta numerosas yemas, axilares y accesorias, que darán origen a numerosos brotes de innovación, y cada uno de estos brotes se desarrollará conforme al modelo de Attims. Ambos modelos (MD3-3 y MD3-5) están de esta manera representados adecuadamente por el modelo de Attims, pero son modelos de desarrollo diferentes por la ramificación basítona en MD3-3, característica que no se presenta en MD3-5.

Respecto a las especies que se encuentran representadas en los modelos MD3-4 y MD3-6, aunque todas poseen ejes en posición plagiótropa en la fase final de crecimiento, se pueden diferenciar por su secuencia de desarrollo estructural. En *G. celosioides* y *G. martiana* (ambas modelo MD3-4), luego de una fase inicial ortótropa, el eje epicotilar se curva notoriamente, para determinar su crecimiento plagiótropo, lo cual se corresponde a lo descrito para el modelo de Troll.

Gomphrena elegans var. *mesopotamica* e *Iresine diffusa* var. *diffusa* (ambas MD3-6) fueron cultivadas en cámara de crecimiento. El eje A1 mostró un crecimiento ortótropo, aunque desarrolló en etapas avanzadas raíces adventicias en sus nudos, lo que mostraría cierta independencia entre desarrollo de raíces adventicias y orientación del crecimiento. Este crecimiento ortótropo del eje epicotilar fue pocas veces encontrado en condiciones naturales de crecimiento. El tipo de crecimiento ortótropo durante largo tiempo en condiciones controladas es posible debido a la ausencia de factores ambientales como lluvia y viento, que son factores que fácilmente condicionan su postración. La presencia de primordios radicales en los nudos sería una clara adaptación para aprovechar rápidamente el momento en que se produce su postración por el efecto de factores externos. Una vez enraizado el eje A2, puede alcanzar autonomía trófica, permitiendo de esta manera la reproducción vegetativa a través de los estolones. De esta manera el modelo MD3-6 se corresponde a lo descrito por Jeannoda-Robinson (1977)

como “paralelo plagiótropo de Attims”. El concepto de “paralelo plagiótropo o postrado” propuesto por este autor podría ser aceptado si tenemos en cuenta que *G. elegans* var. *mesopotamica* posee un taxón estrechamente relacionado, *G. elegans* var. *elegans* el cual fue incluido dentro del modelo MD3-5 y, como fue discutido anteriormente, se describe adecuadamente bajo el modelo de Attims. Ambos modelos (MD3-5 y MD3-6) sólo se diferencian por la notoria postración de MD3-6 y la presencia de raíces adventicias que le permiten tener multiplicación vegetativa a través de sus estolones. El hábito postrado en una planta permite una gran estructura con un mínimo costo de energía debido al bajo requerimiento en tejidos de sostén respecto a una estructura equivalente en una planta cuyo hábito es erecto (Lovell & Lovell, 1987). Posiblemente, en comparación con MD3-5, la insuficiencia de tejidos de sostén en MD3-6 podría ser la responsable de su postración, lo que debería ser constatado con estudios anatómicos.

Es interesante destacar que ejes con un comportamiento estolonífero o rizomatoso con raíces adventicias definen, según lo descrito por Hallé (2004), al modelo arquitectural de Bell. Lo descrito en el modelo de Bell podría tratarse de una arquitectura muy antigua, ya que es notoriamente abundante entre los vegetales fósiles (Hallé, 2004). En la definición de este modelo, Hallé (2004) no tiene en cuenta las variantes que pueden existir sobre los ejes ortótopos aéreos. Aunque este autor aclara sobre el extremo polimorfismo de los ejes aéreos, los cuales probablemente sean capaces de desarrollarse según un modelo arquitectural particular, les asigna una importancia secundaria. En el caso de *G. elegans* var. *mesopotamica*, que claramente podría ser representada por el modelo de Bell, es importante remarcar que los ejes ortótopos aéreos claramente se desarrollan conforme al modelo de Attims de la misma forma que en el taxón *G. elegans* var. *elegans*, como se explica más arriba. Debido a

esto probablemente pueda ser tomado al modelo de Bell como un “criterio mayor”, similar a lo propuesto por Cremers & Edelin (1995) para el modelo de Tomlinson.

Dentro de la familia Amaranthaceae muchas especies de los géneros *Amaranthus*, *Alternanthera* e *Iresine* presentan ejes estoloníferos (Robertson, 1981; Pedersen, 1987). Teniendo en cuenta que la formación de brotes de innovación es igualmente susceptible de seguir una secuencia ontogenética precisa será necesario conducir estudios que involucren diferentes especies que posean ejes con crecimiento estolonífero o rizomatoso en las cuales se demuestre que el polimorfismo de los ejes aéreos devenidos, sigue una secuencia de desarrollo representada por alguno de los modelos ya descritos.

El modelo propuesto MD2-1 se encuentra representado en Argentina por una sola especie, *G. graminea*. Su estructura de perennización es un pleiocormo con hojas basales rosuladas desde donde surgen las innovaciones, sin ejes de enriquecimiento. Cada innovación es monocárpica con agrupamiento floral terminal, siendo comparable cada innovación a un individuo del modelo de Holttum. Aunque se han observado casos de ejes que presentaron alguna ramificación, en estos casos siempre la ramificación fue netamente basítona.

Gomphrena pumila y *G. meyeniana* están representadas por el modelo MD2-2, el que se corresponde a lo descrito para el modelo de Corner. Este modelo es monocaule, el meristema apical posee un funcionamiento potencialmente indefinido y la floración es lateral. En condiciones naturales han sido observados algunos individuos de la especie *G. meyeniana* que presentaron una estructura simpodial tridimensional que se corresponde con el modelo de Leeuwenberg. Aunque no se ha podido seguir la secuencia de desarrollo para estos individuos, es posible hipotetizar en estos casos que si el meristema apical sufre algún traumatismo (muerte por frío o alud) o deja de recibir

luz a causa del entierro, de las yemas latentes pueden devenir innovaciones idénticas al eje epicotilar, cambiando su arquitectura conforme al modelo de Corner a una arquitectura tridimensional similar a Leeuwenberg. Esta especie ha sido coleccionada en zonas montañosas sobre cursos ocasionales de aguas lo que soporta la idea de entierro del MAV (meristema apical del vástago) por alud y posterior proliferación de ramas para alcanzar nuevamente la superficie. Estas innovaciones se corresponden con las reiteraciones descritas por Oldeman (1974) (concepto revisado en Barthélémy & Caraglio, 2007) ya que las reiteraciones son procesos morfogenéticos que conducen a la realización de una arquitectura parcialmente o totalmente conforme al modelo inicial. Este modelo presentaría de esta manera reiteraciones traumáticas (MAV dañado), la cual es posible debido al crecimiento indeterminado del eje A1 que permitiría el relevo desde yemas axilares. Como previamente fue discutido, la edad fisiológica de un meristema (o la entidad botánica que éste produce, considerada como “eje”) depende de su ubicación precisa en la arquitectura de la planta y del estado de desarrollo del organismo, pero su expresión puede ser modulada por factores externos. De esta manera, yemas axilares que normalmente producen ejes A3, ante la pérdida del meristema apical, producen ejes de relevo categoría A1, ya que estos ejes de relevo en *G. meyeniana* representan claramente reiteraciones totales.

El modelo MD2-3 se encuentra representado por las especies *G. pallida* ssp. *munda*, *G. radiata* y *G. umbellata*. Este modelo es similar a MD2-2, pero se diferencia en que el eje A1 es determinado por la aparición de una UIF terminal, por lo que se corresponde con lo descrito para el modelo de Holttum y, a diferencia del modelo anterior cuya filotaxis es espiralada, en este caso es opuesta-decusada. Por otra parte, estas especies son todas anuales por lo que no poseen estructura de perennización.

El extremo polimorfismo arquitectural de ejes aéreos abarcado tanto en la definición del modelo de Tomlinson como en la del modelo de Bell aplicados al estudio de plantas herbáceas, podría conducir a crear nuevos modelos. Sin embargo, nos parece de gran utilidad la reflexión de Cremers & Edelin (1995), ya que lejos de incitar a describir nuevos modelos, es mucho más provechoso utilizar los modelos ya descritos. Estos modelos permiten una clasificación eficaz, la que radica precisamente en la flexibilidad de los mismos. Definidos de una manera general, con pocas limitaciones, revelan el continuo arquitectural que existe entre las formas vegetales, y pueden capturar la realidad de los procesos morfogenéticos y filogenéticos subyacentes.

Consideraciones taxonómicas y filogenéticas de los modelos

Si bien una hipótesis filogenética de los géneros *Gomphrena* e *Iresine* no está disponible en la actualidad, algunas consideraciones taxonómicas y presunciones en la evolución de los caracteres que determinan el modelo arquitectural pueden hacerse en base al presente análisis teniendo en cuenta qué taxones son representados por cada modelo de desarrollo.

Gomphrena mendocina (MD3-1), *G. cladotrichoides* y *G. tomentosa* (ambas MD3-2) poseen gran similitud en su distribución geográfica, son especies muy afines en sus diagnósticos taxonómicos y están incluidas dentro de la sección *Chnoanthus* (Phil.) (Covas, 1939; Holzhammer, 1956; Hunziker & Subils, 1977). Desde el enfoque arquitectural estas especies comparten el modo de construcción simpodial de sus ejes. Es interesante mencionar que los modelos arquitecturales de Chamberlain y Leeuwenberg, que representan a estas especies, se encuentran estrechamente relacionados en su descripción y podrían tener una cercana relación evolutiva. Al menos dentro del género *Gomphrena* sería posible apoyar esta hipótesis si se demuestra que

estas especies están muy emparentadas filogenéticamente. Para *G. colosacana*, especie taxonómicamente muy afín a las representadas en MD3-1 y MD3-2 (Hunziker & Subils, 1977), si bien no se determinó correctamente el modelo, en base al material analizado posiblemente se trate de uno estrechamente relacionado con los dos anteriores debido a que sus ramificaciones son claramente simpodiales.

La especie *G. umbellata* (MD2-3) también está incluida en la sección *Chnoanthus*. A diferencia de las otras especies incluidas en esta sección, en *G. umbellata* desde las yemas axilares ubicadas en el eje A1 reducido, sólo se desarrollan ejes netamente reproductivos A3. Sin embargo, estos ejes A3 se desarrollan con un hipopodio alargado y un epipodio escasamente desarrollado, con ramificación acrótona pero sin ejes que puedan continuar el alargamiento, razón por la cual el agrupamiento de UIF semeja una umbela. En los modelos de crecimiento de *G. mendocina*, *G. cladotrichoides* y *G. tomentosa* es interesante remarcar que los ejes desarrollados desde yemas axilares ubicadas en el eje A1 también presentan un largo hipopodio. Aunque poseen ramificación acrótona, en el caso de estos modelos no forman la estructura umbeliforme, sino que por ramificación simpodial los ejes continúan su crecimiento y agrandan la estructura. La sección *Chnoanthus* sólo está representada por especies sudamericanas de la región andina, por lo que la ramificación acrótona podría ser considerada una característica vegetativa de la sección.

Gomphrena paraguayensis (MD3-3) es taxonómicamente muy afín a *G. elegans* (MD3-5). Pedersen (1997), en la descripción de ambas especies, menciona una diferencia estructural en la disposición de los ejes A3. En *G. elegans* las UIF están agrupadas en cimas dicotómicas, mientras que en *G. paraguayensis* las UIF están agrupadas en forma de zig-zag, con normalmente uno solo de los 2 perfiles portando una UIF de apariencia axilar. Si bien esta característica fue constatada, no fue

encontrada de manera constante ni tampoco en la mayoría de las observaciones, razón por la cual se decidió incluirla dentro del modelo MD3-3 y no proponerla como una unidad arquitectural diferente (con ramificaciones A3 simpodiales). Es necesario realizar estudios de desarrollo de inflorescencias en esta especie para poder determinar exactamente su unidad arquitectural. Aunque entre estas dos especies pueda comprobarse la mencionada característica, se diferencian claramente en cuanto a los modelos de desarrollo que hemos descrito, por la intensa ramificación basítona debida al eje epicotilar semi-alargado observado en *G. paraguayensis*.

Gomphrena celosioides y *G. martiana* (MD3-4) están representadas por el modelo de Troll. Este modelo arquitectural fue descrito por Troll (1937) tomando, entre otros ejemplos, a *G. decumbens* Jacq., especie incluida en la sección *Cristularia* Seubert, y muy cercana en su descripción a *G. celosioides*. Sin embargo, hay que remarcar que no todas las especies incluidas en esta sección comparten el crecimiento plagiótropo.

Gomphrena martiana es una especie que en las diagnosis taxonómicas es muy afín a *G. boliviana* (MD3-5). Las numerosas similitudes entre estas especies llevó incluso a que hayan sido sinonimizadas por algunos autores (Suessenguth, 1934; Holzhammer, 1956). Sin embargo, aunque fueron restituidas como taxones específicos diferentes por Pedersen (1990), teniendo en cuenta caracteres florales, ambas especies se pueden diferenciar notablemente según sus modelos de crecimiento. *Gomphrena martiana* (MD3-4) posee porte rastrero con tallos plagiótropos (modelo de Troll), mientras que *G. boliviana* (MD3-5) tiene un eje epicotilar de porte erecto, con ramificación continua (modelo de Attims).

Respecto a *Gomphrena graminea*, podemos mencionar que es la única representante de la sección *Stachyanthus* Seubert, y que presenta un modelo de desarrollo particular, el MD2-1.

Gomphrena meyeniana es nativa de la Cordillera de los Andes y es extremadamente variable. Muy probablemente la naturaleza montañosa del área provea numerosas barreras que evitan el entrecruzamiento entre diferentes poblaciones y entonces ha favorecido la evolución de razas locales más o menos estables (Pedersen, 1990). Este confuso número de formas ha llevado a autores como Standley (1937) a no aceptar división alguna en esta especie. Aunque *G. meyeniana* se describe adecuadamente con el modelo de Corner, los taxa infraespecíficos aceptados para Argentina pueden ser diferenciados, además de por ciertos caracteres florales, teniendo en cuenta características arquitecturales de ejes A3 en 4 grupos (Pedersen, 1990; Tabla 1.3): a) ejes A3 escaposos, sin otras hojas que las brácteas involucrales de la inflorescencia: *G. meyeniana* var. *meyeniana*, *G. meyeniana* var. *genuina*, *G. meyeniana* var. *conwayi*, variedades que se diferencian taxonómicamente por el indumento de pelos de los tépalos; b) ejes A3 con hojas no ramificados y erectos, como en el caso de *G. meyeniana* var. *caulescens*, variedad fácilmente reconocida a causa de sus tallos floríferos foliosos y rígidamente verticales; presenta filotaxis dística, aunque ocasionalmente puede ser opuesta decusada; c) ejes A3 con hojas, no ramificados y postrados (procumbentes), *G. meyeniana* var. *flaccida*, con hojas en disposición opuesta biyugada lo que indica el hábito de crecimiento plagiótropo; y d) ejes A3 floríferos decumbentes, con sus nudos ramificados, *G. meyeniana* var. *tucumanensis*, aunque casi siempre existe un par de hojas pecioladas ubicadas debajo del involucro de la inflorescencia; el carácter más interesante son los ejes A3 con ramificaciones presentes que la diferencian de los otros taxones.

Tabla 1.3 - Taxones infraespecíficos aceptados para la flora Argentina, diferenciados en su unidad arquitectural del resto de los taxones de la misma especie. MD: modelo de desarrollo

Taxón Infraespecífico	Modelo de Desarrollo	Modificación
<i>G. elegans</i> Mart. var. <i>mesopotamica</i> Pedersen	MD3-6	Bell, Eje A1 procumbente, estolonífera
<i>G. meyeniana</i> Walp. var. <i>caulescences</i> E. Holzh.	MD2-2	A3 con nudos, no ramificado, ortótropo
<i>G. meyeniana</i> Walp. var. <i>conwayi</i> (Rusby) Suess.	MD2-2	A3 sin nudos
<i>G. meyeniana</i> Walp. var. <i>flaccida</i> Pedersen	MD2-2	A3 con nudos, no ramificado, procumbente
<i>G. meyeniana</i> Walp. var. <i>flaccida</i> Pedersen f. <i>levitepala</i> Pedersen	MD2-2	A3 con nudos, no ramificado, procumbente
<i>G. meyeniana</i> Walp. var. <i>genuina</i> Stuchlik	MD2-2	A3 sin nudos
<i>G. meyeniana</i> Walp. var. <i>meyeniana</i>	MD2-2	A3 sin nudos
<i>G. meyeniana</i> Walp. var. <i>tucumanensis</i> Pedersen	MD2-2	A3 con nudos, ramificado
<i>G. pallida</i> (Suess.) Pedersen subsp. <i>munda</i> Pedersen	MD3-5	Attims, sin repetición basitona
<i>G. perennis</i> L. var. <i>suffruticosa</i> (Griseb.) R.E.Fr.	MD3-5	Attims, sin repetición basitona
<i>G. pulchella</i> Mart. subsp. <i>albisericea</i> (E. Holzh.) Pedersen	MD3-5	Attims, sin repetición basitona

El clado *Gomphrenoideae*, que incluye entre otros géneros a *Gomphrena* e *Iresine*, presenta una grande y diversa radiación de Amaranthaceae en toda América. En la actualidad se están realizando estudios moleculares para establecer una filogenia del género *Gomphrena* (Ortuño *et al.*, 2010). Algunos estudios que combinaron análisis de datos morfológicos y moleculares en Amarantáceas, determinaron que la subfamilia *Gomphrenoideae* es monofilética pero concluyeron que el género *Gomphrena* podría ser polifilético (Sanchez del Pino *et al.*, 2009). Además, este género incluye tanto especies con metabolismo C₃ como C₄ (Müller & Borsch, 2005).

Los caracteres morfológicos son una herramienta esencial para estudios filogenéticos, aún en la actual era de la sistemática molecular (Kellogg, 2006). Consecuentemente, la confiabilidad y validez de los métodos utilizados en el análisis arquitectural para identificar caracteres y definir estados del carácter son altamente relevantes para investigaciones taxonómicas. Además, interpretaciones filogenéticas óptimas requerirán la comparación de datos morfológicos con moleculares para poder realizar hipótesis sobre cómo evolucionó la arquitectura dentro de la familia o alguno de los géneros en particular (Kurmman & Hemsley, 1999).

CONCLUSIÓN

En las especies argentinas de los géneros *Gomphrena* e *Iresine* las características arquitecturales más remarcables para la determinación de unidad arquitectural son las categorías de ejes que la integran y el tipo de crecimiento del eje epicotilar, mostrando entre las especies estudiadas una gran variabilidad arquitectural. El carácter eje epicotilar y los diferentes estados de este carácter (tipos de crecimiento y el tipo de ramificación principalmente) son de fundamental importancia para poder determinar los modelos de desarrollo propuestos. El análisis arquitectural permite de esta manera ensayar la similaridad de este carácter a través de los taxones objeto de estudio.

Teniendo en cuenta las categorías de ejes que integran la unidad arquitectural se pueden diferenciar 2 grandes grupos, los modelos de desarrollo con tres categorías de ejes (MD3) y los modelos con dos categorías de ejes (MD2). Los MD2 son modelos poco competitivos en lo que respecta a ocupación del espacio e intercepción de luz. Los MD3 son mucho más competitivos y presentan ramificaciones de tipo serial o accesoria en mayor o menor grado a nivel de los ejes de categoría A2.

El análisis de modelos arquitecturales pone en evidencia diferentes tipos de funcionamientos meristemáticos. El estudio de vínculos que unen entre ellos los diferentes modelos puede conducir a una concepción evolutiva de estos funcionamientos. La arquitectura, al ser considerada como una serie de caracteres discretos heredables junto a otros tipos de datos morfológicos, puede estar sujeta a análisis filogenéticos. La diversidad arquitectural dentro del género *Gomphrena* e *Iresine* seguramente no esté limitada a las especies que hemos estudiado, pero la gran variabilidad en la morfología vegetativa observada entre las especies del presente trabajo ha podido ser caracterizada por un modelo de desarrollo en particular. En dicha caracterización los modelos arquitecturales han ofrecido una herramienta útil para

expresar el desarrollo vegetativo de los diferentes taxones estudiados. Además, ha provisto una organización conceptual que facilita la manera en la cual toda la información del desarrollo vegetativo puede ser usada, sea para taxonomía o para estudios filogenéticos. La disponibilidad en el futuro de filogenias basadas en datos moleculares abrirá la posibilidad de investigar la evolución de la arquitectura para estos géneros. Para este fin, será necesario continuar el presente análisis arquitectural, analizando taxones que no hayan sido hasta ahora incluidos, para poder determinar todos los modelos de desarrollo y así poder proponer posibles vínculos e hipótesis evolutivas.

Capítulo 2

Cuantificación de factores estructurales relativos al estatus de maleza de *G. perennis* e *I. diffusa* aplicando AMAPmod software

Resumen

Experimentos en cámara de crecimiento fueron conducidos para cuantificar el desarrollo de *G. perennis* e *I. diffusa*. Mediante el desarrollo de una base MTG fueron identificadas diferentes variables arquitecturales que permiten caracterizar el potencial de cada especie para desarrollarse como maleza. *Iresine diffusa* posee, luego de 90 días, plantas de mayor altura y mayor área foliar. Sin embargo, al tener en cuenta la dinámica del desarrollo se puede inferir que *G. perennis* presenta individuos con mayor habilidad competitiva respecto a los de *I. diffusa*, debido tanto a la mayor precocidad en alcanzar el estado reproductivo como a la mayor tasa de crecimiento en el estado de plántula, que le permite finalizar su crecimiento en alrededor de 60 días. La distribución topológica de características arquitecturales (área foliar y longitud de ejes) indica que *G. perennis* forma una canopia más densa. Además, la asignación de destinos de meristemas indica que *I. diffusa* prioriza el desarrollo de ejes vegetativos mientras que *G. perennis* prioriza la producción de estructuras reproductivas. Es posible indicar que *G. perennis* sería una planta más competitiva que *I. diffusa*, al menos en las condiciones en que se desarrollaron los experimentos y teniendo en cuenta individuos que provienen de semilla.

INTRODUCCIÓN

En las investigaciones orientadas a caracterizar como “maleza” a una especie se necesita la comparación de variables cuantificables (Kropff & van Laar, 1992). Las estructuras topológicas de las plantas “malezas” objeto de estudio han sido exploradas en el capítulo anterior sólo a un nivel cualitativo, razón por la cual es necesario utilizar métodos que permitan la cuantificación de sus estructuras para poder estimar variables de utilidad que permitan generar modelos funcional-estructurales (Fernandez Quiroga, 2005; Godin & Sinoquet, 2005).

La medición y el análisis del crecimiento de los vegetales es una práctica desarrollada por diferentes disciplinas, como la agronomía, silvicultura, ecología y

taxonomía, entre otras. Cada una de ellas utiliza diferentes escalas de representación y, debido a que la descripción del funcionamiento de las plantas reviste una gran complejidad, muy pocas de ellas tienen en cuenta una descripción detallada de la estructura de toda la planta (Grosfeld, 2002). Los trabajos de Hallé y colaboradores (1978) han desarrollado una aproximación al estudio de las plantas a un nivel global y a la vez detallado, que integra la estructura vegetal y su dinámica de desarrollo. Para lograr un enfoque cuantitativo sobre la estructura de las mismas y su secuencia de desarrollo, ha sido elaborada una metodología general de análisis que puede ser usada para la representación de las estructuras topológicas de las plantas. Esta metodología fue implementada en el software AMAPmod (Godin & Caraglio, 1998; Godin, 2000), que hoy ha sido actualizado y puede ser utilizado mediante el paquete Openalea.mtg en la plataforma OpenAlea (Pradal *et al.*, 2008). Los métodos y programas informáticos de modelización y simulación de la arquitectura de las plantas desarrollados por AMAP (“botAnique et bioinforMatique de l’Architecture des Plantes”, Unidad mixta de investigación del Cirad/INRA, Francia) tienen aplicaciones botánicas, agronómicas, forestales y ecológicas (Grosfeld, 2002; Seleznyova *et al.*, 2002; Jaffuel & Dauzat, 2005; Renton *et al.*, 2006; Damascos *et al.*, 2008; Milla *et al.*, 2008; Segura *et al.*, 2008).

Desde un punto de vista dinámico, en el desarrollo arquitectural de una planta se repiten e integran diversos “niveles de organización” (Barthélémy, 1991). Del más elemental al más complejo, los diferentes niveles de organización de la planta pueden ser claramente identificados mediante una codificación adecuada. El estudio arquitectural desarrollado de manera descriptiva en el capítulo anterior, permitió caracterizar la estructura topológica general de los individuos de *G. perennis* (modelo MD3-3) y de *I. diffusa* (modelo MD3-6). En base a la caracterización cualitativa de sus

estructuras vegetativas, un individuo puede ser descrito usando un código específico para la topología y sus relaciones estructurales (Godin *et al.*, 1999b). Las plantas entonces pueden ser formalmente representadas mediante la metodología AMAPmod a través de gráficos de árboles multiescalares (MTG por sus denominación en inglés Multiscale Tree Graphs). El formalismo MTG ha sido diseñado para permitir la expresión tanto de la modularidad como de la naturaleza multiescalar de las estructuras morfológicas de una planta (Godin *et al.*, 1997; Godin *et al.*, 1999a; 1999b). Además, la construcción de la base MTG posibilita cuantificar variables arquitecturales de interés y modelizar fielmente el crecimiento de las especies (Godin *et al.*, 1997 ; De Reffye *et al.*, 1998) Esta formalización de la estructura hace posible realizar un análisis morfométrico comparativo de la arquitectura de ambas especies en estudio con el apoyo matemático e informático, ya que el archivo MTG puede ser explorado y analizado de manera interactiva mediante el uso del lenguaje AMAPmod (AML). Además, esta metodología permite definir a posteriori diferentes tipos de variables a obtener desde los datos que han sido registrados en la base MTG, ya que la arquitectura de la planta es cuidadosamente preservada durante el proceso de medición. Aplicado a las malezas, esta metodología permitiría establecer, con un criterio lógico y objetivo, las diferencias cuantitativas en el desarrollo arquitectural de ambas especies que pueden tener influencia en su éxito como malezas.

Existen dos tipos de variables que pueden ser obtenidas desde la base MTG. Por un lado las denominadas “variables crudas” que se obtienen de forma directa ya que corresponden a ubicaciones topológicas precisas y a los valores registrados para cada entidad botánica sujeta a medición. Desde estas variables, se pueden obtener otro tipo de variables que se denominan “variables sintetizadas”, las que pueden ser calculadas mediante el AML usando variables asociadas a componentes de la misma o diferentes

escalas (Godin *et al.*, 1999a; Godin, 2000). De esta manera, numerosas variables cuantitativas de interés para el estudio biológico de malezas como Área Foliar (AF), Longitud de Ejes (LG) y producción de estructuras reproductivas pueden ser obtenidas de forma directa a través del análisis arquitectural. El AF tiene gran implicancia tanto en la competencia por luz con los cultivos, como en la intercepción de herbicidas para su control en el caso de herbicidas de absorción foliar, como el glifosato. La formación de estructuras reproductivas es también de gran interés en malezas por su relación con la producción de semillas. Estas variables (AF, LG y n° de estructuras reproductivas) serían ejemplos de “variables crudas”. Por otra parte, los meristemas del sistema aéreo en una planta forman una población de unidades funcionales con una particular distribución entre los diferentes destinos en cualquier momento en la vida de una planta. Todos los meristemas del sistema aéreo de la planta son derivados desde la actividad de un meristema apical. Cada hoja presenta en posición axilar una yema (meristema) o la entidad botánica producto de su desarrollo (Bell, 1991). En un momento determinado del desarrollo cada yema axilar posee uno de tres destinos posibles: un meristema Reproductivo (R) el cual forma una flor o una unidad de inflorescencia (UIF); un meristema Inactivo o Inhibido (I) el cual está quiescente o no-desarrollado a causa de supresión meristemática (dominancia apical), senescencia o muerte; y un meristema de crecimiento o meristema Vegetativo (V) el cual produce biomasa vegetativa (ramas y hojas) y nuevos meristemas axilares. De esta manera, tres características de historia de vida pueden ser definidas por la asignación o distribución relativa de cada destino meristemático: Esfuerzo Reproductivo (ER), Dominancia Apical (DA) y Esfuerzo Vegetativo (EV) (Bonser & Aarssen, 2001, 2003, 2006, 2009). Estos serían ejemplos de variables sintetizadas, ya que su cálculo es indirecto, a través de las relaciones entre las entidades botánicas producidas por cada meristema apical.

Todas estas variables de calculo directo o indirecto ("crudas" o "sintetizadas" respectivamente) pueden ser extraídas mediante el AML desde una base MTG correctamente construida mediante la metodología AMAPmod (Godin & Guédon, 2001). La generación de metodologías que puedan caracterizar el crecimiento y desarrollo de una especie considerada como "maleza" es necesaria para luego poder investigar aspectos relacionados con su control, como por ejemplo la aplicación de agroquímicos. El estudio del sistema de ramificación involucra una descripción ordenada y coordinada de eventos morfogénéticos en función de los cuales la planta crece y ocupa lugar en el espacio (Bell, 1986). De su comprensión se determinan los patrones de crecimiento que guían a esta sucesión de cambios dentro de cada especie.

No se han realizado a la fecha estudios detallados del sistema de ramificación de los vástagos en *G. perennis* e *I. diffusa*. Un análisis de esta naturaleza puede ayudar a esclarecer las distintas adaptaciones que presentan estas especies en lo que concierne a ocupación del espacio, competencia y respuesta a disturbios ocasionados en el agroecosistema. En este sentido, el objetivo de este capítulo es obtener variables cuantitativas de la arquitectura de *G. perennis* e *I. diffusa* mediante la metodología AMAPmod para analizar comparativamente la dinámica del desarrollo estructural de ambas especies e identificar factores que pueden tener influencia en su éxito como malezas de campos cultivados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y ensayo experimental: el estudio se realizó en plantas de *G. perennis* e *I. diffusa* obtenidas de semillas de diferentes poblaciones ubicada en campos cultivados localizados del departamento las colonias (Santa Fe, Argentina). (31°26'S; 60°56'O). Las semillas fueron separadas de sus frutos y colocadas en bandejas plásticas de 128 celdas rellenas con sustrato. Se llevó para su germinación y emergencia a sala de crecimiento (fotoperiodo 14 h, alternancia de temperatura 25/18 °C día/noche). Fueron regadas 3 veces por día (mañana, mediodía y tarde) para lograr una óptima emergencia.

Una plántula se consideró emergida cuando se encontraban los cotiledones expandidos y el primer par de hojas en crecimiento. Luego de producida la emergencia de plántulas, 30 individuos de cada especie fueron transplantados a macetas plásticas de 3 L (17 cm de diámetro y 17 cm de alto). El sustrato de las macetas estuvo compuesto por una proporción 1:1:1 de Suelo:Sustrato:Arena (el suelo utilizado corresponde a un suelo franco-limoso, Argiudol-Típico, serie Esperanza). Una vez transplantadas, cada unidad experimental (planta) fue regada con una solución de insecticida sistémico Imidacloprid® para evitar posibles ataques por insectos que dañan yemas o tejidos en desarrollo. Las plantas transplantadas en maceta de 3 L fueron colocadas en sala de crecimiento (condiciones de 14 horas de luz con 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa y un termoperíodo de 25/18 °C día/noche, humedad relativa 60% ($\pm 5\%$)) dispuestas según un diseño completamente aleatorizado. Semanalmente las macetas fueron reubicadas aleatoriamente dentro de la sala. Fueron regadas periódicamente a capacidad de campo con solución Hoagland (inicialmente día por medio, luego diariamente para evitar un posible estrés hídrico) durante todo el ensayo.

Representación de la estructura de ramificación: la metodología AMAPmod fue usada para representar la estructura topológica del sistema de ramificación de ambas especies utilizando una base MTG con 5 niveles de organización: Planta, Eje, Fitómero, Hoja y Yema. Además de las relaciones topológicas dentro del sistema de ramificación (sucesión “<” y ramificación ”+”), fueron incorporadas a la base MTG las siguientes características: longitud de entrenudo (mm), longitud de hoja (limbo más pecíolo en mm) y ancho de hoja (ancho máximo de lámina en mm). A nivel de fitómero fue indicada la producción de unidades de inflorescencias (UIF) y el estadio de floración en que se encontraba.

Variables extraídas: la base de datos MTG fue explorada usando el software AMAPmod y el lenguaje de modelización AML-AMAPmod (Godin & Guedon, 2001). Se trabajó comparativamente con 3 fechas: 30, 60 y 90 días desde la emergencia de plántulas.

Variables de cálculo directo. Las siguientes variables fueron extraídas para cada fecha: a) n° de unidades de inflorescencia (UIF), b) longitud de ejes (LG), c) n° de fitómeros (FT), d) área foliar (AF). Cada una de estas variables fue determinada por sumatoria para cada planta tanto para el Total (T; por ejemplo LGT= Longitud total de ejes) como en la discriminación para cada orden de ramificación (EP= Eje Principal, O1= ramificación 1^{er} orden, O2= ramificación 2^{do} orden, O3 y sig.= ramificación 3^{er} orden y subsiguientes; por ejemplo LGEP= Longitud del Eje Principal).

El valor del LG (mm) para cada eje fue obtenido como la sumatoria de longitudes de los entrenudos que lo componen (por ejemplo LGEP es igual a la sumatoria de todas las longitudes de entrenudos de los fitómeros que componen el EP de una planta). El valor de AF (mm²) fue obtenido como la sumatoria de la superficie unifacial de cada hoja involucrada (por ejemplo AFT es igual a la sumatoria de

superficie foliar de todas las hojas presentes en una planta). La superficie foliar de cada hoja fue obtenida mediante el producto del valor registrado longitud (mm) x ancho (mm) en cada hoja según la metodología expuesta por Lauri & Terouanne (1991). La ecuación de regresión lineal utilizada para *I. diffusa* ($y = 54,101 + 0,4694x$; $R = 0,95$) y para *G. perennis* ($y = 5,8578 + 0,6151x$; $R = 0,97$) donde y es igual a superficie foliar y donde x es igual al producto “longitud de hoja” x “ancho de hoja”, fue calculada con 150 hojas para cada especie. Para el cálculo de la ecuación de regresión, la superficie foliar real de cada hoja fue determinada mediante el software analizador de imágenes ImageProPlus®.

Variables de cálculo indirecto. Se calcularon las Tasas de Crecimiento (TCA= Tasa de crecimiento absoluto y TCR= Tasa de crecimiento relativo) para cada variable directa extraída. La TCR de cada planta para cada período t_0 (0 días), t_1 (30 días), t_2 (60 días) y t_3 (90 días) fue calculada utilizando la siguiente ecuación [2.1]:

$$TCR_{ji} = (\ln X_j - \ln X_i) / (t_j - t_i) \quad [2.1]$$

donde X_j y X_i representan el valor de la variable para el periodo considerado a los tiempos t_j y t_i respectivamente.

Para caracterizar el tipo de crecimiento de cada especie se realizó el cálculo de las variables ER, EV y DA con los destinos meristemáticos de cada yema (R, V e I). En cualquier momento del desarrollo, el número de R se corresponde con el número de UIF, el número de I es equivalente al número de yemas que no se desarrollaron y V es igual al número de ejes que no desarrollaron una UIF terminal. De esta manera, Esfuerzo Reproductivo (ER) se midió como la proporción del número total de yemas con destino R vs. aquellas yemas que no se desarrollaron (I) o desarrollaron un eje que quedó vegetativo (V). El cálculo se realiza mediante la siguiente ecuación [2.2]:

$$ER = R / (I + V) \quad [2.2]$$

Esfuerzo Vegetativo (EV) se define como el número de yemas axilares que producen un eje vegetativo (V) vs. aquellas que quedan inhibidas (I) o dan una UIF. El cálculo de EV se realiza mediante la siguiente ecuación [2.3]:

$$EV = V / (R + I) \quad [2.3]$$

Dominancia Apical (DA) es una medida de la supresión del desarrollo de meristemas axilares y está definido como el número de yemas axilares que permanecen inactivas vs. aquellas yemas que desarrollan ejes vegetativos V o UIF's. El cálculo de DA se realiza mediante la siguiente ecuación [2.4]:

$$DA = I / (R + V) \quad [2.4]$$

Análisis Estadístico: debido a la falta de independencia de las observaciones (medidas repetidas en el tiempo para un mismo individuo) lo cual puede implicar autocorrelación de errores experimentales y a la heterocedasticidad de varianzas detectada mediante la observación de un gráfico de residuos, un enfoque de modelos lineales generales fue usado para la modelación de datos utilizando el método de Máxima Verosimilitud Restringida (REML). Como estrategia general para realizar este tipo de análisis se ajustaron modelos con distintas estructuras de covarianza, combinando apropiadamente estructuras de correlación residual y heterocedasticidad residual. Mediante criterios de verosimilitud penalizada (AIC y BIC) se eligió el modelo que mejor describe los datos. Usando este modelo se realizaron inferencias acerca de las medias utilizando la prueba de LSD de Fisher con un nivel de significación de 0,01. En todos los casos se usó el mismo modelo de medias, ya que la parte fija del modelo no cambió (imprescindible si se desea comparar estructuras de covarianza usando REML y por ende los criterios de AIC y BIC). Los análisis estadísticos se realizaron mediante el software R a través de los procedimientos *gls* y *lme* de la librería *nlme* (Pinheiro *et al.*, 2011).

RESULTADOS

1) Arquitectura cuantitativa

Totales por planta: al final del ensayo se obtuvieron valores significativamente mayores de LGT, FTT (Figuras 2.1a y b) y UIFT (Figuras 2.3) para *G. perennis*, mientras que para *I. diffusa* se obtuvieron valores significativamente mayores de AFT (Figura 2.1c)

Eje Principal (EP) (Figura 2.1d, e y f): en ambas especies el eje epicotilar fue el eje que alcanzó la mayor longitud y determinó la altura máxima de la planta. En *G. perennis* se obtuvieron plantas de altura significativamente menor (60,82 cm) que *I. diffusa* (129,79 cm) (Figura 2.1d). Sin embargo, el EP no desarrolló un número de fitómeros significativamente diferente (*G. perennis* 13,27 e *I. diffusa* 13,81; Figura 2.1e). Además, sobre esta categoría de ejes se encontraron las hojas de mayor tamaño, siendo el área foliar para el EP significativamente mayor en *I. diffusa* (38959,25 mm²) que en *G. perennis* (14574,35 mm²) (Figura 2.1f). Todos los individuos presentaron en este eje el desarrollo de una UIF en posición terminal.

Ramificaciones de 1^{er} orden (Figura 2.2 a, b y c): para *I. diffusa* se obtuvieron valores de LG, FT y AF significativamente mayores que para *G. perennis* (Figura 2.2). En ambas especies estos ejes alcanzaron el mayor porcentaje del área foliar total de una planta (*G. perennis* 44% e *I. diffusa* 66%; Tabla 2.1; Figura 2.3). Además, el total de UIF que se desarrolló sobre estos ejes es baja (< 20%) respecto al total de UIF producido por planta (Tabla 2.1).

Ramificaciones de 2^{do} orden (Figura 2.2 d, e y f): tanto la longitud de ejes como el número de fitómeros y el área foliar fueron significativamente mayores en *G. perennis* respecto a *I. diffusa* (Figura 2.2). También se pudo observar que en ambas especies este orden de ramificación presentó la mayor proporción de las UIF totales, mostrando *G. perennis* un número significativamente mayor de UIF que *I. diffusa*.

Máximo orden de ramificación y distribución relativa respecto al total: en *I. diffusa* las ramificaciones alcanzaron el 3^{er} orden. Estas ramificaciones fueron ejes que sólo aportaron estructuras reproductivas, aunque fue bajo el número respecto del total (Figura 2.3, Tabla 2.1). En *G. perennis* el 60 % de los individuos alcanzaron el 6^{to} orden de ramificación y el 100% de los individuos alcanzó el 5^{to} orden de ramificación.

En *G. perennis* existió una gran proporción de LG, FT y AF distribuída sobre las ramas de 1^{er} y 2^{do} orden (Tabla 2.1; Figura 2.3). En *I. diffusa* en el 1er orden de ramificación se encontró la mayor proporción de LG y AF (Tabla 2.1; Figura 2.3). Además, la mayor proporción de UIF y FT en *I. diffusa* se desarrolló en ramificaciones de 2^{do} orden, mientras que en *G. perennis* se desarrolló sobre ramas de 3^{er} orden y subsiguientes (Tabla 2.1; Figura 2.3). La distribución relativa respecto al total alcanzado de cada variable analizada a los 90 días de crecimiento se encuentra en la Tabla 2.1.

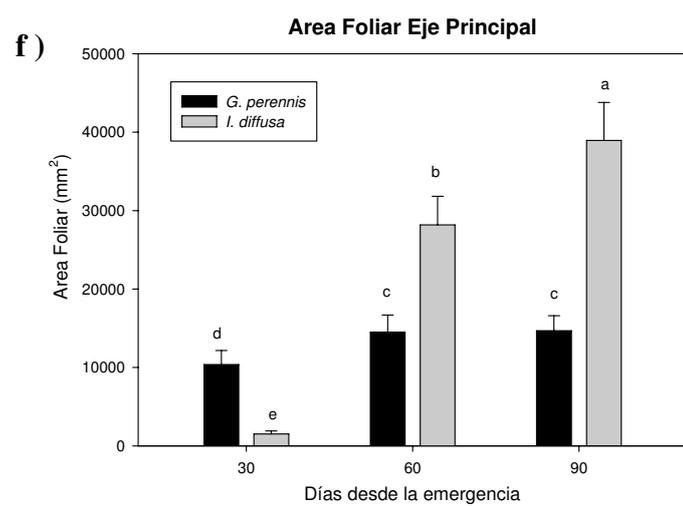
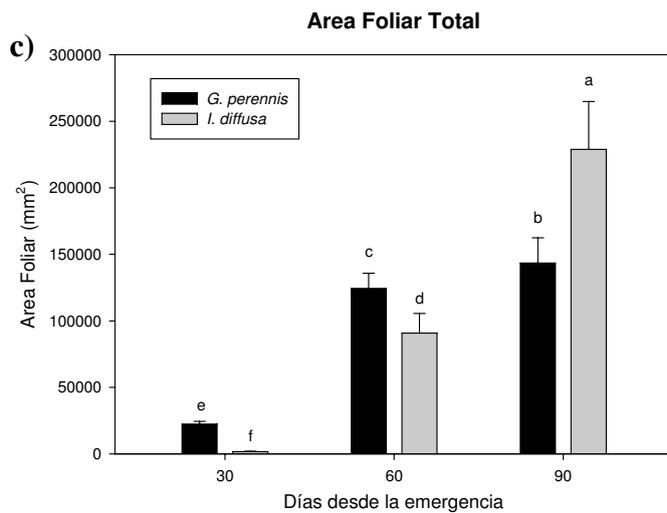
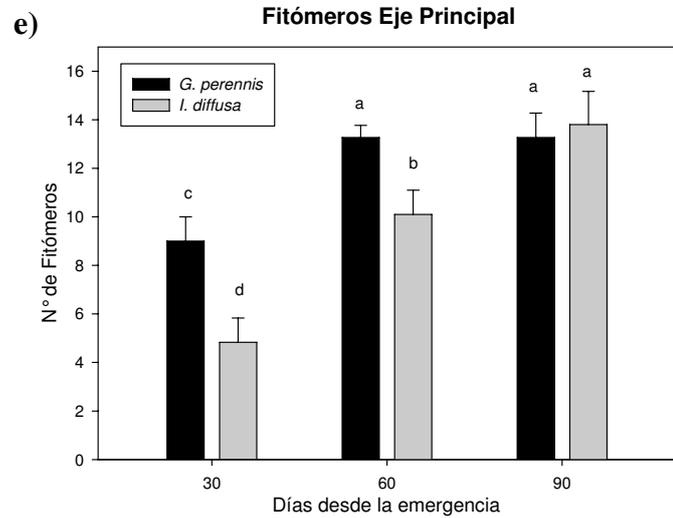
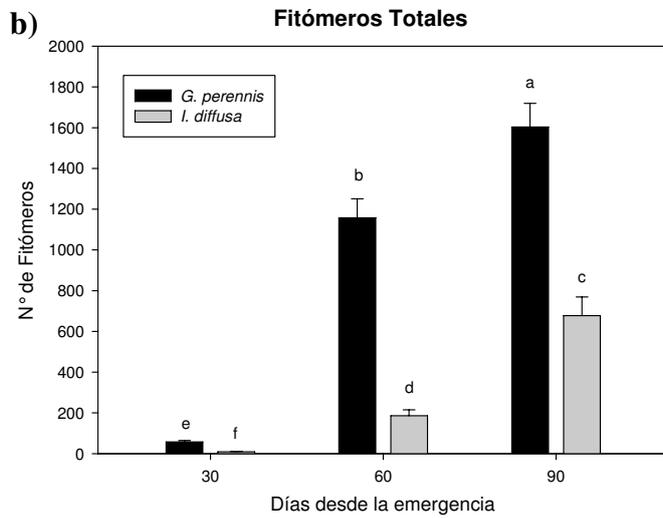
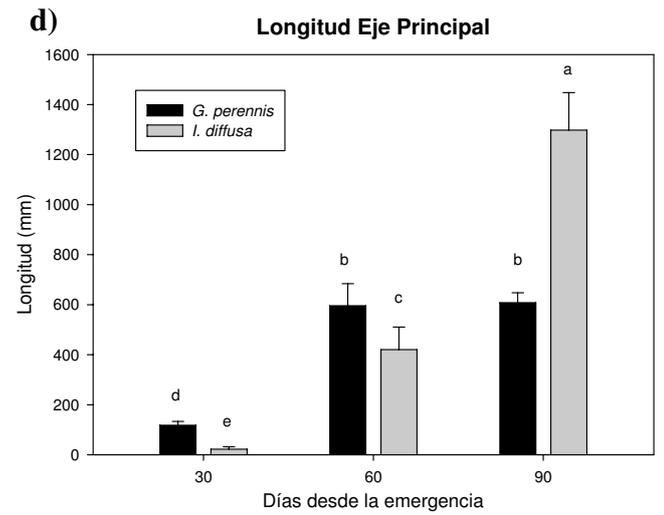
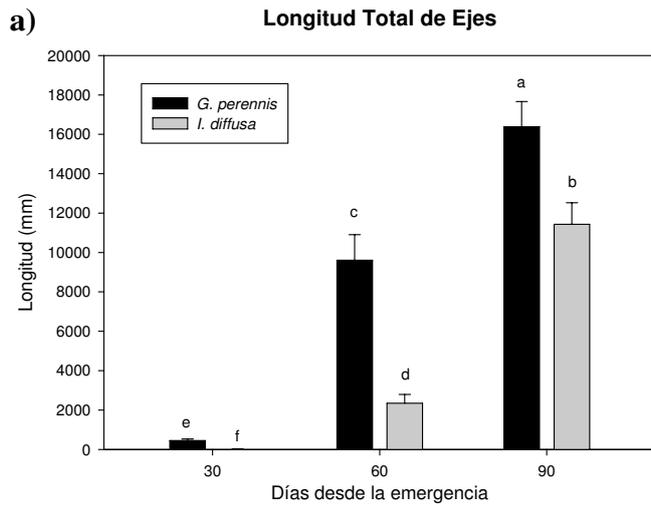


Figura 2.1: Valores medios de Longitud de ejes, N° de Fitómeros y Área Foliar para individuos de *G. perennis* e *I. diffusa* obtenidos a los 30, 60 y 90 días desde la emergencia. Totales por planta: gráficos a), b) y c). Eje Principal: gráficos d), e) y f). Letras distintas indican diferencias significativas entre las medias para cada especie y tiempo mediante la prueba LSD de Fisher ($p < 0,01$). Barras representan error estándar

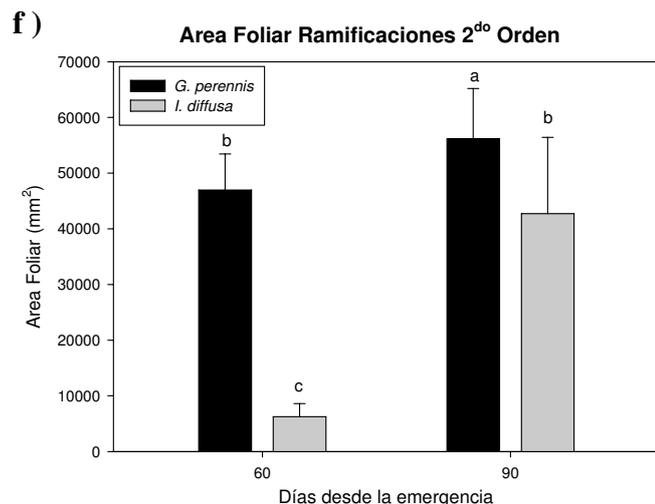
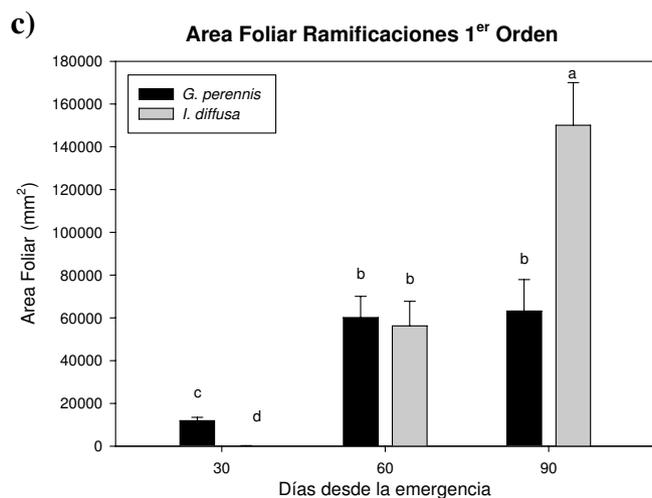
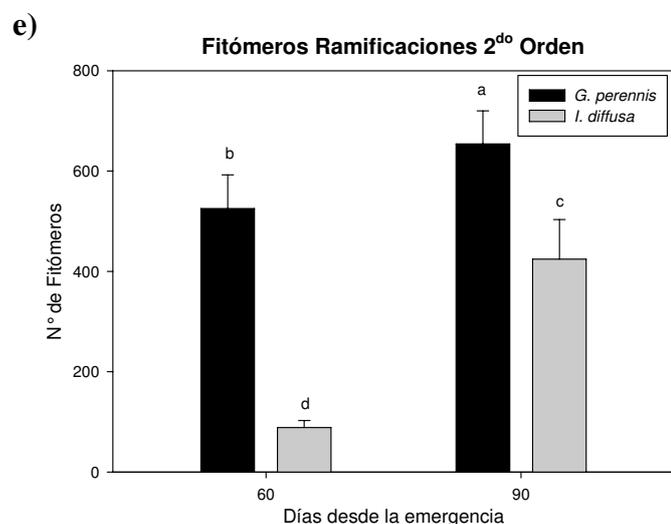
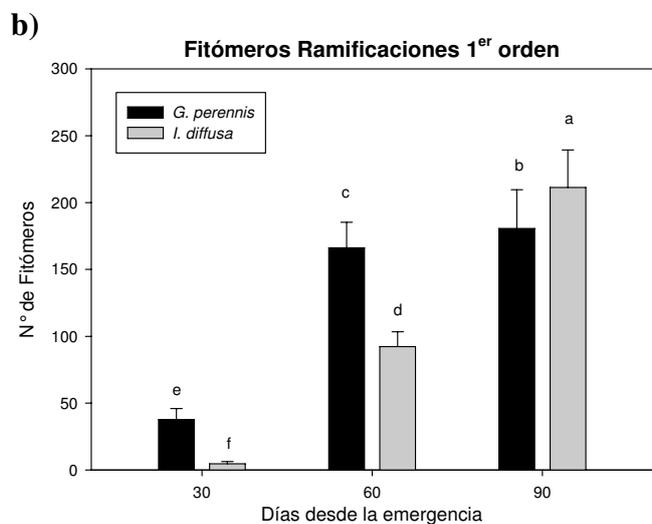
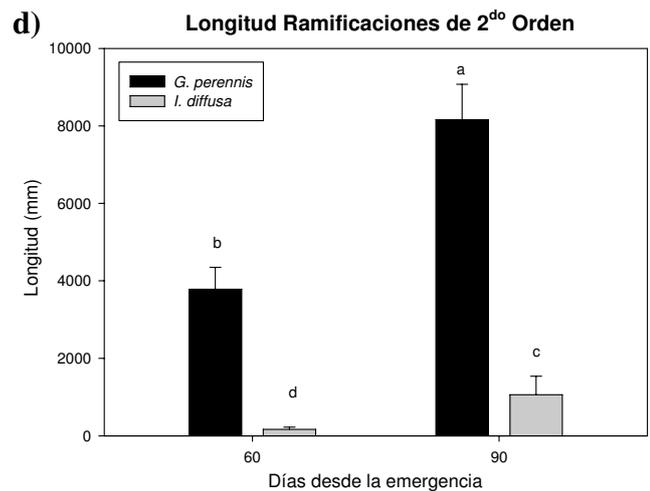
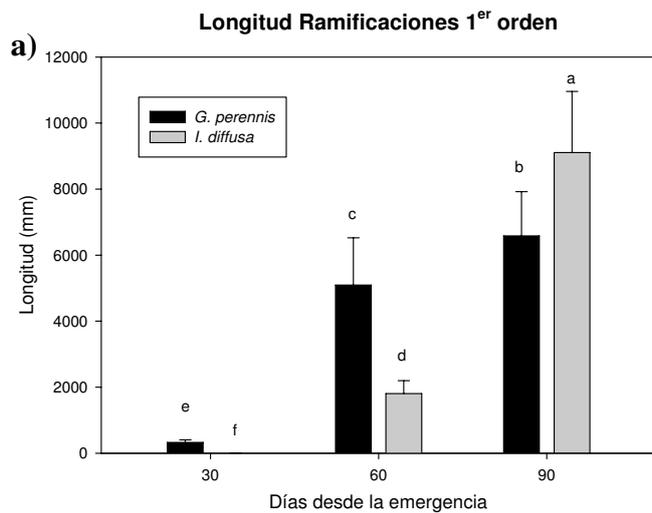


Figura 2.2: Valores medios de Longitud de ejes, N° de Fitómeros y Área Foliar para individuos de *G. perennis* e *I. diffusa* obtenidos a los 30, 60 y 90 días desde la emergencia. Ramificaciones de 1^{er} orden: gráficos a), b) y c). Ramificaciones de 2^{do} orden: gráficos d), e) y f). Letras distintas indican diferencias significativas entre las medias para cada especie y tiempo mediante la prueba LSD de Fisher ($p < 0,01$). Barras representan error estándar.

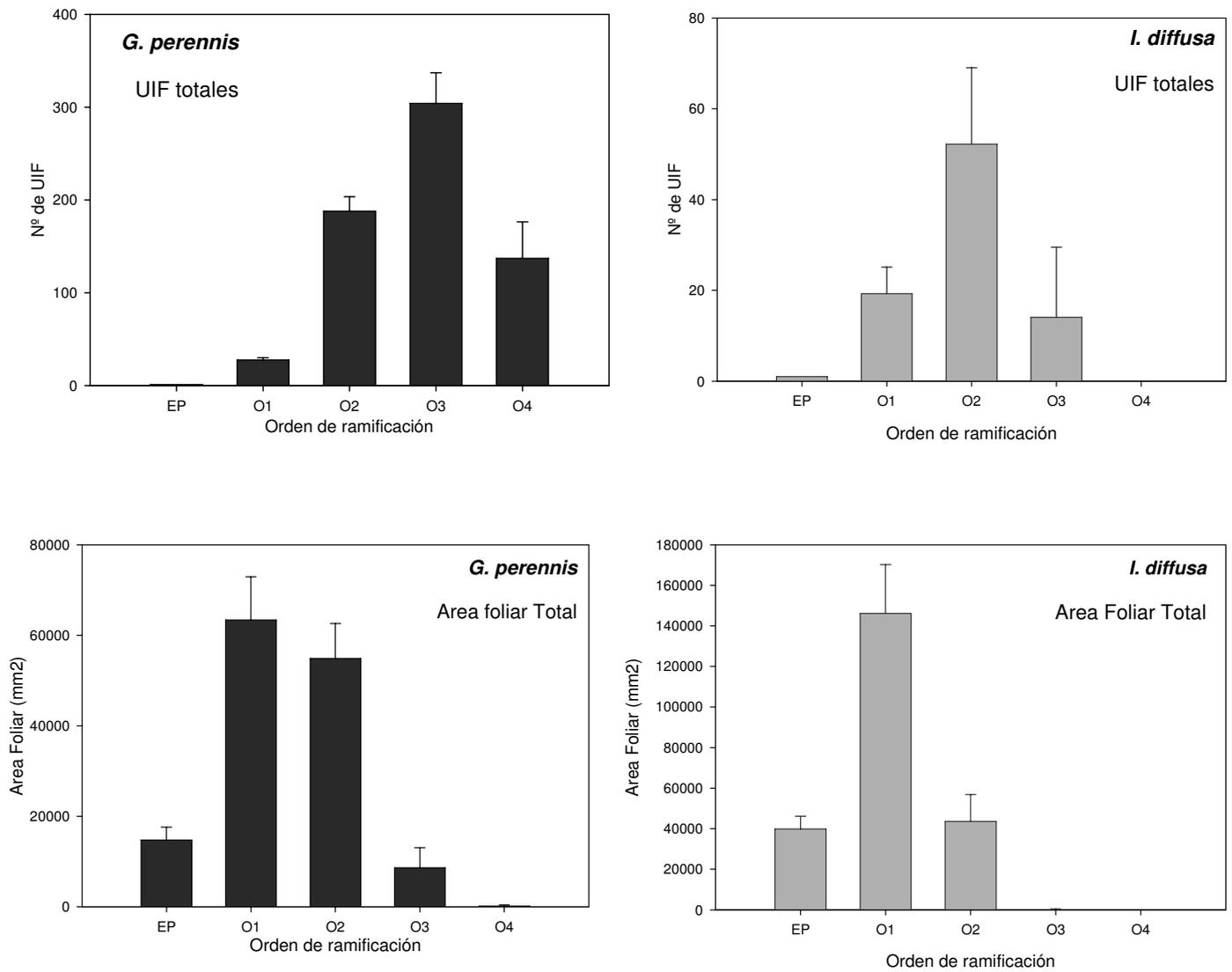


Figura 2.3: Valores medios de UIF totales y Área Foliar Total para individuos de *G. perennis* e *I. diffusa* discriminados según su distribución topológica para cada orden de ramificación obtenidos a los 90 días. Las barras de error indican error estándar de la media.

Tabla 2.1 – Distribución relativa para cada orden de ramificación de las variables estudiadas. Los valores corresponden a la proporción (expresada como porcentaje) respecto al total alcanzado a los 90 días para cada variable discriminando según su ubicación topológica. (EP: Eje Principal, O1: ejes 1^{er} orden, O2: ejes 2^{do} orden, O3 y sig: ejes 3^{er} orden y subsiguientes. Longitud de Ejes (LG), Fitómeros (FT), Área Foliar (AF), Unidades de Inflorescencias (UIF).

Orden de Ramificación	<i>G. perennis</i>				<i>I. diffusa</i>			
	LG	FT	AF	UIF	LG	FT	AF	UIF
EP	4	>1	10	>0,1	11	2	16	1
O1	40	12	44	4	79	32	66	16
O2	50	41	40	26	10	63	18	58
O3 y sig	6	46	6	70	0	0	0	25

2) Tasas de Crecimiento: las TCR y TCA calculadas para cada variable correspondiente a los 30, 60 y 90 días desde la emergencia se encuentran en la Tabla 2.2. Se puede indicar que *G. perennis* presentó la mayor TCR para todas las variables en el período 0-30 días, mientras que *I. diffusa* presentó la mayor TCR en el periodo entre 30-60 días. La máxima TCA en *G. perennis* fue alcanzada en el período correspondiente a 30 a 60 días mientras que en *I. diffusa* la mayor TCA fue alcanzada en el periodo de 60 a 90 días.

Tabla 2.2 – Tasa de Crecimiento Relativa (TCR) y Tasa de Crecimiento Absoluta (TCA) para *G. perennis* e *I. diffusa* para 3 periodos (0-30 días, 30-60 días y 60-90 días) del desarrollo para cada variable estudiada. LGT: longitud de ejes total. FT: número de fitómeros totales. AFT: área foliar total. Los valores de TCA corresponden a LGT: mm.día⁻¹, FT: fitómeros.día⁻¹, AFT: mm².día⁻¹.

Tasa de Crecimiento	Variable	<i>G. perennis</i>			<i>I. diffusa</i>		
		0-30	30-60	60-90	0-30	30-60	60-90
TCR	LGT	0,180	0,102	0,018	0,093	0,155	0,052
	FT	0,112	0,100	0,011	0,074	0,101	0,042
	AFT	0,285	0,057	0,005	0,186	0,135	0,031
TCA	LGT	14,868	305,439	225,699	0,809	77,451	302,640
	FT	1,934	36,641	14,880	0,317	5,903	16,370
	AFT	748,298	3388,484	622,940	54,619	2913,568	4609,683

3) Destino de meristemas: en la Tabla 2.3 se muestran los resultados obtenidos para cada variable calculados con las ecuaciones [2.2], [2.3] y [2.4]. Se encontraron diferencias significativas para las 3 variables consideradas. El ER fue significativamente mayor en *G. perennis*, mientras que tanto DA como IR fueron significativamente mayores en *I. diffusa*.

Tabla 2.3 - Valores medios de las variables Esfuerzo Reproductivo (ER), Dominancia Apical (DA) y Esfuerzo Vegetativo (EV) para la última fecha de observación medidos en *G. perennis* e *I. diffusa*. EE: error estándar.

		<i>G. perennis</i>		<i>I. diffusa</i>	
		Media	EE	Media	EE
Destinos de Meristemas	ER	0,68	0,01	0,08	0,01
	DA	0,9	0,02	2,54	0,07
	EV	0,14	0,0032	0,28	0,01

DISCUSIÓN

Tanto *G. perennis* como *I. diffusa* presentan modelos de desarrollo con 3 categorías de ejes (expuestas en el capítulo anterior), sin embargo, la cuantificación de las características estructurales, según la distribución relativa de LG, FT, AF y UIF (Tabla 2.2) sugieren que se diferencian en los órdenes de ramificación que integran cada categoría de eje de la unidad arquitectural. En *I. diffusa* se puede determinar que las ramificaciones de 1^{er} orden se corresponden con lo descrito para los ejes de categoría A2 (ejes que exploran y explotan el medio debido a las altas LG y AF) y las ramificaciones de 2^{do} orden se corresponden con lo descrito para los ejes de categoría A3 (ejes cuya función principal es la de desarrollar estructuras reproductivas) (Figura 2.3). En cambio, *G. perennis* presenta individuos cuyas ramificaciones alcanzan al menos el 6^{to} orden. Esto indica que puede existir más de un orden de ramificación para cada categoría de eje. El gradiente morfogenético en *G. perennis* determina que principalmente los ejes de 1^{er} y 2^{do} orden cumplan funciones de exploración y explotación del medio ya que poseen proporciones similares de LG y AF. Sin embargo, en los ejes de 2^{do} orden se observa además una gran proporción de UIF (Fig. 2.3). Los ejes de este orden de ramificación poseen entonces características intermedias a las categorías de ejes A2 y A3, ya que poseen elevada AF y LG pero también son responsables de portar un elevado número de UIF. Las ramas de 3^{er} orden y subsiguientes son ejes netamente reproductivos (ejes categoría A3).

El tamaño de planta ha sido utilizado como un importante indicador de aptitud competitiva. Plantas más grandes tienden a ser mejores competidoras que plantas de tamaño menor (Geber, 1990). Si tomamos en cuenta el desarrollo final alcanzado a los 90 días, *I. diffusa* posee plantas que duplicaron en altura a *G. perennis* (Figura 2.1.d). Esta mayor altura se debe al mayor alargamiento de entrenudos de *I. diffusa*, y no al

desarrollo de mayor número de fitómeros. Sin embargo, nuestros resultados al final del ensayo indican que aunque las plantas de *G. perennis* alcanzaron menor altura que las de *I. diffusa* e incluso menor longitud de ramas de 1^{er} orden (Figura 2.2.a), tuvieron mayor longitud total de ejes (Figura 2.1.a) y un número significativamente mayor de fitómeros totales (Figura 2.1.b), lo que indica que ramificaron en mayor proporción produciendo una canopia mas densa. En este sentido, aunque para *I. diffusa* se obtuvo mayor área foliar total (AFT), el 66% del AFT estuvo dispuesta sobre las ramificaciones de 1^{er} orden mientras que *G. perennis*, de menor AFT, presentaría mejor distribución de la misma (40 % en ramas de 1^{er} orden y 44 % en ramas de 2^{do} orden, Figura 2.3). La canopia mas denso ha sido relacionado positivamente con la competitividad de una especie (Vitta & Quintanilla, 1996). Nuestros resultados permiten sugerir que *G. perennis* explota mucho más el espacio ocupado por un individuo al final de su crecimiento por lo cual podría ser mas competitiva que *I. diffusa*.

La capacidad de adquisición de recursos depende no solo del tamaño y ubicación de las partes de las plantas, sino también de los niveles de actividad fisiológica de esas partes, y de la velocidad con que se desarrollan a través del tiempo (Cousens & Mortimer, 1995). Debido a que *G. perennis* alcanzó para todas las variables su mayor TCR en el período inicial y su mayor TCA en el período 30-60 días, mientras que *I. diffusa* alcanzó para todas las variables su mayor TCR en el período 30-60 y su mayor TCA en el período 60-90, se puede indicar que *G. perennis* presenta un crecimiento mas acelerado respecto a *I. diffusa*. Si analizamos la estructura vegetativa a los 60 días de crecimiento se observa que *G. perennis* presentó individuos que alcanzaron a desarrollar para el EP el número final de fitómeros y su altura final, mientras que los individuos de *I. diffusa* no llegaron a desarrollar el número final de fitómeros y solo alcanzaron el 30% de su altura final. Se puede observar también que a los 60 días *G. perennis* alcanzó

a desarrollar aproximadamente el 85% del AFT, a diferencia de *I. diffusa* que sólo alcanzó el 40% del AFT al final del ensayo. En malezas, la habilidad competitiva de una especie está asociada positivamente con el crecimiento inicial rápido de sus individuos que permite anticipar la captación de recursos limitantes (Kropff, 1988). Nisenshon *et al.* (2011) demostraron que el rápido desarrollo de *Commelina erecta* en etapas iniciales del crecimiento era uno de los factores determinantes de su éxito ecológico como maleza de campos cultivados. En otros estudios, Storkey (2004) también demostró que una elevada tasa de crecimiento inicial determina el potencial competitivo de una maleza. Existe mucha evidencia circunstancial que sugiere que el tiempo relativo del desarrollo morfológico es crítico para el resultado de la competencia (Cousens *et al.*, 1991). Aunque la competencia es un fenómeno complejo, definido por múltiples factores, su resultado es altamente dependiente de la tasa de crecimiento inicial de cada especie (Kropff & van Laar, 1992). Teniendo en cuenta la dinámica del desarrollo se puede inferir que *G. perennis* presenta individuos con mayor habilidad competitiva respecto a los de *I. diffusa*, debido tanto a la mayor precocidad en alcanzar el estado reproductivo como a la mayor tasa de crecimiento en el estado de plántula.

Respecto a la producción de unidades de inflorescencia (UIF) a los 90 días, todos los individuos, tanto de *G. perennis* como de *I. diffusa*, presentaron el desarrollo de una UIF en posición terminal para el EP. Sin embargo, al igual que para el desarrollo vegetativo, ambas especies se diferenciaron en la velocidad de desarrollo reproductivo. A los 60 días el 100% de los individuos de *G. perennis* presentaron su UIF terminal en el EP, mientras que de *I. diffusa* ningún individuo presentaba su UIF terminal en ese momento. Este resultado se corresponde con el hecho, mencionado más arriba, de que a los 60 días *I. diffusa* no ha desarrollado el total de fitómeros del eje principal. Además, es importante destacar que a los 60 días *I. diffusa* no desarrolló ningún tipo de

estructuras reproductivas, mientras que *G. perennis* había desarrollado, además de la UIF correspondiente al EP, la casi totalidad de UIF presentes en las ramificaciones de 1^{er} orden y presentaba un elevado porcentaje de UIF en ramas de 2^{do} orden, lo que muestra que el desarrollo de las ramificaciones es mucho más precoz en *G. perennis*. Para *I. diffusa* el desarrollo de UIF se produce recién en el periodo comprendido entre los 60-90 días de crecimiento, mostrando un notable retraso en el desarrollo reproductivo respecto a *G. perennis*. Un rápido desarrollo reproductivo tiene un rol preponderante para el éxito ecológico de una especie debido a que está altamente correlacionado con su aptitud competitiva (Baker, 1974; Farris & Lechowicz 1990).

Las diferencias en la forma de las plantas teniendo en cuenta la distribución de los destinos meristemáticos pueden utilizarse para representar la capacidad de adquisición de recursos (Tremmel & Bazzaz, 1995). Los patrones de distribución de meristemas representan la estrategia de las plantas para maximizar su aptitud para la explotación de recursos del ambiente considerado, siendo estos patrones un importante mecanismo para determinar el éxito competitivo. Las relaciones entre los diferentes destinos meristemáticos indican que *G. perennis* presenta un esfuerzo reproductivo (ER) significativamente mayor que *I. diffusa*. Un mayor ER indica que una gran proporción de meristemas son destinados a la producción de estructuras reproductivas (Bonser & Aarssen, 2003). *Gomphrena perennis* sólo se multiplica a través de semillas, lo que se corresponde con el elevado valor de ER ya que su dinámica poblacional depende exclusivamente de la producción de semillas (Pedersen, 1987). En cambio, *I. diffusa* puede reproducirse sexualmente a través de la producción de semillas pero además puede multiplicarse vegetativamente a través de estolones o rizomas (Pedersen, 1987). Debido a esto, es lógico encontrar para esta especie un menor ER, ya que no tendría la prioridad de destinar gran parte de sus recursos a producir estructuras reproductivas

debido a que no es ésta su única forma de reproducción. Respecto a la dominancia apical (DA), un mayor valor indicaría que una mayor proporción de meristemas quedan inhibidos sin desarrollar ninguna estructura (Bonser & Aarssen, 2003). *I. diffusa* presenta un mayor índice de DA, lo que se corresponde con los resultados obtenidos de distribución relativa de longitud de ejes. Un mayor índice de DA indicaría un menor aprovechamiento del espacio ya que sus ramas de 1^{er} orden aunque tengan mayor longitud, debido al efecto de dominancia apical tienen notablemente suprimido el desarrollo de sus ramificación de ejes de 2^{do} orden, lo que está demostrado tanto por el bajo número de fitómeros como por la escasa longitud encontrada sobre estos ejes y también por su baja área foliar respecto a este mismo orden de ramificación en *G. perennis*. Arntz *et al.* (1998) han reportado para *Amaranthus hybridus* que el desarrollo de mayor número de ramas era indicativo de aptitud competitiva ya que incrementaba el potencial de un individuo para producir estructuras reproductivas. El hecho de que *G. perennis* posea menor DA respecto a *I. diffusa*, significa mayor desarrollo de sus ramificaciones, dando como resultado una mayor producción de UIF. Además, el esfuerzo vegetativo (EV) significativamente mayor de *I. diffusa*, indica una mayor proporción de ejes desarrollados que quedan en estado vegetativo respecto a *G. perennis*. Este resultado se corresponde con el modelo de crecimiento de *I. diffusa* determinado en el Capítulo I. Esta especie puede tener crecimiento estolonífero hacia la fase final de desarrollo debido a que tiene la capacidad de desarrollar raíces adventicias en los nudos proximales y medios del EP y las ramas de primer orden.

Todos los resultados de este estudio fueron obtenidos realizando los experimentos en condiciones no limitantes, lo que permite a las especies expresar todo su potencial de desarrollo. Sin embargo, poblaciones densas de individuos de algunas especies impiden el desarrollo temprano de jerarquías competitivas (Puntieri & Pyšek,

1998), lo que tendría implicancias importantes en el caso de malezas en campos cultivados ya que la densidad de poblaciones de malezas ha sido positivamente correlacionada con pérdida de rendimiento de los cultivos (Cousens & Mortimer, 1995). Sería importante en el futuro conducir investigaciones, tanto para *G. perennis* como *I. diffusa*, bajo condiciones de competencia para determinar cómo los parámetros del desarrollo de un individuo determinados en este estudio son afectados por la presencia de plantas vecinas.

CONCLUSIÓN

El enfoque dinámico del análisis arquitectural ha permitido cuantificar en forma precisa los estados de desarrollo tanto del eje principal como de aquellos relacionados al proceso de ramificación en ambas especies. Aunque *I. diffusa* posee mayor área foliar y mayor altura que *G. perennis*, esta última posee mayor longitud total de ejes (LGT) y mayor número de fitómeros (FTT), razón por la cual podría considerarse que *G. perennis* posee la capacidad de explotar mejor el espacio ocupado, ya que sus individuos forman una canopia más densa. Además, *G. perennis* presenta inicialmente una tasa de crecimiento mayor para todas las variables estudiadas que le permite a los 60 días alcanzar prácticamente la totalidad del potencial de su desarrollo.

El análisis arquitectural cuantitativo desarrollado en este capítulo puso de manifiesto la importante relación que tiene el destino de los meristemas en el crecimiento y desarrollo de una planta, debido a que los destinos meristemáticos juegan un rol importante en la arquitectura final de cada especie. *Gomphrena perennis* posee una mayor proporción de meristemas destinados a producir estructuras reproductivas.

Aunque los individuos de *I. diffusa* tienden a ser de mayor altura, sus mayores dominancia apical (DA) y esfuerzo vegetativo (EV) determina un menor desarrollo del sistema de ramificaciones.

Es posible indicar que *G. perennis* sería una planta mas competitiva que *I. diffusa*, al menos en las condiciones en que se desarrollaron los experimentos y teniendo en cuenta individuos que provienen de semilla de los campos que fueron recolectados. Debido a que *I. diffusa* tiene la capacidad de multiplicarse vegetativamente a través de estolones, será importante determinar los parámetros de desarrollo de los estolones para poder especificar qué influencia pueden tener los mismos en la habilidad competitiva de la especie.

Capítulo 3

Factores que afectan la germinación y emergencia de semillas de

G. perennis e *I. diffusa*

Resumen

Experimentos en cámaras de crecimiento fueron conducidos para determinar factores que afectan la germinación y emergencia de *G. perennis* e *I. diffusa*. Se examinó el efecto de temperatura, luz, frío-húmedo, estrés osmótico, almacenamiento en seco y profundidad de siembra. Las semillas de ambas especies presentan elevada viabilidad (90%), la cual no es afectada luego de 2 años de almacenamiento. Al momento de dispersión, las semillas de *I. diffusa* pueden germinar en elevados porcentajes en condiciones adecuadas de temperatura y humedad por lo que no presentan dormancia, mientras que las semillas de *G. perennis* requieren luz para poder germinar en elevado porcentaje. La temperatura óptima para germinar se encuentra entre 15-20°C en ambas especies. Sin embargo, existe un requerimiento de alternancia de temperatura para producir un elevado porcentaje en *I. diffusa* pero no para *G. perennis*. Por otra parte, en *G. perennis* no hay un efecto significativo de pérdida de viabilidad de semillas luego de 16 semanas de frío-húmedo. En *I. diffusa* existe una disminución significativa en la germinación para el tratamiento de 12 y 16 semanas de frío-húmedo. Bajos potenciales osmóticos inhiben la germinación de las semillas de ambas especies, aunque es algo mayor la sensibilidad al estrés osmótico en *G. perennis* respecto a *I. diffusa*. La emergencia de plántulas fue nula a profundidades de siembra de 5 cm en ambas especies. Tanto las semillas de *G. perennis* como las de *I. diffusa* están adaptadas para germinar luego de ser dispersadas bajo condiciones ambientales comúnmente encontradas en los campos cultivados de la región, lo cual puede explicar al menos parcialmente su éxito como malezas.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de siembra directa han sido ampliamente adoptados por los productores agropecuarios en Argentina para reducir la erosión, mejorar las propiedades físicas y químicas y conservar la humedad del suelo, además de disminuir los costos de combustibles (Reddy, 2001; Kudsk & Streibig, 2003; Vitta *et al.*, 2004a; Rosenstein *et al.*, 2007; Duke & Powles, 2008). Sin embargo, además de los beneficios al suelo, agronómicos y económicos, el cambio en las prácticas de labranza puede también tener

influencia sobre la bioecología de malezas, en particular sobre los patrones de emergencia de plántulas. Investigaciones en diferentes zonas agrícolas del mundo han demostrado que la respuesta de emergencia de plántulas de malezas respecto al sistema de labranza es específica para cada especie (Buhler & Daniel, 1988; Buhler & Oplinger, 1990; Buhler *et al.*, 1996). Existen estudios que demuestran que el cambio de flora de malezas está ocurriendo en respuesta a los programas de manejo de las mismas en los cultivos resistentes a glifosato, y que este cambio está incrementando los costos de producción principalmente por la adición de otros herbicidas en combinación con el glifosato (Culpepper, 2006). Aunque en Argentina se han señalado cambios en la composición de la flora de malezas en cultivos de soja y su respuesta al herbicida glifosato (Tuesca *et al.*, 2001; Tuesca & Puricelli, 2007; Mas *et al.*, 2010), no hay datos publicados hasta este momento sobre la biología de semillas de la mayoría de estas especies.

Tanto *G. perennis* como *I. diffusa* están catalogadas como malezas tolerantes a glifosato (Nisensohn *et al.*, 2007; Puricelli & Faccini, 2009). Sin embargo, la tolerancia a glifosato no es la única razón para explicar aumentos de densidad poblacional de una maleza en un campo cultivado con aplicaciones intensivas de glifosato. Otras razones están relacionadas a que algunas especies presentan diferentes cohortes de germinación a lo largo del año, germinando luego de la última aplicación de glifosato, escapando de esta manera al control ejercido por el herbicida (Payne & Oliver, 2000; Scursoni *et al.*, 2006; 2007). La presencia de plántulas de *G. perennis* en diferentes momentos del año en campos cultivados con soja resistente a glifosato en sistemas de siembra directa (Acosta, J. observación personal) podría indicar que esta especie posee un amplio período de emergencia durante el año. Respecto a *I. diffusa*, aunque no se observó



Lámina 3.1 - Plántulas de *G. perennis* encontradas en diferentes épocas del año en campos cultivados con soja resistente a glifosato de la región centro de Santa Fe.

empíricamente un amplio periodo de emergencia, existen estudios que indican que sus semillas tienen la capacidad de formar un banco de semillas persistente a largo plazo (Ferri *et al.*, 2009).

La preocupación ambiental y la creciente presión pública para métodos más sostenibles de producción agrícola han conducido a un creciente interés en las estrategias integradas de control de malezas (Bastiaans *et al.*, 2008; Chauhan & Johnson, 2009a). El desarrollo de sistemas eficaces de manejo integrado de malezas, sin embargo, depende de una comprensión profunda de la biología de sus semillas. Para mejorar sistemas de manejos orientados a una determinada especie de maleza que se ha vuelto problemática, es crítico tener buena información sobre la germinación de sus semillas, persistencia y emergencia de plántulas (Mennan & Ngouajio, 2006).

La emergencia es considerada como una de las etapas de mayor importancia en la vida de una maleza porque el momento en que se produce determinará la subsecuente supervivencia de plántulas (Forcella *et al.*, 2000). La dormancia, por otra parte, es el principal proceso que influye tanto la germinación como la emergencia de plántulas (Baskin & Baskin, 1998; Forcella *et al.*, 2000) y por lo tanto es crucial para la supervivencia de la población. Además, la germinación y la emergencia son influenciadas por factores extrínsecos (ambiente) e intrínsecos (genotipo, edad de las semillas, etc). Muchas variables ambientales como temperatura, luz y humedad, entre otras, regulan el momento y probabilidad de germinación de semillas (Baskin & Baskin, 1998; Chen *et al.*, 2009; Nakamura & Hossain, 2009).

No existen hasta el momento investigaciones que hayan sido reportadas sobre factores que influyen sobre la germinación y emergencia de semillas de *G. perennis* e *I. diffusa*. El objetivo de este trabajo es determinar los principales factores que afectan la germinación y emergencia de sus semillas, incluyendo los efectos de: a) la temperatura,

tanto a un régimen de temperatura constante como en alternancia de temperatura; b) la luz; c) el potencial osmótico en la germinación de semillas; d) el frío/húmedo; e) el almacenamiento en seco; f) la profundidad de siembra en la emergencia; y g) el estatus de dormición (dormancia) de semillas a madurez.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las semillas de *G. perennis* e *I. diffusa* utilizadas se recolectaron durante el mes de mayo de 2009 de poblaciones de campos cultivados con soja localizados en el departamento Las Colonias (Santa Fe, Argentina) (31°26'S, 60°56'O). Luego de su recolección, fueron separadas de sus frutos, limpiadas y almacenadas hasta el inicio de los experimentos en recipientes plásticos opacos, sellados, a temperatura de habitación constante (20°C ±2°C) y baja humedad relativa (≤15%). El peso de 1000 semillas fue de 314,86 ± 27,51 mg para *G. perennis* mientras que fue de 51,79 ± 4,51 mg para *I. diffusa*. Todos los experimentos fueron realizados entre 3 y 5 meses luego de la recolección, excepto el ensayo de almacenamiento en seco el cual comenzó inmediatamente después de la cosecha y terminó luego de 2 años de almacenamiento.

Las semillas fueron puestas a germinar sobre papel de filtro Qualy® embebido en 5 ml de agua destilada o solución test en cajas de Petri de 9 cm de diámetro. Para mantener un nivel de humedad adecuado en cada unidad experimental, durante cada experimento se adicionaron de 1 hasta 5 ml de agua destilada o solución test. Los estudios de germinación fueron conducidos en cámaras de crecimiento con condiciones de temperatura y luz controladas, con termoperíodo y fotoperíodo de 12 horas; la humedad relativa fue mantenida al 60 %. Las cajas fueron dispuestas en un formato

completamente aleatorizado dentro de cada cámara y fueron reordenadas diariamente. Lámparas fluorescentes produjeron un flujo de fotones fotosintéticos de $150 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-2}$. Las cajas diseñadas para los tratamientos del efecto de la luz fueron colocadas separadamente dentro de 2 capas de papel aluminio. Para los tratamientos de oscuridad continua la apertura de cajas se realizó en una habitación equipada con luz de seguridad verde. La germinación fue monitoreada periódicamente durante 21 días para todos los ensayos. Una semilla fue considerada como germinada cuando la longitud de la radícula fue de 1 mm o más. La viabilidad de todas las semillas no germinadas fue testeada usando una solución de clorhidrato de tetrazolio al 0,4% (ISTA, 1985).

Efecto de la temperatura. Estos ensayos consistieron en el uso de a) temperatura constante y b) alternancia de temperatura.

- a) Temperatura constante: para generar el gradiente de germinación se utilizó una plancha térmica construida en aluminio y modificada de acuerdo a lo descrito por Chatterton y Kadish (1969). La regulación de la temperatura es automática con un rango de 5°C a $32,5^{\circ}\text{C}$. Se colocaron 100 semillas en cada una de las 12 temperaturas utilizadas ($5,0$; $7,5$; $10,0$; $12,5$; $15,0$; $17,5$; $20,0$; $22,5$; $25,0$; $27,5$; $30,0$; $32,5^{\circ}\text{C}$). Debido al espacio disponible en la plancha térmica, se realizaron 2 repeticiones para cada temperatura analizada.
- b) Alternancia de temperatura: seis cajas de Petri conteniendo 50 semillas cada una fueron ubicadas en cámaras de crecimiento que tenían 4 tratamientos de alternancia de regímenes de temperatura $15^{\circ}\text{C}/5^{\circ}\text{C}$, $20^{\circ}\text{C}/10^{\circ}\text{C}$, $25^{\circ}\text{C}/15^{\circ}\text{C}$ o $30^{\circ}\text{C}/20^{\circ}\text{C}$, con un termoperíodo de 12 horas.

Efecto del tiempo de exposición a la luz. Seis cajas de Petri por tratamiento conteniendo 50 semillas cada una fueron colocadas en cámara de crecimiento con un termoperíodo de 12 horas de 25°C/15°C, bajo 4 condiciones de regímenes de luz. Los tratamientos de luz fueron de 0 min (total oscuridad), 1 min, 10 min, 720 min (12 horas), realizados durante el intervalo con temperatura de 25°C. Luego del respectivo tiempo de exposición a la luz, las cajas fueron cubiertas con papel aluminio e inspeccionadas cada 5 días bajo luz de seguridad verde como fue descrito previamente.

Efecto del estrés osmótico. Seis repeticiones de 50 semillas cada una fueron asignadas a cada solución de potencial osmótico y ubicadas en cámara de crecimiento en alternancia de luz/oscuridad a 25°C/15 °C con fotoperíodo y termoperíodo de 12 horas. Las soluciones de potencial osmótico utilizadas fueron 0 (testigo); -0,3; -0,4; -0,6; -0,9 y -1,3 MPa, las que se prepararon por disolución de 0, 154, 191, 230, 297 y 350 gr de polietilenglicol (PEG 6000) en un litro de agua destilada. La ecuación de Michel (1983) fue usada para calcular las cantidades requeridas de PEG 6000.

Efecto del frío-húmedo. Las semillas fueron ubicadas en cajas de Petri, humedecidas con 5 ml de agua destilada y expuestas a diferentes tratamientos de frío en oscuridad en una heladera a 4 °C. Seis repeticiones de 50 semillas se utilizaron para cada uno de los 5 tratamientos: sin frío, 4, 8, 12, y 16 semanas de frío-húmedo. A continuación de cada respectivo período de almacenamiento en frío-húmedo, las semillas fueron incubadas en cámara de crecimiento en alternancia de luz/oscuridad a 25°C/15 °C con fotoperíodo y termoperíodo de 12 horas.

Efecto del almacenamiento en seco. Se colocaron 50 semillas en cada una de 60 bolsas de papel utilizadas para este ensayo. Se almacenaron en condiciones de laboratorio a 20°C (\pm 2°C) y se utilizaron 12 bolsas para cada tratamiento de 0, 90, 180, 360 y 720 días de almacenamiento en seco. A continuación de cada respectivo período de almacenamiento en laboratorio, las semillas de cada bolsa fueron ubicadas en sendas cajas de petri humedecidas y puestas a germinar en cámara de crecimiento a alternancia de luz/oscuridad a 25°C/15°C. Para cada período de almacenamiento, para analizar el factor de oscuridad continua, 6 cajas de petri fueron cubiertas con doble capa de papel aluminio y para el factor luz 6 repeticiones fueron expuestas a alternancia de luz/oscuridad.

Efecto de profundidad de siembra. Cincuenta semillas por maceta fueron sembradas en cada una de 36 macetas plásticas de 15 cm de diámetro y 17 cm de alto. Se utilizaron 6 tratamientos de profundidad de siembra (0; 0,5; 1; 2; 5 y 10 cm), cada tratamiento con 6 repeticiones. Las macetas fueron rellenas con suelo franco-limoso (Argiudol Típico, serie Esperanza) perteneciente a campos de cultivo donde están ubicadas las poblaciones de *G. perennis* e *I. diffusa*. El suelo fue tamizado a través de una malla de 2 mm. Fracciones de suelo tamizado fueron subsecuentemente puestas en macetas plásticas con una prensa hidráulica, compactando el suelo gradualmente en capas a una presión de compactación de 2 MPa para lograr una densidad aparente homogénea en toda la maceta de 1,1 gr.cm³. Todas las macetas fueron ubicadas en un diseño completamente aleatorizado en sala de crecimiento con alternancia de luz/oscuridad a 25°C/15 °C. Diariamente las macetas fueron reordenadas y regadas hasta alcanzar capacidad de campo. La emergencia de plántulas fue registrada diariamente durante 28 días.

Análisis estadísticos

Los experimentos de laboratorio fueron conducidos en un diseño completamente aleatorizado, excepto el experimento de almacenamiento en seco donde fue utilizado un diseño en parcelas divididas, siendo el tiempo de almacenamiento el factor principal y la alternancia de luz/oscuridad u oscuridad completa un subfactor. Los tratamientos de cada experimento fueron replicados tres veces, cada experimento fue conducido dos veces y los datos fueron combinados para el análisis. Cada repetición de cada tratamiento fue ubicada aleatoriamente dentro de la cámara de crecimiento y fueron reordenadas periódicamente. En el experimento de alternancia de temperaturas, cada caja de Petri fue ubicada aleatoriamente en diferentes cámaras de crecimiento con su respectivo régimen de temperaturas. Los datos fueron inspeccionados para confirmar normalidad y homogeneidad de varianzas. El procedimiento de análisis de la variación (ANAVA) y análisis de regresión correspondiente fueron realizados sobre el porcentaje de germinación no transformado.

En los experimentos de alternancia de temperaturas, exposición a la luz, efecto del frío-húmedo, y almacenamiento en seco, los porcentajes de germinación fueron analizados utilizando un ANAVA mediante el programa estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2008). Las diferencias entre medias de tratamientos fueron determinadas usando el test LSD Fisher con $P = 0,01$.

En los experimentos de estrés osmótico y profundidad de siembra, los datos fueron analizados a través de análisis de regresión no lineal utilizando el programa estadístico R (Ritz & Striebig, 2008). Para *G. perennis* el porcentaje de germinación obtenido a diferentes potenciales osmóticos se ajustó a una curva con decaimiento exponencial (Chauhan & Johnson, 2009a) de la siguiente forma:

$$G = G_{max} \times \exp(-G_{rate} \times x) \quad [3.1]$$

donde G representa la germinación acumulada (%) al potencial osmótico x , G_{max} es la máxima germinación y G_{rate} determina el decaimiento. El porcentaje de emergencia en *G. perennis* obtenido a diferentes profundidades de siembra fue ajustado a un modelo logístico de tres parámetros (Eslami, 2011) de la forma:

$$E = E_{max} / [1 + (x / x_{50})^{E_{rate}}] \quad [3.2]$$

donde E es el total de emergencia (%) a la profundidad de siembra x , E_{max} es la emergencia de plántula máxima (%), x_{50} es la profundidad de siembra para alcanzar el 50% de la máxima emergencia y E_{rate} indica la pendiente.

Para *I. diffusa*, el modelo de Weibull tipo 1 de tres parámetros (Ritz & Striebig, 2008) fue ajustado al porcentaje de germinación o porcentaje de emergencia obtenido a diferentes potenciales osmóticos o profundidades de siembra respectivamente, según la siguiente ecuación [3.3]:

$$Y = d \exp(-\exp[b(\log x - e)]) \quad [3.3]$$

donde Y representa la germinación (%) al potencial osmótico x o la emergencia (%) a la profundidad de siembra x , d es el máximo porcentaje de germinación o emergencia, y b es la pendiente relativa alrededor del punto de inflexión e .

En todos los casos de análisis de regresión no lineal, un F -test para falta de ajuste fue utilizado para verificar si la ecuación mostró un buen ajuste a los datos experimentales (Ritz & Striebig, 2008; Onofri *et al.*, 2010).

RESULTADOS

Efecto de la temperatura

a) Temperatura constante. La temperatura constante ejerce un efecto marcado sobre la germinación de *G. perennis* (Figura 3.1a). Al segundo día del experimento ya se observa un elevado porcentaje de germinación (> 60%) para las temperaturas de 20°C y 22,5°C. Al final del ensayo, en función de los porcentajes de germinación alcanzados se pueden diferenciar 3 tipos de respuestas: 1) **germinación inhibida** (rango de temperaturas 5°C-7,5°C), solo germinó el 1%; 2) **germinación elevada** (rango de temperaturas 10°C hasta 22,5°C), las semillas presentaron porcentajes de germinación mayor al 70%, registrándose los valores máximos (>90%) en las temperaturas de 12,5°C, 15°C y 20°C y 3) **germinación intermedia** (rango de temperaturas de 25°C hasta 32,5°C), los porcentajes de germinación descienden gradualmente desde 57% hasta 37% a medida que aumenta la temperatura.

El efecto que ejerce la temperatura constante sobre la germinación de *I. diffusa* se observa en la Figura 3.1b. En el día 2 del ensayo no hubo germinación para ninguna de las temperaturas analizadas. En el día 5 germinaron semillas en el rango de temperaturas mayores a 17,5°C, aunque solo superó el 50% la temperatura de 20°C, que resultó en la germinación del 77% de las semillas. En función de los porcentajes de germinación observados al final del ensayo (día 21), se pueden diferenciar 4 tipos de respuestas: 1) **germinación inhibida** (rango de temperaturas 5°C-7,5°C), sólo germinó el 3%; 2) **germinación elevada** (rango de temperaturas 15°C hasta 20°C), las semillas presentaron porcentajes de germinación mayores al 80%, registrándose el valor máximo

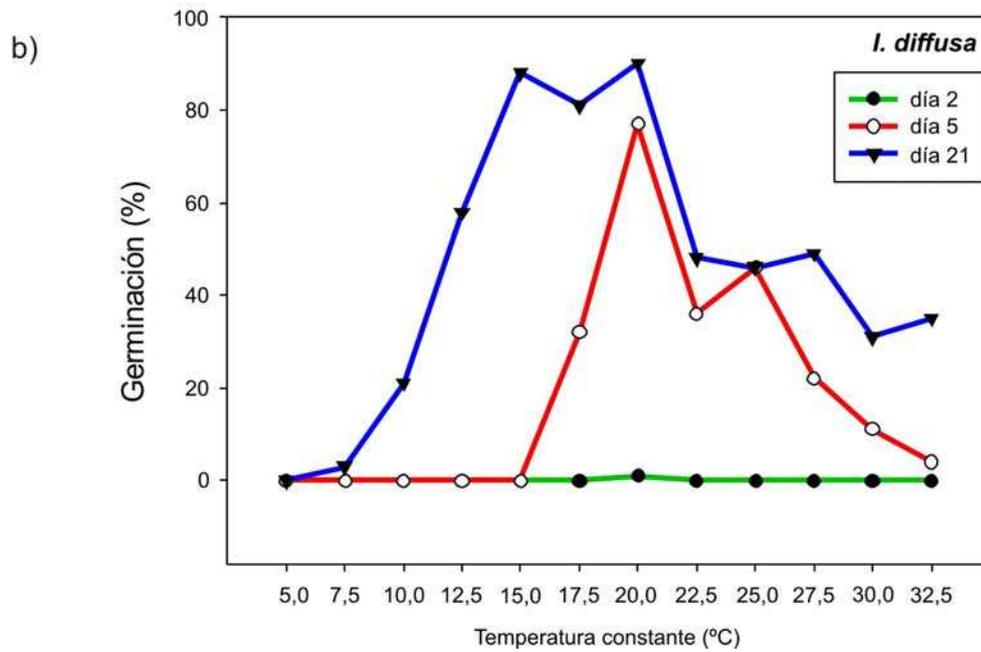
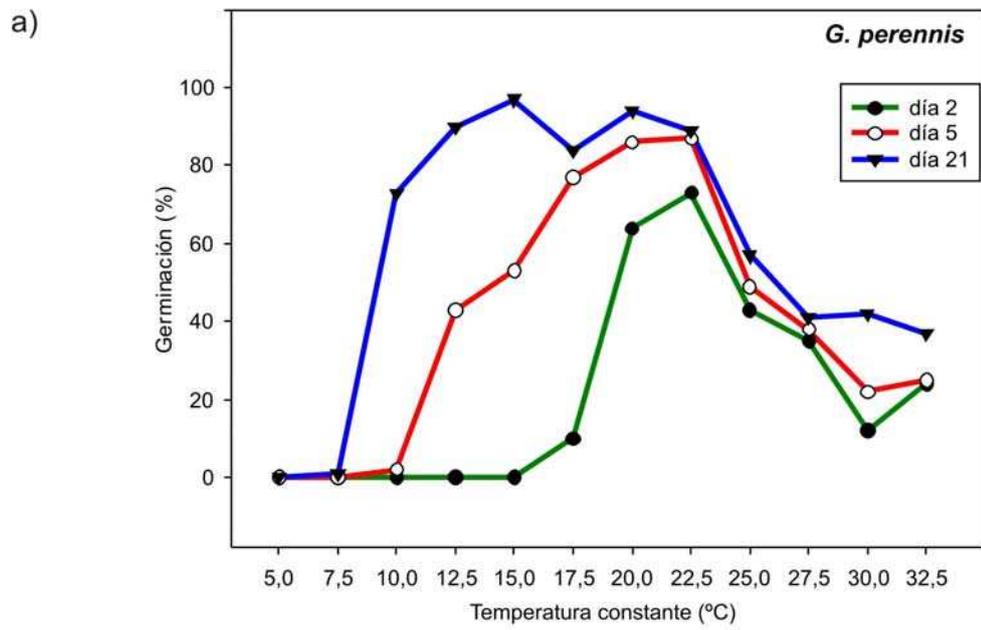


Figura 3.1. Efecto de la temperatura constante sobre el porcentaje de germinación de semillas de *G. perennis* (a) e *I. diffusa* (b) entre 2 y 21 días de incubación.

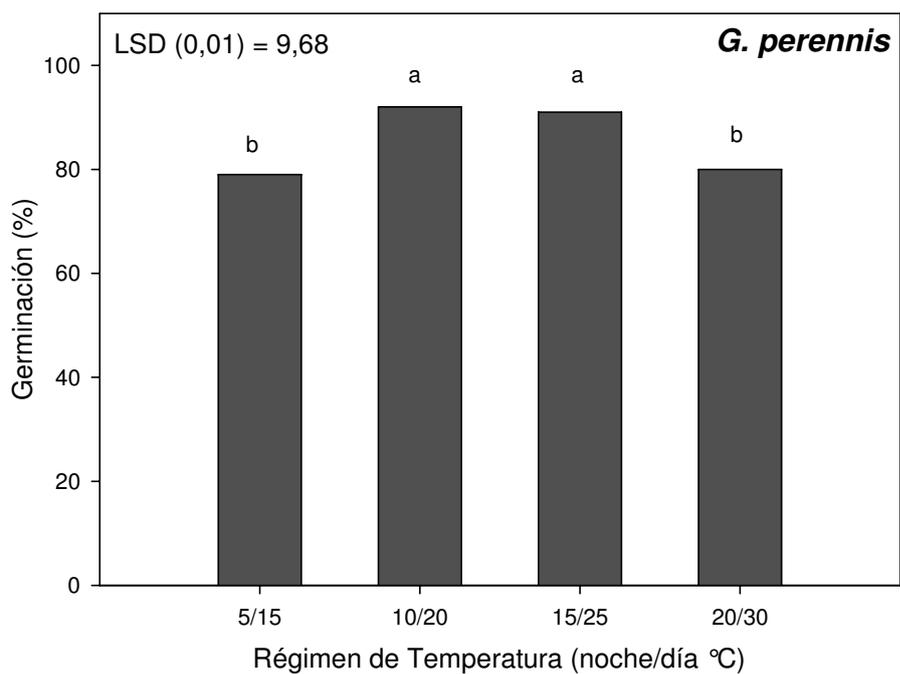
de (90%) en las temperatura de 20°C; 3) **germinación intermedia** (rango de temperaturas de 22,5°C hasta 32,5°C y para la temperatura de 12,5°C), los porcentajes de germinación se encuentran desde 30% hasta 60%; y 4) **germinación baja**, para la temperatura de 10°C germinó el 21% de las semillas.

b) Alternancia de temperatura. Para *G. perennis* los porcentajes de germinación difieren entre los regímenes de temperatura de incubación ($F = 7,09$; $P \leq 0,002$). El régimen de temperaturas más bajo (5°C-15°C; 79%) y el más alto (20°C-30°C, 80%) difieren significativamente de los 2 regímenes de temperaturas intermedias (10°C-20°C, 93% y 15°C-25°C, 92%) (Figura 3.2a). Para *I. diffusa* los porcentajes de germinación no difieren significativamente entre los regímenes de temperatura de incubación ($F = 1,16$; $P = 0,3497$). Los porcentajes de germinación fueron siempre mayores al 80% para todos los tratamientos: 5°C-15°C 82,7%, 10°C-20°C 81,7%, 15°C-25°C 87,7%, 20°C-30°C 89,7%. (Figura 3.2b).

Efecto del tiempo de exposición a la luz. En *G. perennis* las comparaciones entre los tratamientos de 720 min, 10 min y 1 min de luz no mostraron diferencias significativas en el porcentaje de germinación ($> 92\%$). Sólo en el tratamiento de total oscuridad (0 min de luz), el porcentaje de germinación fue del 20 %, mostrando diferencias significativas con los demás tratamientos de luz ($F = 21,42$; $P \leq 0,0001$; Figura 3.3a).

En *I. diffusa* las comparaciones entre los tratamientos no mostraron diferencias significativas en el porcentaje de germinación ($F = 1,78$; $P = 0,1827$; Figura 3.3b). Los porcentajes de germinación fueron elevados ($> 80\%$) en todos los tratamientos.

a)



b)

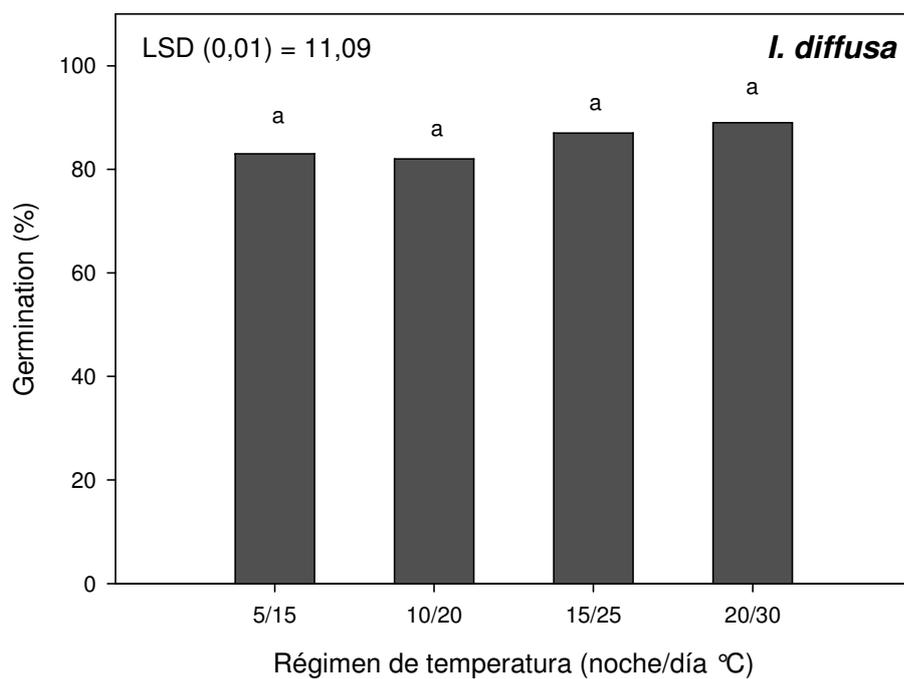
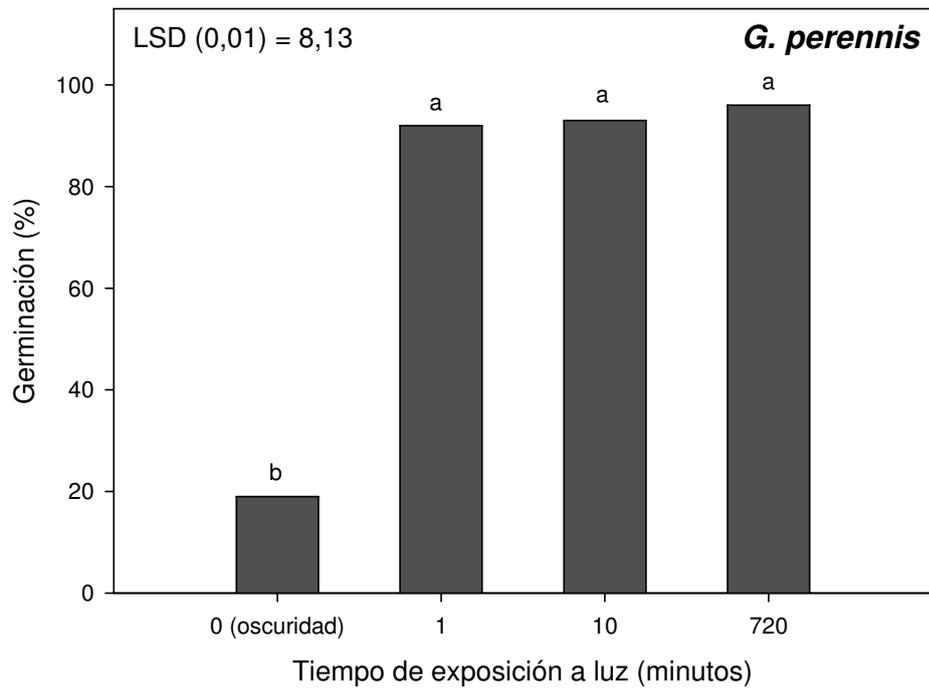


Figura 3.2. Porcentajes de semillas germinadas de *G. perennis* (a) e *I. diffusa* (b) luego de 21 días a diferentes regímenes de alternancia de temperatura bajo un fotoperíodo y termoperíodo de 12 hs. diarias. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a test LSD fisher.

a)



b)

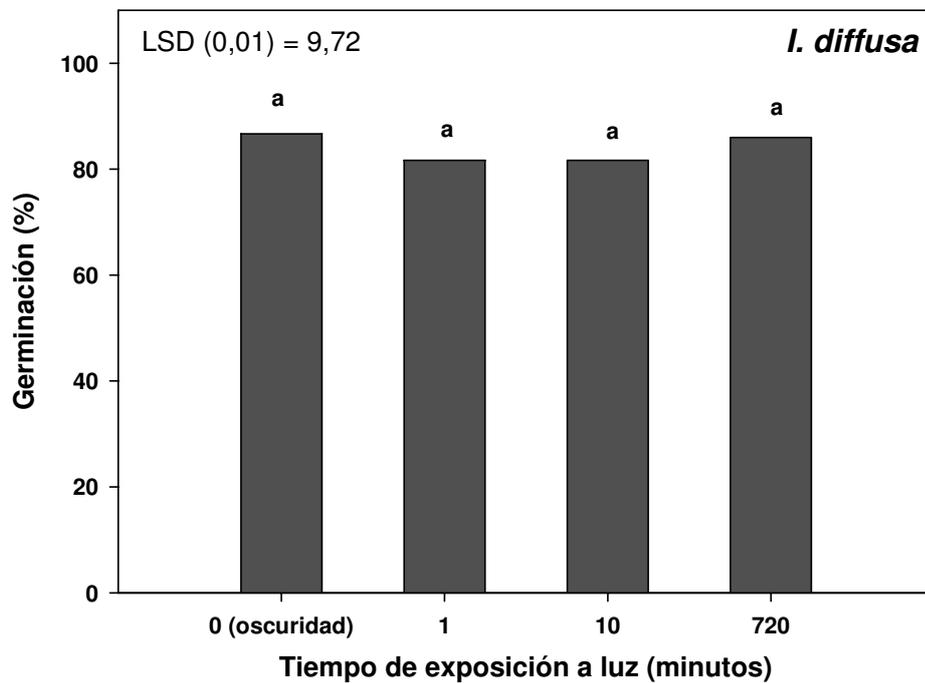


Figura 3.3. Efecto del tiempo de exposición a luz en el porcentaje de germinación de semillas de *G. perennis* (a) e *I. diffusa* (b) luego de 21 días bajo un termoperíodo de 12 hs. a 25/15°C. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a test LSD fisher.

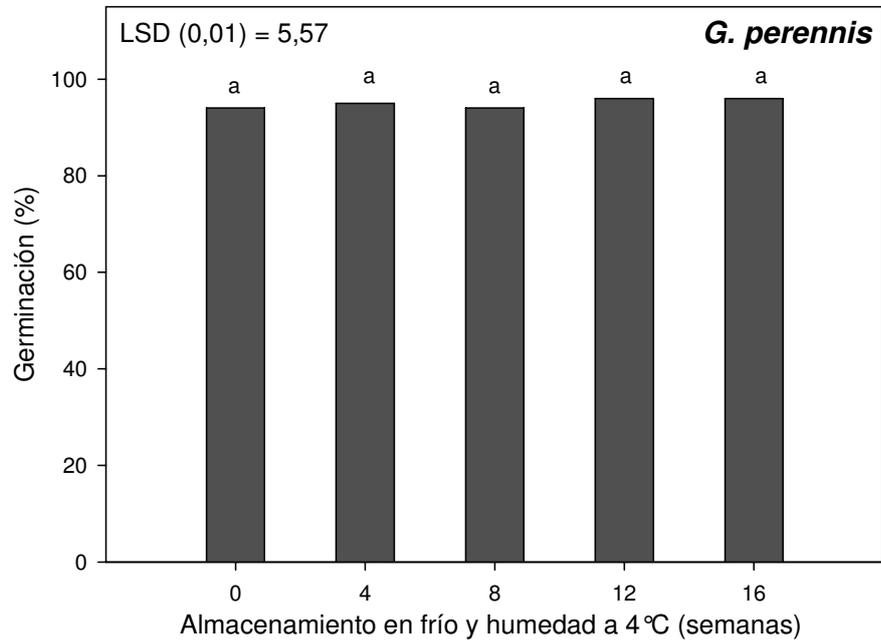
Efecto del frío-húmedo. En *G. perennis* la viabilidad de las semillas fue mayor al 92 % para todos los períodos de almacenamiento en frío-húmedo. Los porcentajes de germinación (> 94%) no difieren significativamente entre los tratamientos para los diferentes períodos de almacenamiento en frío-húmedo ($F = 1,05$; $P \geq 0,4$) (Fig. 3.4a).

En *I. diffusa* los porcentajes de germinación presentan diferencias significativas entre los tratamientos para los diferentes periodos de almacenamiento en frío-húmedo ($F = 10,84$; $P < 0,0001$) (Figura 3.4b). En los tratamientos de 0 (testigo), 4 y 8 semanas de frío-húmedo los porcentajes de germinación son mayores al 80%, y difieren significativamente de los tratamientos de 12 semanas (71%) y 16 semanas (72%), mostrando un efecto significativo de disminución del porcentaje de germinación por el efecto del almacenamiento de semillas en condiciones de frío-húmedo.

Efecto del estrés osmótico. Un modelo de regresión no lineal con decaimiento exponencial de 2 parámetros (ecuación [3.1]) es el modelo que mejor describe como es la respuesta de la germinación de las semillas de *G. perennis* cuando el estrés osmótico aumenta ($y = 94,33 * \exp(-0,14 * x)$; $P = 0,95$; Figura 3.5a). El porcentaje de germinación fue mayor en agua destilada a 0 MPa (94%). A -0,3 MPa el % de germinación descendió hasta el 11%, mientras que a -0,4 y -0,6 MPa el % de germinación fue de 1%. A -0,9 MPa la germinación fue completamente inhibida. Estos resultados indican una gran sensibilidad al estrés osmótico de las semillas de *G. perennis*.

Para *I. diffusa* la ecuación [3.3] (función Weibull tipo 1 de 3 parámetros) fue el modelo que mejor describió es el modelo que mejor describe como es la respuesta de la germinación cuando el estrés osmótico aumenta ($G\% = 87,67 \exp\{-\exp[5,87(\log x - 0,33)]\}$; $P = 0,97$; Figura 3.5b). El porcentaje de germinación fue mayor (87%) en

a)



b)

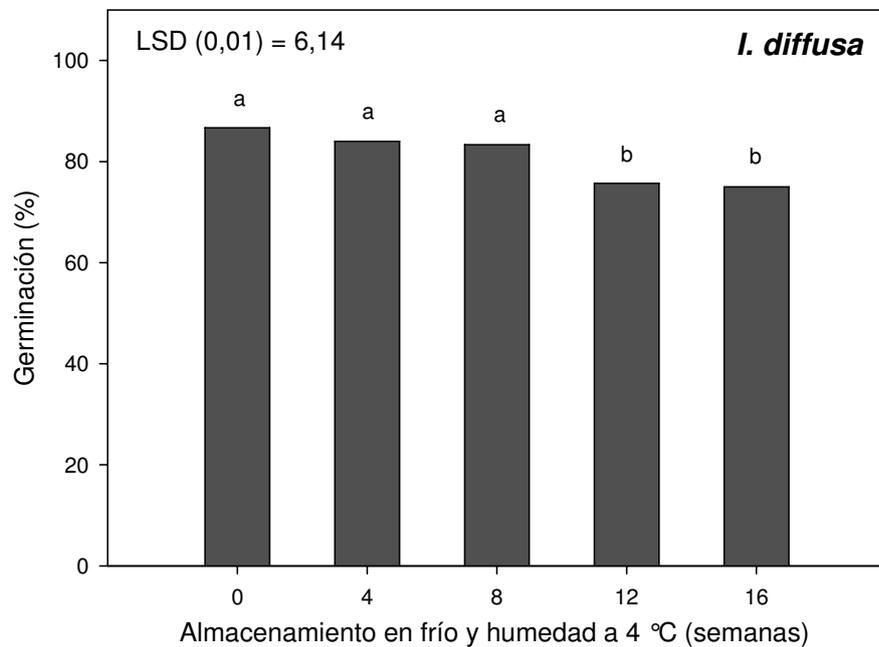


Figura 3.4. Efecto del factor frío y humedad durante diferentes tiempos de almacenamiento sobre el subsecuente porcentaje de germinación de *G. perennis* (a) e *I. diffusa* (b) bajo un fotoperíodo y termoperíodo de 12 hs. y 25/15°C. Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a test LSD de Fisher.

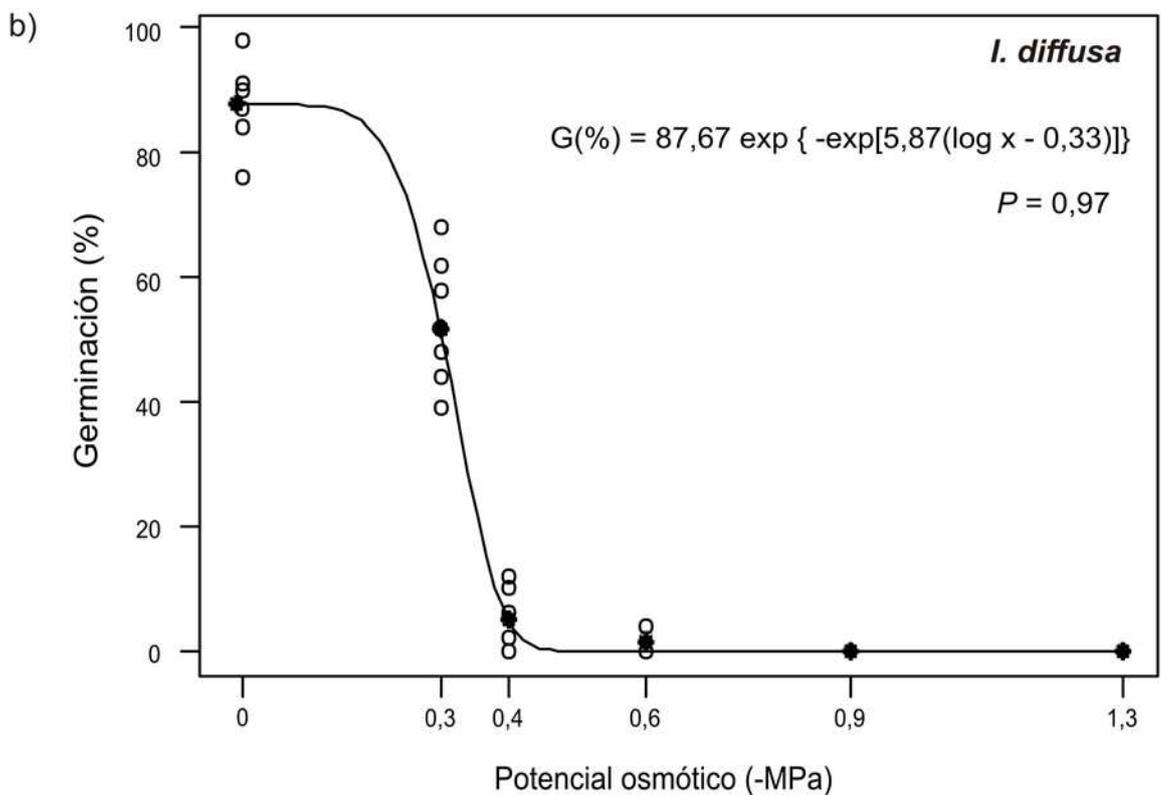
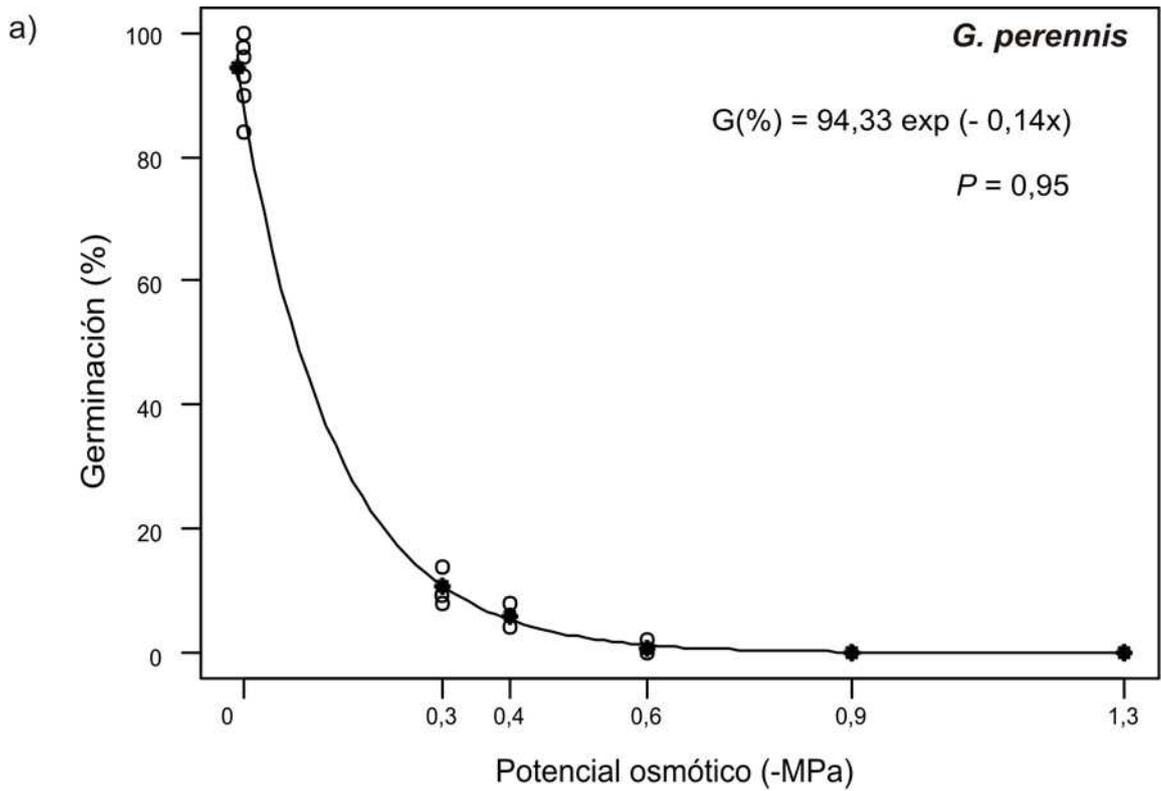


Figura 3.5 - Relación entre el potencial osmótico y el porcentaje de germinación de semillas de *G. perennis* (a, ecuación 3.1) e *I. diffusa* (b, ecuación 3.3) luego de 21 días. La línea representa el modelo de regresión no lineal ajustado a los datos. *P*: valor de probabilidad del test por falta de ajuste. Para cada potencial osmótico se indica el valor medio (●) y los valores observados (○).

agua destilada a 0 MPa. A -0,3 MPa el % de germinación descendió hasta el 51%, a -0,4 el % de germinación fue 5% y a -0,6 MPa el % de germinación fue del 1%. A -0,9 MPa la germinación fue completamente inhibida.

Efecto del almacenamiento en seco. En *G. perennis* la viabilidad de las semillas fue mayor al 92% para todos los períodos de almacenamiento en seco. Los porcentajes de germinación, sin embargo, difieren significativamente entre los períodos de almacenamiento ($F= 6,7065$; $P = 0,0008$) y entre los regimenes de luz ($F = 645,82$; $P < 0,0001$; Figura 3.6a). Existe también una interacción significativa entre el período de almacenamiento en seco y el régimen de luz ($F= 9,28$; $P < 0,0001$).

En *I. diffusa* no hay interacción significativa entre el período de almacenamiento en seco y el régimen de luz al que sean expuestas las semillas para germinar ($F= 0,39$; $P = 0,8119$). Los porcentajes de germinación no difieren significativamente entre los períodos de almacenamiento ($F= 1,28$; $P = 0,2913$) como tampoco existen diferencias significativas entre los tratamientos a diferentes regímenes de luz ($F = 0,36$; $P = 0,5537$; Figura 3.6b).

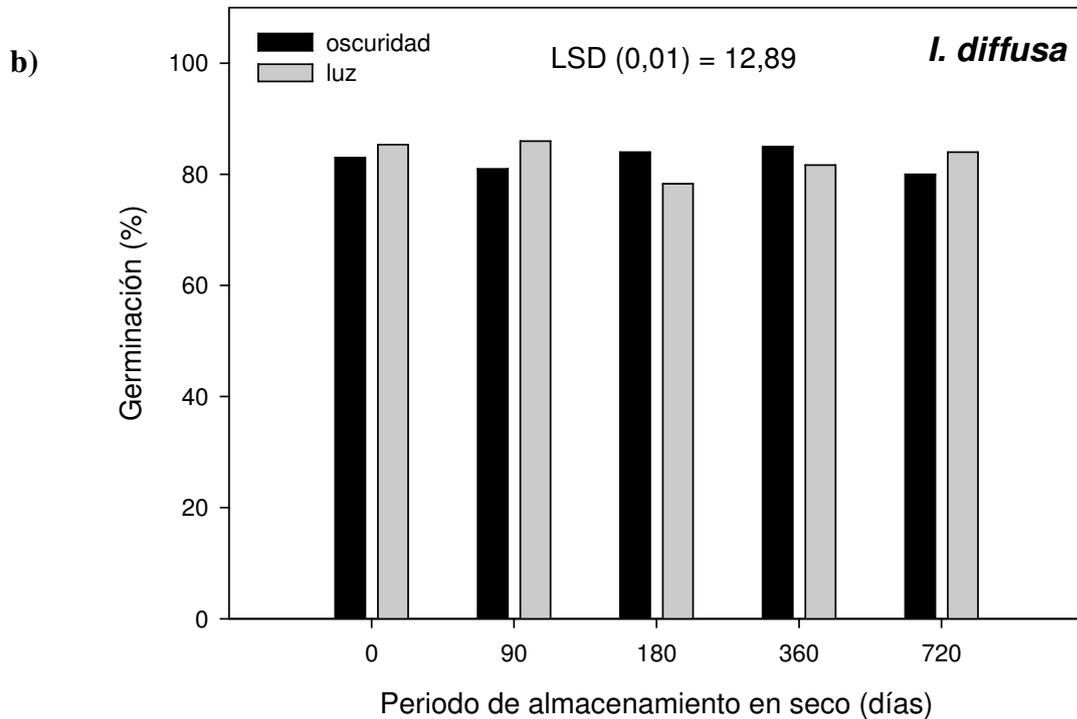
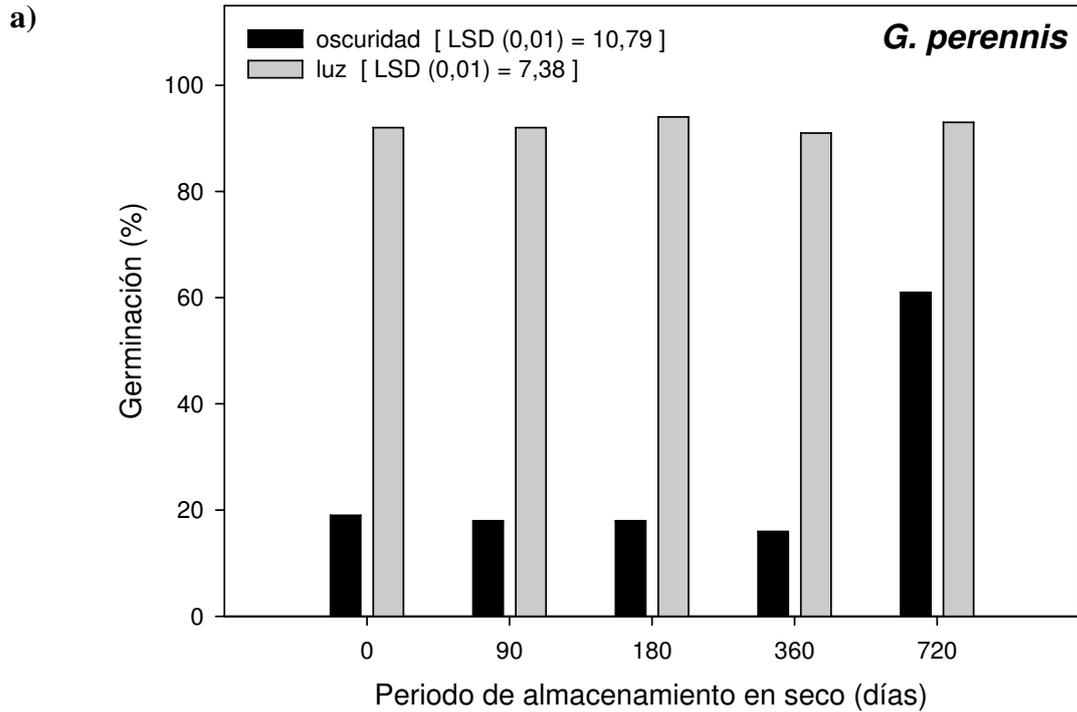


Figura 3.6. Efecto del período de almacenamiento en seco en el porcentaje de germinación de semillas de *G. perennis* (a) e *I. diffusa* (b). Las semillas luego del respectivo periodo de almacenamiento fueron puestas a germinar bajo total oscuridad y bajo un fotoperiodo de 12 hs., a 25/15°C durante 21 días. LSD = diferencia mínima significativa entre tratamientos a 0,01 de probabilidad de error.

Efecto de la profundidad de siembra. En *G. perennis* una regresión logística de 3 parámetros (ecuación [3.2]) fue el modelo que mejor describió cómo el porcentaje de emergencia descendió con el incremento de la profundidad de siembra ($E(\%) = 94,67/[1+(x-2,05)^{13,45}]$); $P = 0,77$; Fig 3.7a). Las plántulas emergieron en la superficie desde una profundidad de 0 cm, 0,5 cm y 1 cm en más del 90%. A 2 cm de profundidad el % de emergencia descendió hasta el 56%, siendo totalmente inhibida la emergencia a 5 y 10 cm de profundidad de siembra (0%).

En *I. diffusa* la ecuación 3.3 (función Weibull tipo 1 de 3 parámetros) fue el modelo que mejor describió cómo el porcentaje de emergencia descendió con el incremento de la profundidad de siembra ($E(\%) = 78,71 \exp\{-\exp[2,68(\log x - 1,15)]\}$); $P = 0,94$; Fig 3.7b). Tanto para el tratamiento testigo (0 cm) como el de 0,5 cm de profundidad de siembra se obtuvieron elevados % de emergencia (>75%). Para el tratamiento de 1 cm de profundidad el porcentaje de emergencia descendió hasta el 40%. A 2 cm de profundidad el % de emergencia fue prácticamente inhibido (1%), siendo totalmente inhibida la emergencia a 5 y 10 cm de profundidad de siembra (0%).

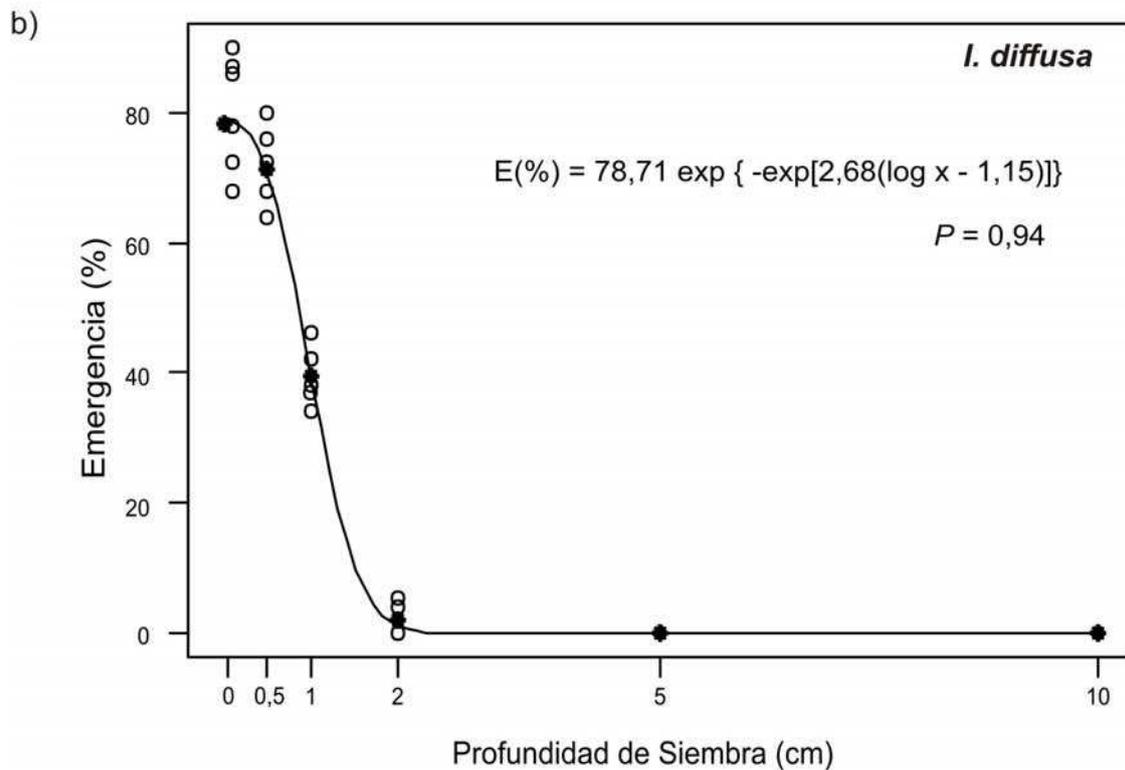
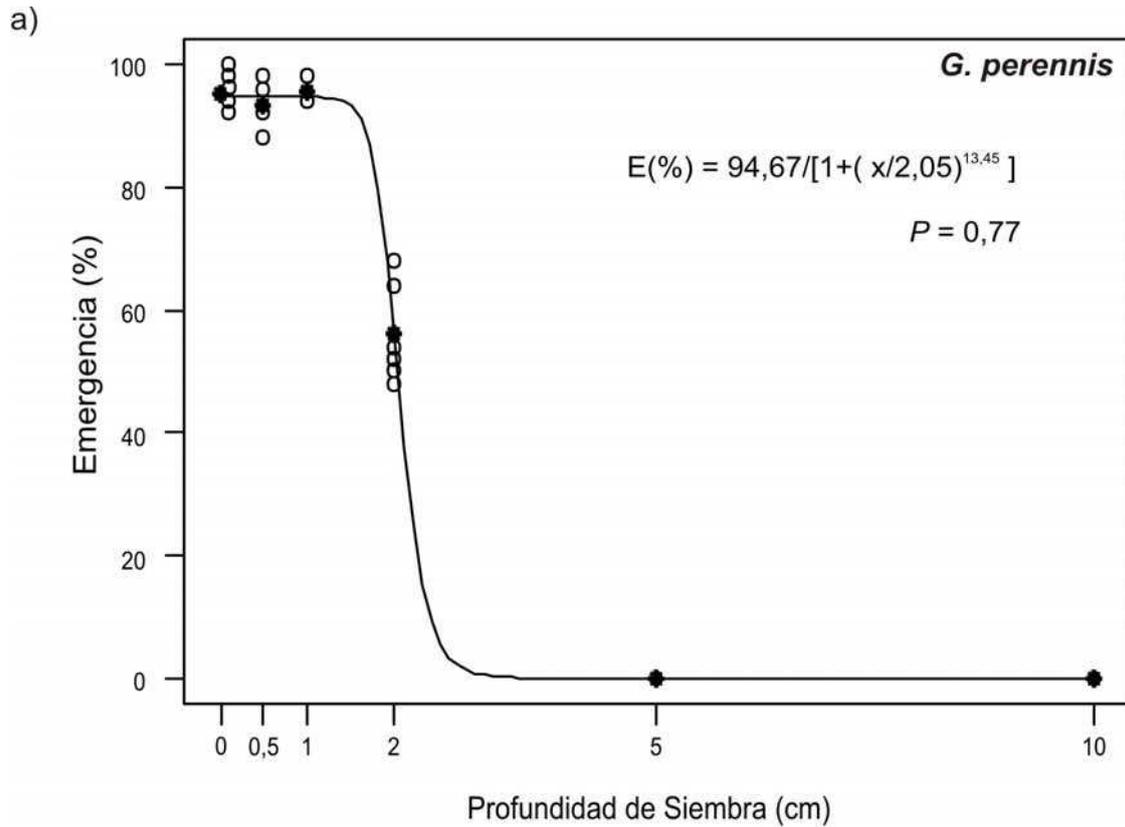


Figura 3.7 - Relación entre la profundidad de siembra y el porcentaje de emergencia de plántulas de *G. perennis* (a, ecuación 3.2) e *I. diffusa* (b, ecuación 3.3) luego de 21 días. La línea representa el modelo de regresión no lineal ajustado a los datos. *P*: valor de probabilidad del test por falta de ajuste. Para cada profundidad se indica el valor medio (●) y los valores observados (○).

DISCUSIÓN

Respecto a la respuesta a temperaturas constantes, es posible indicar que tanto las semillas de *G. perennis* como las de *I. diffusa* presentan un amplio rango de temperaturas a las cuales pueden germinar. En semillas de otras malezas de la familia Amarantáceas también se han encontrado rangos amplios de temperaturas de germinación (Costea & Tardif, 2003). Sin embargo, *G. perennis* presenta elevados porcentajes de germinación en un rango más amplio (10°C a 22,5°C) respecto a *I. diffusa* (15°C a 20°C). En *Amaranthus retroflexus* L. se encontró también un rango de temperaturas amplio para germinar con elevados porcentajes similares a los de *G. perennis*, pero desplazados hacia mayores temperaturas (25-40°C) (Ghorbani *et al.*, 1999). En *Amaranthus viridis* L. las semillas germinaron en un rango amplio de temperaturas constantes (15-40°C), pero en esta especie nunca excedieron el 40% de germinación (Cristaudo *et al.*, 2007). Se considera que la temperatura óptima para germinar es aquella temperatura que permite alcanzar elevados porcentajes de germinación en el menor tiempo (Baskin & Baskin, 1998). Considerando los resultados obtenidos en los días 2 y 5 del ensayo se observa que para *G. perennis* la temperatura óptima corresponde al rango entre 17,5°C y 22,5°C ya que la germinación superó en estas temperaturas el 70% (Figura 1a), mientras que para *I. diffusa* el óptimo estaría más restringido a temperaturas próximas a 20°C (Figura 1b), ya que es la única temperatura a la que alcanzó un elevado porcentaje de germinación (>70%).

Tanto *G. perennis* como *I. diffusa* poseen semillas que al momento de ser dispersadas presentan elevada viabilidad, ya que los porcentajes de germinación a la temperatura óptima son elevados (>90% en *G. perennis* y >80% en *I. diffusa*). La elevada viabilidad es una característica que ha sido asociada a semillas que pueden

germinar sobre un rango de temperaturas amplio (Baskin & Baskin, 1998; Copeland & McDonald, 2001).

Bajo el tratamiento de alternancia de temperaturas, se observa que *I. diffusa* presenta elevados porcentajes de germinación en todos los tratamientos (>80%), mostrando claramente que la amplitud térmica favorece la germinación respecto a los tratamientos de temperatura constante. A diferencia de lo que sucede en *I. diffusa*, para *G. perennis* no se encontró un efecto favorable de alternancia de temperaturas para la germinación respecto a la respuesta a temperaturas constantes. De todas maneras, aunque hay efecto de tratamientos en *G. perennis*, los porcentajes de germinación alcanzados son elevados para todos los regímenes de alternancia. Los resultados obtenidos indicarían un requerimiento de alternancia de temperatura para germinar en *I. diffusa* pero no en *G. perennis*.

Como en *I. diffusa*, también en otras especies de malezas de la familia Amaranthaceae se ha encontrado que las semillas poseen un requerimiento de alternancia de temperaturas para alcanzar altos porcentajes de germinación, como *Amaranthus blitoides* S. Watson, *A. viridis* y *A. lividus* L. (Cristaudo *et al.*, 2007). El requerimiento de fluctuaciones diarias de temperatura para una óptima germinación permite que las semillas germinen en momentos y lugares favorables para el establecimiento de plántulas (Thompson *et al.*, 1977) y es un carácter prevaleciente en especies sin una historia de domesticación, como lo son las malezas (Copeland & McDonald, 2001). Si bien la necesidad de alternancia de temperaturas para germinar puede estar asociada con algún tipo de dormancia, también la alternancia de temperaturas puede favorecer la germinación de semillas sin dormancia (Copeland & McDonald, 2001). Hay una ventaja adaptativa del aumento del porcentaje de germinación por alternancia de temperaturas. A medida que aumenta la profundidad del

suelo va disminuyendo la amplitud de temperaturas diarias. Además, la vegetación (cubierta vegetal) protege la superficie del suelo contra las fluctuaciones diarias de temperatura, manteniendo en el perfil superficial del suelo temperaturas más constantes (Baskin & Baskin, 1998). De esta manera, la alternancia de temperaturas asegura que la mayoría de las semillas germinarán en o cerca de la superficie del suelo, y en ausencia o bajo escasa vegetación circundante.

Es importante destacar que los tratamientos de alternancia de temperaturas utilizados se corresponden con los regímenes de temperaturas máximas medias y mínimas medias encontrados para las diferentes estaciones del año en la región donde se desarrollan ambas malezas (SMN, 2000). Esto indicaría la posibilidad de que estas especies puedan germinar en diferentes épocas del año si tenemos en cuenta sólo el factor “Temperatura”. Sin embargo, debido al rango de temperaturas intermedias a las cuales las semillas de *G. perennis* e *I. diffusa* pueden germinar en elevados porcentajes, estas podrían germinar especialmente en otoño y primavera que es cuando suceden estos rangos de temperaturas. Esta podría ser una posible ventaja competitiva de ambas especies sobre otras malezas cuyos regímenes de temperaturas óptimas para germinación estén desplazados hacia rangos más altos. En *Amaranthus quitensis* H.B.K., especie que se comporta como maleza de campos cultivados en regiones similares a *G. perennis* e *I. diffusa*, Faccini & Vitta (2005) determinaron que el máximo porcentaje de germinación se encontraba a regímenes de temperatura más elevados (35/25°C). En el caso de *A. quitensis* sus semillas solo germinarán más cerca del verano (Faccini & Vitta, 2005), a diferencia de *G. perennis* e *I. diffusa*, cuyas semillas podrían germinar temprano en primavera o incluso en otoño, siendo ésta una ventaja para un temprano establecimiento de plántulas.

Respecto al efecto de la exposición a luz, en *G. perennis* los resultados muestran que una mínima exposición a la luz es suficiente para estimular la germinación, por lo cual sus semillas se pueden clasificar como fotoblásticas. En cambio, la germinación de las semillas de *I. diffusa* es independiente del factor luz, ya que se obtuvieron elevados porcentajes de germinación tanto en total oscuridad como expuestas a luz. El efecto de la exposición a la luz se ha encontrado en muchas especies de malezas cuyas semillas presentan requerimiento de luz para germinar (Batlla *et al.*, 2000; Faccini & Vitta, 2005; Chauhan & Johnson, 2009a). Batlla *et al.* (2000) determinaron que un tratamiento de 2 minutos de exposición a luz era suficiente para estimular la germinación en *Amaranthus quitensis*. Sin embargo, algunas especies no responden a cortas exposiciones de luz, sino que requieren largos tiempos de exposición a la luz, que estaría asociado a especies que responden a la longitud del día (Pons, 1986; 2000). La respuesta de semillas a la luz son muy comunes en especies que producen semillas pequeñas capaces de emerger luego de alguna forma de disturbio del medio en que se encuentran (Pons, 2000). Además, el requerimiento de luz para la germinación se ha asociado con cubiertas seminales translúcidas. Esto se corresponde con las cubiertas seminales de ambas especies. Las semillas de *I. diffusa*, que no responden al efecto de la luz, son totalmente opacas y de color negro. En *G. perennis* el fruto seco que contiene a la semilla es un utrículo con el pericarpio membranoso y la cubierta seminal tiene color amarronado pero translúcido (Pedersen, 1987).

El requerimiento de luz para germinar ha sido sugerido como un efectivo mecanismo para detectar la presencia de canopias densas y evitar la germinación cuando la probabilidad de un establecimiento de plántulas es bajo (Washitani, 1985). Como la germinación de *G. perennis* es fuertemente estimulada por la luz, ésta puede actuar como una estrategia adaptativa de sus semillas para detectar exposiciones a luz. Este

requerimiento cumple un papel importante en la dinámica de la germinación de malezas a través del año (Gallagher & Cardina, 1998). De esta manera, altas tasas de germinación probablemente estén restringidas a la superficie del suelo y por lo tanto, en sistemas de siembra directa debido a la no remoción de suelo, encuentren un ambiente favorable para germinar en altas proporciones.

En *G. perennis* no hay un efecto significativo de pérdida de viabilidad de semillas por el efecto del almacenamiento en frío-húmedo. Sin embargo, en *I. diffusa* sí existe una disminución significativa en la germinación para luego de 12 o 16 semanas de frío-húmedo. Copeland y McDonald (2001) señalan que semillas de algunas especies al ser expuestas a frío-húmedo durante la imbibición pueden sufrir daños que provoquen la mortalidad de las mismas. Además, la germinación de semillas de muchas especies, especialmente aquellas de origen tropical o subtropical, sufren daño por frío cuando son expuestas a bajas temperaturas sin llegar a temperaturas de congelamiento, resultando en un pobre establecimiento de plántulas (Bedi & Basra, 1993). Por otra parte, tratamientos de frío-húmedo han inducido dormancia secundaria en algunas malezas, como en el caso de las semillas en *Hesperis matronalis* L. (Susko & Hussein, 2008). La ausencia de inhibición de la germinación de semillas en *G. perennis* luego de los diferentes períodos de almacenamiento en frío-húmedo, muestra que no existe inducción de dormancia secundaria en esta especie. A diferencia de la respuesta al factor frío-húmedo en *I. diffusa*, los resultados obtenidos para *G. perennis* indicarían que sus semillas podrían permanecer viables durante el invierno y germinar en un alto porcentaje con el aumento de temperaturas de la primavera.

Los resultados obtenidos para el factor “estrés osmótico” indican una mayor sensibilidad a bajos potenciales osmóticos de las semillas de *G. perennis* respecto a las de *I. diffusa*. Estudios realizados en *Amaranthus viridis* L. (Chauhan & Johnson,

2009a), *Brunnichia ovata* (Walt.) Shinnars (Shaw et al., 1991) y *Campsis radicans* L. Seem. ex Bureau (Chachalis & Reddy, 2000), indicaron que estas especies son notablemente sensibles al estrés osmótico, con bajos porcentajes de germinación ($\leq 15\%$) a un potencial osmótico de $-0,2\text{Mpa}$, respuesta similar a la observada para *G. perennis*. En igual potencial osmótico, el 51% de las semillas de *I. diffusa* germinó, lo que demuestra que esta especie es algo más tolerante a bajos potenciales osmóticos. El estrés osmótico es un factor clave que afecta el momento de la germinación por lo que nuestros resultados sugieren que una óptima germinación de las semillas de *G. perennis* e *I. diffusa* debería ocurrir sólo en suelos con elevado contenido de humedad, y que las semillas pueden permanecer sin germinar en momentos de sequía hasta que los niveles de humedad sean adecuados para la germinación, sin que se vea afectada la viabilidad. Si bien *G. perennis* presenta germinación elevada en un amplio rango de temperaturas, es decir que potencialmente puede germinar en diferentes épocas del año, el estrés osmótico sería un factor clave que afectará el momento de la germinación, acotándola sólo a períodos del año con lluvias intensas. Esta podría ser una estrategia de gran valor en *G. perennis*, que posibilite retrasar la germinación hasta que las condiciones favorables ocurran. Sin embargo, esto podría ser una desventaja competitiva respecto a otras malezas que pueden germinar bajo ciertas condiciones de sequía, como las semillas de *Solanum rostratum* Dunall cuya germinación excedió el 95 % a potenciales osmóticos de $-0,3\text{ MPa}$ y el 28% de la semillas germinaron a $-1,1\text{ Mpa}$ (Wei et al., 2009). Por otra parte, es importante hacer notar que los resultados en conjunto del efecto que ejercen sobre la germinación de *G. perennis* e *I. diffusa* los factores temperatura y estrés osmótico pueden ser utilizados para desarrollar modelos hidrotermales que permitan predecir la dinámica de la germinación (Hardegree et al., 2003).

Para *I. diffusa* no hubo efecto de tratamiento por el almacenamiento en seco, por lo cual no hay disminución del porcentaje de germinación, que fue siempre elevada. Para el caso de *G. perennis* los resultados indican que el efecto del tiempo de almacenamiento en seco sobre el porcentaje de germinación depende del régimen de luz al que sean expuestas las semillas para germinar. Las semillas que fueron expuestas a condiciones de luz para germinar no mostraron diferencias significativas para los diferentes períodos de almacenamiento, siendo la germinación siempre mayor al 92%. Las semillas que para germinar fueron expuestas a condiciones de total oscuridad, mostraron diferencias significativas entre los períodos de almacenamiento. Para los tiempos de almacenamiento de 0, 90, 180 y 360 días el porcentaje de germinación fue \leq 20%, pero luego de 720 días (2 años) de almacenamiento el porcentaje de germinación fue significativamente mayor (59,3%). Semillas que inicialmente requieren exposición a luz para poder germinar en un elevado porcentaje, y que este requerimiento de luz disminuya luego de cierto tiempo de almacenamiento en seco ha sido citado para muchas especies en reiteradas ocasiones (Toole *et al.*, 1955; Fujii & Yokohama, 1965; Hagon, 1976; Baskin & Baskin, 1998).

Es importante remarcar que tanto en *I. diffusa* como en *G. perennis* los resultados muestran que la viabilidad no es afectada luego de 720 días (2 años) de almacenamiento, indicando que sus semillas poseen una longevidad de al menos 2 años bajo las condiciones en la que se realizó el experimento. Se ha señalado que las semillas de *I. diffusa* pueden formar un banco de semillas persistente a largo plazo (Ferri *et al.*, 2009). Sin embargo, Etchepare & Boccanelli (2007) analizando bancos de semillas de la región pampeana de Santa Fe, no encontraron correspondencia entre lugares con poblaciones de *I. diffusa* y la presencia de sus semillas en los suelos analizados, por lo

que estos autores concluyeron que la capacidad invasiva de *I. diffusa* estaría relacionada a su multiplicación vegetativa y no al establecimiento de plántulas.

Por otra parte, las condiciones de almacenamiento del experimento no aseguran que la humedad de la semilla sea lo suficientemente baja para evitar una actividad metabólica significativa. Si las semillas no tienen una dormancia profunda como las de *G. perennis*, una ruptura de la misma puede ocurrir durante el almacenamiento en seco, especialmente a temperaturas de habitación (Baskin *et al.*, 2006). Todos los otros experimentos fueron conducidos entre 2 y 6 meses luego de la recolección de semillas y alguna actividad metabólica podría haber ocurrido durante ese lapso de tiempo. Sin embargo, los resultados del experimento de almacenamiento en seco sugieren que no se detectó actividad metabólica significativa durante el primer año de almacenamiento para ninguna de las dos especies, lo que permite excluir cualquier cambio en la germinación asociado con el periodo de almacenamiento. Además, en algunas especies el desecamiento por almacenaje en seco puede causar que las semillas entren en dormancia (Baskin *et al.*, 2006), pero los resultados presentados aquí tanto para las semillas de *I. diffusa* como para las de *G. perennis* mostraron que no hubo ningún efecto de este tipo.

El declinamiento sigmoideal de la emergencia de plántulas respecto al incremento de la profundidad de siembra ha sido reportado en varias especies de malezas (Norsworthy & Oliveira, 2005; Oliveira & Norsworthy, 2006; Susko & Hussein, 2008). En *G. perennis* e *I. diffusa* se determinó emergencia nula desde 5 a 10 cm de profundidad de suelo, lo se corresponde con el tamaño pequeño de sus semillas. Semillas pequeñas tienen reservas limitadas que restringen la emergencia de plántulas sólo a escasos cm de profundidad de siembra (Webb *et al.*, 1987). Además, *I. diffusa* es más sensible a la profundidad de siembra que *G. perennis*, resultados consistentes con el tamaño relativo de sus semillas, ya que la semilla de *I. diffusa* es aproximadamente 6

veces más pequeña (cfr. resultados de peso de 1000 de semillas en la sección materiales y métodos del presente capítulo). En sistemas de cultivo de siembra directa la no remoción de suelo hace que todas las semillas producidas y dispersadas queden sobre la superficie del suelo o no sean profundamente enterradas, lo que permitiría una gran disponibilidad de semillas en condiciones óptimas de emergencia y la posibilidad de incrementar su población en gran número año tras año tanto en *G. perennis* como en *I. diffusa*.

CONCLUSIÓN

Este estudio ha mostrado que las semillas de *G. perennis* e *I. diffusa* poseen alta viabilidad al momento de dispersión. Además, las semillas de *I. diffusa* pueden germinar en elevados porcentajes en condiciones adecuadas de temperatura y humedad por lo que no presentan dormancia, mientras que las semillas de *G. perennis* requieren luz para poder germinar en elevado porcentaje. Tanto las semillas de *G. perennis* como de *I. diffusa* están adaptadas para germinar luego de ser dispersadas bajo condiciones ambientales comúnmente encontradas en los campos cultivados de la región, lo cual puede explicar al menos parcialmente su éxito como malezas. A causa de que las semillas de ambas especies pueden germinar temprano en la temporada de cultivo de soja, ésta es una posible ventaja competitiva sobre otras malezas con temperaturas óptimas de germinación similares a las que se encuentran en verano.

Debido al efecto del factor “estrés osmótico”, la germinación estaría relacionada principalmente a momentos del año con elevadas precipitaciones para ambas especies.

Además, la emergencia de plántulas tanto de *G. perennis* como *I. diffusa* fue muy afectada por mínimos incrementos en la profundidad de siembra.

En base a los resultados obtenidos en este estudio se pueden sugerir algunas recomendaciones sobre posibles prácticas de manejo. El disturbio del suelo causado por prácticas de labranza puede tener una gran influencia en la germinación de ambas especies. Labranzas que permitan enterrar las semillas a profundidades mayores a 5 cm podrían inhibir en gran parte la emergencia de plántulas. También la aplicación de herbicidas con actividad residual podría ser necesaria para lograr un efectivo control de diferentes flujos de emergencia durante el año. Para *G. perennis*, la exposición de semillas a la luz va a estar influenciada tanto por la canopia del cultivo como por los residuos de cosecha, que en los sistemas de siembra directa pueden llegar a acumularse en elevadas cantidades sobre el suelo. Sin embargo, estudios adicionales serán necesarios para poder determinar la dinámica del banco de semillas de ambas especies en campos cultivados.

Parte II

*Estudios sobre la respuesta de las
especies bajo el efecto del herbicida glifosato*

Capítulo 4

Estudios Dosis-Respuesta – Caracterización de la tolerancia a herbicida de *I. diffusa* y *G. perennis* mediante biomasa producida

Resumen

Experimentos en sala de crecimiento fueron conducidos para determinar la efectividad del herbicida glifosato para controlar individuos de *G. perennis* e *I. diffusa* desarrollados bajo condiciones homogéneas de crecimiento y analizar comparativamente, bajo las mismas condiciones, el comportamiento de 2 ecotipos diferentes de *G. perennis*. La especie *Amaranthus quitensis* fue usada en el primer caso como control sensible. Curvas dosis-respuesta basadas en modelos de regresión no lineal fueron usadas para determinar la dosis de glifosato que causa una reducción del 50% en la biomasa producida respecto al testigo no tratado. *G. perennis* e *I. diffusa* presentan niveles similares de tolerancia al herbicida. Sin embargo, debido a la diferencia en biomasa absoluta desarrollada entre ambas especies, es posible sugerir la existencia de diferencias en la morfología vegetativa. Por otra parte, la comparación entre individuos provenientes de poblaciones de *G. perennis* desarrolladas en ambientes diferentes (agrícola y silvestre) mostró diferente susceptibilidad al mencionado herbicida entre poblaciones. Posiblemente exista un cambio adaptativo bajo condiciones agrícolas en esta especie que le permite tolerar dosis significativamente mayores que poblaciones desarrolladas en condiciones silvestres.

INTRODUCCIÓN

Las estrategias contemporáneas de manejo de malezas descansan fuertemente en el empleo de herbicidas. Una de las razones de este predominio radica en la relativa simplicidad de la tecnología, que permite su empleo aún con conocimientos escasos de los fundamentos en que se sustenta (Vitta *et al.*, 2004a). Debido a que los herbicidas constituyen uno de los pilares en el manejo de malezas, las malezas resistentes a herbicidas representan uno de los mayores problemas económicos a la agricultura. En la actualidad, 368 biotipos de malezas se conocen como resistentes a herbicidas (Heap, 2011); incluso ciertos biotipos de algunas especies exhiben resistencia múltiple a diferentes clases de herbicidas. El problema que representan las malezas resistentes a

herbicidas ha llevado a que estos casos sean catalogados y publicados a nivel global, de manera fácilmente accesible para los agricultores y público en general (www.weedscience.org). Esta necesaria e importante focalización en los casos de malezas resistentes a herbicidas ha tenido una consecuencia no buscada: existe poca consideración para otros tipos de defensas a herbicida en plantas, como lo es la llamada “Tolerancia” (Baucom, 2009). Según la Herbicide Resistance Action Committee (HRAC): ***“Herbicide resistance is the inherited ability of a plant to survive and reproduce following exposure to a dose of herbicide normally lethal to the wild type”*** (WSSA, 1998). La tolerancia también ha sido definida por el mencionado organismo de la siguiente manera: ***“Herbicide tolerance is the inherent ability of a species to survive and reproduce after herbicide treatment. This implies that there was no selection or genetic manipulation to make the plant tolerant; it is naturally tolerant”*** (WSSA, 1998). Es decir, las especies consideradas tolerantes nunca fueron controladas adecuadamente bajo la aplicación de herbicida (“naturalmente tolerantes”), en cambio las especies consideradas resistentes son controladas adecuadamente por el herbicida pero debido a algún cambio genético un biotipo se ha vuelto resistente al mismo. Sin embargo, aunque existen criterios específicos desarrollados para diagnosticar la “resistencia a herbicida”, no existen tales criterios para establecer cuando una población es “tolerante a herbicida” (Baucom, 2009). Un completo entendimiento de cómo las malezas pueden adaptarse a las aplicaciones de herbicidas requiere que todas las posibles estrategias de defensa en las plantas sean examinadas.

En las investigaciones sobre malezas, uno de los estudios más utilizados es el relacionado a los bioensayos denominados dosis-respuesta (DR). En los mismos se tiene por objetivo medir y comparar la respuesta de las especies frente al efecto de dosis crecientes de herbicidas, utilizando como variable respuesta la biomasa producida al

final del ensayo medida como peso seco. La relación entre dosis de herbicida y respuesta de la planta es de gran interés para entender y comparar la eficacia de herbicidas (Gressel, 1985; De Prado & Cruz-Hipolito, 2009). La resistencia puede ser cuantificada comparando valores experimentales derivados de biotipos resistentes y susceptibles, y de manera similar puede ser cuantificada la tolerancia comparando especies tolerantes y susceptibles. La metodología empleada para la estimación de estos valores se basa en la construcción de curvas de dosis-respuesta (DR) (Knezevic *et al.*, 2007). Un parámetro importante que se obtiene mediante estas curvas DR para cada especie, es la dosis que causa un efecto del 50% en la reducción de la variable respuesta respecto al testigo no tratado, por lo que se denomina DE_{50} (dosis efectiva para causar una reducción del 50% en la variable respuesta). El valor de este parámetro (DE_{50}) será menor en especies susceptibles y aumentará a medida que las especies presenten mayor grado de tolerancia. El indicador utilizado para comparar los diferentes grados de tolerancia (o resistencia) entre especies (o biotipos) es el factor de tolerancia (o resistencia). El valor del mencionado factor resulta del cociente entre la DE_{50} de la especie tolerante (o biotipo resistente) y la DE_{50} de la especie susceptible (o biotipo susceptible). De esta manera el Factor de tolerancia (o resistencia) indica el número de veces que es necesario aumentar la dosis de aplicación de un herbicida en una especie tolerante (o biotipo resistente) para alcanzar un control similar al obtenido en la especie considerada susceptible (o biotipo susceptible) (Vitta *et al.*, 2004a).

En los últimos años a partir de relevamientos de malezas realizados en la zona centro y sur de la provincia de Santa Fe se han registrado cambios en la flora de malezas asociadas al cultivo de soja resistente a glifosato (RG) (Papa & Felizia, 2001; Tuesca *et al.*, 2001; Papa *et al.*, 2002; Rodriguez, 2004; Vitta *et al.*, 2004b; Nisensohn *et al.*, 2007; Puricelli *et al.*, 2008; Dellaferrera *et al.*, 2009; Puricelli & Faccini, 2009; Mas *et*

al., 2010). Dentro de este gran grupo de especies se encuentran citadas *Gomphrena perennis* e *Iresine diffusa*, las cuales han sido catalogadas como naturalmente tolerantes a la dosis de uso agronómico del herbicida glifosato (Papa & Felizia, 2001; Vitta *et al.*, 2004b; Nisensohn *et al.*, 2007; Faccini *et al.*, 2008; Puricelli *et al.*, 2008). Además, un aumento importante de sus densidades poblacionales ha sido registrado principalmente en cultivos de soja RG en la zona centro y sur de la provincia de Santa Fe (Rodríguez, 2004; Dellaferrera *et al.*, 2007; Puricelli *et al.*, 2008; Dellaferrera *et al.*, 2009).

En individuos de *G. perennis* en estado vegetativo el nivel de control alcanzado con una dosis de 1400 g ia.ha⁻¹ (dosis que se corresponde con la dosis de uso agronómico recomendada) fue del 53% (Nisensohn *et al.*, 2007). Sólo con aplicaciones de 4800 g ia.ha⁻¹ se logró un control adecuado que alcanzó el 88% (Nisensohn *et al.*, 2007). Los resultados obtenidos por Puricelli y Faccini (2009) realizando ensayos Dosis-Respuesta en *I. diffusa* con el herbicida glifosato, indicaron que la DE₅₀ fue de 2078,5 y 2322,8 g ia.ha⁻¹ para los estados vegetativo y reproductivo respectivamente, mientras que la DE₉₀ fue de 3820 y 3930 g ia.ha⁻¹ para los estados vegetativo y reproductivo respectivamente. Además, *I. diffusa* no ha sido controlada adecuadamente con herbicidas que poseen sitios de acción diferentes al glifosato (Faccini & Puricelli, 2007; Faccini *et al.*, 2008). Bajos porcentajes de control fueron obtenidos con los herbicidas 2,4-D y metsulfuron-methyl + dicamba en *I. diffusa* tanto en estado de desarrollo reproductivo como vegetativo (Faccini & Puricelli, 2007; Faccini *et al.*, 2008).

Si bien los citados antecedentes demuestran una baja susceptibilidad a glifosato tanto para *G. perennis* como *I. diffusa*, estos estudios no han sido llevados a cabo bajo las mismas condiciones de crecimiento. Ha sido citado en numerosas oportunidades que las condiciones ambientales bajo las cuales un individuo se desarrolla tienen influencia

en la respuesta a la aplicación del herbicida, por lo que las relaciones dosis-respuesta pueden presentar grandes variaciones dependiendo de las condiciones de crecimiento en las que se ha realizado el ensayo (Vitta *et al.*, 2004a). Por otra parte, en los últimos años la Cooperativa Agrícola de San Justo ha recibido en reiteradas oportunidades llamados de atención por parte de técnicos y productores de la región sobre la falta de efectividad del glifosato para controlar a *G. perennis* (Vignatti, O., comunicación personal). Es necesario remarcar que aunque esta especie en particular ha sido catalogada como tolerante, no han sido efectuados estudios considerando diferentes genotipos de la misma especie que permitan definir si es “naturalmente” tolerante o existe alguna diferencia en la susceptibilidad al glifosato de las poblaciones de esta localidad en particular respecto a poblaciones desarrolladas en otros ambientes.

Las variaciones en las condiciones de crecimiento bajo las cuales tanto *G. perennis* como *I. diffusa* fueron caracterizadas como malezas tolerantes imposibilitan realizar una comparación de la respuesta al herbicida entre las mismas. Por esta razón el objetivo de este capítulo será comparar la efectividad del herbicida glifosato para controlar individuos de *G. perennis* e *I. diffusa* desarrollados bajo condiciones homogéneas de crecimiento y analizar comparativamente, bajo las mismas condiciones, el comportamiento de poblaciones de *G. perennis* provenientes de diferentes ambientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal: se trabajó con 3 especies de Amarantáceas consideradas malezas. Semillas de *G. perennis*, *I. diffusa* y *Amaranthus quitensis* H.B.K. fueron cosechadas a madurez desde individuos que crecieron en campos dedicados a agricultura ubicados cerca de la localidad de Esperanza, departamento Las Colonias, Provincia de Santa Fe, Argentina (31° 26' S; 60° 56' O). *Gomphrena perennis* e *I. diffusa* son las especies consideradas tolerantes al herbicida glifosato, por lo cual *Amaranthus quitensis* fue incluida en este estudio por ser considerada una maleza susceptible al mismo (Vitta *et al.*, 2000).

Para realizar la comparación de efectividad del herbicida glifosato sobre poblaciones de *G. perennis* provenientes de diferentes ambientes se utilizaron semillas de las siguientes localidades: a) población Vera (VR) ubicada en proximidades de la Laguna Cueva del Tigre (29° 23' S; 60° 30' O), departamento Vera, Provincia de Santa Fe, y b) población San Justo (SJ), ubicada en campos cultivados cercanos a la localidad de San Justo (30°49' S; 60° 46' O), departamento San Justo, Provincia de Santa Fe.

La población Vera (VR) corresponde a un ambiente silvestre. Esta población se desarrolló en condiciones de montes algo modificados por acción antrópica pero en campos que nunca fueron dedicados a la agricultura, además se encuentra alejado más de 50 km de zonas cultivadas que hayan sufrido aplicaciones de glifosato. La población San Justo (SJ) corresponde a una población desarrollada en una zona netamente agrícola en campos con larga historia de cultivo bajo sistema de siembra directa de soja resistente a glifosato (RG), donde se comporta como una maleza muy problemática (Vignati, O., comunicación personal).

Las semillas de todas las poblaciones, tanto de cada especie como de las diferentes poblaciones de una misma especie, fueron germinadas en papel filtro humedecido en cajas de petri. Las plántulas fueron plantadas en macetas plásticas de 1 litro (1 planta por maceta) conteniendo como sustrato arena y regadas diariamente con solución Hoagland (100%). El ensayo fue realizado en la sala de crecimiento de la FCA-UNL (condiciones de 14 horas de luz con $450 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa y un termoperíodo de 25/18 °C día/noche; humedad relativa de 60% ($\pm 5\%$)).

Herbicida: fue usado glifosato como sal Isopropilamina, formulación comercial al 48% (Estrella®).

Ensayo Dosis-Respuesta: los tratamientos herbicidas fueron aplicados en todas las poblaciones cuando las plantas alcanzaron los 15 cm de altura del eje principal y 4-5 nudos con hojas expandidas en promedio. Este tamaño de planta fue obtenido a los 30 días desde la emergencia para las especies *G. perennis* y *A. quitensis* y a los 50 días desde la emergencia en *I. diffusa*. La aplicación fue realizada mediante un equipo pulverizador equipado con tanque de CO₂ para trabajo a presión constante de 200 kpa con boquilla TeeJet 80.02.E.VS. Los tratamientos consistieron en la pulverización de 8 soluciones de diferentes dosis de glifosato, las que fueron preparadas con dilución de 0; 0,78; 1,56; 3,125; 6,25; 12,5; 25 y 50 g ia.l⁻¹ en agua desmineralizada para obtener una concentración equivalente a dosis de aplicación de 0, 125, 250, 500, 1000, 2000, 4000, 8000 ml pc.ha⁻¹ respectivamente. Cada unidad experimental fue replicada 16 veces para cada tratamiento. El peso seco (PS) por planta fue utilizado como indicador biológico del crecimiento de las plantas para determinar la dosis efectiva para cada especie y ecotipo. El PS aéreo por planta fue determinado 21 días después de la aplicación. Las plantas fueron secadas en estufa a 60°C durante 3 días.

DE₅₀: La dosis de herbicida para inhibir el crecimiento de las plantas en un 50% (DE₅₀: reducción del 50% del peso seco respecto al testigo no tratado) fue estimada para cada especie y ecotipo de acuerdo al modelo de regresión no lineal ajustado a los datos según se describe en Knezevic *et al.* (2007).

Factor de Tolerancia (FTol): el FTol fue calculado a partir de la razón de los valores DE₅₀ a comparar (según corresponda entre especies o entre poblaciones de una misma especie) utilizando la siguiente fórmula:

$$FTol_e = DE_{50_e} / DE_{50_e\ sensible} \quad [4.1]$$

siendo FTol *e* el factor de tolerancia para la especie o población considerada tolerante, DE_{50_e} es la dosis para inhibir el 50% del peso correspondiente a la población o especie considerada como tolerante a glifosato y DE_{50_e sensible} corresponde a la dosis para inhibir el 50% del peso correspondiente a la población o especie considerada como sensible a glifosato.

Análisis estadísticos: los experimentos en sala de crecimiento fueron conducidos en un diseño completamente aleatorizado. Se utilizaron 8 individuos por tratamiento, el ensayo fue repetido 2 veces, y los datos fueron combinados para el análisis ya que no se encontró interacción tiempo por tratamiento. Los datos fueron chequeados para confirmar normalidad y homogeneidad de varianzas. Las respuestas fueron ajustadas a modelos de regresión no lineal (Ritz & Streibig, 2005). Una función de Weibull tipo 1 de 4 parámetros (Ritz, 2010) de la forma:

$$y = c + (d - c) \exp [-\exp [b(\log x - \log e)]] \quad [4.2]$$

fue ajustada para la comparación entre especies, donde *c* es el límite inferior, *d* es el límite superior y *b* es la pendiente relativa al punto de inflexión *e*. Para la comparación entre las poblaciones de *G. perennis*, VR y SJ, previamente al análisis se utilizó la

transformación BoxCox para estabilizar la varianza de los dos set de datos y fue ajustada una función logística de 4 parámetros (Streibig *et al.*, 1993) de la forma:

$$y = c + [d - c / 1 + \exp [b(\log x - \log e)]] \quad [4.3]$$

donde c es el límite inferior, d es el límite superior y b es la pendiente relativa al punto de inflexión e . El análisis de las curvas dosis-respuesta y los parámetros estimados (límites superior, inferior, pendiente y valores de dosis cuyo efecto provee un 50% de inhibición del crecimiento respecto al testigo no tratados (DE₅₀)) fueron determinados utilizando el programa estadístico R mediante el paquete *drc* (Ritz & Striebig, 2005). Los resultados están representados gráficamente de acuerdo al modelo no-lineal de regresión logística con mejor ajuste. El test de F para probar “falta de ajuste” fue utilizado para verificar que los modelos mostraron un buen ajuste con los datos experimentales (Ritz & Striebig, 2008; Onofri *et al.*, 2010).

Debido a que los modelos de regresión no lineal de mejor ajuste no fueron iguales para todos los genotipos ensayados, para la determinación del FTol los valores DE₅₀ fueron calculados utilizando un promedio ponderado de DE₅₀ obtenidos en todos los modelos de regresión no lineal ajustados. Este procedimiento se llevó a cabo según lo descrito por Buckland *et al.* (1997) y Kang *et al.* (2000), utilizándose el criterio AIC basado en pesos de ajuste de cada modelo.

RESULTADOS

Comparación entre especies: la función de Weibull tipo 1 (ecuación [4.2]) mostró un ajuste significativo a los datos de las 3 especies ($F = 1,46$; $P = 0,098$). La Tabla 4.1 muestra los resultados obtenidos para los parámetros de la función, las DE₅₀ estimadas y

el FTol calculado. Se encontraron diferencias altamente significativas entre los parámetros b , d y e ($P < 0,01$) pero no para el parámetro c . Las curvas dosis-respuesta obtenidas para cada especie son presentadas en la Figura 4.1. La DE_{50} estimada en *A. quitensis* fue significativamente menor a las otras especies (Tabla 4.1). Por otra parte la DE_{50} en *I. diffusa* y en *G. perennis* mostró valores similares (Tabla 4.1). Tanto la relación FTol obtenida entre DE_{50} *I. diffusa* / DE_{50} *A. quitensis* como entre DE_{50} *G. perennis* / DE_{50} *A. quitensis* resultaron significativamente diferentes de 1 (Tabla 4.1). Sin embargo, la relación entre DE_{50} *I. diffusa* / DE_{50} *G. perennis* no fue significativamente diferente de 1 (FTol = 0,92; $t = 0,428$; $P = 0,66$).

Tabla 4.1 – Parámetros obtenidos mediante el modelo de regresión no lineal de Weibull (ecuación [4.2]) para cada especie, para la variable “peso seco”. DE_{50} corresponde al valor estimado mediante la ecuación [4.2] y Factor de Tolerancia (FTol) correspondiente según la ecuación [4.1]. Valores entre paréntesis indican error estándar. Factor de Tolerancia en negrita y cursiva indica valor significativamente diferente de 1 ($P < 0,001$).

Especie	Parámetros				DE_{50}	FTol
	b	c	d	e		
<i>A. quitensis</i>	5,24 (1,07)	1,25 (0,08)	6,62 (0,19)	0,207 (0,010)	0,192 (0,011)	-
<i>I. diffusa</i>	1,60 (0,25)	1,22 (0,10)	5,21 (0,17)	0,535 (0,043)	0,426 (0,038)	<i>2,21</i>
<i>G. perennis</i>	0,82 (0,082)	1,43 (0,15)	7,41 (0,18)	0,731 (0,074)	0,466 (0,048)	<i>2,43</i>

Curva DR - Comparación entre especies

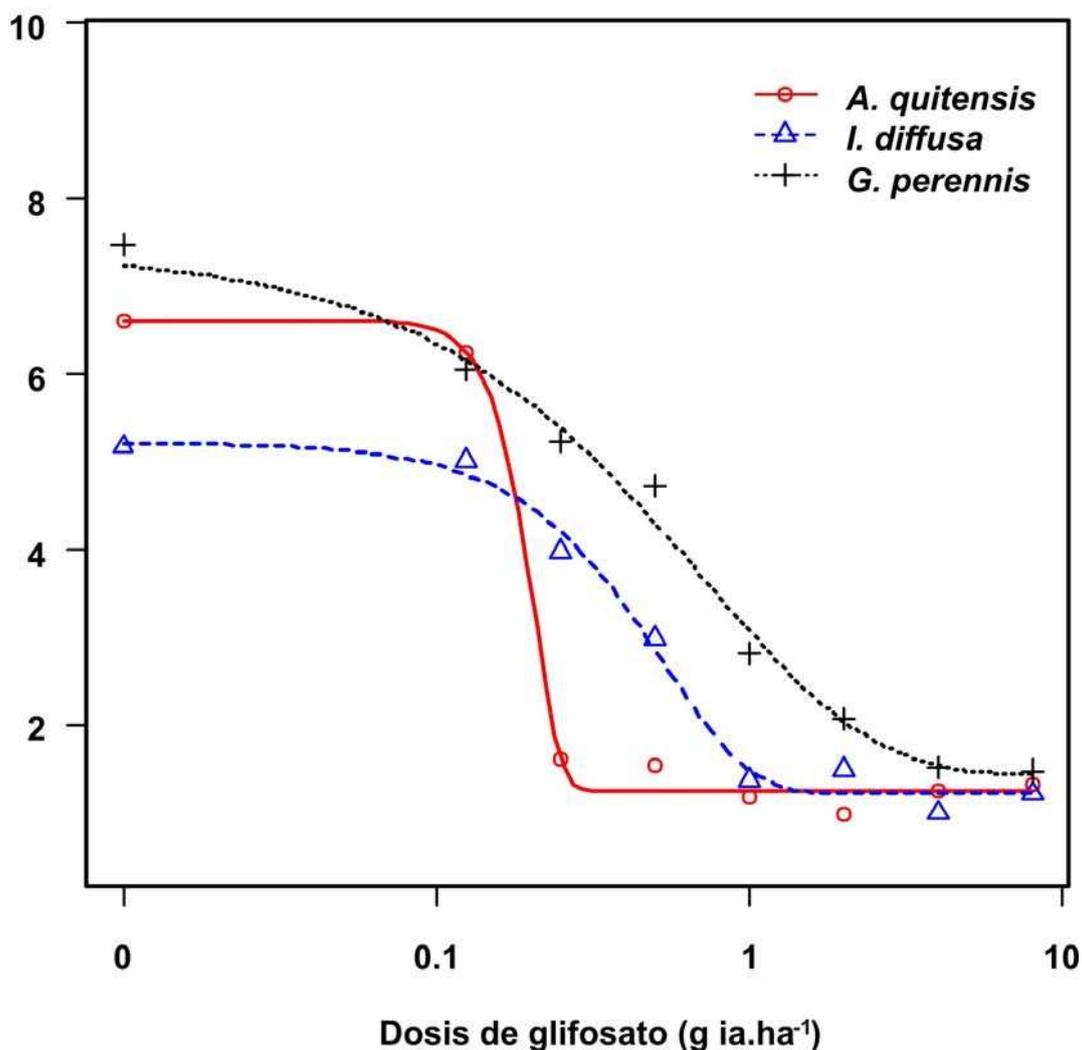


Figura 4.1 – Curvas dosis-respuesta (DR) obtenidas mediante el modelo de regresión no lineal de Weibull (ecuación [4.2]) para cada especie, para la variable “peso seco”.

Comparación entre las poblaciones VR y SJ de *G. perennis*: la función logística de 4 parámetros (ecuación [4.3]) mostró un ajuste significativo a los datos de ambas poblaciones ($F = 1,33$; $P = 0,22$). La Tabla 4.2 muestra los resultados obtenidos para los parámetros de la función, las DE_{50} estimadas y el FTol calculado. Diferencias significativas no pudieron ser detectadas entre los parámetros b ($P = 0,16$), c ($P = 0,28$) y d ($P = 0,07$), pero sí se encontraron diferencias en el parámetro e ($P < 0,0001$). Las

curvas dosis-respuesta obtenidas se muestran en la Figura 4.2. La DE_{50} estimada para la población silvestre VR fue significativamente menor que la estimada para la población SJ (Tabla 4.2). La relación FTol obtenida entre DE_{50} *G. perennis* SJ / DE_{50} *G. perennis* VR fue significativamente diferente de 1 ($t = 4,168$, $P < 0,0001$), indicando la relación estimada que SJ es aproximadamente 3 veces mas tolerante que VR (Tabla 4.2).

Tabla 4.2 – Parámetros obtenidos mediante el modelo de regresión no lineal Logístico (ecuación [4.3]) para dos poblaciones de *G. perennis*, (VR: localidad Vera, SJ: localidad San Justo) para la variable “peso seco”. DE_{50} corresponde al valor del parámetro e estimado mediante la ecuación [4.3] y Factor de Tolerancia (FTol) correspondiente según la ecuación [4.1]. Valores entre paréntesis indican error estandar. Factor de tolerancia en negrita y cursiva indica valor significativamente diferente de 1 ($P < 0,001$).

Población de <i>G. perennis</i>	Parámetros				FTol
	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>d</i>	<i>e</i> (DE_{50})	
VR (silvestre)	1,07 (0,13)	1,45 (0,15)	7,55 (0,25)	0,251 (0,029)	-
SJ (agrícola)	1,49 (0,22)	1,85 (0,17)	6,98 (0,21)	0,734 (0,077)	2,91

Curva DR - Comparación entre poblaciones de *G. perennis*

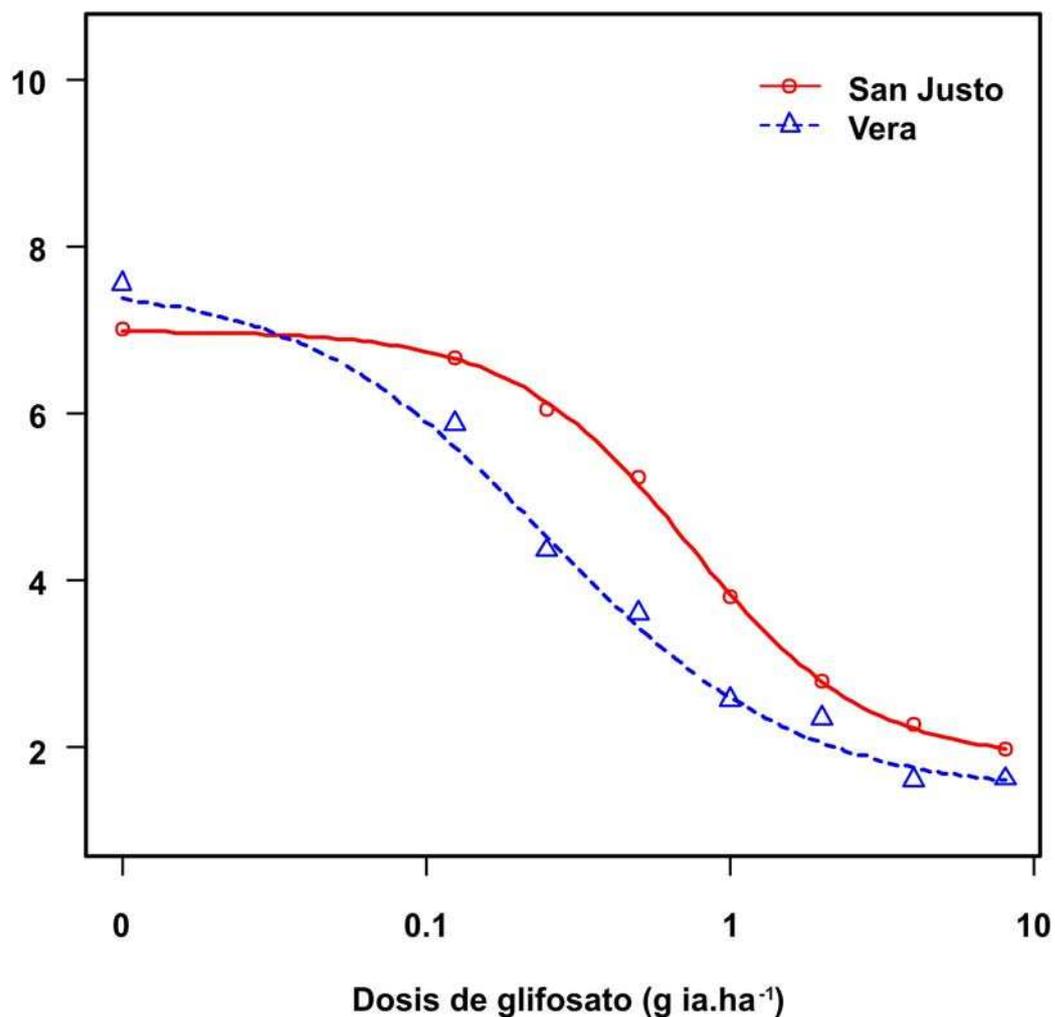


Figura 4.2 – Curvas dosis-respuesta (DR) ajustadas a los datos obtenidas mediante el modelo de regresión no lineal logístico (ecuación [4.3]) para 2 poblaciones de *G. perennis* (Vera vs. San Justo), teniendo en cuenta la variable “peso seco”.

a)



b)



c)



Lámina 4.1 - Individuos de a) *A. quitensis*, b) *I. diffusa* y c) *G. perennis* bajo el efecto de dosis crecientes de glifosato en los experimentos llevados a cabo en sala de crecimiento de la Facultad de Ciencias Agrarias (UNL).

DISCUSIÓN

Los ensayos dosis-respuesta llevados a cabo permiten indicar que *G. perennis* e *I. diffusa* son relativamente tolerantes a glifosato, al ser comparada su respuesta frente a una especie sensible a glifosato como *A. quitensis*. Teniendo en cuenta el FTol se debería aumentar la dosis de glifosato a aplicar aproximadamente tres veces tanto para *G. perennis* como para *I. diffusa* con el fin de lograr el mismo control que en *A. quitensis*. Debido a los peligros ecotoxicológicos, resulta de gran preocupación el impacto que puede tener sobre el ambiente el uso repetido y/o indiscriminado de cualquier tipo de agroquímico (UNL, 2010; Deytieux *et al.*, 2012), por lo cual no es recomendable como sugerencia incrementar la dosis para lograr un control adecuado. Sin embargo, este nivel de tolerancia en ambas especies debe ser tomada en cuenta como señal de alerta para poner de manifiesto la necesidad de desarrollar programas de manejo integrado para las mismas.

Se ha demostrado que la respuesta a un herbicida puede llegar a ser muy variable no solo teniendo en cuenta el momento de aplicación del herbicida (Knezevic *et al.*, 2010), sino también las condiciones de crecimiento en las cuales las plantas se han desarrollado (Faccini & Puricelli, 2007). Los resultados obtenidos por Puricelli & Faccini (2009) para *I. diffusa* realizando ensayos dosis-respuesta con el herbicida glifosato, indicaron que la DE₅₀ fue de 2078,5 y 2322,8 g ia.ha⁻¹ para los estados vegetativo y reproductivo respectivamente. La diferencia en la DE₅₀ entre la bibliografía y la obtenida en nuestro trabajo, puede ser atribuida a diferencias tanto en las condiciones ambientales en las cuales se llevaron a cabo los ensayos como en el estado de desarrollo de las plantas al momento de la aplicación del herbicida. Puricelli & Faccini (2009) realizaron el ensayo al aire libre, comenzando en julio la siembra de

semillas en las macetas y aplicando el herbicida aproximadamente 90 días después de la emergencia, sin especificar características morfológicas de las plantas al momento de la aplicación. Lo mismo sucede con la respuesta obtenida en *G. perennis*; los valores obtenidos por Nisenshon *et al.* (2007) en individuos en estado vegetativo hablan de una dosis de 1400 g ia.ha⁻¹ (dosis que se corresponde con la dosis de uso agronómico recomendada) para el control del 50% mientras que en nuestro ensayo la dosis para ese nivel de control fue marcadamente menor. Como en *I. diffusa*, estas diferencias también puede deberse a diferentes estadios de desarrollo al momento de la aplicación del herbicida, tanto como a las diferentes condiciones de crecimiento, principalmente de luz y temperatura. Además, a diferencia de los mencionados trabajos, en nuestros experimentos se regó diariamente con solución nutritiva, siendo este otro posible factor responsable de las diferencias encontradas en la respuesta al glifosato. Mithila *et al.* (2008) encontraron que una nutrición nitrogenada diferente durante el crecimiento influye en la eficacia del glifosato en *Chenopodium album* L. Otro factor que también afecta la performance del glifosato es el tamaño de las malezas al momento de aplicación (Vanlieshout & Loux, 2000; Knezevic *et al.*, 2010), por lo cual las discrepancias entre nuestros resultados y la bibliografía posiblemente se deban a las diferencias en las condiciones y tiempos de crecimiento. A pesar de estos valores de DE₅₀ superiores en la bibliografía, se puede afirmar que ambas especies poseen factores FTol similares a los encontrados para otras especies catalogadas como tolerantes al herbicida glifosato respecto a especies sensibles. Tal es el caso de *Canavalia ensiformis* (L.) DC., cuyos ensayos fueron llevados a cabo en cámaras de crecimiento y en similares condiciones a las utilizadas en nuestro estudio, con una DE₅₀ de 315 g ia.ha⁻¹ (Cruz-Hipolito *et al.*, 2009). Respecto al FTol calculado, éste no fue significativamente diferente entre *G. perennis* e *I. diffusa*, por lo cual se puede sugerir que ambas especies

toleran dosis similares de glifosato. Sin embargo, sí se detectaron diferencias entre ambas especies en el parámetro superior del modelo ajustado. Esto demuestra que existen discrepancias en el desarrollo de biomasa vegetativa entre ambas especies, ya que los individuos testigos de *G. perennis* desarrollaron mayor biomasa que los testigos de *I. diffusa*. Este resultado se corresponde con los resultados del Capítulo 2, en el cual *G. perennis* presentó una mayor tasa de crecimiento que *I. diffusa* en las etapas iniciales de su crecimiento.

En el caso de la comparación entre las dos poblaciones de *G. perennis*, “agrícola” (SJ) vs. “silvestre” (VR), los resultados obtenidos indican que existe una susceptibilidad diferencial a glifosato entre ambas. La población SJ presentó un FTol aproximadamente tres veces superior a la población VR. Sin embargo, a pesar de la diferente susceptibilidad al herbicida mediante la comparación de la DE₅₀, los parámetros de las curvas fueron similares tanto para el límite superior (parámetro *d*) como para el inferior (parámetro *c*), lo que indica que no hubo diferencias entre ambas poblaciones en la biomasa producida tanto en los individuos testigo (sin aplicación de herbicidas) como en los individuos que recibieron dosis muy elevadas (tratamiento de 8000 g ia.ha⁻¹).

La definición de “Tolerancia” indica que una especie debe ser naturalmente poco sensible al herbicida (WSSA, 1998). *Gomphrena perennis* ha sido caracterizada como maleza tolerante a glifosato (Nisensohn *et al.*, 2007; Puriccelli *et al.* 2008) y en nuestro trabajo también se arriba a la misma conclusión comparando diferentes especies. Pero la comparación entre poblaciones de *G. perennis* de ambientes contrastantes muestra claramente que los niveles de tolerancia pueden ser muy variables, lo cual genera dudas sobre su tolerancia. Aunque este resultado no es suficiente para definir que la población SJ sea “Resistente” a glifosato, debido a que nuestros ensayos fueron realizados en

condiciones de crecimiento estrictamente controladas se puede sugerir como posible causa del estatus de “maleza” de *G. perennis* la tolerancia incrementada de la “población agrícola” respecto a la “población silvestre”. Sin embargo, utilizar sólo la biomasa producida como variable respuesta para caracterizar la tolerancia al glifosato, no permite determinar si existen otras características morfológicas que puedan estar involucradas en su comportamiento diferencial frente al herbicida. Baucom & Mauricio (2008a), analizando características morfológicas y genéticas en *Ipomoea purpurea* (L.) Roth, determinaron diferentes niveles de tolerancia a glifosato entre poblaciones de esta especie y demostraron que en ciertos ecotipos la mayor tolerancia es una característica adaptativa al herbicida. Si tenemos en cuenta la diferente susceptibilidad al mencionado herbicida entre ambas poblaciones en *G. perennis*, se puede sugerir que posiblemente exista un cambio adaptativo a condiciones agrícolas en esta especie que le permite tolerar dosis significativamente mayores que poblaciones desarrolladas en condiciones silvestres.

CONCLUSIÓN

Mediante la comparación de la respuesta al herbicida entre las diferentes especies se confirma la tolerancia a glifosato de *G. perennis* e *I. diffusa*. Sin embargo, existen discrepancias en los valores de los niveles de tolerancia de estas especies al analizar diferente bibliografía. Esto demuestra la necesidad de una completa y correcta caracterización de las condiciones de crecimiento y estado morfológico de las plantas para poder ajustar modelos y obtener parámetros que permitan determinar respuestas diferentes, tanto entre especies como entre poblaciones provenientes de diferentes

ambientes de una misma especie, frente al glifosato. De esta manera será posible la comparación y/o extrapolación de resultados entre diferentes experimentos.

La variable “peso seco” utilizada en los estudios dosis-respuesta depende del crecimiento y desarrollo de los individuos analizados. *Gomphrena perennis* e *I. diffusa* presentan FTol similares, lo que determina que ambas especies son igualmente tolerantes al herbicida. Sin embargo, debido a la diferencia en biomasa absoluta desarrollada entre ambas especies, es posible sugerir la existencia de diferencias en la morfología vegetativa. Como ha sido expuesto en los capítulos 1 y 2, el análisis arquitectural de individuos puede poner de manifiesto diferencias tanto cualitativas como cuantitativas en las estructuras desarrolladas. Una correcta determinación de estructuras morfológicas comparables mediante la metodología propuesta por el análisis arquitectural podría ser de utilidad para caracterizar las diferentes respuestas de las plantas a los herbicidas. De esta manera, los datos arquitecturales podrían asignar mayor objetividad a la caracterización de la tolerancia a herbicida, ya que aportaría otros tipos de variables que no pueden ser obtenidas solamente teniendo en cuenta como variable respuesta la producción de biomasa.

Con relación a *G. perennis*, la diferente susceptibilidad al mencionado herbicida entre poblaciones desarrolladas en ambientes diferentes permite sugerir que posiblemente exista un cambio adaptativo bajo condiciones agrícolas en esta especie que le permite tolerar dosis significativamente mayores que aquellas toleradas por poblaciones desarrolladas en condiciones silvestres. Caracterizar desde el enfoque arquitectural las diferentes poblaciones de *G. perennis* ayudará a determinar qué factores estructurales son los responsables de la diferencia en la susceptibilidad a glifosato entre las mismas.

Capítulo 5

Estructura del sistema de ramificación en *G. perennis* e *I. diffusa* bajo aplicación de glifosato

Resumen

En este capítulo, datos arquitecturales fueron utilizados para analizar la susceptibilidad y las respuestas alométricas relacionadas con los efectos que la aplicación del herbicida glifosato produce en la estructura aérea de *G. perennis* e *I. diffusa*. Todos los individuos de ambas especies sobrevivieron al tratamiento herbicida. Sin embargo, los resultados del Índice de Susceptibilidad obtenido para las diferentes variables estudiadas muestran que, comparativamente, *G. perennis* es menos afectada que *I. diffusa*. Más aún, en ambas especies fueron detectadas respuestas alométricas en la asignación de destinos meristemáticos para las variables estudiadas. En este sentido, en *G. perennis* el Esfuerzo Reproductivo sería el responsable de su tolerancia mientras que en *I. diffusa* lo sería el Esfuerzo Vegetativo. Tanto el IS como las respuestas alométricas observadas indican que un proceso de reiteración adaptativa sería la responsable de la tolerancia a glifosato en ambas especies. Sin embargo, las diferencias en la magnitud de las respuestas alométricas demuestran que las especies difieren en la capacidad de respuesta frente al efecto del herbicida glifosato. Estos resultados indican que en individuos provenientes de semillas la magnitud de la tolerancia frente al tratamiento herbicida es mayor en *G. perennis* respecto a *I. diffusa*.

INTRODUCCIÓN

Aunque en Argentina existen informes sobre la falta de efectividad del glifosato sobre *G. perennis* e *I. diffusa* (Nisenson *et al*, 2007, Puricelli & Faccini, 2009), en ningún trabajo se han analizado las variaciones estructurales inducidas por la aplicación del mencionado herbicida. La arquitectura final de una planta está determinada por el plan estructural, sus variaciones a través de las distintas etapas ontogenéticas y fenológicas, y las modificaciones que las condiciones ambientales

generan sobre las mismas (Barthélémy & Caraglio 2007). Aunque el objetivo primario del análisis arquitectural es revelar el plan genéticamente determinado para la elaboración de la estructura de la planta, el mismo puede ser utilizado para investigar cuánto puede la expresión de la arquitectura ser alterada por factores externos (Seleznyova *et al.*, 2003; Perreta, 2004). La integración de información genética, de desarrollo y de ambiente durante la decisión de producir cada nueva unidad estructural le permite a las plantas lograr un nivel elevado de plasticidad en el desarrollo (Leyser, 2009). A través de su ciclo de vida, las plantas pueden ajustar su plan estructural de acuerdo a las limitaciones ejercidas por el ambiente en el cual están creciendo. La regulación del sistema de ramificación es un buen ejemplo de esto. La decisión de dónde activar una yema axilar involucra la integración de un amplio rango de factores externos (ambientales) e internos (fisiológicos y de desarrollo) (Leyser, 2009).

La aplicación de herbicidas constituye una de las diversas limitaciones ecológicas a las que son sometidas las malezas en el agroecosistema. Este factor puede provocar una respuesta en la planta denominada “reiteración traumática” que consiste en el crecimiento y desarrollo a partir de meristemas previamente dormidos o inhibidos (en descanso) que inician un modelo similar al inicial (Hallé *et al.*, 1978; Tomlinson, 1982). Meusel *et al.* (1977), en *Cirsium acaule*, y Panigo *et al.* (2012), en *Commelina erecta* L., observaron este proceso en individuos tratados con herbicidas. En este sentido, el análisis arquitectural resulta adecuado para interpretar patrones de respuesta al tratamiento herbicida tanto en términos de morfología cuantitativa como de asignación de destinos meristemáticos, lo que permite relacionar qué características estructurales son responsables de la tolerancia.

Las especies de malezas varían en su susceptibilidad a herbicidas y hay una creciente preocupación debida al incremento de especies de difícil control con

herbicidas, ya sean resistentes o tolerantes (Mueller *et al.*, 2005). Las malezas tolerantes, al ser difíciles de controlar, provocan que se eleven las dosis o se realicen múltiples aplicaciones del herbicida y usualmente también requieren la aplicación de una combinación de herbicidas, lo que lleva a una elevada contaminación del ambiente e incremento de los costos de producción (Mueller *et al.*, 2005). Caracterizar los fenotipos tolerantes es necesario para poder relacionarlos a las bases genéticas de la tolerancia y comprender cómo mitigar estos efectos (Baucom & Holt, 2009). Aunque en el capítulo anterior, mediante ensayos dosis-respuesta, ha sido comprobada la tolerancia a glifosato de *G. perennis* e *I. diffusa*, este tipo de estudios no permiten determinar qué características estructurales son las responsables de esta respuesta. Para este fin, analizar la susceptibilidad calculada en base a parámetros estructurales permitiría cuantificar y comparar la proporción en que un individuo es afectado por el herbicida desde otra perspectiva.

Relaciones complejas e integración de características vegetativas y reproductivas no pueden ser examinadas por la simple separación de biomasa en partes reproductivas y no reproductivas (Bonser & Aarssen, 1996). Consideraciones más detalladas de funciones vegetativas y reproductivas pueden ser obtenidas interpretando el ciclo de vida en términos de producción y distribución de meristemas (Bonser & Aarssen, 2006). Según lo desarrollado anteriormente, en el Capítulo 2, el enfoque arquitectural ha mostrado ser una herramienta objetiva mediante la cual los destinos meristemáticos R (reproductivos), V (vegetativos) e I (inhibidos) pueden ser determinados. Examinar patrones de alometría entre estas variables es un método efectivo para estimar el cambio en la asignación relativa de meristemas en respuesta a diferentes condiciones de crecimiento (Müller *et al.*, 2000). La determinación de relaciones alométricas tanto para características vegetativas como reproductivas ha sido utilizada en plantas herbáceas

para revelar respuestas funcionales a diferentes disponibilidades de recursos (Bonser & Aarssen, 2003). Existe un consenso emergente en que a los patrones de distribución, los cuales fueron originalmente conceptualizados y analizados como relaciones (ej. relación materia seca tallo: materia seca raíz), es mejor analizarlos y comprenderlos alométricamente (Weiner *et al.*, 2009). La asignación de recursos en una planta es frecuentemente alométrica en un sentido amplio: la asignación cambia a medida que la planta crece. Por lo tanto, cualquier factor que afecte la tasa de crecimiento inevitablemente afectará la distribución de meristemas.

En este capítulo, datos arquitecturales serán utilizados para analizar la susceptibilidad y las respuestas alométricas relacionadas con los efectos que la aplicación del herbicida glifosato produce en la estructura aérea de *G. perennis* e *I. diffusa*. El objetivo de este trabajo es identificar cambios estructurales inducidos por el herbicida glifosato en ambas especies, teniendo en cuenta tanto el efecto sobre las características estructurales como los cambios en la asignación de destinos meristemáticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal: el estudio se realizó en plantas de *G. perennis* e *I. diffusa* obtenidas de semillas de diferentes poblaciones ubicada en campos cultivados localizados del departamento las colonias (Santa Fe, Argentina). (31°26'S; 60°56'O). Las semillas fueron germinadas en papel filtro humedecido en cajas de petri. Las plántulas fueron plantadas en macetas plásticas de 3 litros (1 planta por maceta) conteniendo arena como sustrato y regadas diariamente con solución Hoagland (100%). El ensayo fue realizado

en la sala de crecimiento de la FCA-UNL (condiciones de 14 horas de luz con $450 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa y un termoperíodo de 25/18 °C día/noche; humedad relativa de 60% ($\pm 5\%$)).

Herbicida: para este ensayo fue utilizado glifosato como sal Isopropilamina, formulación comercial al 48% (Estrella®). Para la aplicación del tratamiento herbicida se utilizó una dosis de $1200 \text{ g ia.ha}^{-1}$, equivalente a la dosis agronómica de 3 l de producto comercial por hectárea recomendada para el glifosato (CASAFE, 2005).

Aplicación del herbicida: se realizó la pulverización de glifosato cuando las plantas presentaban 10 cm de altura, según las recomendaciones agronómicas existentes para controlar a estas especies (CASAFE, 2005). El tratamiento herbicida fue aplicado usando un equipo pulverizador equipado con tanque de CO_2 para trabajo a presión constante de 200 kpa, con boquilla TeeJet 80.02.E.VS.

Representación de la estructura de ramificación: la metodología AMAPmod fue usada para representar la estructura topológica del sistema de ramificación de ambas especies utilizando un gráfico de árboles multiesca (MTGs) según lo explicado en el Capítulo 2.

Extracción y cálculo de variables: la base de datos MTG fue explorada usando el software AMAPmod y el lenguaje de modelización AML (Godin y Guedon 1999). Las siguientes variables fueron extraídas para cada categoría de ejes y para cada fecha: a) n° de unidades de inflorescencia (UIF), b) longitud total de ejes (LE), c) n° de fitómeros (FT), d) área foliar total (AF). El área foliar se estimó a partir de la ecuación de regresión obtenida previamente según la metodología expuesta en el Capítulo 2, entre el producto de la longitud (limbo más pecíolo) y el ancho (mayor distancia) de la hoja y la superficie real de la misma medida mediante el software analizador de imágenes

ImageProplus®. Las variables Esfuerzo Reproductivo (ER), Esfuerzo Vegetativo (EV) y Dominancia Apical (DA) fueron calculadas para cada especie y tratamiento según la metodología expuesta en el Capítulo 2. Las mismas fueron utilizadas para caracterizar el tipo de crecimiento de cada especie.

Análisis de Datos: para la comparación entre especies de la respuesta al efecto herbicida se utilizaron el Índice de Susceptibilidad y las relaciones alométricas entre destinos meristemáticos.

Índice de Susceptibilidad (IS): cada variable arquitectural extraída (Longitud de Ejes (LE), Número de Fitómeros (FT), Area Foliar (AF) y Número de Unidades de Inflorescencias (UIF), variables determinadas en Total y discriminados según Orden Topológico) fue utilizada para calcular el IS de cada especie, el cual fue determinado para cada variable con la siguiente fórmula (Ecuación 5.1):

$$IS_e = [(x_{ec} - x_{eh})/x_{ec}] \times 100 \quad [5.1]$$

donde IS_e es el Índice de Susceptibilidad para la especie e , x_{ec} es el valor medio para cada variable para la especie e en el tratamiento control, x_{eh} es el valor medio para cada variable para la especie e en el tratamiento herbicida. De esta manera, el IS muestra el cambio porcentual para cada variable del tratamiento herbicida con respecto al control. Es decir que valores más altos implican mayores diferencias del tratamiento herbicida con respecto al testigo. La proporción fue usada, antes que una simple diferencia en valores medios, para estandarizar el IS y facilitar su comparación.

Los datos fueron analizados mediante el test de Shapiro-Wilks para comprobar la normalidad de los mismos y la prueba de Levene fue utilizada para comprobar la

homogeneidad de varianzas. Los resultados fueron analizados mediante análisis de la varianza (ANAVA) y el test LSD de Fisher fue empleado como método de comparación de valores medios de susceptibilidad entre especies para las diferentes variables.

Asignación de destinos meristemáticos y alometría: las relaciones entre destinos meristemáticos de las variables ER, DA e IR fueron analizadas utilizando un análisis de ejes mayores estandarizados (SMA por sus siglas en inglés). El análisis SMA fue usado para determinar la pendiente de la curva de regresión y detectar respuestas alométricas.

Los meristemas de cada individuo del tratamiento testigo y con herbicida para cada especie fueron utilizados para determinar alometrías en la distribución de meristemas. Una relación alométrica significativa es producida cuando la pendiente (exponente de escalamiento) de la relación entre el logaritmo de un destino meristemático y el logaritmo de la suma de los otros dos destinos meristemáticos difiere de la isometría (Niklas, 1994). Una relación isométrica entre destinos meristemáticos indica que la distribución meristemática relativa es constante para todos los tamaños de plantas. El uso de SMA minimiza la probabilidad de conclusiones erróneas debidas a una pendiente reducida artificialmente por un modelo de regresión lineal (Clarke, 1980; Warton *et al.*, 2006). Se emplearon dos tipos de cálculos, uno para detectar el tipo de respuesta alométrica en cada especie y otro para comparar la respuesta alométrica entre especies.

Una diferencia significativa en la pendiente (b) de un SMA respecto de una pendiente conocida (β) puede ser determinada con el siguiente estadístico (Clarke, 1980; McArdle, 1988):

$$T = [\log(b) - \log(\beta)] / ((1 - r^2) / (n - 2))^{1/2} \quad [5.2]$$

donde r^2 es el cuadrado del coeficiente de correlación entre el número de meristemas asignados a un destino dado en los individuos testigos y el número asignado al mismo destino por individuos bajo herbicida en una especie. El test estadístico T [Ecuación 5.2] sigue aproximadamente una distribución “ t ” con $2 + ((n - 2)/(1+0.5 r^2))$ grados de libertad. Cuando (β) es igual a uno (el exponente de escalamiento de una relación isométrica), una diferencia significativa ($P < 0,05$) en un momento dado entre b y β indica una alometría significativa en la distribución de meristemas para la variable ensayada (ER, DA o IR). De esta manera, en función de la ecuación 5.2 se puede determinar si existe una respuesta alométrica en cada especie.

Variación en alometría entre especies es evidente si hay diferencias entre las pendientes de las relaciones alométricas de los individuos bajo el tratamiento herbicida. Una diferencia significativa entre las pendientes de los SMA (b_1 y b_2), partiendo de que cada regresión es calculada con el logaritmo de un destino meristemático vs. el logaritmo de la suma de los otros dos, es testeada utilizando la ecuación 5.3 (Clarke, 1980; McArdle, 1988):

$$T = [\log (b_1) - \log (b_2)] / [(1 - r^2_1)/n_1 + (1 - r^2_2)/n_2]^{1/2} \quad [5.3]$$

donde r^2_1 es el cuadrado del coeficiente de correlación de la relación entre la asignación a un destino meristemático vs. la suma de los otros dos para la especie 1, y r^2_2 es el cuadrado del coeficiente de correlación de la misma relación para la especie 2. El test estadístico T sigue aproximadamente una distribución “ t ” con los grados de libertad calculados según McArdle (1988). Cuando la diferencia entre pendientes no es significativa, la prueba de Wald (estadístico W) fue utilizada para determinar si existen cambios en la posición y/o elevación de los SMA (Warton et al., 2006).

RESULTADOS

Índice de Susceptibilidad:

En el análisis comparado se detectaron diferencias significativas en el IS calculado según la ecuación [5.1] entre las 2 especies para las variables arquitecturales estudiadas. Los valores medios del IS para *G. perennis* e *I. diffusa* y las diferencias mínimas significativas se encuentran en la Tabla 5.1. Puede observarse que todos los IS correspondientes al análisis de los parámetros en la planta entera (TOT; Tabla 5.1) de las dos especies muestran valores cercanos o superiores al 50 %, a excepción del FT de *G. perennis*, mostrando un efecto importante sobre la arquitectura de la dosis utilizada en este ensayo. Sin embargo, en ningún caso se observó muerte de ejemplares tratados.

Tabla 5.1 – Valores medios del Índice de Susceptibilidad (IS) al glifosato de *G. perennis* e *I. diffusa* para las variables Longitud de Ejes (LE), número de Fitómeros (FT), área foliar (AF) y número de unidades de inflorescencias (UIF). Para cada variable se muestran los valores del IS teniendo en cuenta el Total (TOT) y discriminado para Eje Principal (EP), Ejes de 1^{er} orden (O1) y Ejes de 2^{do} orden (O2). DE: desvío estándar. Valores en negrita indican diferencias significativas entre especies para cada variable y topología mediante el test LSD de Fisher. DMS: diferencia mínima significativa a 0,01 nivel de significación. *F*: valor calculado del test de *F* y *P*: significancia estadística de *F*.

Variable	Topología	<i>G. perennis</i>		<i>I. diffusa</i>		<i>F</i>	<i>P</i>	DMS
		IS	DE	IS	DE			
LE	TOT	69,83	6,48	87,44	6,6	21,74	< 0,001	11,96
	EP	51,58	3,39	78,01	3,59	171,77	< 0,001	6,39
	O1	71,08	3,13	91,07	4,28	85,26	< 0,001	6,86
	O2	67,22	16,57	80,58	35,96	0,80	0,396	47,29
FT	TOT	42,43	13,01	70,6	13,8	13,24	0,004	24,53
	EP	4,75	6,9	27,23	9,95	20,68	0,001	15,66
	O1	31,33	7,28	63,88	8,67	49,54	< 0,001	14,65
	O2	44,85	9,67	78,9	13,61	24,95	0,005	21,6
AF	TOT	56,87	8,81	80,19	7,65	23,93	< 0,001	15,1
	EP	31,9	2,77	59,95	5,14	138,52	< 0,001	7,55
	O1	49,75	1,67	86,19	4,96	290,93	< 0,001	6,76
	O2	78,59	9,7	80,02	18,36	0,03	0,869	26,87
UIF	TOT	53,04	12,3	93,82	7,52	48,00	< 0,001	18,65
	EP	13,33	6,32	100	0	169,00	< 0,001	21,13
	O1	33,96	2,78	98,6	1,68	237,80	< 0,001	4,2
	O2	53,52	10,07	95,06	6,01	75,35	< 0,001	15,16

Asignación de destinos meristemáticos y alometría:

Los coeficientes de SMA obtenidos para ER, EV y DA de cada especie se encuentran en la Tabla 5.2.

El ER (Figura 5.1a) mostró una correlación positiva en ambas especies. Tanto para *G. perennis* como *I. diffusa* se detectaron respuestas alométricas significativas ($T = 159,6$; $P < 0,0001$; Ecuación [5.2]). La magnitud de la pendiente de la relación alométrica entre destinos meristemáticos para ER no mostró diferencias significativas entre especies ($T = 2,488$; $P = 0,115$ Ecuación [5.3]). Sin embargo, si mostraron diferencias significativas en la comparación de la elevación ($W = 347,4$; $P < 0,0001$) como también en la ubicación ($W = 57,59$; $P < 0,0001$). La magnitud de la pendiente para el ER fue significativamente mayor a 1 tanto en *G. perennis* ($r^2 = 0,69$; pendiente = 1,83 ; Intervalo de Confianza (IC) 95% = [1,58 ; 2,11] ; $P < 0,0001$) como en *I. diffusa* ($r^2 = 0,88$; pendiente = 2,09 ; IC 95% = [1,92 ; 2,29] ; $P < 0,0001$).

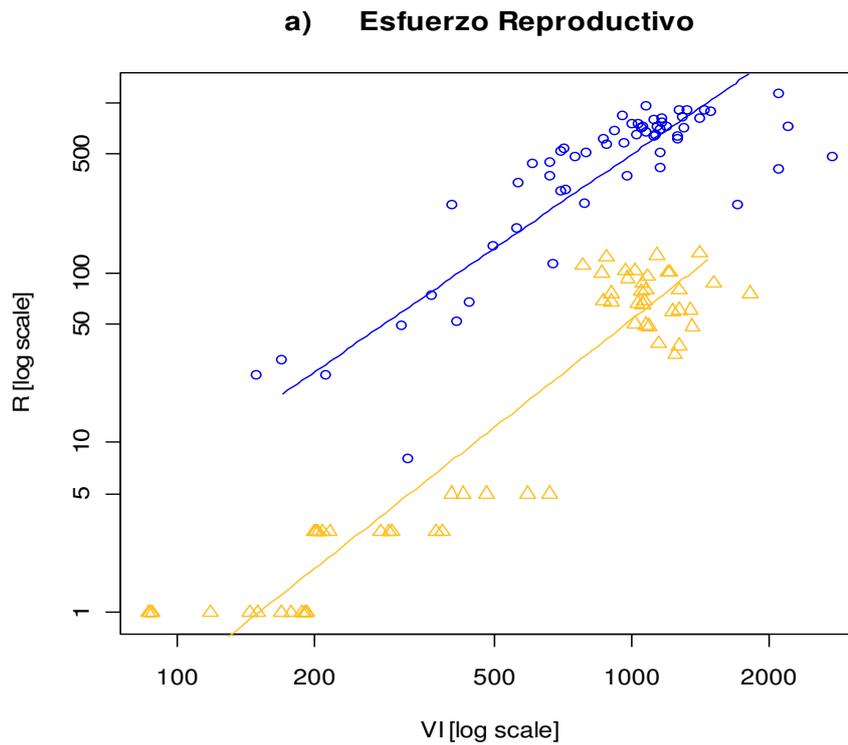
El EV (Figura 5.1b) mostró una respuesta alométrica debida al tratamiento herbicida en *I. diffusa*, pero en *G. perennis* la respuesta fue isométrica. La magnitud de la pendiente para el EV fue significativamente menor a 1 para *I. diffusa* ($r^2 = 0,98$; pendiente = 0,91 ; IC 95% = [0,88 ; 0,94] ; $P < 0,0001$), mientras que en *G. perennis* la pendiente no fue significativamente diferente de 1 ($r^2 = 0,90$; pendiente = 1,079 ; IC 95% = [0,99 ; 1,17] ; $P = 0,07$). Además, la magnitud de la pendiente de la relación entre destinos meristemáticos para EV mostró diferencias significativas entre ambas especies ($T = 12,61$; $P = 0,00038$; Ecuación [5.3]).

La DA (Figura 5.1c) mostró una respuesta alométrica con el tratamiento herbicida en ambas especies. Tanto para *G. perennis* como *I. diffusa* se detectaron respuestas alométricas significativas ($T = 49,29$; $P < 0,0001$; Ecuación [5.2]). La

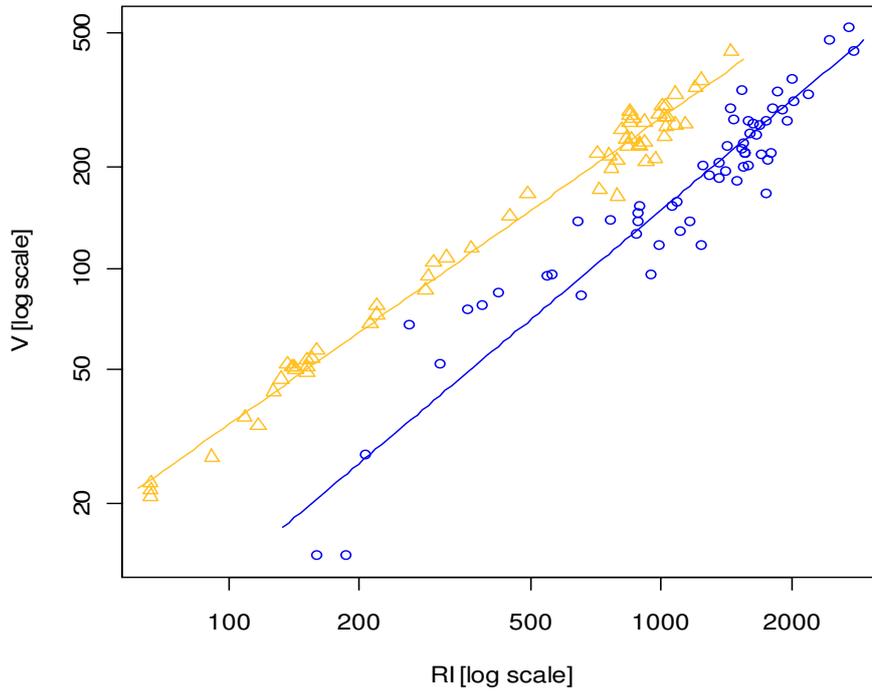
magnitud de la pendiente para el DA fue significativamente menor a 1 tanto para *I. diffusa* ($r^2 = 0,98$; pendiente = 0,94; IC 95% = [0,91 ; 0,97] ; $P < 0,0001$), como para *G. perennis* ($r^2 = 0,78$; pendiente = 0,649 ; IC 95% = [0,57 ; 0,73] ; $P < 0,0001$). Además, se detectaron diferencias significativas en la magnitud de la pendiente entre ambas especies ($T = 28,38$; $P < 0,0001$; Ecuación [5.3]).

Tabla 5.2 Coeficientes de SMA determinados en *G. perennis* e *I. diffusa* para las diferentes relaciones entre destinos meristemáticos (Esfuerzo Reproductivo (ER), Esfuerzo Vegetativo (EV) y Dominancia Apical (DA)).

	<i>G. perennis</i>		<i>I. diffusa</i>	
	elevación	Pendiente	elevación	pendiente
ER	-2,79549	1,83027	-4,5614	2,0951
EV	-1,06494	1,07981	-0,2887	0,9121
DA	1,04974	0,64927	0,5564	0,9421



b) Esfuerzo Vegetativo



c) Dominancia Apical

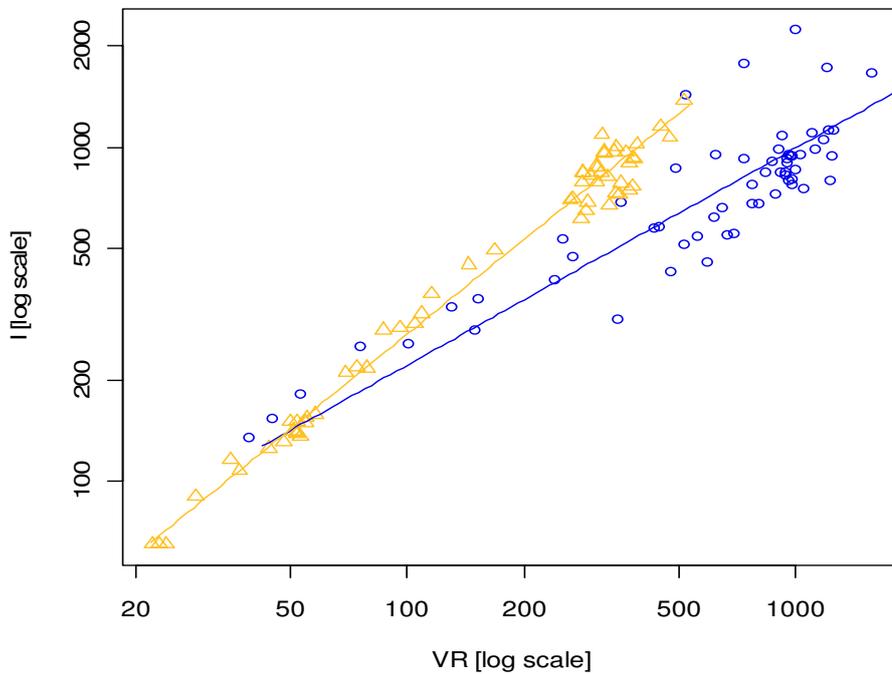


Figura 5.1 – Modelos de ejes mayores estandarizados (SMA) de las relaciones alométricas: a) Esfuerzo Reproductivo (en página anterior), b) Esfuerzo Vegetativo y c) Dominancia Apical. *Gomphrena perennis* (datos = \circ , modelo SMA ajustado a los datos = línea azul) e *I. diffusa* (datos = Δ , modelo SMA ajustado a los datos = línea amarilla). R: meristemas que desarrollaron estructuras reproductivas, V: meristemas que desarrollaron estructuras vegetativas, I: meristemas inhibidos que no desarrollaron estructuras.

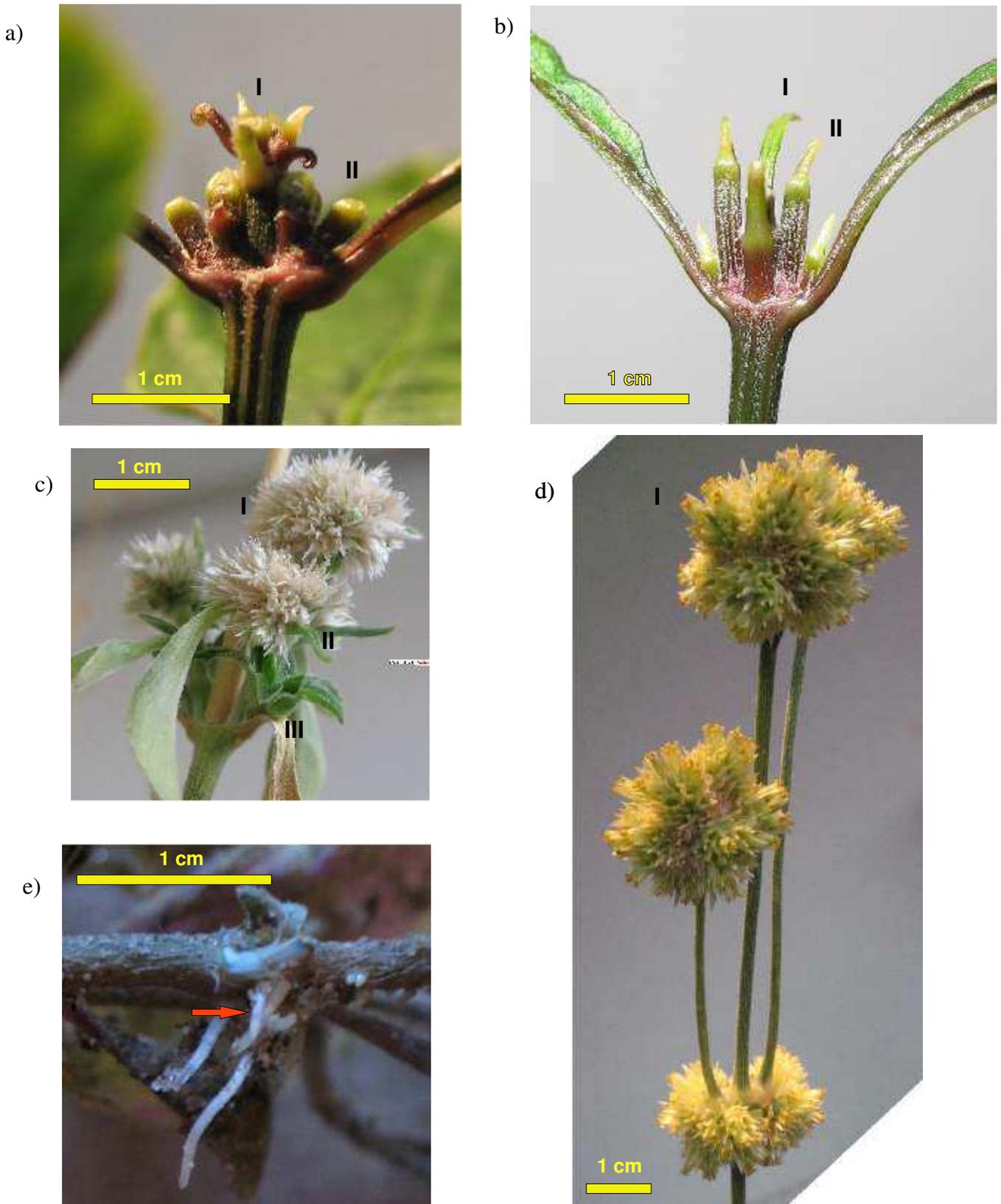


Lámina 5.1 - Detalle de algunos efectos del glifosato que se observaron durante los experimentos. a) y b) Yema apical (I) del eje principal de *I. diffusa* que no llegó a producir estructura reproductivas, y yemas axilares (II) que quedaron inhibidas por el efecto del glifosato; c) UIF axilar (I), UIF accesoria (II) y rama accesoria (III) en *G. perennis*; d) Ápice del eje principal en *G. perennis* presentando su UIF correspondiente (I); e) raíces adventicias (flecha) en un nudo de un eje de primer orden de *G. perennis* (única observación en todos los ensayos).

DISCUSIÓN

La tolerancia a herbicida ha sido definida como la capacidad de una maleza de sobrevivir y reproducirse luego de la aplicación del agroquímico a la dosis agronómica recomendada (WSSA, 1998). En nuestro estudio, todos los individuos de ambas especies sobrevivieron al tratamiento herbicida. Sin embargo, los resultados del IS obtenido para las diferentes variables estudiadas muestran que, comparativamente, *G. perennis* es menos afectada que *I. diffusa*. El desarrollo de los individuos de *I. diffusa* bajo el tratamiento herbicida fue fuertemente afectado en la producción de UIF (IS > 90 %), incluso ningún eje principal llegó a florecer (IS = 100; Tabla 5.1), lo cual muestra que la posibilidad de alcanzar la reproducción sexual, aunque no está inhibida, resulta muy afectada por el glifosato para esta especie. Se ha reportado que *Abutilon theophrasti* Medik. sufre una reducción de biomasa del 90% luego de una aplicación de 0,84 kg ia.ha⁻¹ de glifosato en comparación con plantas no tratadas; sin embargo las plantas producen estructuras reproductivas y semillas viables (Hartzler & Battles, 2001). Por otra parte, según los resultados expuestos en el Capítulo 2, *I. diffusa* posee individuos que duplican en altura y poseen mayor longitud de ejes de 1^{er} orden respecto a *G. perennis*. Sin embargo, teniendo en cuenta características vegetativas, para *I. diffusa* se obtuvieron valores de IS superiores al 80% para las mencionadas variables, por lo cual es posible indicar que gran parte su habilidad competitiva esta significativamente reducida por el efecto del glifosato. *Gomphrena perennis* es afectada por el herbicida, pero los valores medios del IS son siempre significativamente menores a los de *I. diffusa*. Aunque ambas especies han sido citadas como malezas tolerantes a glifosato, sólo han sido caracterizadas en función de ensayos dosis-respuesta (Nisensohn *et al.*, 2007; Puricelli *et al.*, 2008; Puricelli & Faccini, 2009), y estos resultados sugieren que *I. diffusa* posee mayor tolerancia a glifosato que *G. perennis*.

Sin embargo, los ensayos dosis-respuesta ampliamente utilizados para caracterizar la respuesta de una maleza frente a herbicidas, generalmente carecen de descripciones morfológico-arquitecturales de las plantas involucradas en el estudio y se limitan a realizar comparaciones teniendo en cuenta preferentemente la biomasa total producida. De esta manera, los resultados obtenidos mediante el IS calculado sobre variables estructurales permiten demostrar que, cuantitativamente, *G. perennis* es menos susceptible al tratamiento herbicida y, aunque es afectada su capacidad de generar estructuras reproductivas, la aplicación de glifosato no le impediría reproducirse sexualmente ya que desarrolla el 50% de las UIF totales respecto al testigo no tratado.

En ecología la tolerancia ha sido definida como una característica que no previene a la planta de ser dañada, pero le permite compensar el daño producido por algún factor externo (Mauricio, 2000). Los patrones de asignación de destinos para cada yema deberían representar la estrategia de las plantas para maximizar su aptitud a diferentes ambientes debido a que la asignación relativa para cada destino potencial directamente controla la asignación hacia características relacionadas a la aptitud tales como crecimiento y reproducción (Bonser & Aarssen, 1996). Diferencias en la acumulación relativa de un destino de meristemas (por ej. R) en relación a la acumulación de los otros destinos de meristemas (por ej. I + V) entre tratamientos resulta en cambios en las relaciones alométricas entre los mismos (Bonser & Aarssen, 1996). De esta manera, las plantas cambian la asignación relativa hacia diferentes destinos de meristemas en respuesta a cambios en el ambiente en el cual se desarrollan. Debido a que el glifosato es un herbicida que afecta principalmente zonas meristemáticas (Sprankle *et al.*, 1975; Claus & Behrens, 1976; Gougler & Geiger, 1981; Duke, 1996), en plantas tolerantes a este herbicida una respuesta alométrica entre destinos meristemáticos es esperable. Tanto en *G. perennis* como en *I. diffusa* fueron

detectadas respuestas alométricas para las variables estudiadas. Sin embargo, los coeficientes de alometría (Tabla 5.2) fueron significativamente diferentes entre ambas especies. Estos resultados podrían indicar que el tipo y/o magnitud de la tolerancia, expresada en términos de respuesta alométrica frente al tratamiento herbicida, es diferente en *G. perennis* respecto a *I. diffusa*.

Para el ER, teniendo en cuenta los coeficientes de alometría, no pudieron ser detectadas diferencias entre especies en la pendiente pero sí en su elevación y ubicación. Estos resultados muestran que en términos relativos en *G. perennis* existe una mayor asignación de meristemas a reproducción tanto bajo el tratamiento herbicida como en el control. Además, la diferencia en elevación y ubicación indicaría que ambas especies se diferencian en el umbral de meristemas vegetativos producidos para asignar recursos hacia reproducción. Ha sido demostrado que en plantas con multiplicación vegetativa los meristemas reproductivos no alcanzan niveles lo suficientemente elevados que puedan llegar a comprometer el desarrollo vegetativo (Huber & During, 2001). La mayoría de las plantas deben alcanzar un tamaño mínimo antes de empezar a generar estructuras reproductivas (Silvertown, 1991; Bonser & Aarssen, 2009). Diferencias en el tamaño para reproducción tiene importantes implicancias para la adaptación de plantas en diferentes ambientes. Condiciones ambientales que limitan el crecimiento o incrementan la tasa de mortalidad pueden favorecer a especies que comienzan la reproducción a tamaños relativamente menores (Bonser & Aarssen, 2009). Por lo tanto, el disturbio ocasionado por la aplicación de herbicidas podría favorecer a especies como *G. perennis* ya que posee mayor asignación de meristemas a la reproducción a tamaños relativamente menores a los de *I. diffusa*, al menos en lo que respecta a los individuos provenientes de semillas. Además, bajo el tratamiento herbicida hubo una gran proporción de individuos de *I. diffusa* que no desarrollaron estructuras reproductivas.

Esto podría estar relacionado a los resultados obtenidos para el EV. La línea de regresión para EV en *I. diffusa* muestra que relativamente asigna más meristemas hacia el crecimiento vegetativo respecto a *G. perennis*. Además, en *I. diffusa* se observa una respuesta alométrica menor a 1 para el EV, mientras que en *G. perennis* no se observó una respuesta que se diferencie de la isometría. Estos resultados indican que bajo el efecto del glifosato *I. diffusa* prioriza la asignación de meristemas hacia estructuras vegetativas, lo que no ocurre en *G. perennis*. Ha sido señalado para casos de plantas que se reproducen sexualmente pero que también cuentan con algún tipo de reproducción vegetativa, que bajo condiciones desfavorables priorizan la clonación a la producción de estructuras reproductivas (Körner, 2004). En este sentido, la capacidad de multiplicarse vegetativamente mediante estolones de *I. diffusa* estaría en concordancia con los resultados obtenidos. La alometría significativa indica que bajo efectos del tratamiento herbicida esta especie estaría asignando mayor proporción de meristemas hacia el crecimiento vegetativo.

Teniendo en cuenta la DA, en *G. perennis* se observa que la magnitud de la respuesta alométrica es diferente a la de *I. diffusa*, cuya respuesta alométrica, aunque es significativa, está mucho más cercana a la isometría. Debido a que el glifosato es un herbicida que afecta principalmente zonas meristemáticas (Sprankle *et al.*, 1975; Claus & Behrens, 1976; Gougler & Geiger, 1981; Duke, 1996), además se puede indicar que *I. diffusa* es más afectada ya que bajo el efecto herbicida se observa en la Figura 5.1c que existe mayor inhibición de meristemas en esta especie que en *G. perennis*.

La variabilidad en la magnitud de las respuestas alométricas entre ambas especies demuestra que las plantas difieren en su capacidad de respuesta frente al efecto del herbicida glifosato, lo que se corresponde con la diferente susceptibilidad de ambas especies teniendo en cuenta las características morfométricas. En este sentido, en *G.*

perennis el ER sería el responsable de su tolerancia mientras que en *I. diffusa* sería el EV. Es importante remarcar que *I. diffusa* aunque sería más susceptible al glifosato que *G. perennis*, presenta un EV alométrico, razón por la cual la tolerancia estaría relacionada a su desarrollo vegetativo. Ha sido reportado que *I. diffusa* es una especie invasiva en sucesiones secundarias en diferentes regiones del mundo (Kellman, 1980; Castillo & Moreno-Casasola, 1996; Sanchez del Pino *et al.*, 1999; Toledo & Salick, 2006; Ferri *et al.*, 2009; Mas *et al.*, 2010). Sin embargo, existen estudios que determinaron una falta de correspondencia en los campos invadidos con esta especie y presencia de sus diásporas al analizar el banco de semillas, por lo que se indicó que las semillas serían las responsables de llegar a una zona pero la invasividad de esta especie en esos campos sería consecuencia de la multiplicación vegetativa (Etchepare & Boccanelli, 2007).

Ha sido citado que bajo la aplicación de herbicidas algunas especies presentan una respuesta que se denomina “reiteración traumática”. Malpassi (2004) determinó que el comportamiento y ubicación de yemas laterales y accesorias en *Portulaca oleracea* L. son las responsables de que plántulas tratadas con herbicidas puedan continuar su crecimiento a través del desarrollo de meristemas que se encontraban previamente dormidos o inhibidos. Esta reiteración de tipo oportunística (Barthélémy & Caraglio, 2007) se debe al desarrollo de yemas que estaban inhibidas pero que, debido al daño producido por el herbicida se activan y repiten la estructura de la planta dañada. Los resultados obtenidos para *G. perennis* e *I. diffusa* sugieren que este tipo de respuesta por reiteración no sucede. La reiteración no debería involucrar una respuesta alométrica en la distribución de meristemas ya que sólo “repite” la arquitectura del individuo. Probablemente, este tipo de respuesta se obtenga con herbicidas con diferente modo de acción, los denominados “de contacto”, como es el caso del herbicida Lactofen utilizado

en *P. oleracea* estudiada por Malpassi (2004). Estos herbicidas sólo dañan las partes de la planta que interceptan la pulverización por lo cual sería posible que las plantas puedan rebrotar rápidamente desde las yemas no afectadas y reiterar la estructura dañada (Figura 5.2). En el caso de plantas tolerantes a glifosato, herbicida que se redistribuye dentro de la planta, es posible que ocurra una reiteración de tipo adaptativa, según la definición expuesta por Barthélémy & Caraglio (2007). Este concepto involucra una respuesta debido a la limitación de recursos que genera un cambio en condiciones ambientales (en nuestro caso el herbicida) y no a la pérdida de estructuras vegetativas como es el caso de la reiteración traumática. Un proceso de reiteración traumática, al inducir el desarrollo de yemas inhibidas para reiterar la estructura dañada debería modificar el orden topológico de ejes, debido a que la estructura se genera desde yemas axilares (Figura 5.2).

Una respuesta de tipo traumática podría ser caracterizada al analizar el IS para cada orden de ramificación, debido a que debería disminuir la susceptibilidad ($< IS$) al incrementar el orden de ramificación. Es decir, si la estructura dañada es un eje de 1^{er} orden, el proceso de reiteración traumático va a dar origen a una estructura similar (reiterada) pero topológicamente será un eje de 2^{do} orden, ya que surge desde yemas axilares del eje portador (Figura 5.2). En este ejemplo, aunque el IS para el eje de 1^{er} orden sea alto (estructura dañada), el IS para el eje de 2^{do} orden debería disminuir (estructura reiterada). Sin embargo, al observar los resultados del IS, tanto para *G. perennis* como *I. diffusa*, se observa que a mayor orden de ramificación existe un mayor IS (Tabla 5.1). Esta tendencia indicaría que la reiteración no es de tipo traumática. Esto, sumado a la respuesta alométrica detectada que implica un cambio adaptativo en la distribución de meristemas, permite indicar que posiblemente una reiteración de tipo adaptativa sería la responsable de la tolerancia en ambas especies.

reiteración traumática



desarrollo normal



reiteración adaptativa

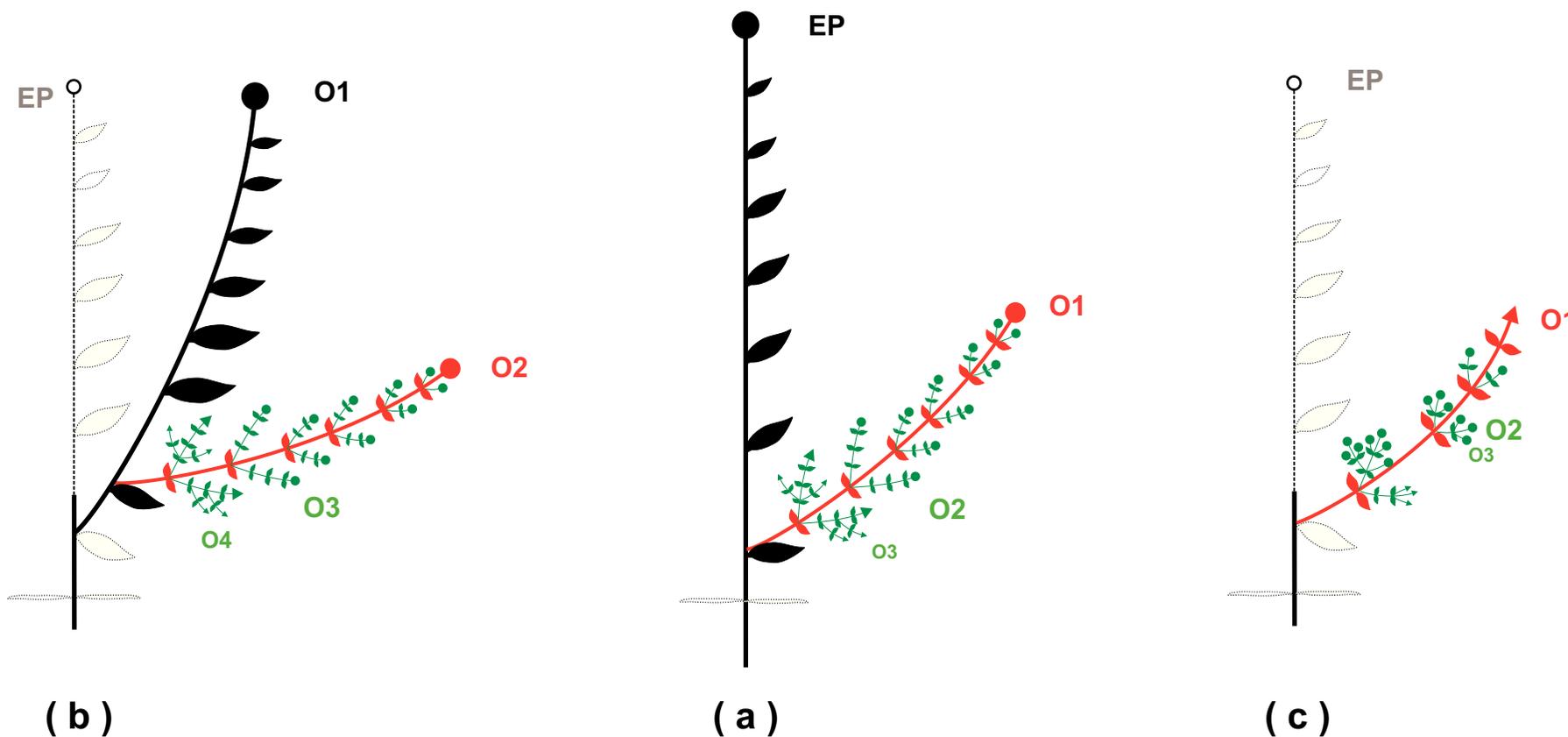


Figura 5.2 - Esquemas de los procesos de reiteración traumática (b) y reiteración adaptativa (c), respecto al desarrollo normal de la planta (a) . En el caso de una reiteración traumática se observa el desplazamiento de las categorías de ejes (categoría de ejes identificada según color, ver referencias mas abajo) respecto al orden de ramificación original (orden topológico indentificado según sigla, ver referencias mas abajo). En el caso de una reiteración adaptativa no ocurrirá modificación del orden topológico para cada categoría de eje pero existe una diferente distribución relativa de destinos meristemáticos expresada por una mayor cantidad de estructuras reproductivas y menor cantidad de yemas desarrolladas respecto a la ramificación original. A los fines didácticos solamente se representa un ortóstico del EP y el desarrollo de una yema axilar del EP.

Referencias - categorías de ejes: — Eje A1, — Eje A2, — Eje A3; destino de yema desarrollada: —● reproductivo, —➔ vegetativo; ubicación topológica de ejes: eje epicotilar (EP), eje 1^{er} orden (O1), eje 2^{do} orden (O2), eje 3^{er} orden (O3), eje 4^{to} orden (O4). Estructuras en línea entrecortada indica estructura dañada.

CONCLUSIÓN

La morfología de una especie bajo el efecto de un herbicida puede ayudar a definir el grado de tolerancia de una maleza. El análisis arquitectural comparativo permitió determinar las características morfológicas que son las responsables de la tolerancia a herbicida. Además permitió identificar el tipo de respuesta que caracteriza a cada especie. Mientras que *G. perennis* prioriza la producción de estructuras reproductivas en *I. diffusa* la producción de UIF resulta fuertemente inhibida. Sin embargo, esta última especie responde alométricamente priorizando estructuras vegetativas al ser expuesta al herbicida.

Los resultados del IS indican que, al considerar individuos desarrollados a partir de semillas, *G. perennis* es menos susceptible al herbicida que *I. diffusa*. Sin embargo, es importante remarcar que *I. diffusa* presenta un EV alométrico, razón por la cual la tolerancia de esta última estaría relacionada a su desarrollo vegetativo. Además, tanto el IS como las respuestas alométricas observadas indican que un proceso de reiteración adaptativa sería la responsable de la tolerancia a glifosato en ambas especies. Debido a que *I. diffusa* posee la capacidad de multiplicarse vegetativamente será necesario conducir en el futuro estudios que determinen la efectividad del herbicida sobre individuos clonados para así poder establecer qué importancia tiene este tipo de reproducción en la dinámica poblacional de esta especie en campos cultivados con aplicaciones intensivas de glifosato.

Capítulo 6

Análisis arquitectural comparativo entre poblaciones de *G. perennis* de hábitats silvestres y agrícolas

Resumen

En este capítulo se analizaron parámetros arquitecturales que diferencian a dos poblaciones de *G. perennis* provenientes de diferentes ambientes, agrícola (SJ) vs. silvestre (VR), y se relacionaron las características estructurales con la respuesta obtenida frente a la aplicación del herbicida glifosato. Hasta el momento de aplicación del herbicida los individuos de VR y SJ no se diferencian en la mayoría de las variables arquitecturales analizadas. Sin embargo, luego de la aplicación, en etapas de crecimiento más avanzadas (plena floración), ambas poblaciones se diferencian de manera significativa en sus variables arquitecturales, tanto los testigos como en la respuesta al herbicida. *Gomphrena perennis* parece haberse adaptado a una situación agrícola particular, diferenciando genotipos con elevada tolerancia a glifosato (SJ) al ser comparada con poblaciones desarrolladas en condiciones poco disturbadas (VR). Las diferencias arquitecturales determinadas permiten considerar a estas poblaciones como ecotipos diferentes. Sin embargo, las diferencias en la arquitectura cuantitativa entre VR y SJ sugieren que estas características pueden estar relacionadas no solamente con la mayor tolerancia al glifosato sino también con una adaptación a un ambiente agrícola, en el cual el glifosato aunque es un elemento del agroecosistema de gran importancia, no es el único.

INTRODUCCIÓN

Las malezas representan un material ideal para el estudio de la adaptación y evolución debido a su dispersión desde ambientes naturales hacia los relativamente recientes y nuevos tipos de hábitats agrícolas (Baker, 1974). La incursión o colonización en un hábitat agrícola seguido por un incremento de tamaño poblacional o densidad de una o varias especies de malezas puede resultar en poblaciones que alcancen a ocasionar perjuicios económicos para la actividad agrícola (Putwain *et al.*, 1982). El proceso de adaptación que ocurre en “malezas” puede ser entendido teniendo

en cuenta tres características básicas de poblaciones de plantas: 1) variación genética, 2) sistema de cruzamiento y 3) fuerzas selectivas impuestas en las poblaciones de malezas por las prácticas agrícolas (Cousens & Mortimer, 1995). Varios atributos propios le permiten a las especies adaptarse y prosperar en los agroecosistemas: crecimiento rápido, maduración temprana, alta asignación de recursos a reproducción y facultad de rebrotar desde sus estructuras de perennización (Patterson, 1985). Es decir, en primera instancia, la aparición de una maleza en un ambiente disturbado es simplemente la explotación de un ecosistema que resulta favorable para aquellos “genotipos preadaptados”; subsecuentemente, por selección estos genotipos se pueden modificar substancialmente (Guglielmini *et al.*, 2007). Los agroecosistemas difieren de los ambientes naturales de donde provienen las malezas en varios aspectos. Se ha sugerido que los hábitat agrícolas son ambientalmente más homogéneos que los ambientes naturales debido a la predicción asociada al tipo de laboreo del suelo, siembra de cultivos, momento de cosecha y otras características ambientales (Barrett, 1991). La competencia que ejerce un cultivo, es un hecho predecible, comparado con una sucesión natural; la presión de selección que ejerce el control de las malezas por los herbicidas o por un arado también difiere de aquellos factores naturales de mortalidad en el ambiente natural (Cousens & Mortimer, 1995). Así, el disturbio ocasionado por las actividades agrícolas selecciona de la flora silvestre no solamente especies preadaptadas sino también ciertos genotipos preadaptados. Estos genotipos potencialmente pueden constituir los ancestros desde los cuales van a evolucionar biotipos o ecótipos de malezas de una misma especie (Guglielmini *et al.*, 2007). El proceso mediante el cual una especie silvestre de un lugar determinado se convierte en una maleza pasa desapercibido, en general, hasta el momento en que se expande y se convierte en problemática.

La comprensión o entendimiento de la adaptación de especies a hábitats agrícolas puede resultar en un mejor manejo de malezas (Jordan & Jannink, 1997). Mohler (2001) señala que en malezas, encontrar ecótipos bien diferenciados no es algo poco común. La diferenciación de ecótipos adaptados a ambientes agrícolas ha sido reportada para algunas especies, como *Senecio vulgaris* L. (Leiss & Müller-Schärer, 2001) y *Stellaria media* (L.) Cirillo (Sobey, 1987). Las fertilizaciones, barbechos, tipos de cultivos y, en el caso particular de la soja resistente a glifosato (RG), las aplicaciones intensivas de glifosato son disturbios ocasionados en los sistemas de producción de cultivos extensivos actuales y que pueden ser la causa de la diferenciación de genotipos de malezas.

Los resultados obtenidos en los ensayos dosis-respuesta (DR), expuestos en el Capítulo 4, al comparar las poblaciones agrícola (SJ) y silvestre (VR) de *G. perennis* permitieron demostrar que se diferencian en su nivel de tolerancia frente al herbicida. Sin embargo, mediante ensayos dosis-respuesta (DR) sólo se tiene en cuenta el peso seco final (variable respuesta) por lo que no es posible distinguir si estas poblaciones poseen características morfológicas que las diferencien y puedan ser consideradas ecotipos diferentes. Además, cuando se realizan ensayos DR, los individuos son caracterizados en el momento de aplicación del herbicida solamente de manera cualitativa (por ejemplo “estado de 4 hojas expandidas” o “10 cm de altura aproximadamente”) sin realizar mediciones que permitan cuantificar objetivamente la similitud en la morfometría de las mismas. La metodología del análisis arquitectural permite el seguimiento dinámico de un individuo de manera no destructiva y permite caracterizar objetivamente las diferencias cuantitativas entre individuos en diferentes momentos de su desarrollo. Aunque la estructura de una planta resulta de procesos repetitivos (White, 1979; Barthélémy, 1991), el crecimiento y desarrollo de una planta

varía en función de factores oportunistas y factores deterministas, y de sus interacciones. Mientras los factores deterministas (o genéticos) predisponen a una planta hacia una arquitectura específica, los componentes oportunistas causan su modificación en respuesta al ambiente (Seleznayova *et al.*, 2002; Segura *et al.*, 2009). Como fue expuesto en el capítulo anterior, el análisis arquitectural resulta adecuado para su aplicación en ensayos DR, al complementar los resultados obtenidos mediante datos morfológicos cuantitativos y caracterizar los individuos bajo condiciones de crecimiento no limitantes o bajo el efecto de una fuerte limitación a su crecimiento como es la aplicación de un herbicida. Debido a la diferente respuesta de las poblaciones de *G. perennis* en los ensayos dosis-respuesta, la arquitectura de individuos de la población Vera (VR, hábitat silvestre) y de la población San Justo (SJ, hábitat agrícola) es abordada comparativamente en este capítulo. Nuestro objetivo fue analizar los parámetros arquitecturales que diferencian las mencionadas poblaciones de *G. perennis* y relacionar estas características estructurales con la respuesta obtenida frente a la aplicación del herbicida glifosato.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal: se utilizaron las 2 poblaciones de *G. perennis* (SJ y VR; Lámina 6.1) según la metodología expuesta en el Capítulo 4. Semillas de ambas poblaciones fueron germinadas en papel filtro humedecido en cajas de petri. Las plántulas fueron transplantadas en macetas plásticas de 1 litro (1 planta por maceta) conteniendo como sustrato arena y regadas diariamente con solución Hoagland (100%). El ensayo fue realizado en la sala de crecimiento de la FCA-UNL (condiciones de 14 horas de luz con



Lámina 6.1 - Diferentes ambientes en los cuales fueron coleccionados los diferentes ecotipos de *G. perennis*. a) y b) hábitats naturales en el departamento Vera (Pcia. de Santa Fe). c) y d) hábitas agrícolas con soja resistente a glifosato en departamento San Justo (Pcia. de Santa Fe).

450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación fotosintéticamente activa y un termoperíodo de 25/18 °C día/noche; humedad relativa de 60% ($\pm 5\%$). El experimento se realizó con un total de 128 plantas. Se trabajó con 16 plantas para cada condición en cada ensayo, siendo que para cada ecotipo (SJ y VR) se utilizó la condición testigo (Tg = sin aplicación de herbicida) y glifosato (glph = tratamiento herbicida). El ensayo fue repetido 2 veces y los datos fueron combinados para su análisis (32 plantas para cada ecotipo y condición; total 128 plantas).

Para la generación de la ecuación de calibración del Índice de Verdor (IndVrd) con el contenido de clorofila (ver más adelante), debido a que este experimento es destructivo, fueron utilizados individuos obtenidos desde semillas de las mismas poblaciones sembrados para este fin (25 para cada población y tratamiento herbicida), de los cuales fueron extraídas secciones de hojas del eje principal según se menciona más abajo en la descripción de este análisis.

Herbicida: fue usado glifosato como sal Isopropilamina, formulación comercial al 48% (Estrella®). Para el tratamiento herbicida se utilizó una dosis de 1200 g ia.ha⁻¹, equivalente a la dosis agronómica de 3 L de producto comercial por hectárea recomendada para el glifosato (CASAFE, 2005). El tratamiento herbicida fue aplicado en ambas poblaciones a los 30 días desde la emergencia, usando un equipo pulverizador equipado con tanque de CO₂ para trabajo a presión constante de 200 kpa, con boquilla TeeJet 80.02.E.VS.

Representación de la estructura de ramificación: ver metodología Capítulo 2.

Datos Arquitecturales: la base de datos MTG fue explorada usando el software AMAPmod y el lenguaje de modelización AML (Godin & Guedon, 1999). Se trabajó comparativamente con 3 fechas que se corresponden con 15, 30 y 51 días desde la emergencia de plántulas. Debido a que a los 30 días desde la emergencia se realizó la

aplicación de glifosato, para una mejor presentación de los resultados las fechas fueron expresadas respectivamente como 15 DAA (15 días antes de la aplicación herbicida), MA (momento de aplicación de glifosato) y 21 DDA (21 días desde la aplicación de herbicida glifosato). Las variables a) n° de unidades de inflorescencia (UIF), b) longitud de ejes (LG), c) n° de fitómeros (FT) y d) área foliar (AF) fueron extraídas para cada categoría de ejes y para cada fecha según lo expuesto en metodología del Capítulo 2. Además, se trabajó con datos de AF y UIF para cada rango (Rk, rango=nudo) del eje principal, siendo Rk0 el nudo cotiledonar, y Rk1 a Rkn el nudo 1 a n del eje principal. El AF por rango del EP representa el área foliar unifacial de sus respectivas hojas (mm²), mientras que el número de UIF por rango del eje principal representa todas las UIF producidas por las ramificaciones originadas desde las yemas axilares de cada rango respectivo.

Análisis del Índice de verdor (IndVrd): para las hojas ubicadas en los rangos 3 (Rk3), 4 (Rk4) y 5 (Rk5) del eje principal, de ambas poblaciones y condiciones (testigo y tratamiento herbicida), se tomaron mediciones utilizando el clorofilómetro SPAD-502. Los valores fueron registrados para los días 0 (T1), 5 (T2), 10 (T3), 15 (T4) y 20 (T5) desde el momento de aplicación de glifosato. Todas las mediciones con SPAD, que corresponden al denominado IndVrd, fueron obtenidas en el día respectivo luego de 7 horas de luz (mediodía a un fotoperíodo de 14 hs en sala de crecimiento). El lado adaxial de la hoja fue siempre ubicado hacia la ventana de emisión del haz de luz del instrumento y siempre fue evitada la vena media de la hoja. Se tomaron 6 mediciones por hoja (una a cada lado de la vena media del tercio inferior, medio y superior; lámina 6.2). El valor SPAD utilizado en el análisis corresponde al promedio de las 6 mediciones para cada hoja. El criterio de selección de las hojas se basó en el hecho de

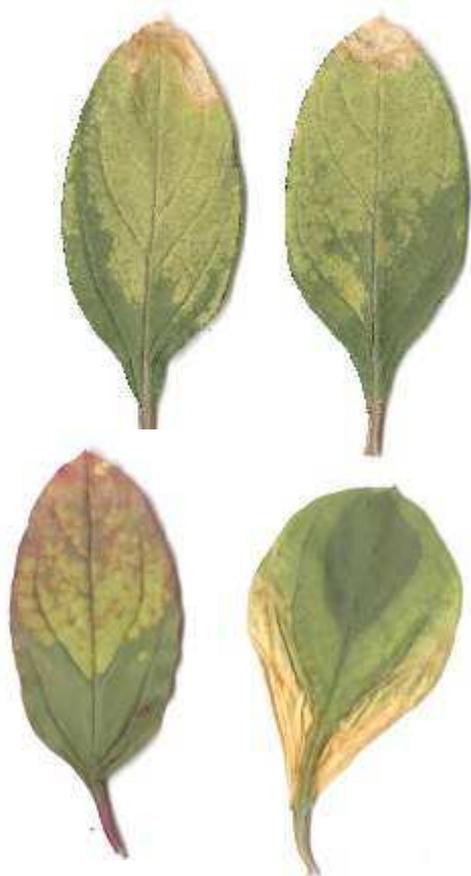


Lámina 6.2 - Hojas de *G. perennis* mostrando el efecto de amarillamiento luego de 20 días de la aplicación de glifosato. Las diferencias de color entre hojas fueron medidas mediante la obtención del Índice de Verdor según se encuentra explicado en la metodología.

que las hojas Rk3 eran las hojas que se encontraban en mayor expansión al momento de la aplicación del herbicida. Las Rk4 son hojas de gran superficie foliar final pero que se encontraban en proceso de expansión en ese momento. Las hojas Rk5 se encontraban en estado de primordios foliares al momento de la aplicación del herbicida y completaron su expansión con posterioridad a la misma.

Medición de contenido de clorofila - curva de calibración del IndVrd: para generar la ecuación de calibración, se emplearon hojas de diferentes posiciones topológicas del eje principal como de diferentes estados de desarrollo, tanto del testigo como del tratamiento herbicida. Los valores SPAD fueron tomados al mediodía e inmediatamente fueron cosechadas las hojas y llevadas al laboratorio para la extracción de clorofila. Para la extracción de clorofila, el tejido foliar fue extraído con un sacabocados de 12 mm de diámetro del mismo lugar donde fue realizada previamente la medición SPAD. Mediciones de concentraciones absolutas de clorofila fueron realizadas utilizando un espectrofotómetro y extractos con acetona al 80% de tejido foliar, como ha sido descrito por Arnon (1949). El extracto fue filtrado y se determinó absorbancia a 645 nm y 663 nm con un espectrofotómetro Hitachi®, con una resolución del espectro de medición de 0,1 nm de ancho de banda. Los contenidos de clorofila (clorofila a, clorofila b y clorofila total) fueron calculados utilizando la ecuación de Arnon (1949). Análisis de regresión fueron llevados a cabo para determinar la relación entre los valores SPAD y los contenidos de clorofila en hojas de *G. perennis* de ambas poblaciones (VR y SJ).

Análisis estadístico: los resultados fueron analizados mediante un modelo lineal general heterocedástico y, debido a las mediciones longitudinales sobre el mismo individuo, con estructura de covarianza entre los errores. El test DGC (LSD de Fisher modificado según DiRienzo *et al.* 2002) se utilizó para comparación de medias. Este procedimiento fue adaptado para contemplar las particularidades de la estructura de

correlación entre estimaciones emergente de los modelos mixtos. La aplicación de este procedimiento es recomendada por el gran número de medias a comparar, ya que asegura una interpretación más sencilla que la que puede obtenerse de la aplicación de un test tipo LSD de Fisher (Di Rienzo *et al.*, 2002). Un análisis discriminante lineal fue utilizado para diferenciar, en base a las variables seleccionadas, los grupos definidos *a priori* (SJ Tg, SJ glph, VR Tg, VR glph), y poder representar a las observaciones en un espacio donde las diferencias entre grupos sean máximas. El test *t* de Student para observaciones apareadas fue usado para testear diferencias entre los contenidos de clorofila predichos por la ecuación y la ecuación general como fue descrito por Steel & Torrie (1988).

RESULTADOS

Comportamiento de los parámetros arquitecturales

a) Longitud de Ejes

La información obtenida del análisis del comportamiento de la longitud de ejes, a los tres niveles a los que se trabajó, mostró diferencias significativas sólo al final del ensayo (21 DDA).

Longitud Total de Ejes (LGT): no fue significativa la interacción triple Población x Condición x Tiempo ($F = 1,70; P = 0,18$) ni la interacción entre los factores Población x Condición ($F = 2,37; P = 0,12$). Sólo se detectó interacción significativa entre los factores Población x Tiempo ($F = 11,86; P < 0,0001$) y entre los factores Condición x Tiempo ($F = 85,38; P < 0,0001$). En la Tabla 6.1 se encuentran los valores obtenidos para LGT. Las diferencias observadas post-aplicación (21DDA) fueron entre condiciones en ambas poblaciones, con mayor LGT para los individuos correspondientes al tratamiento testigo de SJ.

Longitud Eje Principal (LGEP): se encontró una interacción triple Población x Condición x Tiempo significativa ($F = 7,45; P < 0,0001$). Al final del ensayo (21 DDA), se observan diferencias significativas entre las condiciones en ambas poblaciones, con mayor LGEP en los individuos correspondientes a la condición testigo de la población VR (Tabla 6.2).

Tabla 6.1 – Valores medios de Longitud total de ejes (LGT), en mm, para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA: 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida; 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	LGT	E.E.				
SJ	Tg	21 DDA	6925,91	311,93	A			
VR	Tg	21 DDA	5899,96	276,15		B		
SJ	Glph	21 DDA	3234,27	481,74			C	
VR	Glph	21 DDA	1135,37	164,16				D
SJ	Tg	MA	276,77	27,41				E
VR	Tg	MA	219,01	17,35				E
SJ	Glph	MA	286,81	25,18				E
VR	Glph	MA	278,44	25,4				E
SJ	Tg	15 DAA	29,01	4,65				F
VR	Tg	15 DAA	20,22	2,19				F
SJ	Glph	15 DAA	28,96	5,05				F
VR	Glph	15 DAA	29,57	6,21				F

Tabla 6.2 – Valores medios ajustados de Longitud del eje principal (LGEP), en mm, para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA: 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida; 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	LGEP	E.E.				
SJ	Tg	21 DDA	662,49	19,19		B		
VR	Tg	21 DDA	742,04	21,17	A			
SJ	Glph	21 DDA	393,03	50,37			C	
VR	Glph	21 DDA	228,29	27,12				D
SJ	Tg	MA	74,63	5,63				E
VR	Tg	MA	71,16	5,35				E
SJ	Glph	MA	81,76	5,70				E
VR	Glph	MA	77,28	5,30				E
SJ	Tg	15 DAA	13,96	1,78				F
VR	Tg	15 DAA	12,89	1,61				F
SJ	Glph	15 DAA	15,1	2,22				F
VR	Glph	15 DAA	16,32	2,42				F

Longitud Ramificaciones de Primer Orden (LGO1): al igual que LGEP muestra una interacción triple Población x Condición x Tiempo significativa ($F = 4,19$; $P = 0,0159$). Las diferencias significativas observadas 21 DDA fueron entre condiciones dentro de cada población. Los testigos de ambas poblaciones presentaron los valores más altos y no se diferenciaron estadísticamente entre sí (Tabla 6.3).

Tabla 6.3 – Valores medios ajustados de Longitud de ejes de 1er orden (LGO1), en mm, para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA, 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida; 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	LGO1	E.E.	
SJ	Tg	21 DDA	4634,5	173,83	A
VR	Tg	21 DDA	4431,99	167,87	A
SJ	Glph	21 DDA	2029,78	238,07	B
VR	Glph	21 DDA	840,72	108,85	C
SJ	Tg	MA	198,06	16,22	D
VR	Tg	MA	145,44	12,84	D
SJ	Glph	MA	207,79	32,68	D
VR	Glph	MA	199,27	31,05	D
SJ	Tg	15 DAA	14,99	2,33	E
VR	Tg	15 DAA	7,33	1,36	F
SJ	Glph	15 DAA	14,95	3,3	E
VR	Glph	15 DAA	13,39	2,95	E

b) Área Foliar

Área Foliar Total (AFT): la interacción triple Población x Condición x Tiempo fue significativa ($F = 5,58$; $P = 0,0041$). No se encontraron diferencias en el AFT entre poblaciones ni a los 15 DAA ni en MA; sin embargo hubo diferencias significativas entre tratamientos en ambas poblaciones a los 21 DDA (Tabla 6.4). La mayor AFT se obtuvo en el testigo de VR, sin embargo en el tratamiento herbicida para la población SJ se obtuvo mayor AFT respecto a la población VR.

Tabla 6.4 – Valores medios ajustados de área foliar total (AFT), en mm², para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA: 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida; 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	AFT	E.E.	
SJ	Tg	21 DDA	73386,44	3219,05	B
VR	Tg	21 DDA	83800,05	3542,14	A
SJ	Glph	21 DDA	42196,88	2180,97	C
VR	Glph	21 DDA	35140,24	1879,29	D
SJ	Tg	MA	16726,65	1059,54	E
VR	Tg	MA	18136,77	1121,41	E
SJ	Glph	MA	16783,82	1090,84	E
VR	Glph	MA	20296,74	1244,10	E
SJ	Tg	15 DAA	4691,94	407,62	F
VR	Tg	15 DAA	5476,45	455,98	F
SJ	Glph	15 DAA	4340,65	394,81	F
VR	Glph	15 DAA	6068,91	502,15	F

Área Foliar Eje Principal (AFEP): fue significativa la interacción triple Población x Condición x Tiempo ($F = 11,29$; $P < 0,0001$). Los valores obtenidos para el AFEP se encuentran en Tabla 6.5. Existen diferencias entre las poblaciones VR y SJ tanto 15 DAA como en MA y al final del ensayo. A los 21 DDA la mayor área foliar corresponde a los individuos testigo de la población VR.

Tabla 6.5 – Valores medios ajustados de área foliar del eje principal (AFEP), en mm², para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA; 15 días antes de la aplicación, MA: momento de aplicación del herbicida, 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Tratamiento	Tiempo	AFEP	E.E.	
VR	Test	21 DDA	23752,99	664,57	A
VR	Glph	21 DDA	16887,99	568,12	B
SJ	Test	21 DDA	15862,61	541,79	B
SJ	Glph	21 DDA	14358,20	529,57	C
VR	Glph	MA	12454,44	486,00	D
VR	Test	MA	11630,65	460,84	D
SJ	Glph	MA	9838,96	436,28	E
SJ	Test	MA	9531,89	417,28	E
VR	Glph	15 DAA	4899,58	301,24	F
VR	Test	15 DAA	4534,88	284,34	F
SJ	Test	15 DAA	3595,36	253,12	G
SJ	Glph	15 DAA	3409,30	253,39	G

Área Foliar por rango del Eje Principal (AFEPRk):

Para el área foliar en el rango 5 del eje principal (AFEPRk5) la interacción triple Población x Condición x Tiempo fue significativa ($F = 9,18$; $P = 0,0027$). Los valores obtenidos se encuentran en Tabla 6.6. En el MA no se encontraron diferencias entre Poblaciones y Condiciones. Al final del ensayo (21 DDA) se detectaron diferencias en el AFEPRk5 tanto entre los testigos como entre los tratamientos herbicidas de las poblaciones VR y SJ (Figura 6.1 y 6.2).

Tabla 6.6 – Valores medios de área foliar del rango 5 del eje principal (AFEPRk5), en mm², para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA: 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida; 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	AFEPRk5	E.E.	
SJ	Tg	21 DDA	2607,31	235,61	B
VR	Tg	21 DDA	4717,00	339,61	A
SJ	Glph	21 DDA	1840,16	195,58	C
VR	Glph	21 DDA	2388,42	226,64	B
SJ	Tg	MA	296,11	61,22	D
VR	Tg	MA	475,50	81,96	D
SJ	Glph	MA	388,60	74,63	D
VR	Glph	MA	622,17	98,49	D

Para el área foliar en el rango 4 del eje principal (AFEPRk4) la interacción triple Población x Condición x Tiempo fue significativa ($F = 4,77$; $P = 0,009$). En el MA se encontraron diferencias entre ambas poblaciones, siendo mayor el AFEPRk4 para VR respecto a SJ (Tabla 6.7); mientras que al final del ensayo (21 DDA), sólo se detectaron diferencias en el AFEPRk4 del testigo de VR respecto al resto (Figura 6.1 y 6.2).

Para el área foliar en el rango 3 del eje principal (AFEPRk3) la interacción triple Población x Condición x Tiempo no fue significativa ($F = 1,15$; $P = 0,31$). Tampoco se obtuvieron diferencias significativas entre las interacciones dobles (Población x Tiempo: $F = 2,51$; $P = 0,08$; Población x Condición: $F = 0,15$; $P = 0,69$; Condición x Tiempo: $F = 2,19$; $P = 0,11$). Sí se detectaron diferencias significativas entre Poblaciones ($F = 62,41$; $P < 0,0001$) y entre Tiempos ($F = 562,04$; $P < 0,0001$). En el MA se encontraron diferencias entre ambas poblaciones, siendo mayor el AFEPRk3 para VR respecto a SJ. Al final del ensayo (21 DDA), existen diferencias en el AFEPRk3 de VR condición testigo respecto al tratamiento herbicida, mientras que en SJ no se detectaron diferencias entre condición testigo y tratamiento herbicida (Tabla 6.8, Figuras 6.1 y 6.2).

Tabla 6.7 – Valores medios de área foliar para el rango 4 del eje principal (AFEPRk4), en mm², para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA; 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida, 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	AFEPRk4	E.E.	
SJ	Tg	21 DDA	4762,56	228,38	B
VR	Tg	21 DDA	6624,66	275,86	A
SJ	Glph	21 DDA	4064,92	214,67	B
VR	Glph	21 DDA	4527,92	225,27	B
SJ	Tg	MA	2103,68	142,46	D
VR	Tg	MA	2678,9	163,52	C
SJ	Glph	MA	2353,17	156,55	D
VR	Glph	MA	2935,33	175,38	C
SJ	Tg	15 DAA	69,13	19,81	F
VR	Tg	15 DAA	109,91	25,85	E
SJ	Glph	15 DAA	56,22	18,11	F
VR	Glph	15 DAA	164,42	33,19	E

Tabla 6.8 – Valores medios de área foliar para el rango 3 del eje principal (AFEPRk3), en mm², para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA: 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida; 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	AFEPRk3	E.E.	
SJ	Tg	21 DDA	4707,03	209,92	B
VR	Tg	21 DDA	6080,23	224,94	A
SJ	Glph	21 DDA	4648,25	215,27	B
VR	Glph	21 DDA	5447,43	222,06	B
SJ	Tg	MA	3899,82	199,17	C
VR	Tg	MA	4855,21	211,24	B
SJ	Glph	MA	4092,63	207,75	C
VR	Glph	MA	5154,18	218,65	B
SJ	Tg	15 DAA	1009,71	136,54	E
VR	Tg	15 DAA	1480,48	151,59	D
SJ	Glph	15 DAA	1006,7	140,4	E
VR	Glph	15 DAA	1683,72	159,96	D

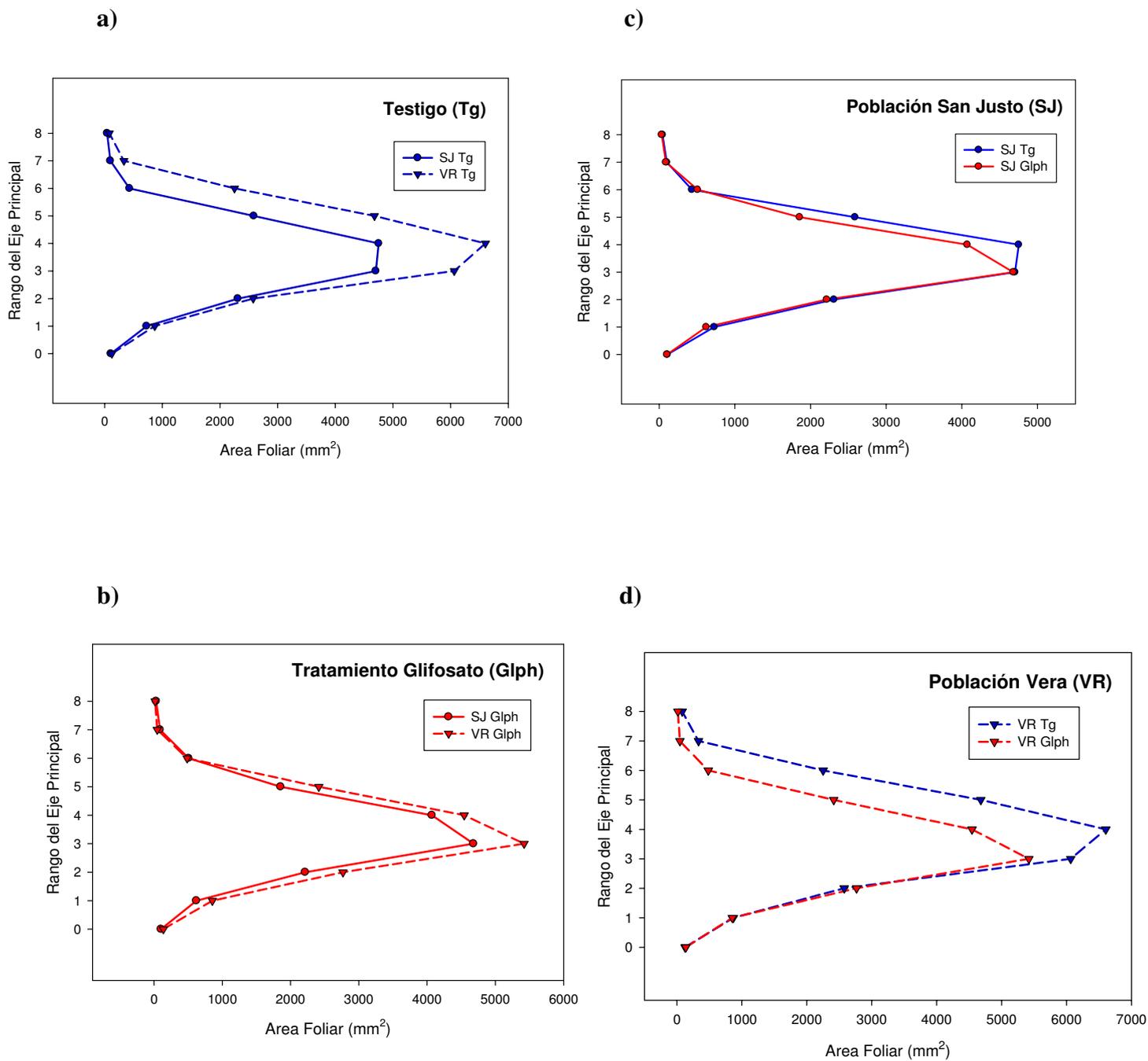


Figura 6.1 – Valores medios de área foliar (mm^2) a 21 DDA para cada rango del Eje Principal. a) Condición Testigo: SJ vs. VR, b) Tratamiento Glifosato: SJ vs. VR, c) Población SJ: Tg vs. Glp, d) Población VR: Tg vs. Glp. Referencias: SJ (Población San Justo, línea continua), VR (Población Vera, línea discontinua), Tg (Testigo, línea azul), Glp (tratamiento Glifosato, línea roja).

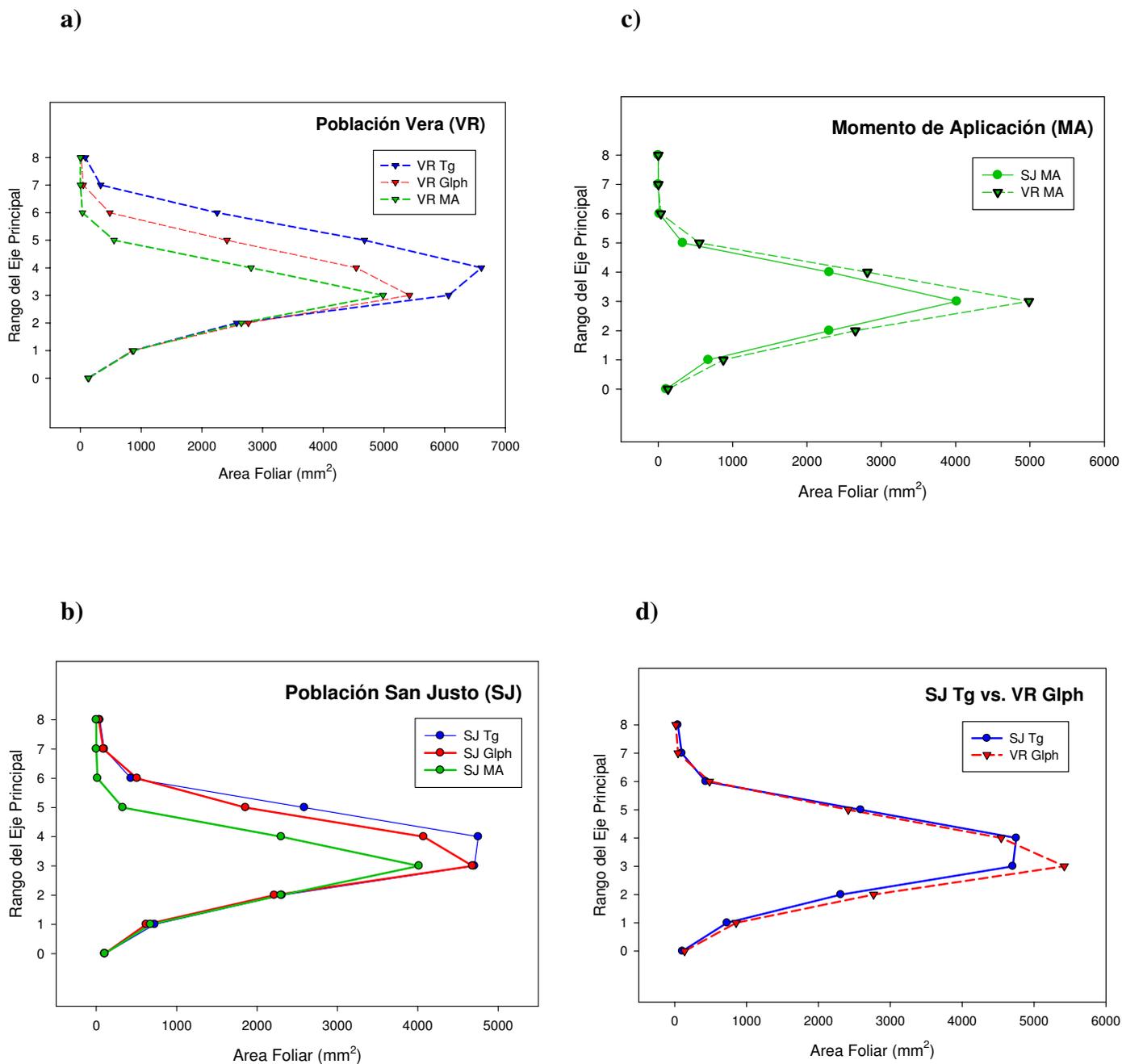


Figura 6.2 – Valores medios de área Foliar (mm²) al momento de aplicación (MA: línea verde) y 21 DDA (línea azul y roja según condición) para cada rango del Eje Principal. a) Población VR: Tg vs. Glph vs. MA, b) Población SJ: Tg vs. Glph vs. MA, c) Momento de Aplicación: SJ vs. VR. Referencias: SJ (Población San Justo, línea continua), VR (Población Vera, línea discontinua), Tg (Testigo, línea azul), Glph (tratamiento Glifosato, línea roja).

c) Fitómeros (FT)

Al igual que lo que sucedió con la longitud de los ejes sólo se encontraron diferencias significativas en el número de fitómeros al final del ensayo (21 DDA) para todos los niveles analizados.

Fitómeros Totales (FTT): la interacción triple Población x Condición x Tiempo no fue significativa ($F = 2,09$; $P = 0,125$). Los valores obtenidos para el FTT se encuentran en Tabla 6.9. Al momento final del ensayo (21 DDA), se observaron diferencias significativas en el tratamiento herbicida entre ambas poblaciones, sin embargo en la condición testigo las poblaciones no se diferenciaron en el FTT.

Fitómeros Eje Principal (FTEP): existe una interacción significativa entre los tres factores Población x Condición x Tiempo ($F = 7,27$; $P = 0,0008$). A los 21 DDA se observan diferencias significativas en el tratamiento herbicida respecto al testigo para la población VR, mientras que en SJ no se observan diferencias en FTEP entre condiciones (Tabla 6.10).

Fitómeros Ramificaciones de 1^{er} orden (FTO1): existe una interacción significativa entre los tres factores: Población x Condición x Tiempo ($F = 10,42$; $P < 0,0001$). Al final del ensayo (21 DDA), se observan diferencias significativas en el tratamiento herbicida respecto al testigo en ambas poblaciones (Tabla 6.11). La población VR, aunque en la condición testigo presenta el mayor valor de FTO1, bajo el efecto herbicida presenta el menor valor de FTO1. Los valores en SJ fueron intermedios, siendo mayor el número de fitómeros en el testigo respecto al tratamiento herbicida.

Tabla 6.9 – Valores medios de fitómeros totales (FTT) para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA: 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida; 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	FTT	E.E.	
SJ	Tg	21 DDA	629,25	29,62	A
VR	Tg	21 DDA	585,27	29,54	A
SJ	Glph	21 DDA	274,78	30,46	B
VR	Glph	21 DDA	121,36	30,08	C
SJ	Tg	MA	45,36	2,21	D
VR	Tg	MA	38,73	2,20	D
SJ	Glph	MA	43,87	2,27	D
VR	Glph	MA	42,26	2,24	D
SJ	Tg	15 DAA	18,74	0,95	E
VR	Tg	15 DAA	17,74	0,95	E
SJ	Glph	15 DAA	19,63	0,98	E
VR	Glph	15 DAA	19,57	0,96	E

Tabla 6.10 – Valores medios de fitómeros del eje principal (FTEP) para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA: 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida; 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	FTEP	E.E.	
SJ	Tg	21 DDA	11,19	0,18	B
VR	Tg	21 DDA	12,00	0,18	A
SJ	Glph	21 DDA	10,80	0,19	B
VR	Glph	21 DDA	9,90	0,19	C
SJ	Tg	MA	7,00	0,09	D
VR	Tg	MA	7,38	0,09	D
SJ	Glph	MA	7,13	0,09	D
VR	Glph	MA	7,26	0,09	D
SJ	Tg	15 DAA	5,56	0,08	E
VR	Tg	15 DAA	5,75	0,08	E
SJ	Glph	15 DAA	5,67	0,09	E
VR	Glph	15 DAA	5,68	0,09	E

Tabla 6.11 – Valores medios de fitómeros de ramificaciones de 1^{er} orden (FTO1) para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA: 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida; 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	FTO1	E.E.	
SJ	Tg	21 DDA	121,56	4,98	B
VR	Tg	21 DDA	138,71	4,96	A
SJ	Glph	21 DDA	85,65	5,12	C
VR	Glph	21 DDA	58,28	5,05	D
SJ	Tg	MA	27,14	1,07	E
VR	Tg	MA	25,18	1,07	E
SJ	Glph	MA	27,08	1,10	E
VR	Glph	MA	27,30	1,09	E
SJ	Tg	15 DAA	12,25	0,63	F
VR	Tg	15 DAA	11,65	0,63	F
SJ	Glph	15 DAA	13,22	0,65	F
VR	Glph	15 DAA	12,48	0,64	F

Fitómeros Ramas de 2^{do} orden (FTO2): existe una interacción significativa entre los tres factores Población x Condición x Tiempo ($F = 3,56$; $P = 0,0295$). Los valores medios obtenidos para FTO2 se encuentran en Tabla 6.12. Al final del ensayo (21 DDA), se observan diferencias significativas en el tratamiento herbicida respecto al testigo en ambas poblaciones. La población VR bajo el efecto herbicida presenta el menor valor de FTO2. En SJ se obtuvo el mayor número de fitómeros en la condición testigo aunque no se diferenciaron estadísticamente respecto a las plantas testigo de VR. Sin embargo, bajo el tratamiento herbicida, SJ posee un valor de FTO2 significativamente mayor a VR.

Tabla 6.12 – Valores medios de fitómeros de ramificaciones de 2^{do} orden (FTO2) para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (15 DAA: 15 días antes de la aplicación; MA: momento de aplicación del herbicida; 21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	FTO2	E.E.	
SJ	Tg	21 DDA	351,16	13,06	A
VR	Tg	21 DDA	336,97	12,72	A
SJ	Glph	21 DDA	150,72	25,31	B
VR	Glph	21 DDA	52,56	10,64	C
SJ	Tg	MA	11,11	1,44	D
VR	Tg	MA	6,04	1,05	D
SJ	Glph	MA	9,78	1,39	D
VR	Glph	MA	7,64	1,21	D
SJ	Tg	15 DAA	0,9	0,4	E
VR	Tg	15 DAA	0,26	0,2	E
SJ	Glph	15 DAA	0,73	0,34	E
VR	Glph	15 DAA	1,38	0,56	E

Fitómeros Ramas de 3^{er} orden (FTO3): sólo fue evaluado a los 21 DDA, debido a que en las fechas anteriores todavía no estaban desarrollados. No se encontró una interacción significativa entre Población x Condición ($F = 0,91$; $P = 0,341$). Se diferencian significativamente tanto las condiciones ($F = 113,32$; $P < 0,0001$) como las poblaciones ($F = 14,42$; $P = 0,0002$) (Tabla 6.13). Entre poblaciones tanto el FTO3 de la condición testigo como FTO3 del tratamiento herbicida fue mayor para SJ.

Tabla 6.13 – Valores medios de fitómeros de ramificaciones de 3^{er} orden (FTO3) para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (21 DDA: 21 días después de la aplicación). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	FTO3	E.E.	
SJ	Tg	21 DDA	141,69	13,73	A
VR	Tg	21 DDA	95,19	11,49	B
SJ	Glph	21 DDA	28,2	7,91	C
VR	Glph	21 DDA	0,39	0,18	D

d) Unidades de Inflorescencia (UIF)

Este parámetro se evaluó sólo a los 21DDA que fue el momento en que las plantas se encontraban en plena floración.

UIF Totales (UIFT): no se encontró una interacción significativa entre Población x Condición ($F = 1,52$; $P = 0,22$). Se detectaron diferencias significativas en UIFT en los individuos testigo de ambas poblaciones ($F = 19,77$; $P < 0,0001$; Tabla 6.14). Además se observaron diferencias significativas para el tratamiento herbicida ($F = 246,65$; $P < 0,0001$) entre ambas poblaciones, con mayor UIFT alcanzada en los individuos SJ respecto a VR (Tabla 6.14).

UIF por rango del Eje Principal (UIFRk): sólo en los rangos proximales del eje principal (Rk 1 a Rk 4) no se detectó interacción significativa entre los factores Población x Condición (Rk 1: $F = 0,01$ $P = 0,93$; Rk 2: $F = 3,22$ $P = 0,07$; Rk 3: $F = 5,2 \times 10^{-5}$ $P = 0,99$; Rk 4: $F = 0,11$ $P = 0,74$). Para los demás rangos del eje principal se detectaron interacciones significativas (Rk 0: $F = 6,07$; $P = 0,015$; Rk 5: $F = 4,43$ $P = 0,037$; Rk 6: $F = 79,49$ $P < 0,0001$; Rk 7: $F = 61,23$ $P < 0,0001$; Rk 8: $F = 24,82$ $P < 0,0001$). Los valores medios ajustados de UIF y errores estándar obtenidos para cada rango del eje principal se encuentran en la Tabla 6.14.

Tabla 6.14 – Valores medios de unidades de inflorescencias (UIF), para cada rango del eje principal (Rk0 a Rk8) y totales por planta, para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ) y Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Rango	Población	Condición	UIF	E.E.	
Rk0	SJ	Tg	31,09	5,01	A
	VR	Tg	12,25	2,67	B
	SJ	Glph	4,5	1,46	C
	VR	Glph	0,1	0,05	D
Rk1	SJ	Tg	45,44	2,91	A
	VR	Tg	35,28	4,89	A
	SJ	Glph	12,27	2,22	B
	VR	Glph	2,58	0,83	C
Rk2	SJ	Tg	40,09	2,84	A
	VR	Tg	23,13	2,39	B
	SJ	Glph	10,2	2,24	C
	VR	Glph	1,03	0,39	D
Rk3	SJ	Tg	25,84	2,46	A
	VR	Tg	14,34	2,35	B
	SJ	Glph	12,53	3,05	B
	VR	Glph	1	0,53	C
Rk4	SJ	Tg	42,06	2,68	A
	VR	Tg	28,38	4,05	B
	SJ	Glph	13,1	3,08	C
	VR	Glph	1,32	0,59	D
Rk5	SJ	Tg	37,47	2,03	A
	VR	Tg	37,91	3,14	A
	SJ	Glph	11,4	2,32	B
	VR	Glph	2,32	1,02	C
Rk6	SJ	Tg	13,13	1,04	B
	VR	Tg	33,53	2,01	A
	SJ	Glph	6,67	1,52	C
	VR	Glph	2,16	0,62	D
Rk7	SJ	Tg	5,56	0,44	B
	VR	Tg	13,5	0,94	A
	SJ	Glph	4,87	0,93	B
	VR	Glph	1,42	0,42	C
Rk8	SJ	Tg	3,28	0,24	B
	VR	Tg	5,31	0,46	A
	SJ	Glph	2	0,41	C
	VR	Glph	0,68	0,14	D
UIF Totales	SJ	Tg	247,72	12,07	A
	VR	Tg	210,5	12,69	B
	SJ	Glph	79,33	14,69	C
	VR	Glph	13,55	3,75	D

A partir del análisis de la condición testigo se observó que SJ posee mayor UIFRk en los rangos proximales del EP (Rk 0 a Rk 4) mientras que VR posee mayor UIF Rk en los rangos distales del EP (Rk 6 a Rk8) (Fig. 6.3a; Tabla 6.14); no se encontraron diferencias significativas sólo en el Rk 5. Respecto al tratamiento herbicida también se puede observar que siempre fue mayor el UIF para cada rango del eje principal en la población SJ respecto a VR (Figura 6.3b). Además, el efecto del tratamiento herbicida fue importante dentro de cada población como se muestra en la Figuras 6.3c y 6.3d, detectándose diferencias significativas en todos los rangos del eje principal (Tabla 6.14).

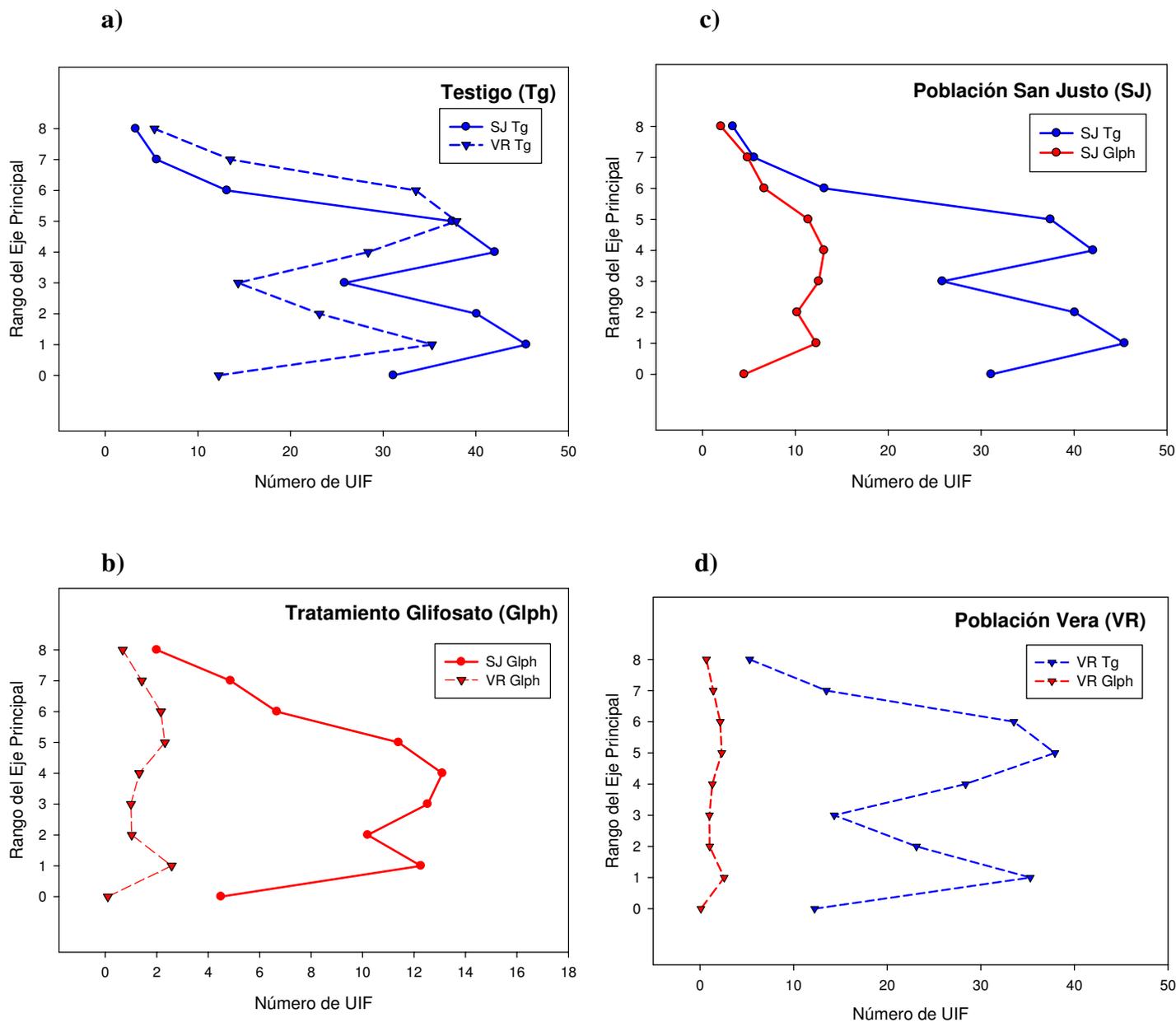


Figura 6.3 – Valores medios de número de unidades de inflorescencias (UIF) a los 21 días después del momento de aplicación del herbicida para cada rango del Eje Principal. a) Testigo: SJ vs. VR, b) Tratamiento Glifosato: SJ vs. VR, c) Población SJ: Tg vs. Glph, d) Población VR: Tg vs. Glph. Referencias: SJ (Población San Justo, línea continua), VR (Población Vera, línea discontinua), Tg (Testigo, línea azul), Glph (tratamiento Glifosato, línea roja).

e) Análisis Multivariado

A partir del Análisis Discriminante Lineal se observa una tendencia a diferenciarse tanto poblaciones como tratamientos (Figura 6.4) a partir de los parámetros arquitecturales analizados. Los 2 primeros ejes canónicos utilizados en el gráfico del espacio discriminante contienen el 97% de la variabilidad entre grupos. El Eje Canónico 1 (autovalor 86,57%) separa los individuos testigo de los individuos que recibieron la aplicación herbicida, mientras que en el Eje Canónico 2 (autovalor 10,96%) se separan ambas poblaciones. La separación entre individuos testigo y con herbicida es debida mayormente a AFT y LGT (los mayores coeficientes de la función discriminante 1, Tabla 6.15), mientras que ambas poblaciones se discriminan mayormente teniendo en cuenta a FTT y UIFT (los mayores coeficientes de la función discriminante 2, Tabla 6.15).

Tabla 6.15 - Funciones discriminantes para cada eje canónico - datos estandarizados con las varianzas comunes para Longitud total de ejes (LGT), número total de unidades de inflorescencias (UIFT), peso seco (PSc), pleiocormo (Ple), área foliar total (AFT) y número total de fitómeros (FTT).

Variables	Eje canónico 1	Eje canónico 2
LGT	-1,04	-0,93
UIFT	-0,52	1,61
PSc	0,78	0,03
Ple	0,03	0,29
AFT	-1,29	1,16
FTT	0,97	-2

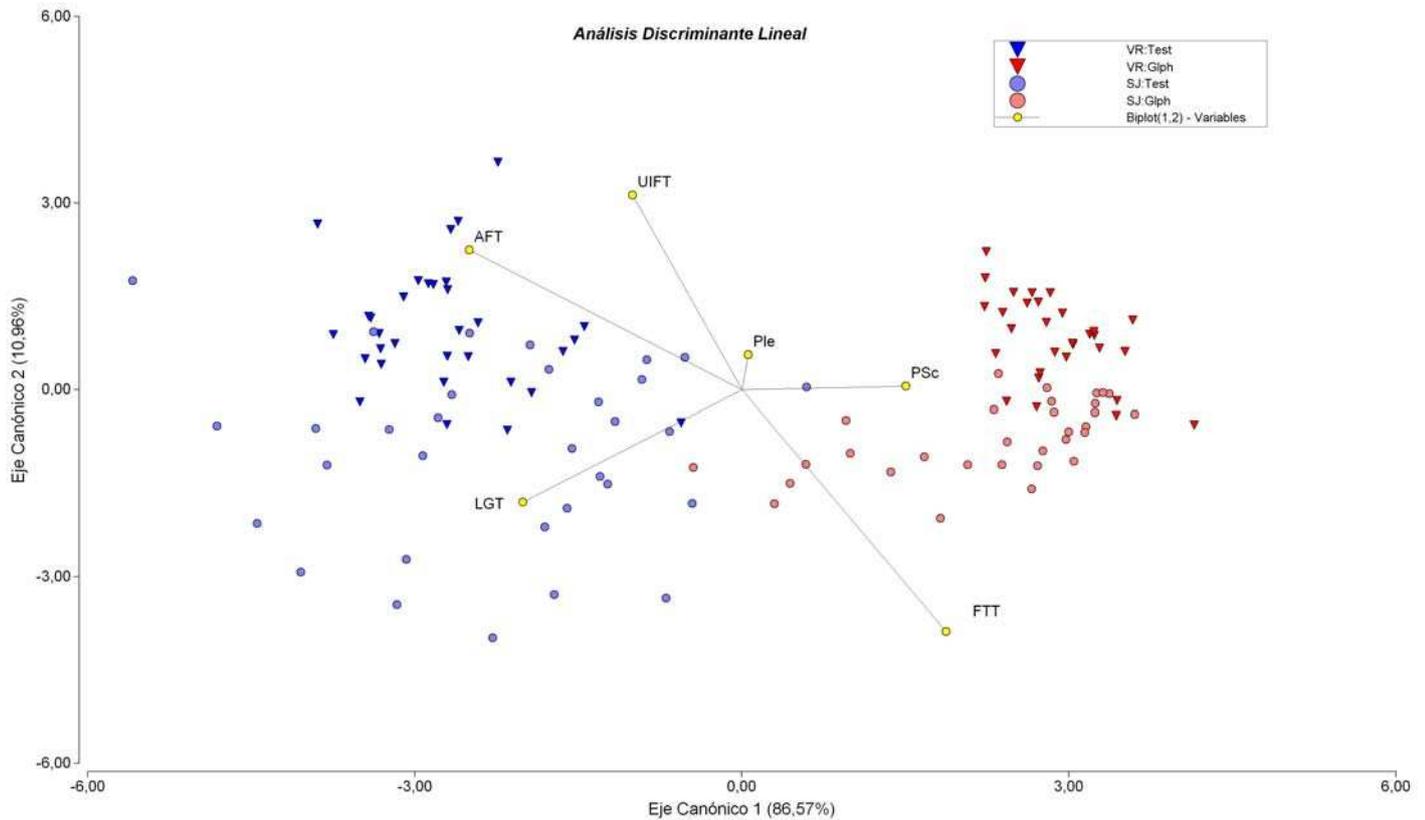


Figura 6.4 – Gráfico Biplot del Análisis Discriminante Canónico de los individuos de *G. perennis* correspondientes a las dos poblaciones (VR: población Vera y SJ: población San Justo) y a las dos condiciones (Testigo: Tg; Herbicida: Glph). Variables: Longitud total de ejes (LGT), número total de unidades de inflorescencias (UIFT), peso seco (PSc), pleiocormo (Ple), área foliar total (AFT) y número total de fitómeros (FTT).

f) Índice de Verdor (IndVrd)

IndVrd Rango 3 (IndVrdRk3): la interacción triple Población x Condición x Tiempo no fue significativa ($F = 1,93$; $P = 0,10$). Tampoco se detectó interacción significativa entre los factores Población x Tiempo ($F = 1,03$; $P = 0,39$). Sólo existe interacción significativa entre los factores Población x Condición ($F = 5,97$; $P = 0,01$) y los factores Condición x Tiempo ($F = 24,89$; $P < 0,0001$). Al momento de aplicación (T1) no se encontraron diferencias entre ambas poblaciones mientras que al final del ensayo (T5) existen diferencias en el *IndVrdRk3* del tratamiento testigo respecto del tratamiento

herbicida para ambas poblaciones (Tabla 6.16). Para la población VR puede observarse que 10 días después de la aplicación (T3) ya se detectaron diferencias significativas en el IndVrd Rk3 respecto al testigo no tratado, mientras que en SJ recién se detectaron diferencias 15 días después de la aplicación (T4) respecto al testigo no tratado (Tabla 6.16; Figura 6.5a).

Tabla 6.16 – Valores medios del índice de verdor para hojas del rango 3 del eje principal (IndVrdRk3), en unidades SPAD, para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (Tiempo 1: momento de aplicación, Tiempos 2, 3, 4 y 5: 5, 10, 15 y 20 días después de la aplicación respectivamente). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	IndVrdRk3	E.E.	
SJ	Tg	1	38,96	0,65	A
VR	Tg	1	36,70	0,74	A
SJ	Glph	1	38,62	0,68	A
VR	Glph	1	36,27	0,76	A
SJ	Tg	2	38,86	0,65	A
VR	Tg	2	37,10	0,72	A
SJ	Glph	2	37,16	0,74	A
VR	Glph	2	35,85	0,79	A
SJ	Tg	3	38,25	0,67	A
VR	Tg	3	38,05	0,68	A
SJ	Glph	3	35,27	0,83	A
VR	Glph	3	33,81	0,89	B
SJ	Tg	4	37,93	0,69	A
VR	Tg	4	37,65	0,70	A
SJ	Glph	4	30,84	1,11	B
VR	Glph	4	24,29	1,83	C
SJ	Tg	5	36,85	0,73	A
VR	Tg	5	37,16	0,72	A
SJ	Glph	5	24,49	1,83	C
VR	Glph	5	19,72	2,93	C

IndVrd Rango 4 (IndVrdRk4): no fue significativa la interacción triple Población x Condición x Tiempo ($F = 0,79$; $P = 0,53$); tampoco se detectó interacción significativa entre los factores Población x Tiempo ($F = 0,33$; $P = 0,85$). Sin embargo, al igual que con el *IndVrdRk3*, existe interacción significativa entre los factores Población x Condición ($F = 7,63$; $P = 0,0059$) y Condición x Tiempo ($F = 14,35$; $P < 0,0001$). Los valores obtenidos para el *IndVrdRk4* se encuentran en Tabla 6.17. Al momento de aplicación (T1) se encontraron diferencias significativas entre ambas poblaciones. Para la población VR puede observarse que 5 días después de la aplicación (T2) alcanza el máximo valor de *IndVrd*, mientras que en SJ al momento de aplicación ya presentaba el máximo *IndVrd* (Tabla 6.17; Figura 6.5b). Al final del ensayo existen diferencias en el *IndVrdRk4* del testigo respecto del tratamiento herbicida para ambas poblaciones. Sin embargo para la Población VR se detectaron diferencias significativas en el *IndVrd Rk4* respecto al testigo no tratado desde los 5 días luego del tratamiento herbicida (T2), mientras que en SJ recién se detectaron diferencias 15 días después de la aplicación (T4) respecto al testigo no tratado.

Tabla 6.17 – Valores medios del índice de verdor para hojas del rango 4 del eje principal (IndVrdRk4), en unidades SPAD, para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (Tiempo 1: momento de aplicación, Tiempos 2, 3, 4 y 5: 5, 10, 15 y 20 días después de la aplicación respectivamente). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	IndVrdRk4	E.E.		
SJ	Tg	1	38,7	1,1	A	
VR	Tg	1	36,14	1,28		B
SJ	Glph	1	40,9	1,01	A	
VR	Glph	1	36,24	1,37		B
SJ	Tg	2	40,11	0,93	A	
VR	Tg	2	37,76	1,1	A	
SJ	Glph	2	40,09	0,96	A	
VR	Glph	2	36,86	1,2		B
SJ	Tg	3	40,52	0,9	A	
VR	Tg	3	40,06	0,93	A	
SJ	Glph	3	38,78	1,05	A	
VR	Glph	3	35,41	1,34		B
SJ	Tg	4	40,69	0,89	A	
VR	Tg	4	41,08	0,87	A	
SJ	Glph	4	34,63	1,44		B
VR	Glph	4	27,65	2,66		C
SJ	Tg	5	40,34	0,92	A	
VR	Tg	5	40,78	0,89	A	
SJ	Glph	5	29,76	2,2		C
VR	Glph	5	25,18	3,46		C

IndVrd Rango 5 (IndVrdRk5): Al igual que para los rangos anteriores ni la interacción triple Población x Condición x Tiempo ni la interacción doble entre los factores Población x Tiempo fueron significativas ($F = 1,23$; $P = 0,30$ y $F = 0,02$; $P = 0,99$; respectivamente). Sí existieron interacciones significativas entre los factores Población x Condición ($F = 22,14$; $P < 0,0001$) y los factores Condición x Tiempo ($F = 6,77$; $P = 0,0002$). Los valores obtenidos para el *IndVrdRk5* se encuentran en Tabla 6.18. Debido a que las hojas de este rango sólo se encontraban como primordios foliares en el T1 no se realizaron mediciones del IndVrd para este tiempo. Se encontraron diferencias significativas entre los testigos de ambas poblaciones para el T2, siendo mayor el

IndVrd para SJ respecto a VR. Para la Población VR puede observarse que 10 días después de la aplicación (T3) recién alcanza el máximo valor de IndVrd en los testigos no tratados, mientras que en SJ en el T2 el máximo IndVrd fue alcanzado en la misma condición (Figura 6.5c). Al final del ensayo existen diferencias en el *IndVrdRk5* del testigo respecto del tratamiento herbicida para ambas poblaciones. Sin embargo, teniendo en cuenta el tratamiento herbicida, para la Población VR se detectaron diferencias significativas en el IndVrd Rk5 respecto al mismo factor para la Población SJ en todos los momentos de medición (T2, T3, T4 y T5), siendo siempre mayor el IndVrd para SJ respecto a VR (Figura 6.5c).

Tabla 6.18 – Valores medios del índice de verdor para hojas del rango 5 del eje principal (IndVrdRk5), en unidades SPAD, para cada Población (Vera: VR y San Justo: SJ), Condición (Testigo: Tg; Herbicida: Glph) y Tiempo (2, 3, 4 y 5: 5, 10, 15 y 20 días después de la aplicación respectivamente). EE: error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas (0,05) mediante el test DGC.

Población	Condición	Tiempo	IndVrdRk5	E.E.	
SJ	Tg	2	40,58	1,47	A
VR	Tg	2	36,98	1,64	B
SJ	Glph	2	34,3	1,86	B
VR	Glph	2	26,27	2,55	C
SJ	Tg	3	42,88	1,37	A
VR	Tg	3	42,02	1,4	A
SJ	Glph	3	34,33	1,85	B
VR	Glph	3	23,49	2,93	C
SJ	Tg	4	43,6	1,34	A
VR	Tg	4	44,32	1,31	A
SJ	Glph	4	31,65	2,05	B
VR	Glph	4	18,76	3,88	C
SJ	Tg	5	43,79	1,33	A
VR	Tg	5	45,11	1,28	A
SJ	Glph	5	29,6	2,23	B
VR	Glph	5	15,08	5,08	C

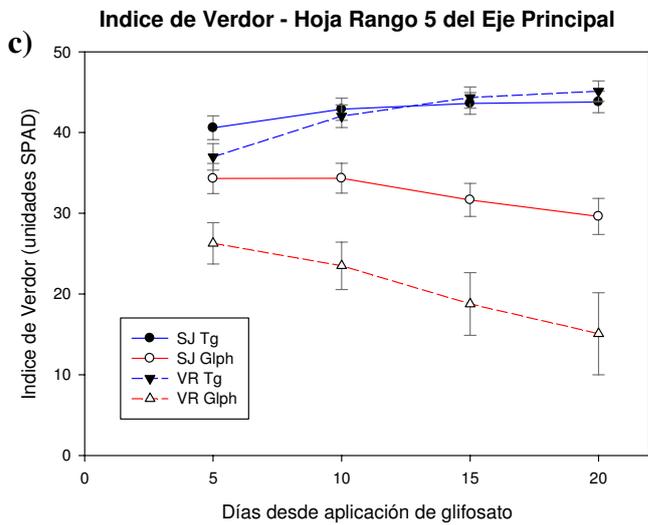
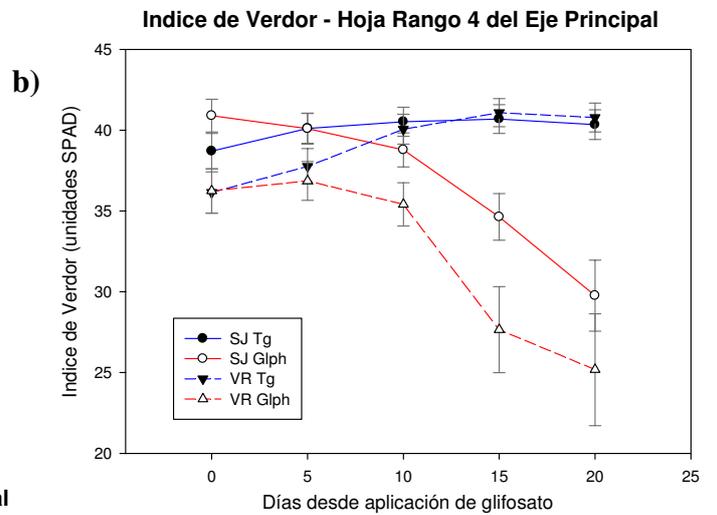
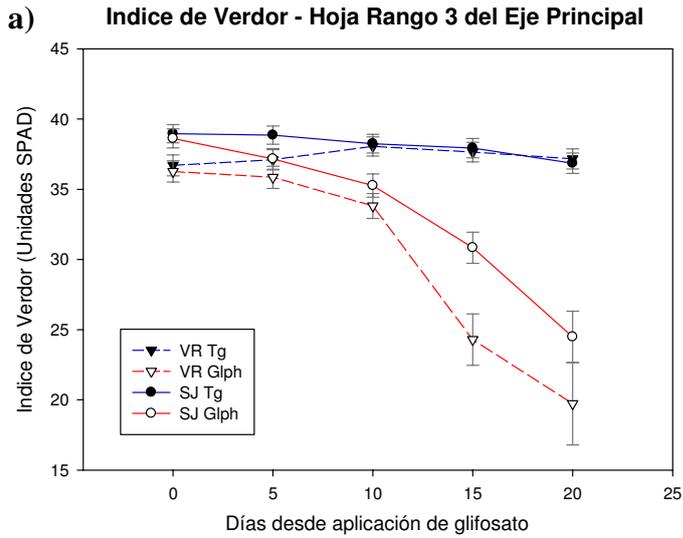


Figura 6.5 – Valores medios de índice de verdor (unidades SPAD) obtenidos en diferentes momentos de medición (0 días (T1), 5 días (T2), 10 días (T3), 15 días (T4) y 20 días (T5) luego de la aplicación de herbicida) en cada rango del eje principal para cada población (SJ: San Justo, línea continua; VR: Vera, línea discontinua) y cada condición (Tg: testigo, línea azul; Glph: tratamiento herbicida, línea roja): a) Hoja Rango 3, b) Hoja Rango 4 y c) Hoja Rango 5. Barras indican error estándar.

g) Evaluación de la relación entre la concentración de clorofila real en hoja e IndVrd obtenido mediante SPAD-502

La relación entre el contenido de clorofila ($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$) y el IndVrd (unidades SPAD) se ajusta adecuadamente a un modelo de regresión lineal simple ($y = 12,56x + 14,448$). Como se muestra en la Figura 6.6, la curva de calibración de las lecturas SPAD-502 respecto a los valores reales de concentración de clorofila en hojas presenta una elevada correlación lineal positiva ($R^2 = 0,89$).

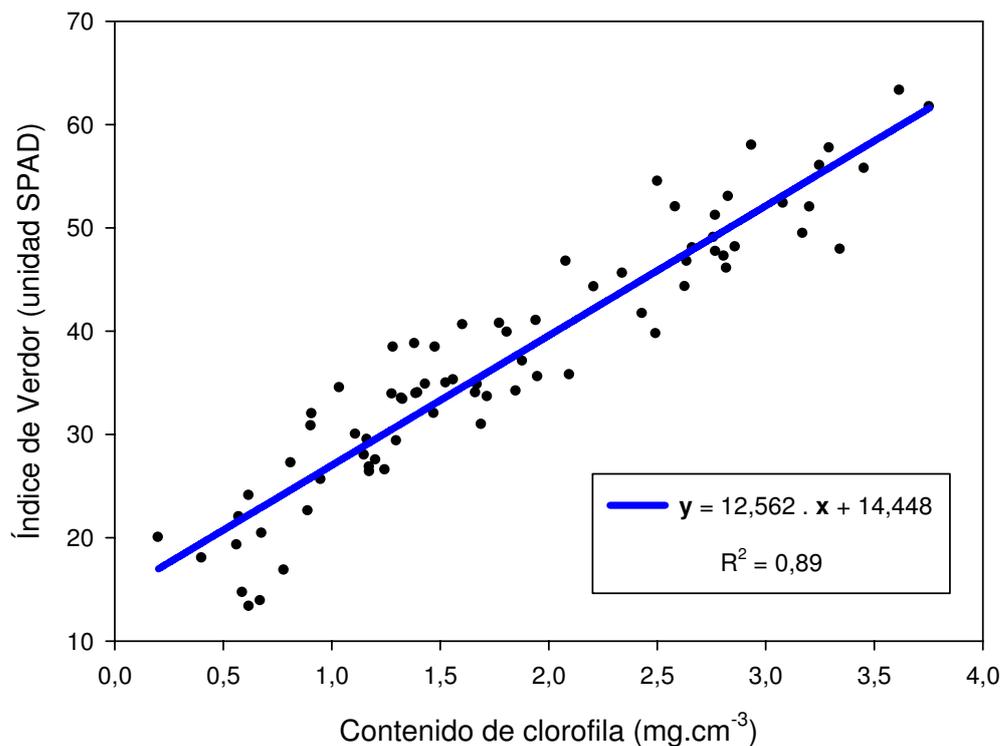


Figura 6.6 – Modelo de Regresión lineal entre Índice de Verdor (unidades SPAD) y contenido de clorofila en hoja (unidades en $\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$) ajustado a los datos.

DISCUSIÓN

La comparación realizada en base a datos arquitecturales ha provisto información detallada de la dinámica estructural de ambas poblaciones y de su respuesta frente al efecto particular de la aplicación de glifosato. Los resultados obtenidos para el ensayo dosis-respuesta (Capítulo 4) indican que la población SJ tolera una dosis de glifosato casi 3 veces superior respecto a VR. Sin embargo, en el presente estudio, al momento de aplicación los individuos de VR y SJ no se diferencian en la mayoría de las variables arquitecturales analizadas. Westhoven *et al.* (2008), al comparar biotipos tolerantes y susceptibles a glifosato de *Chenopodium album* L. encontraron diferencias en el crecimiento y determinaron que el biotipo tolerante crecía más rápidamente que el susceptible. Los resultados del presente estudio indican que al menos en las etapas tempranas del desarrollo ambas poblaciones de *G. perennis* son muy similares en cuanto a su arquitectura cuantitativa. Sin embargo, es importante destacar que SJ y VR sí se diferencian teniendo en cuenta las hojas del eje principal, de mayor tamaño en la población VR (Figura 6.2c). El glifosato es un herbicida que se pulveriza sobre las plantas y es absorbido vía foliar. Diferencias en la superficie foliar que intercepta la pulverización ocasiona que sean retenidas cantidades diferentes de herbicida (García Torres & Fernández-Quintanilla, 1991). Sin embargo, la superficie foliar al momento de aplicación sólo es aproximadamente un 25 % mayor en VR respecto a SJ, lo que sugiere que no sería suficiente esta diferencia para explicar su mayor susceptibilidad.

La falta de diferencias cuantitativas en etapas iniciales se revierte en etapas de crecimiento más avanzadas (21 DDA), donde ambas poblaciones se diferencian de manera significativa en sus variables arquitecturales. Al analizar los resultados obtenidos al final del ensayo, los testigos de ambas poblaciones muestran diferencias de

altura del eje principal, mayor en VR que en SJ. Ha sido citado para *Ambrosia artemisifolia* L. (Sellers *et al.*, 2004) que individuos resistentes a glifosato eran de menor altura que los biotipos susceptibles. Similar resultado con respecto a la altura fue reportado para biotipos resistentes de *Amaranthus rudis* Sauer (Haider *et al.*, 2007). Para las plantas tratadas, por otra parte, la altura de planta fue mayor en SJ respecto a VR. La interacción significativa entre factores Población x Tratamiento indica que es más afectada la altura de planta en VR por el efecto del herbicida que SJ. Resultados similares obtuvieron Baucom & Mauricio (2008b) en *Ipomoea purpurea*, donde la aplicación de glifosato a dosis agronómica afectó en mayor magnitud la altura final de los ecotipos sensibles respecto a los ecotipos más tolerantes. La comparación de LG de los testigos de ambas poblaciones indica que VR posee individuos de mayor altura (mayor LGEP) y, además, con mayor longitud de ramificaciones de 1er orden. Sin embargo, dentro de los testigos, LGT es mayor en SJ. Esta mayor LGT en SJ es debida a un mayor desarrollo a nivel de los ejes categoría A3, cuya principal función es la de producir estructuras reproductivas. Respecto al tratamiento herbicida, se observó un mayor efecto del glifosato en VR respecto a SJ en la longitud de las ramificaciones de primer orden (LGO2). Los ejes A2 son los ejes que *G. perennis* utiliza para exploración y explotación del medio (Capítulo 1), por lo cual el herbicida afectaría más la capacidad competitiva de los individuos de VR respecto a SJ.

Un aspecto importante a tener en cuenta cuando se aplican herbicidas es el estado de desarrollo de las hojas que reciben la aplicación. Cuando el herbicida es aplicado, éste debe atravesar la cutícula de las hojas para alcanzar su sitio de acción por lo cual esta capa representa una importante barrera a la acción del herbicida. Diferencias a nivel cuticular, tanto estructurales como en su composición química, son responsables de cambios en las propiedades de absorción de las hojas (Schreiber, 2005). La

ultraestructura de la cutícula varía, entre otros factores, con el estado de desarrollo de las hojas (Hull *et al.*, 1975). La edad de la hoja es un factor importante que determina la absorción debido a que existe un incremento en la deposición de diferentes compuestos químicos cuticulares a medida que la hoja se desarrolla, por lo cual hojas en diferentes estadios de expansión tienen diferente capacidad de absorción (Hull *et al.*, 1975; Lallana *et al.*, 2006). Comparando entre el final del ensayo y el momento de aplicación el área foliar para cada rango del eje principal en los testigos tanto de VR como de SJ (Figura 6.2 a y b), se observa que las hojas que recibieron la aplicación herbicida no estaban completamente expandidas, lo que sugiere que se encontraban al momento de aplicación en estados de desarrollo similares. Sin embargo, al final del ensayo bajo el tratamiento herbicida las hojas del rango 3 y 4 no se diferencian respecto al área foliar final alcanzada por el tratamiento testigo de SJ (Figura 6.2 a), lo que indica que estas hojas llegaron a completar su expansión. Lo opuesto sucede en VR, en donde las hojas de los rangos 3 y 4 del eje principal con la aplicación herbicida no llegaron a completar su expansión al ser comparadas con los testigos (Figura 6.2 b). Estos resultados indican que existe un mayor efecto del herbicida en VR respecto a SJ en las hojas que se encontraban desarrolladas y en expansión al momento de la aplicación.

Respecto al AFT al final del ensayo, se mantuvieron las diferencias encontradas en las primeras etapas de crecimiento, con mayor AF en los individuos testigo de la población VR. Otros autores no encontraron diferencias en el área foliar entre individuos susceptibles y resistentes de *Ambrosia artemisiifolia* (Sellers *et al.*, 2004). Sin embargo, DeGennaro & Weller (1984) reportaron diferencias en la morfología y área foliar de *Convolvulus arvensis* comparando biotipos susceptibles y tolerantes a glifosato. Leiss & Müller-Schärer (2001) también encontraron AF diferentes entre

ecotipos agrícolas y silvestres de *Senecio vulgaris*, aunque no trabajaron con herbicidas sino que compararon diferentes niveles de nutrientes.

Los resultados obtenidos mediante la extracción y medición del contenido de clorofila en *G. perennis* por espectrofotometría indican una elevada correlación con el IndVrd. Resultados similares obtuvieron Kapotis *et al.* (2003) en *Amaranthus vlitus* L. al correlacionar el IndVrd con el contenido de clorofila en hojas. Del análisis del IndVrd de las hojas del eje principal no se obtuvieron diferencias en el valor máximo alcanzado entre los testigos de ambas poblaciones, pero sí se diferenciaron en el decaimiento del IndVrd ocasionado por el tratamiento herbicida. El glifosato es un herbicida que inhibe la vía del ácido shikímico (Duke, 1996). Aunque la fotosíntesis no ha sido considerada como un blanco de inhibición primaria del glifosato, Lee (1981) demostró que el glifosato acelera la degradación de clorofila e inhibe su síntesis. 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 *et al.*, 1981). Además, 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 & Fletcher, 1978; Muñoz-Rueda *et al.*, 1986; Madsen *et al.*, 1995). Por otra parte, el glifosato, al moverse a través del floema, actúa tanto en el sitio de aplicación (hojas que reciben la pulverización del herbicida) como en las regiones que son destino de fotoasimilados (Gougler & Geiger, 1981). De esta manera, las diferencias encontradas entre VR y SJ respecto al IndVrd permiten sugerir que hay un efecto diferente respecto al contenido de clorofila en hojas, efecto que es encontrado tanto en hojas fuente como en hojas destino (Figura 6.5). Las hojas de rangos 3 (Figura 6.5a) y 4 (Figura 6.5b) del eje principal son hojas que estaban prácticamente desarrolladas al momento de aplicación y muestran que la velocidad de degradación de

clorofila es más lenta en SJ respecto a VR. A los 5 DDA no se observan diferencias del IndVrd respecto al testigo para las plantas de la población SJ tratadas, mientras que para las VR tratadas con herbicida ya se observa un efecto significativo respecto al testigo no tratado. Las diferencias en el IndVrd de las hojas de rango 5 (Figura 6.5c), que se encontraban en estado de primordio foliar al momento de aplicación, permiten inferir que el contenido de clorofila también es más afectado en VR que en SJ. Sin embargo, bajo el efecto herbicida ambas poblaciones se diferencian, no sólo en la velocidad de decaimiento, sino también en la magnitud del contenido de clorofila, ya que las plantas de SJ tratadas siempre presentaron un IndVrd significativamente mayor que las de VR tratadas en todos los tiempos analizados. Ketel (1996) indica que el efecto significativo del glifosato sobre el contenido de clorofila en hojas de *Chenopodium album*, causa diferencias en el crecimiento de los individuos, y concluye que el contenido de clorofila puede ser utilizado como parámetro biológico para dosis de glifosato letales y subletales. Además, debido a la necesidad de disminuir las aplicaciones de herbicidas, han sido propuestos modelos para optimización de dosis y predicción de mortalidad (Ketel, 1996; Ketel *et al.*, 1996; Kempenaar *et al.*, 2011). Estos modelos están basados en valores sobre contenido de clorofila en hojas obtenidos en campo luego de la aplicación del herbicida mediante instrumentos portátiles (Ketel, 1996; Ketel *et al.*, 1996; Kempenaar *et al.*, 2011). La mayor tolerancia a glifosato de SJ respecto a VR se determinó mediante ensayos dosis-respuesta utilizando la biomasa total como variable respuesta (Capítulo 4), y estos resultados se corresponden con lo obtenido mediante el IndVrd. En este sentido, la utilización del IndVrd en *G. perennis*, debido a la alta correlación del valor SPAD con el contenido de clorofila (Figura 6.6), podría ser utilizado como índice para predecir el efecto del glifosato e integrar futuros modelos de optimización de dosis.

En algunas especies se han identificado biotipos resistentes a herbicidas en los cuales la evolución de los alelos de resistencia ha estado asociada con un costo en la aptitud reproductiva de sus individuos (Vila-Aiub *et al.*, 2009). Sin embargo, SJ produce mayor cantidad de UIFT que VR en los individuos testigos y también bajo el efecto herbicida. Por otra parte, la ausencia de interacción entre los factores Población x Tratamiento al analizar las UIFT indicaría que no existen diferencias genéticas en esta variable como respuesta a la aplicación del herbicida. El incremento en la producción de estructuras reproductivas ha sido señalado como una característica adaptativa a ambientes agrícolas de ecotipos de *Senecio vulgaris* (Leiss & Müller-Schärer, 2001). También Sobey (1987), comparando ecotipos de *Stellaria media* de ambientes naturales y agrícolas, encontró diferencias a favor de los ecotipos agrícolas en la cantidad de estructuras reproductivas. El incremento en el número de UIF podría ser una ventaja adaptativa para individuos de *G. perennis* en ambientes regularmente disturbados como los agrícolas. *Gomphrena perennis* sólo se reproduce a través de semillas y, como fue mostrado en el estudio sobre biología de semillas (Capítulo 3), éstas poseen elevada viabilidad y bajo nivel de dormancia por lo que pueden germinar inmediatamente luego de efectuada la dispersión. De esta manera, un incremento en la producción de estructuras reproductivas en SJ podría favorecer en mayor medida el aprovechamiento de un ambiente que le es favorable, incrementando rápidamente su población.

Respecto a la distribución de UIFs por rango del eje principal (Figura 6.3), en las plantas no tratadas SJ posee la mayor proporción de sus UIFs en los rangos proximales mientras que VR posee mayor producción de UIFs en los rangos distales del eje principal. La mayor distribución de UIFs hacia la zona basal en SJ se corresponde con la menor altura alcanzada por sus individuos y podría ser otra característica adaptativa a zonas agrícolas debido a que en este hábitat no se necesita priorizar el crecimiento en

altura por la ausencia del estrato arbustivo que sí está presente en ambientes no disturbados por la actividad agrícola (Cousens & Mortimer, 1995). Sin embargo, la interacción Población x Condición no fue significativa en los rangos basales, los que estaban en desarrollo al momento de la aplicación del herbicida, pero sí fue significativa en los rangos distales (Rk 5 en adelante), los cuales se desarrollaron luego de la aplicación del herbicida. Los individuos de VR poseen mayor desarrollo en altura y mayor proporción de UIFs sobre los rangos distales lo que permite inferir que las UIF son un destino de fotoasimilados fuerte. En cambio, los individuos de SJ poseen menor desarrollo en altura y menor proporción de UIFs en los rangos distales lo que permite inferir que estos rangos son un destino de fotoasimilados más débil respecto a VR. Ha sido demostrado que el glifosato, al moverse dentro de la planta a través del floema, disminuye su efecto herbicida al ser disminuido el flujo de fotoasimilados (Mithila *et al.*, 2008). Además en muchas malezas la tolerancia a glifosato ha sido correlacionada con tasas reducidas de transporte hacia tejidos con actividad meristemática (Powles & Preston, 2006; Shaner, 2009). Es posible sugerir que la diferencia entre poblaciones de *G. perennis* en la tasa transporte de asimilados pueda ser la responsable, al menos en parte, de la mayor tolerancia en SJ respecto a VR. Esta hipótesis estaría sustentada también por los resultados obtenidos para el IndVrd. Las hojas de los rangos 3 y 4 del EP que recibieron la aplicación no se diferencian al final del ensayo en el IndVrd obtenido entre poblaciones bajo el efecto herbicida, pero sí se diferencian en el IndVrd obtenido en el rango 5 del EP en todos los tiempos analizados.

A nivel de fitómeros no pudieron ser detectadas diferencias entre los testigos de ambas poblaciones, pero sí se diferenciaron SJ vs. VR en los FTT producidos bajo el efecto herbicida. Cada fitómero contiene sus respectivas yemas axilares. Por lo tanto, el mayor efecto herbicida en VR, expresado como una mayor inhibición en la producción

de fitómeros, indica una gran limitación de la capacidad de desarrollo de la estructura vegetativa. Además, los FT se diferencian en la distribución arquitectural entre poblaciones. Los individuos testigo de SJ presentaron mayor número de FTO3 respecto a VR, lo que se corresponde con su mayor producción de UIF ya que son fitómeros que integran ejes categoría A3, que cumplen la función de generar estructuras reproductivas. Además, en VR tratada con herbicida el número de fitómeros fue prácticamente inhibido en este orden de ramificación lo cual explica el escaso número de UIF producidas por esta población luego de la aplicación de glifosato.

El Análisis Discriminante (Figura 6.4) muestra que no hay un gran solapamiento entre poblaciones de *G. perennis* tanto entre los testigos como bajo el efecto herbicida. En *Solanum ptycanthm* Dunn. al comparar la respuesta a diferentes niveles de nutrientes se observó que los agroecotipos se solapaban completamente con ecotipos silvestres, teniendo en cuenta altura de planta, area foliar y número de flores entre otras características, por lo cual se estableció que una gran plasticidad fenotípica era la responsable del mayor crecimiento de la especie en hábitats agrícolas respecto a hábitats silvestres y no una diferencia genética (Hermanutz & Weaver, 1996). El bajo solapamiento obtenido en *G. perennis* sugiere que VR y SJ no sólo se diferencian bajo el tratamiento herbicida, sino que también existe bajo solapamiento entre testigos. Es importante mencionar que al observar el espacio discriminante (Figura 6.4) la variable peso seco (PS), variable respuesta utilizada en el ensayo dosis-respuesta (Capítulo 4), tiene influencia en la diferenciación entre tratamientos pero no tiene influencia al diferenciar los testigos de ambas poblaciones..Sin embargo, el análisis discriminante indica que en la diferenciación de poblaciones tienen gran influencia las variables arquitecturales, siendo las de mayor importancia la producción de FTT y la de UIFTs.

Una posible respuesta de poblaciones de una misma especie a ambientes heterogéneos es la adaptación genética resultando en la formación de diferentes ecotipos (Bennington & McGraw, 1995). En base a los resultados discutidos en los párrafos precedentes es posible indicar que las diferencias, entre las poblaciones VR y SJ, tienen una base genética, por lo cual pueden ser considerados ecotipos diferentes. En respuesta a las diferentes fuerzas selectivas tanto bióticas como abióticas, la diferenciación ecotípica es un proceso común que ocurre en diferentes escalas espaciales en especies consideradas como malezas (Snaydon, 1971; Ransom *et al.*, 1998; Tasrif *et al.*, 2011). Sin embargo, la demostración de diferentes ecotipos mediante características morfológicas, dentro de un contexto evolutivo, no es suficiente evidencia de que una característica en particular está bajo selección (Gould & Lewontin, 1979; Jordan 1991). En otros estudios se ha encontrado evidencia que permite sugerir que poblaciones cercanas de la misma especie exhiben niveles similares de tolerancia mientras que poblaciones que se encuentran más apartadas exhiben gran diferencia en sus niveles de tolerancia (Baucom & Mauricio, 2008a). Sería importante continuar con estudios que incluyan otros genotipos de *G. perennis* orientados a clarificar la naturaleza, a nivel regional, de la dinámica evolutiva de su tolerancia a glifosato y/o su adaptación a ambientes agrícolas altamente modificados.

CONCLUSIÓN

Gomphrena perennis parece haberse adaptado a una situación agrícola particular, diferenciando genotipos con elevada tolerancia a glifosato (SJ) al ser comparada con una población desarrollada en condiciones poco perturbadas (VR). En

base a los resultados obtenidos es posible hipotetizar que un diferente transporte del herbicida en la planta es el responsable, al menos en parte, de la tolerancia incrementada en SJ. Sin embargo, ambas poblaciones no sólo se diferencian en su respuesta a la aplicación herbicida. La mayor tolerancia en SJ está acompañada por mayor producción de unidades de inflorescencia, lo que muestra que no hay un costo en aptitud reproductiva. El comportamiento de una población de malezas dependerá, en parte, de la naturaleza del ambiente experimentado por plantas individuales. Incrementos en el tamaño de la población de *G. perennis* serán alcanzados a través de la reproducción de los individuos que sobrevivieron y alcanzaron la madurez. La contribución reproductiva de estos sobrevivientes es, por lo tanto, de gran importancia en el crecimiento de la población, variable en la cual se diferenciaron notablemente las poblaciones SJ y VR. En este sentido, las diferencias en la arquitectura cuantitativa entre VR y SJ indican que se trata de ecotipos diferentes y sugieren que las características responsables de diferenciar ambos ecotipos pueden estar relacionadas no solamente con la mayor tolerancia al glifosato sino también con una adaptación a un ambiente agrícola, en el cual el glifosato aunque es un elemento del agroecosistema de gran importancia, no es el único.

Otro punto destacable de este trabajo es que, aunque la biomasa no resultó representativa para separar los individuos no tratados de ambos ecotipos (Capítulo 4), los componentes estructurales (longitud de ejes, número de fitómeros, número de unidades de inflorescencias y área foliar) que la determinan sí permitieron diferenciar esos individuos.

Además, debido a la alta correlación del valor SPAD con el contenido de clorofila, el uso del IndVrd resulta promisorio en *G. perennis* para ser utilizado en modelos predictivos sobre el efecto de la aplicación de glifosato en diferentes ecotipos.

*Discusión General y
Conclusión*

DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo de esta tesis fue un conocido problema en la ciencia de las malezas: caracterizar el potencial de una especie para desarrollarse como maleza. En este sentido, utilizamos los conceptos desarrollados por la arquitectura vegetal para la interpretación y caracterización de los sistemas de ramificación en *G. perennis* e *I. diffusa*. La utilización del enfoque arquitectural con este objetivo es relativamente nueva, por lo cual se realizó una revisión sobre la utilización de los conceptos de arquitectura vegetal aplicados a plantas herbáceas de la familia Amaranthaceae y se utilizó la metodología AMAPmod para la representación matemática y análisis de la estructura. La ventaja de este enfoque radica en que posibilita la interpretación del desarrollo de las plantas basado en el análisis dinámico de su estructura. Ambas especies, objeto del presente trabajo, se encuentran vinculadas al actual sistema de producción regional dominante, caracterizado por la predominancia del cultivo de soja transgénica, la siembra directa y el uso masivo de glifosato (Binimelis *et al.*, 2009). En este estudio nos focalizamos en el análisis de los datos con el fin de poder establecer características estructurales acerca de las malezas y la capacidad de responder a un disturbio, particularmente el ocasionado por la aplicación del herbicida glifosato.

Análisis arquitectural a nivel de géneros o familias

Más allá de su valor conceptual, el análisis arquitectural es un método preciso fundado en la observación de algunos caracteres simples (Barthélémy, 1988) que permite lograr una completa cartografía del vegetal (Tourn *et al.*, 1999). Los modelos arquitecturales han resultado una herramienta útil para expresar el desarrollo vegetativo de las especies argentinas de *Gomphrena* e *Iresine*. La descripción arquitectural

realizada en el Capítulo 1 permitió incursionar en la búsqueda de variaciones estructurales y la determinación de modelos arquitecturales dentro de la familia Amaranthaceae. Aunque el género *Iresine* en Argentina está representado por una sola especie (*Iresine diffusa*), el género *Gomphrena* está representado por una considerable cantidad de especies (Pedersen, 1999) lo que permitió abarcar, respecto al desarrollo estructural de las especies estudiadas, una notable variabilidad. En este sentido, la diversidad arquitectural mostrada por las especies incluidas en el Capítulo 1 ha podido ser caracterizada por varios modelos de desarrollo en particular. Además, el análisis arquitectural ha provisto una organización conceptual que facilita la manera en la cual toda la información del desarrollo vegetativo puede ser usada, sea para taxonomía o para estudios filogenéticos. Interpretaciones filogenéticas óptimas requerirán la comparación de datos morfológicos y moleculares para poder realizar hipótesis sobre como evolucionó la arquitectura dentro de la familia o género (Kurmman & Hemsley, 1999). La disponibilidad en el futuro de filogenias basadas en datos moleculares y morfológicos será una herramienta muy útil que abrirá la posibilidad de investigar la evolución de la arquitectura de las plantas, por lo que será importante continuar con este estudio abarcando taxones de otras regiones.

Importancia de la combinación de diferentes enfoques en el estudio de la caracterización del estatus de “maleza” en G. perennis e I. diffusa

Los modelos de desarrollo determinados para los ejes ortótopos de *G. perennis* (UA3-3) e *I. diffusa* (UA3-6) son similares y se ajustan a lo descrito por el modelo de Attims (Capítulo 1). Sin embargo, se diferencian notablemente en la estructura de perennización desarrollada por la zona proximal del eje epicotilar. *Gomphrena perennis* desarrolla un pleiocormo mientras que *I. diffusa* desarrolla ejes estoloníferos. El

desarrollo del pleiocormo comienza en los estadios iniciales del crecimiento de *G. perennis* mientras que en *I. diffusa* los ejes plagiótrpos poseen relativamente un desarrollo más tardío, comenzando su crecimiento cuando gran parte de la estructura aérea originada por el eje epicotilar ya ha sido desarrollada. Además de diferenciarse ambas especies en el momento de desarrollo de la estructura de perennización, los individuos provenientes de semillas se diferencian notablemente en su velocidad de crecimiento (Capítulo 2). Ya que en malezas el potencial competitivo de una especie está asociado positivamente con el crecimiento inicial rápido (Kropff, 1988; Storkey, 2004), la precocidad en el desarrollo vegetativo y en alcanzar el estado reproductivo son características que representan ventajas competitivas en su definición como “maleza” para *G. perennis* respecto de *I. diffusa*.

La determinación del modelo de desarrollo estructural constituye el punto inicial sobre el cual se apoya la cuantificación de las estructuras de cada especie (Godin *et al.*, 1999b). Esta cuantificación fue registrada mediante el desarrollo de la base de datos MTG, la cual puede ser explorada y analizada de manera interactiva. Esta metodología permite definir diferentes tipos de variables a obtener (tanto *a priori* como *a posteriori*) ya que la arquitectura de la planta es preservada durante todo el proceso de medición (Godin *et al.*, 1999a). En esta tesis, el desarrollo de la base MTG permitió que la estructura de codificación informatizada pueda ser explorada desde diferentes enfoques: distribución topológica según órdenes de ramificación, relaciones entre destinos de meristemas, índice de susceptibilidad y distribución de estructuras teniendo en cuenta rangos de los fitómeros del eje principal. Estos enfoques permitieron abarcar diferentes aspectos de gran utilidad para caracterizar a una maleza.

Aplicado al estudio de “malezas” y su respuesta al tratamiento herbicida, el análisis arquitectural resulta un complemento adecuado para los ensayos dosis-

respuesta. Este tipo de ensayos, al evaluar la biomasa total (ensayos destructivos), no posibilitan el seguimiento de los individuos ni tampoco permiten discriminar características morfométricas de interés. Sin embargo, las unidades experimentales son plantas herbáceas que pueden ser cultivadas durante corto tiempo (60 a 90 días), y al completar su desarrollo permiten que su arquitectura en diferentes momentos y condiciones de crecimiento sea objetivamente comparada. La importancia del análisis arquitectural como complemento de los estudios dosis-respuesta se manifiesta en las comparaciones realizadas tanto entre especies (Capítulo 5) como entre ecotipos de una misma especie (Capítulo 6).

La definición de “tolerancia” a un herbicida indica no solo la capacidad de sobrevivir al tratamiento sino que incluye también la capacidad de reproducirse (Baucom & Mauricio, 2008b). Para individuos de *I. diffusa* desarrollados desde semillas se determinó una importante susceptibilidad al herbicida en variables arquitecturales (Capítulo 5). Aunque los individuos de esta especie sobreviven al tratamiento herbicida, debido a la escasa producción de estructuras reproductivas, *I. diffusa* podría ser definida como de baja tolerancia. Los resultados obtenidos mediante el IS permiten demostrar que, cuantitativamente, *G. perennis* es menos susceptible al tratamiento herbicida, aunque a partir trabajos anteriores (Nisensohn *et al.*, 2007, Puricelli *et al.* 2008, Puricelli & Faccini, 2009) podría esperarse lo contrario. *Gomphrena perennis* también fue afectada en su capacidad de generar estructuras reproductivas, sin embargo, la aplicación de glifosato no le impediría alcanzar la reproducción sexual ya que desarrolla al menos el 50% de las UIFs respecto al testigo no tratado.

Es importante remarcar que *I. diffusa* presenta un EV alométrico, razón por la cual la tolerancia estaría relacionada a su desarrollo vegetativo antes que a la reproducción por semillas. Vila-Aiub & Ghera (2005) mostraron un remarcable

incremento en la tolerancia a herbicida en ramets hijos obtenidos de plantas “madres” que habían sido sometidas a tratamientos herbicidas en *Lolium multiflorum*, proceso que ha sido denominado “aclimatación al herbicida”. Fue denominado “aclimatación” debido a que los clones presentaron tolerancia incrementada pero los individuos obtenidos de semillas de estos clones no heredaban este rasgo sino que eran muy susceptibles. En este sentido, podemos mencionar que en los campos en los que *I. diffusa* se comporta como maleza problemática y los productores advierten falta de efectividad del glifosato para controlarla, se ha observado que los individuos que sobreviven la aplicación no provenían de plántulas de semillas germinadas con pocas semanas de edad sino que son individuos que tenían, al momento de aplicación, un gran desarrollo con numerosas reiteraciones originadas desde los estolones (Acosta, J. observaciones personales; Lámina V.2). Será necesario conducir en el futuro estudios que determinen la efectividad del herbicida sobre individuos clonados para así poder establecer qué importancia tiene este tipo de reproducción en la dinámica poblacional de esta especie en campos cultivados con aplicaciones intensivas de glifosato.

Además, según la WSSA, la tolerancia es una capacidad inherente a una especie, es decir los individuos son naturalmente tolerantes al herbicida (WSSA, 1998). Basados en los antecedentes bibliográficos (Nisensohn *et al.* 2007, Puriccelli *et al.* 2008) puede considerarse a *G. perennis* como una especie tolerante a glifosato. Sin embargo, nuestros resultados indican que podría haberse adaptado a una situación agrícola particular, diferenciando genotipos con elevada tolerancia a glifosato (ecótipo SJ) al ser comparada con un ecótipo desarrollado en condiciones poco disturbadas (ecótipo VR). Según la WSSA, la susceptibilidad diferencial al herbicida entre dos genotipos de una especie, aunque no es suficiente para confirmar resistencia, si es una condición necesaria para generar sospechas sobre casos de resistencia a herbicida (Heap, 2011).

Una hipótesis sobre resistencia podría basarse en los resultados obtenidos mediante los ensayos DR (Capítulo 4), ya que para *G. perennis* se determinaron respuestas diferentes al glifosato para las distintas poblaciones. Además, estos modelos DR no detectaron diferencias en la biomasa final de los individuos testigo. Sin embargo, los datos arquitecturales permitieron diferenciar ambas poblaciones no sólo en su respuesta al herbicida. Los individuos testigo se diferenciaron significativamente en características que difícilmente puedan ser explicadas debidas a cambios enzimáticos en el metabolismo del ácido shikímico (sitio de acción del glifosato). Aunque existen excepciones, en muchas especies la generación de resistencia a herbicidas ha estado asociada con un costo en la aptitud reproductiva (Vila-Aiub *et al.*, 2009). Este no es el caso de *G. perennis*, donde la población SJ, de baja susceptibilidad al herbicida, produce mayor número de estructuras reproductivas que la población silvestre VR. La detección de genotipos de una especie con mayor producción de inflorescencias ha sido asociada en herbáceas a una adaptación de estos ecotipos a ambientes agrícolas debido, entre otras características, a la falta de competencia y a la mayor disponibilidad de nutrientes por las sucesivas fertilizaciones en el agroecosistema (Leiss & Müller-Schärer, 2001). El análisis integrando datos arquitecturales con el índice de verdor (Capítulo 6) sugiere que un diferente transporte de herbicida podría ser el responsable, al menos en parte, de la tolerancia incrementada en SJ respecto a VR. Sin embargo, diferencias estructurales entre los testigos de ambas poblaciones de *G. perennis* muestran que no solo se diferencian en su respuesta al tratamiento con glifosato, sino que sugieren una adaptación a un ambiente altamente disturbado, en el cual el glifosato es uno de los diferentes elementos que conforman este agroecosistema. Aunque las diferencias arquitecturales determinadas permiten indicar que se trata de ecotipos diferentes, será importante conducir en el futuro estudios orientados a identificar la

importancia de diferentes factores del agroecosistema y no sólo el glifosato, como fuerza selectiva en la generación de ecotipos adaptados a campos agrícolas. En este sentido, el análisis arquitectural además de haber puesto de manifiesto qué estructuras son las responsables de la falta de efectividad del glifosato, permitió generar preguntas e hipótesis más amplias que aquellas simplemente relacionadas a la respuesta al herbicida, las cuales podrán ser utilizadas como base para futuras investigaciones.

Biología de semillas y la posibilidad de escapar al control del herbicida

La optimización del manejo a largo plazo de una maleza en un agroecosistema requiere de la integración de conocimientos de diferentes aspectos acerca de su biología (Van Acker, 2009). Tanto la germinación como la emergencia de plántulas son estadios importantes en el proceso de invasión de las poblaciones (Cousens & Mortimer, 1995). En el momento de madurez de los individuos de *G. perennis* e *I. diffusa* las semillas que producen poseen elevada viabilidad y están adaptadas para germinar luego de ser dispersadas bajo condiciones ambientales comúnmente encontradas en los campos cultivados de la región, lo cual puede explicar, al menos parcialmente, su éxito como malezas. Los resultados obtenidos sobre efectos de diferentes factores en la germinación y emergencia en ambas especies, especialmente los efectos de la temperatura y estrés osmótico (Capítulo 3), pueden ser utilizados para desarrollar modelos hidrotérmicos que permitan predecir la dinámica de la germinación y poder diseñar programas de manejo orientados a efectuar una práctica de control en el momento adecuado. Además, los resultados obtenidos en este estudio permiten sugerir algunas posibles alternativas de manejo. El disturbio del suelo causado por prácticas de labranza que entierren las semillas a más de 5 cm, puede tener una gran influencia en la germinación de ambas

especies debido a que su emergencia está limitada a los estratos superiores del suelo. Esta práctica puede ser de importancia para controlar a *G. perennis* ya que sólo se reproduce sexualmente y su dinámica poblacional depende de la emergencia de plántulas provenientes de semillas. Ha sido demostrado que para especies que se multiplican vegetativamente, la labranza del suelo provoca la fragmentación de tallos y rizomas por lo cual se favorece su invasividad ya que se incrementa notoriamente la cantidad de propágulos vegetativos además de ser dispersados éstos hacia otras áreas (Jia *et al.*, 2009). Por esta razón, aunque esta práctica agronómica puede controlar también los individuos provenientes de semilla de *I. diffusa*, no sería conveniente recomendarla ya que la multiplicación vegetativa por la fragmentación y dispersión de estolones y tallos ortótropos aéreos se vería beneficiada.

Respecto al glifosato, además de la tolerancia o resistencia, el “escape” es otra característica importante de muchas malezas que influye en la falta de efectividad de un herbicida (Scursoni *et al.* 2007). El glifosato no tiene actividad residual; sólo tiene efecto sobre los individuos que se encuentran en desarrollo al momento de aplicación e interceptan la pulverización. Por esta razón, plántulas provenientes de diferentes cohortes pueden “escapar” a la acción del herbicida. Tanto las semillas de *G. perennis* como de *I. diffusa* están adaptadas no sólo para germinar luego de ser dispersadas, sino también bajo las condiciones ambientales comúnmente encontradas en los campos cultivados de la región en diferentes épocas del año. Este es un aspecto importante a tener en cuenta debido a que pueden ocurrir diferentes flujos de emergencia (Lámina 3.1).

La capacidad de las semillas de dar diferentes flujos de emergencia, junto al rápido desarrollo de *G. perennis* en alcanzar el estado reproductivo, hace posible que existan varias generaciones en un mismo año. Estas características dan como resultado

la posibilidad de incrementar su población en gran medida, favoreciendo su invasividad. La rotación de cultivos es una práctica que permitiría la aplicación de herbicidas con diferentes sitios de acción, especialmente aquellos con actividad residual (ej. atrazina). Esta práctica favorecería el control de diferentes flujos de emergencia, por lo que sería adecuada para su manejo y para disminuir la importancia del banco de semillas en ambas especies y también de propágulos vegetativos en el caso particular de *I. diffusa*.

Otro aspecto a tener en cuenta en el manejo de estas malezas es la situación del cultivo y las malezas al momento de cosecha (Van Acker, 2009). Sería importante identificar los focos de invasión de estas malezas para evitar cosechar estas zonas. De esta manera se puede impedir la dispersión de semillas en *G. perennis* y de semillas y tallos aéreos en *I. diffusa* que provocaría la cosechadora por el proceso de distribución del material vegetal residual luego de la separación del grano de soja.

Sobre malezas y cultivos OGM

Martínez-Ghersa *et al.* (2000) señalan, entre otros puntos, dos importantes desafíos para la agroecología en relación con el manejo de malezas: 1) predecir la dirección que seguirá la sucesión vegetal y el tipo de malezas que aparecerá en el futuro y 2) comprender los cambios evolutivos que se suceden en las poblaciones de malezas. La importancia de responder a tales desafíos radica en que tanto la sucesión como la evolución son procesos que se relacionan con el agroecosistema. Es conocida la frase de Bailey (1895) “la Naturaleza no reconoce plantas como malezas”. La presencia de las malezas en campos cultivados es una indicación de una etapa de sucesión secundaria. La tendencia constante de las áreas cultivadas de revertir a un sistema de vegetación natural, lleva implícito el principio de que controlar las malezas es una tarea inevitable

para una eficiente producción de alimentos. En este contexto, está fuera de discusión la relevancia de la información sobre la biología de las especies como uno de los pilares para poder diseñar prácticas agronómicas adecuadas para el manejo de las mismas. Sin embargo, los cambios en las técnicas de control de malezas varían en función de factores políticos, económicos y sociales más que de demandas biológicas del sistema de producción (Ghersa *et al.* 1994). La producción agrícola descansa fuertemente en el uso de tecnologías de insumos, en donde los canales de información más comunes se relacionan con las compañías proveedoras de tales insumos. Las técnicas de control han surgido mayoritariamente de las recomendaciones de compañías agroquímicas de manera que la información “valiosa” abarca prioritariamente aquellos ítems que tienen un valor comercial inmediato (Vitta *et al.*, 2002). La información biológica con base científica ha ido detrás de este proceso, debido principalmente al tiempo relativamente prolongado que requiere generar y posteriormente comunicar un conocimiento biológico. Las decisiones que se toman asociadas al control de malezas son a corto plazo y comúnmente se realizan mediante la acumulación de experiencias directas de prueba y error, sin tener en cuenta las bases científicas de las respuestas observadas.

Las estrategias de manejo de malezas contemporáneas descansan fuertemente en el empleo de herbicidas y uno de los principales perjuicios que ocasiona este predominio radica en la relativa simplicidad de la tecnología, que permite su empleo aún con conocimientos escasos de los fundamentos en que se sustenta (Vitta *et al.*, 2002). Además, debido a que las malezas resistentes a herbicidas son consideradas uno de los mayores problemas económicos para la agricultura, gran parte de las investigaciones sobre la caracterización de malezas recaen en la determinación de la respuesta al glifosato: Tolerancia o Resistencia.

Una consecuencia de la focalización de los estudios orientados solamente a definir tolerancia o resistencia a herbicidas es que los agricultores, al percibir el problema desde los canales de información más comunes (los que se relacionan con las compañías proveedoras de insumos), no sólo elevan las dosis de aplicación sino que también aplican mezclas de herbicidas sin tener en cuenta las consecuencias ecotoxicológicas perjudiciales que pueden tener estas tácticas de control. Además, debido a que el problema de tolerancia o resistencia a glifosato se eleva año a año se han incrementado los canales de divulgación de esta situación; incluso han sido creadas diferentes “redes de alerta” (Heap, 2011) para declarar casos de sospecha de resistencia al herbicida. Debido a la percepción generalizada sobre este problema y las dificultades económicas que provocaría la baja efectividad del glifosato, sólo se busca como alternativa otro producto químico que pueda reemplazarlo (Vignatti, O., comunicación personal). En la actualidad ya han sido desarrollados OGM resistentes a otros herbicidas cuyos principios activos son considerados desde una perspectiva económicamente parcializada como “amigables para el ambiente” y “de bajo costo”. Entre estos OGM se encuentran la soja transgénica resistente al herbicida Dicamba (Behrens *et al.*, 2007) o la soja transgénica con genes de resistencia a varios principios activos con diferente sitio de acción (Wright *et al.*, 2010), por lo que no es difícil vislumbrar cual será el futuro de los cultivos transgénicos ante una eventual pérdida de efectividad del glifosato. Vitta *et al.* (2002) expresan lo siguiente: “El desplazamiento del actual paradigma dominante del control de malezas requiere de la aceptación de una alternativa superadora, tanto por parte de los hacedores de tecnología como de los que la aplican”. Desde esta perspectiva, en el contexto socio-económico actual, cualquier proyecto destinado al desarrollo de estrategias de manejo de malezas basadas en el

empleo de información morfológico-ecológica sobre las especies asociadas a los cultivos difícilmente supere el terreno de la especulación académica.

CONCLUSIÓN

En el manejo de malezas cambiar estrategias reactivas hacia proactivas conlleva la necesidad de conducir estudios orientados a caracterizar la mayor cantidad posible de atributos biológicos de las especies, los que en su conjunto pueden influir en su éxito como malezas. Las comparaciones realizadas a través de los datos arquitecturales obtenidos han provisto de información detallada del crecimiento y la estructura de *G. perennis* e *I. difusa*. La cuantificación de la arquitectura vegetal relacionada a otras características de la biología, como por ej. biología de semillas o Índice de Verdor, han sido importantes para explicar rasgos específicos que están asociados a su éxito ecológico en el modelo productivo actual. Además, han sido explorados y ampliados los criterios utilizados para caracterizar estas especies herbáceas como malezas. Este enfoque puede ser aplicado al estudio del efecto que ejercen tanto los herbicidas como otros factores ambientales sobre las plantas herbáceas en general. Los parámetros calculados formarán la base de futuros modelos funcional-estructurales en los cuales se podrá explorar y predecir el efecto de diferentes estrategias de manejo de estas malezas en el agroecosistema. Los resultados con bases científicas permitirán de esta manera establecer las características biológicas de las comunidades vegetales asociadas a los cultivos como política a tener en cuenta para el manejo de las mismas.

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AF: área foliar

AFT: área foliar total

AFEP: área foliar del eje principal

AFEPRk3 a 5: AFEP para los rangos 3, 4 y 5 respectivamente

AFO1: área foliar de ramas de primer orden

AFO2: área foliar de ramas de segundo orden

AFO3: área foliar de ramas de tercer orden

AIC: criterio de información de Akaike

AMAPmod: software de análisis arquitectural

AML: AMAPmod Language

BIC: criterio de información Bayesiano

DA: dominancia apical

DAA: días antes de aplicación

DDA: días después de aplicación

DE₅₀: dosis efectiva para causar una reducción del 50% en la variable respuesta

DR: dosis-respuesta

EE: error estándar

EP: eje principal

ER: esfuerzo reproductivo

EV: esfuerzo vegetativo

FT: número de fitómeros o metámeros

FTol: factor de Tolerancia

FTT: número de fitómeros totales

FTEP: número de fitómeros del eje principal

FTO1: número de fitómeros de ramas de primer orden

FTO2: número de fitómeros de ramas de segundo orden

FTO3: número de fitómeros de ramas de tercer orden

g: gramos

Glph: tratamiento glifosato

ha: hectárea

HRAC: Herbicide Resistance Action Comitee

I: meristema quiescente o inhibido

ia: ingrediente activo

IndVrd: Índice de verdor

IndVrdRk 3 a 5: IndVrd para los rangos 3, 4 y 5 del eje principal respectivamente

IS: Índice de Susceptibilidad

IS TOT: IS total

l: litro

LG: longitud de ejes

LGT: longitud total de ejes
LGEP: longitud del eje principal
LGO1: longitud total de ramas de primer orden
LGO2: longitud total de ramas de segundo orden
LGO3: longitud total de ramas de tercer orden
LSD: Least Square Difference

MAV: Meristema apical del vástago
MTG: gráfico de árboles multiescalares
MPa: megapascales

OGM: organismos genéticamente modificados

pc: producto comercial
PEG: polietilenglicol
Ple: pleiocormo
PS: peso seco

O1: ramificación primer orden
O2: ramificación de segundo orden
O3: ramificación de tercer orden
O3 y sig: ramificación de tercer orden y subsiguientes

R: meristema reproductivo
REML: estimación por máxima verosimilitud restringida
RG: resistente a glifosato
Rk: rango de fitómero en el eje principal (rango = nudo)

SJ: población de *G. perennis* del departamento San Justo, Pcia. de Santa Fe.
SJ Glph: tratamiento herbicida (con glifosato) población SJ
SJ Tg: tratamiento testigo (sin glifosato) población SJ
SMA: standarized mayor axis (ejes mayores estandarizados)
SPAD: instrumento de medición del índice de verdor

TCA: tasa de crecimiento absoluta
TCR: tasa de crecimiento relativa
Tg: tratamiento testigo (sin herbicida)
T1 a T5: tiempos de medición del Índice de Verdor (0, 5, 10, 15 y 20 días desde la aplicación herbicida respectivamente)

UIF: unidades de inflorescencias
UIFT: número de UIF totales
UIFO1: número de UIF en ramas de primer orden
UIFO2: número de UIF en ramas de segundo orden
UIFO3: número de UIF en ramas de tercer orden

V: meristema vegetativo
VR: población de *G. perennis* del departamento Vera, Pcia. de Santa Fe.

VR Glph: tratamiento herbicida (con glifosato) población VR

VR Tg: tratamiento testigo (sin glifosato) población VR

WSSA: sociedad americana de ciencias de malezas (Weed Science Society of America)

BIBLIOGRAFÍA

- Acosta, J. & Perreta, M. 2009. Caracterización arquitectural de la tolerancia a herbicida en *Gomphrena perennis* L. aplicando AMAPmod. Pp 223 en Proceedings of the XXXII Jornadas Argentinas de Botánica. Huerta Grande, Córdoba: Sociedad Argentina de Botánica.
- Acosta, J., Amsler, A. & Vegetti, A. 2009a. Estudio anatómico de órganos vegetativos en *Gomphrena perennis* L. (Amaranthaceae) en Proceedings of the XXXII Jornadas Argentinas de Botánica. Huerta Grande, Córdoba: Sociedad Argentina de Botánica.
- Acosta, J., Perreta, M., Amsler, A. & Vegetti, A. 2009b. The Flowering Unit in the Synflorescences of Amaranthaceae. *The Botanical Review* 75: 365-376.
- Ali, A. & Fletcher, R. A. 1978. Phytotoxic action of glyphosate and amitrole on corn seedlings. *Canadian Journal of Botany* 56: 2196-2202.
- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15.
- Arntz, A. M., DeLucia, E. H. & Jordan, N. 1998. Contribution of photosynthetic rate to growth and reproduction in *Amaranthus hybridus*. *Oecologia* 117: 323-330.
- Arregui, M. C., Scotta, R. & Sanchez, D. 2006. Improved weed control with broadleaved herbicides in glyphosate-tolerant soybean (*Glycine max*). *Crop Protection* 25: 653-656.
- Bailey, L. H. 1895. General observatios respecting the care of fruit trees. With some reflections upon weeds. *Bulletin of Cornell Agricultural Experiment Station* 102: 522-526.
- Baker, H. G. 1974. The Evolution of Weeds. *Annual Review of Ecology and Systematics* 5: 1-24.
- Barrett, S. C. H. 1991. Genetics and evolution of agricultural weeds. Pp. 57-75 en M. A. Altieri & M. Liebman, eds. *Weed Management in Agroecosystems: Ecological Approaches*. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.
- Barthélémy, D. 1988. Architecture et sexualité chez quelques plantes tropicales: Le concept de floraison automatique. Doctorat These. Montpellier: Université des Sciences et Techniques du Languedoc. 285 p.
- Barthélémy, D. 1991. Levels of organization and repetition phenomena in seed plants. *Acta Biotheoretica* 39: 309-323.
- Barthélémy, D. 2000. Análisis, modelización y simulación informática de la arquitectura de las plantas: aplicaciones agronómicas y paisajistas. Pp. 45-77 en E. Dómenech & F. Collado, eds. *Ciudades arboladas para el siglo XXI*. Ponencias del IV Congreso ISA Europeo y V Español de Arboricultura. Valencia: La Pobla Llarga.
- Barthélémy, D. & Caraglio, Y. 2007. Plant Architecture: A Dynamic, Multilevel and Comprehensive Approach to Plant Form, Structure and Ontogeny. *Annals of Botany* 99: 375-407.
- Barthélémy, D., Edelin, C. & Hallé, F. 1989. Architectural concepts for tropical trees. Pp. 89-100 en L. B. Holm-Nielsen & H. Balslev, eds. *Tropical forests: botanical dynamics, speciation and diversity*. London: Academic Press.
- Barthélémy, D., Caraglio, Y. & Costes, E. 1997. Architecture, gradients morphogénétiques et âge physiologique chez les végétaux. Pp. 89-136 en J.

- Bouchon, P. De Reffye & D. Barthélémy, eds. Modélisation et simulation de l'architecture des végétaux. Paris: Editions INRA.
- Baskin, C. C. & Baskin, J. M. 1998. Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination. New York: Academic Press. 666 p.
- Baskin, C. C., Thompson, K. & Baskin, J. M. 2006. Mistakes in germination ecology and how to avoid them. *Seed Science Research* 16: 165-168.
- Bastiaans, L., Paolini, R. & Baumann, D. T. 2008. Focus on ecological weed management: what is hindering adoption? *Weed Research* 48: 481-491.
- Batlla, D., Kruk, B. C. & Benech-Arnold, R. L. 2000. Very early detection of canopy presence by seeds through perception of subtle modifications in red:far red signals. *Functional Ecology* 14: 195-202.
- Baucom, R. S. 2009. A Herbicide Defense Trait That Is Distinct from Resistance: The Evolutionary Ecology and Genomics of Herbicide Tolerance. Pp. 163-175 en C. N. Stewart, ed. *Weedy and Invasive Plant Genomics*. Oxford, UK. : Wiley-Blackwell.
- Baucom, R. & Mauricio, R. 2008a. The evolution of novel herbicide tolerance in a noxious weed: the geographic mosaic of selection. *Evolutionary Ecology* 22: 85-101.
- Baucom, R. S. & Mauricio, R. 2008b. Constraints on the evolution of tolerance to herbicide in the common morning glory: resistance and tolerance are mutually exclusive. *Evolution* 62: 2842-2854.
- Baucom, R. S. & Holt, J. S. 2009. Weeds of agricultural importance: bridging the gap between evolutionary ecology and crop and weed science. *New Phytologist* 184: 741-743.
- Bedi, S. & Basra, A. S. 1993. Chilling injury in germinating seeds: basic mechanisms and agricultural implications. *Seed Science Research* 3: 219-229.
- Behrens, M. R., Mutlu, N., Chakraborty, S., Dumitru, R., Jiang, W. Z., LaVallee, B. J., Herman, P. L., Clemente, T. E. & Weeks, D. P. 2007. Dicamba resistance: enlarging and preserving biotechnology-based weed management strategies. *Science* 316: 1185-1188.
- Bell, A. D. 1986. The simulation of branching patters in modular organisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences (1934-1990)* 313: 143-159.
- Bell, A. D. 1991. Plant form. An illustrated guide to flowering plant morphology. Oxford: Oxford University Press. 341 p.
- Bell, A. D. 1994. A summary of branching process in plants. Pp. 119-142 en D. S. Ingram & A. Hudson, eds. *Shape and form in plants and fungi*. London: Academic Press.
- Bennington, C. C. & McGraw, J. B. 1995. Natural selection and ecotypic differentiation in *Impatiens pallida*. *Ecological Monographs* 65: 303-323.
- Benton, T. G., Vickery, J. A. & Wilson, J. D. 2003. Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key? *Trends in Ecology & Evolution* 18: 182-188.
- Berleth, T. & Sachs, T. 2001. Plant morphogenesis: long-distance coordination and local patterning. *Current Opinion in Plant Biology* 4: 57-62.
- Binimelis, R., Pengue, W. & Monterroso, I. 2009. "Transgenic treadmill": Responses to the emergence and spread of glyphosate-resistant johnsongrass in Argentina. *Geoforum* 40: 623-633.
- Blanc, P. 1978. Aspects de la ramification chez des aracées tropicales. PhD Thesis. Paris: Paris University.

- Bohan, D. A., Boffey, C. W. H., Brooks, D. R., Clark, S. J., Dewar, A. M., Firbank, L. G., Haughton, A. J., Hawes, C., Heard, M. S., May, M. J., Osborne, J. L., Perry, J. N., Rothery, P., Roy, D. B., Scott, R. J., Squire, G. R., Woiwod, I. P. & Champion, G. T. 2005. Effects on weed and invertebrate abundance and diversity of herbicide management in genetically modified herbicide-tolerant winter-sown oilseed rape. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272: 463-474.
- Bonny, S. 2009. Genetically Modified Glyphosate-Tolerant Soybean in the USA: Adoption Factors, Impacts and Prospects – A Review. Pp. 257-272 en E. Lichtfouse, M. Navarrete, P. Debaeke, S. Véronique & C. Alberola, eds. *Sustainable Agriculture*. Netherlands: Springer Netherlands.
- Bonser, S. P. & Aarssen, L. W. 1996. Meristem allocation: a new classification theory for adaptive strategies in herbaceous plants. *Oikos* 77: 347-352.
- Bonser, S. P. & Aarssen, L. W. 2001. Allometry and plasticity of meristem allocation throughout development in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Ecology* 89: 72-79.
- Bonser, S. P. & Aarssen, L. W. 2003. Allometry and development in herbaceous plants: functional responses of meristem allocation to light and nutrient availability. *American Journal of Botany* 90: 404-412.
- Bonser, S. P. & Aarssen, L. W. 2006. Meristem allocation and life-history evolution in herbaceous plants. *Canadian Journal of Botany* 84: 143-150.
- Bonser, S. P. & Aarssen, L. W. 2009. Interpreting reproductive allometry: Individual strategies of allocation explain size-dependent reproduction in plant populations. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 11: 31-40.
- Borsch, T. 1995. Three new combinations in *Pfaffia* (Amaranthaceae) from the New World tropics. *Novon* 5: 230-233.
- Buckland, S. T., Burnham, K. P. & Augustin, N. H. 1997. Model Selection: An Integral Part of Inference. *Biometrics* 53: 603-618.
- Buhler, D. D. & Daniel, T. C. 1988. Influence of tillage systems on giant foxtail, *Setaria faberi*, and Velvetleaf, *Abutilon theophrasti*, density and control in corn, *Zea mays*. *Weed Science* 36: 642-647.
- Buhler, D. D., Mester, T. C. & Kohler, K. A. 1996. The effect of maize residues and tillage on emergence of *Setaria faberi*, *Abutilon theophrasti*, *Amaranthus retroflexus* and *Chenopodium album*. *Weed Research* 36: 153-165.
- Buhler, D. D. & Oplinger, E. S. 1990. Influence of tillage systems on annual weed densities and control in solid-seeded soybean (*Glycine max*). *Weed Science* 38: 158-165.
- Cabido, M., Acosta, A. & Diaz, S. 1989. Phytosociological studies in the grasslands of the Cordoba Mountains, Argentina. The communities of the Pampa de San Luis. *Phytocoenologia* 17: 569-592.
- Callaghan, T. V., Svensson, B. M., Bowman, H., Lindley, D. K. & Carlsson, B. A. 1990. Models of clonal plant growth based on population dynamics and architecture. *Oikos* 57: 257-269.
- CASAFE [Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes]. 2005. Guía de Productos Fitosanitarios. 12 ed. Buenos Aires, Argentina. 1678 p.
- Castillo, S. & Moreno-Casasola, P. 1996. Coastal sand dune vegetation: An extreme case of species invasion. *Journal of Coastal Conservation* 2: 13-22.
- Céline, V., Adriana, P., Eric, D., Joaquina, A.-C., Yannick, E., Augusto, L. F., Rosario, R., Dionicia, G., Michel, S., Denis, C. & Geneviève, B. 2009. Medicinal plants from the Yanesha (Peru): Evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 123: 413-422.

- Cerdeira, A. L. & Duke, S. O. 2006. The Current Status and Environmental Impacts of Glyphosate-Resistant Crops: A Review. *J Environ Qual* 35: 1633-1658.
- Chachalis, D. & Reddy, K. N. 2000. Factors affecting *Campsis radicans* seed germination and seedling emergence. *Weed Science* 48: 212-216.
- Chaterton, J. N. & Kadish, A. R. 1969. A temperature germinator. *Agronomy Journal* 61: 643-644.
- Chauhan, B. S. & Johnson, D. E. 2009a. Germination ecology of spiny (*Amaranthus spinosus*) and slender amaranth (*A. viridis*): troublesome weeds of direct-seeded rice. *Weed Science* 57: 379-385.
- Chauhan, B. S. & Johnson, D. E. 2009b. Seed germination ecology of *Portulaca oleracea* L.: an important weed of rice and upland crops. *Annals of Applied Biology* 155: 61-69.
- Chen, G. Q., Guo, S. L. & Huang, Q. S. 2009. Invasiveness evaluation of fireweed (*Crassocephalum crepidioides*) based on its seed germination features. *Weed Biology and Management* 9: 123-128.
- Clarke, M. R. B. 1980. The reduced major axis of a bivariate sample. *Biometrika* 67: 441-446.
- Claus, J. S. & Behrens, R. 1976. Glyphosate translocation and quackgrass rhizome bud kill. *Weed Science* 24: 149-152.
- Conner, A. J., Glare, T. R. & Nap, J.-P. 2003. The release of genetically modified crops into the environment. *The Plant Journal* 33: 19-46.
- Copeland, L. O. & McDonald, M. B. 2001. Principles of seed science and technology. 4th ed. Norwell, Massachusetts: Kluwer Academic Publishers. 467 p.
- Cousens, R. & Mortimer, M. 1995. Dynamics of weed populations Cambridge: Cambridge University Press. 332 p.
- Cousens, R. D., Weaver, S. E., Martin, T. D., Blair, A. M. & Wilson, J. 1991. Dynamics of competition between wild oats (*Avena fatua* L.) and winter cereals. *Weed Research* 31: 203-210.
- Covas, G. 1939. Los géneros de Amarantáceas Argentinos. *Revista Argentina de Agronomía* 6: 282-303.
- Cremers, G. & Edelin, C. 1995. Etude de l'architecture aérienne de quelques plantes tropicales à ramification basitone: vers une révision du modèle de Tomlinson. *Canadian Journal of Botany* 73: 1490-1503.
- Cristaudo, A., Gresta, F., Luciani, F. & Restuccia, A. 2007. Effects of after-harvest period and environmental factors on seed dormancy of *Amaranthus* species. *Weed Research* 47: 327-334.
- Cruz-Hipolito, H., Osuna, M. D., Heredia, A., Ruiz-Santaella, J. P. & De Prado, R. 2009. Nontarget mechanisms involved in glyphosate tolerance found in *Canavalia ensiformis* plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 4844-4848.
- Culpepper, A. S. 2006. Glyphosate-induced weed shifts. *Weed Technology* 20: 277-281.
- Damascos, M. A., Barthélémy, D., Ezcurra, C., Martinez, P. & Brion, C. 2008. Plant phenology, shoot growth, and branching pattern in *Mulinum spinosum* (Apiaceae), a cushion shrub of the arid Patagonian steppe of Argentina. *Journal of Arid Environments* 72: 1977-1988.
- de Castro e Santos, A. 1981. L'appareil végétatif des monocotylédones. Un essai de synthèse. PhD Thesis. Montpellier: Montpellier.

- De Prado, R. & Cruz-Hipolito, H. 2009. Mecanismos de resistencia de las malezas a los herbicidas. Pp 53-69 en Proceedings of the Seminario Internacional Diagnóstico y manejo de la resistencia a herbicidas. Temuco, México: INIA.
- De Reffye, P., Blaise, F. & Houllier, F. 1998. Modelling plant growth and architecture: some recent advances and applications to agronomy and forestry. *Acta Hort.* (ISHS) 456: 105-116.
- De Reffye, P. & Hu, B. G. 2003. Relevant Qualitative and Quantitative Choices for Building an Efficient Dynamical Plant Growth Model: GreenLab Case. Pp. 88-107 International Symposium on Plant Growth Modeling, Simulation, Visualization and their Applications, 2003. PMA 03 Beijing (China).
- De Smet, I. & Jürgens, G. 2007. Patterning the axis in plants - auxin in control. *Current Opinion in Genetics & Development* 17: 337-343.
- De Wet, J. & Harlan, J. 1975. Weeds and domesticates: evolution in the man-made habitat. *Economic Botany* 29: 99-108.
- DeGennaro, F. P. & Weller, S. C. 1984. Differential susceptibility of field bindweed (*Convolvulus arvensis*) biotypes to glyphosate. *Weed Science* 32: 472-476.
- Della-Cioppa, G. & Callan, M. 2000. Sex, lies, and herbicides. *Nature Biotechnology* 18: 241.
- Dellaferrera, I., Guarise, N. & Amsler, A. 2007. Relevamiento de malezas en cultivos de soja en sistemas de siembra directa con glifosato del departamento San Justo (Provincia de Santa Fe). *Revista FAVE - Ciencias Agrarias* 5-6: 15-25.
- Dellaferrera, I., Acosta, J., Capellino, P. & Amsler, A. 2009. Relevamiento de malezas en cultivos de soja en sistema de siembra directa con glifosato del departamento Las Colonias (Provincia de Santa Fe). *Revista FAVE - Ciencias Agrarias* 8: 7-12.
- Deytieux, V., Nemecek, T., Freiermuth Knuchel, R., Gaillard, G. & 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. *European Journal of Agronomy* 36: 55-65.
- Di Rienzo, J., Guzman, A. & Casanoves, F. 2002. A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics* 7: 129-142.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M. & Robledo, C. 2008. InfoStat Profesional. versión 2008. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba. Argentina.
- Duke, S. O., ed. 1996. *Herbicide resistant crops : agricultural, environmental, economic, regulatory and technical aspects* Boca Raton. US: CRC Lewis publishers. 420 p.
- Duke, S. O. & Cerdeira, A. L. 2005. Potential environmental impacts of herbicide-resistant crops. *Collection of Biosafety Reviews* 2: 66-143.
- Duke, S. O. & Powles, S. B. 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science* 64: 319-325.
- Eliasson, U. H. 1987. Amaranthaceae. Pp. 1-139 en G. Harling & L. Andersson, eds. *Flora of Ecuador*. Alöv: Berlings.
- Eliasson, U. H. 1988. Floral morphology and taxonomic relations among the genera of Amaranthaceae in the New World and the Hawaiian Islands. *Botanical Journal of the Linnean Society* 96: 235-283.
- Eslami, S. V. 2011. Comparative germination and emergence ecology of two populations of common lambsquarters (*Chenopodium album*) from Iran and Denmark. *Weed Science* 59: 90-97.

- Etchepare, M. A. & Boccanelli, S. I. 2007. Análisis del banco de semillas y su relación con la vegetación emergente en una clausura de la llanura pampeana. *Ecología Austral* 17: 159-166.
- Exner, E., D'Angelo, C. H. & Pensiero, J. F. 2004. Vegetación y flora de la reserva universitaria de la escuela granja de Esperanza (Santa Fe, Argentina). *Revista FAVE - Ciencias Agrarias* 3: 54-76.
- Faccini, D. & Puricelli, E. 2007. Efficacy of herbicide dose and plant growth stage on weeds present in fallow ground. *Agriscientia* 24: 29-35.
- Faccini, D., Puricelli, E. & Ferrari, S. 2008. Control de *Iresine diffusa* con herbicidas postemergentes. *Agromensajes* 25.
- Faccini, D. & Vitta, J. I. 2005. Germination characteristics of *Amaranthus quitensis* as affected by seed production date and duration of burial. *Weed Research* 45: 371-378.
- Farris, M. A. & Lechowicz, M. J. 1990. Functional interactions among traits that determine reproductive success in a native annual plant. *Ecology* 71: 548-557.
- Fernandez, O. 1979. Las malezas y su evolución. *Ciencia e Investigación* 35: 49-60.
- Fernandez Quiroga, M. P. 2005. Estado del arte en modelación funcional-estructural de plantas. *Bosque (Valdivia)* 26: 71-79
- Ferri, R., Ceballos, M., Vischi, N., Heredia, E. & Oggero, A. 2009. Banco de semillas de un relicto de Espinal (Cordoba, Argentina). *Iheringia Série botânica* 64: 93-100.
- Forcella, F., Benesch Arnold, R. L., Sanchez, R. & Ghera, C. M. 2000. Modeling seedling emergence. *Field Crops Research* 67: 123-139.
- 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. Montpellier: Université des Sciences et Techniques du Languedoc. 239 p.
- Fujii, T. & Yokohama, Y. 1965. Physiology of light-requiring germination in *Eragrostis* seeds. *Plant and Cell Physiology* 6: 135-145.
- Gallagher, R. S. & Cardina, J. 1998. Phytochrome-mediated *Amaranthus* germination I: effect of seed burial and germination temperature. *Weed Science* 46: 48-52.
- Garcia, M. A. & Altieri, M. A. 2005. Transgenic crops: implications for biodiversity and sustainable agriculture. *Bulletin of Science, Technology & Society* 25: 335-353.
- García Torres, L. & Fernández-Quintanilla, C. 1991. Fundamentos sobre malas hierbas y herbicidas. Madrid. España: Mundi-Prensa. 348 p.
- Gay, H. 1993. The architecture of a dimorphic clonal fern, *Lomagramma guianensis* (Aublet) Ching (Dryopteridaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 111: 343-358.
- Geber, M. A. 1990. The cost of meristem limitation in *Polygonum arenastrum*: negative genetic correlations between fecundity and growth. *Evolution* 44: 799-819.
- Ghera, C. M., Roush, M. L., Radosevich, S. R. & Cordray, S. M. 1994. Coevolution of agroecosystems and weed management. *BioScience* 44: 85-94.
- Ghera, C. M. & Holt, J. S. 1995. Using phenology prediction in weed management: a review. *Weed Research* 35: 461-470.
- Ghorbani, R., Seel, W. & Leiferr, C. 1999. Effects of environmental factors on germination and emergence of *Amaranthus retroflexus*. *Weed Science* 47: 505-510
- Godin, C. 2000. Representing and encoding plant architecture: A review. *Annals of Forest Science* 57: 413-438.

- Godin, C. & Caraglio, Y. 1998. A multiscale model of plant topological structures. *Journal of Theoretical Biology* 191: 1-46.
- Godin, C. & Guédon, Y. 2001. AMAPmod. Introduction and Reference Manual. Montpellier, France: CIRAD/INRA - UMR Modelisation des Plantes. 479 p.
- Godin, C. & Sinoquet, H. 2005. Functional-structural plant modelling. *New Phytologist* 166.
- Godin, C., Costes, E. & Caraglio, Y. 1997. Exploring plant topological structure with the AMAPmod software: an outline. *Silva Fennica* 31: 357-368.
- Godin, C., Costes, E. & Sinoquet, H. 1999a. A method for describing plant architecture which integrates topology and geometry. *Annals of Botany* 84: 343-357.
- Godin, C., Guédon, Y. & Costes, E. 1999b. Exploration of a plant architecture database with the AMAPmod software illustrated on an apple tree hybrid family. *Agronomie* 19: 163-184.
- Gougler, J. & Geiger, D. R. 1981. Uptake and distribution of N-Phosphonomethylglycine in sugar beet plants. *Plant Physiology* 68: 668-672.
- Gould, S. J. & Lewontin, R. C. 1979. The spandrels of San Marco and the Panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 205: 581-598.
- Gressel, J. 1985. Herbicide tolerance and resistance: alteration of site of activity. Pp. 160-184 en S. O. Duke, ed. *Weed Physiology*. Boca Raton: CRC Press.
- Gressel, J. & Levy, A. A. 2006. Agriculture: The selector of improbable mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 12215-12216.
- Grosfeld, J. 2002. Analisis de la variabilidad morfológica y arquitectural de *Austrocedrus chilensis* (D.Don) Pic. Serm. et Bizzarri, *Fitzroya cupressoides* (Molina) I.M. Johnst., *Pilgerodendron uviferum* (D.Don) Florin y *Cupressus sempervirens* L. (Cupressaceae). Tesis de Doctorado en Biología. Bariloche: Universidad Nacional del Comahue, Argentina. 250 p.
- Guglielmini, A. C., Ghersa, C. M. & Satorre, E. H. 2007. Co-evolution of domesticated crops and associated weeds. *Ecología Austral* 17: 167-178.
- Hagon, M. W. 1976. Germination and dormancy of *Themeda australis*, *Danthonia* spp., *Stipa bigeniculata* and *Bothriochloa macra*. *Australian Journal of Botany* 24: 319-327.
- Haider, J. B., Vencill, W. K., A.S., C. & Grey, T. L. 2007. Physiological response of glyphosate-resistant Palmer amaranth. Pp 180 en *Proceedings of the South Weed Science Society*.
- Hallé, F. 2004. Architecture de plantes. Montpellier: JCP. 162 p.
- Hallé, F. & Oldeman, R. R. A. 1970. Essai sur l'architecture et la dynamique de croissance des arbres tropicaux. 1 ed. Paris: Masson & Cie. 178 p.
- Hallé, F., Oldeman, R. R. A. & Tomlinson, P. B. 1978. Tropical Trees and Forest. An Architectural Analysis. Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag. 441 p.
- Hardegree, S. P., Flerchinger, G. N. & Van Vactor, S. S. 2003. Hydrothermal germination response and the development of probabilistic germination profiles. *Ecological Modelling* 167: 305-322.
- Harlan, J. & de Wet, J. 1965. Some thoughts about weeds. *Economic Botany* 19: 16-24.
- Hartzler, R. G. & Battles, B. A. 2001. Reduced fitness of velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) surviving glyphosate. *Weed Technology* 15: 492-496.
- Heap, I. 2011. International Survey of Herbicide Resistant Weeds. Available at www.weedscience.org. Acceso: 20 nov, 2011.
- Henrickson, J. & Sundberg, S. 1986. On the submersion of *Dicraurus* into *Iresine* (Amaranthaceae). *Aliso* 11: 355-364.

- Hermanutz, L. A. & Weaver, S. E. 1996. Agroecotypes or phenotypic plasticity? comparison of agrestal and ruderal populations of the weed *Solanum ptycanthum*. *Oecologia* 105: 271-280.
- Hieronymus, J. 1929. Plantas diafóricas. Flora argentina: plantas medicinales, alimenticias ó de alguna otra utilidad y de las venenosas, que son indígenas de la República Argentina. Buenos Aires: Ed. Atlántida. 421 p.
- Holzhammer, E. 1955. Die amerikanischen Arten der Gattung *Gomphrena* L. Teil 1. *Mitt. Bot. Staatssamml. München* 13: 85-114.
- Holzhammer, E. 1956. Die amerikanischen Arten der Gattung *Gomphrena* L. Teil 2. *Mitt. Bot. Staatssamml. München* 14-15: 178-257.
- Horvath, D. P., Anderson, J. V., Chao, W. S. & Foley, M. E. 2003. Knowing when to grow: signals regulating bud dormancy. *Trends in Plant Science* 8: 534-540.
- Houghton, P. J. & Osibogun, I. M. 1993. Flowering plants used against snakebite. *Journal of Ethnopharmacology* 39: 1-29.
- Huber, H. & Doring, H. 2001. No long-term costs of meristem allocation to flowering in stoloniferous *Trifolium* species. *Evolutionary Ecology* 14: 731-748.
- Hull, H., Morton, H. & Wharrie, J. 1975. Environmental influences on cuticle development and resultant foliar penetration. *The Botanical Review* 41: 421-452.
- Hunziker, A. T. & Subils, R. 1977. Nota crítica sobre algunas especies argentinas de *Gomphrena* (Amaranthaceae) afines a *G. tomentosa*. *Hickenia* 1: 63-72.
- ISTA [International Seed Testing Association]. 1985. International rules for seed testing. *Seed Science Technology* 13: 307-513.
- Jaffuel, S. & Dauzat, J. 2005. Synchronism of leaf and tiller emergence relative to position and to main stem development stage in a rice cultivar. *Annals of Botany* 95: 401-412.
- Jeannoda-Robinson, V. 1977. Contribution à l'étude de l'architecture des herbes. PhD thesis. Montpellier: Université des Sciences et Techniques du Languedoc. 92 p.
- Jia, X., Pan, X., Li, B., Chen, J. & Yang, X. 2009. Allometric growth, disturbance regime, and dilemmas of controlling invasive plants: a model analysis. *Biological Invasions* 11: 743-752.
- Johnson, W. G., Davis, V. M., Kruger, G. R. & Weller, S. C. 2009. Influence of glyphosate-resistant cropping systems on weed species shifts and glyphosate-resistant weed populations. *European Journal of Agronomy* 31: 162-172.
- Jordan, N. 1991. Multivariate analysis of selection in experimental populations derived from hybridization of two ecotypes of the annual plant *Diodia teres* W. (Rubiaceae). *Evolution* 45: 1760-1772.
- Jordan, N. R. & Jannink, J. L. 1997. Assessing the practical importance of weed evolution: a research agenda. *Weed Research* 37: 237-246.
- Jordan, N. & Vatovec, C. 2004. Agroecological Benefits from Weeds. Pp. 137-158 en Inderjit, ed. *Weed Biology and Management*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Kang, S.-H., Kodell, R. L. & Chen, J. J. 2000. Incorporating model uncertainties along with data uncertainties in microbial risk assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 32: 68-72.
- Kapotis, G., Zervoudakis, G., Veltsistas, T. & Salahas, G. 2003. Comparison of chlorophyll meter readings with leaf chlorophyll concentration in *Amaranthus vlitus*: correlation with physiological processes. *Russian Journal of Plant Physiology* 50: 395-397.

- Karley, A. & Marshall, B. 2007. Functional-Structural modelling as a potential tool to assess the impact of resource competition on arable communities. Pp. 231-241 en J. Vos, L. F. M. Marcelis, P. H. B. de Visser, P. C. Struik & J. B. Evers, eds. Functional-Structural Plant Modelling in Crop Production. Netherlands: Springer.
- Kellman, M. 1980. Geographic patterning in tropical weed communities and early secondary successions. *Biotropica* 12: 34-39.
- Kellogg, E. A. 2006. Beyond taxonomy: prospects for understanding morphological diversity in the grasses (Poaceae). *Darwiniana* 44: 7-17.
- Kempenaar, C., Lotz, L. A. P., Snel, J. F. H., Smutny, V. & Zhang, H. J. 2011. Predicting herbicidal plant mortality with mobile photosynthesis meters. *Weed Research* 51: 12-22.
- Ketel, D. H. 1996. Effect of low doses of metamilon and glyphosate on growth and chlorophyll content of common lambsquarters (*Chenopodium album*). *Weed Science* 44: 1-6.
- Ketel, D. H., Wielen, M. J. W. V. D. & Lotz, L. A. P. 1996. Prediction of a low dose herbicide effect from studies on binding of metribuzin to the chloroplasts of *Chenopodium album* L. *Annals of Applied Biology* 128: 519-531.
- Kitchen, L. M., Witt, W. W. & Rieck, C. E. 1981. Inhibition of 6 - aminolevulinic acid synthesis by glyphosate. *Weed Science* 29: 571-577.
- Kleffmanngroup-Argentina. 2010. Mercado Argentino 2009 de Productos Fitosanitarios. Available at <http://www.casafe.org/estad/m2009.htm>. Acceso: 14 feb, 2011.
- Kloppenburg, J. R. 2004. First the seed: the political economy of plant biotechnology, 1492-2000. 2nd ed. Madison, Wisconsin: University of Wisconsin Press. 272 p.
- Knezevic, S. Z., Datta, A., Scott, J. & Charvat, L. D. 2010. Application timing and adjuvant type affected saflufenacil efficacy on selected broadleaf weeds. *Crop Protection* 29: 94-99.
- Knezevic, S. Z., Streibig, J. C. & Ritz, C. 2007. Utilizing R software package for dose-response studies: the concept and data analysis. *Weed Technology* 21: 840-848.
- Körner, C. 2004. Ecología de las poblaciones y la vegetación. Pp. 960-972 en E. Strasburger, F. Noll, H. Schenck & A. F. W. Schimper, eds. Tratado de Botánica. 35 ed. Barcelona, España: Omega.
- Kristensen, M. J. & Frangi, J. L. 1995. La Sierra de la Ventana: una isla de biodiversidad. Available at <http://www.cienciahoy.org.ar/hoy30/biodiv.htm>. Acceso: 25 Jun, 2006.
- Kropff, M. J. 1988. Modelling the effects of weeds on crop production. *Weed Research* 28: 465-471.
- Kropff, M. J. & van Laar, H. H., eds. 1992. Modelling Crop-Weed Interactions Wallingford, Oxon, UK: CAB International. 276 p.
- Kudsk, P. & Streibig, J. C. 2003. Herbicides – a two-edged sword. *Weed Research* 43: 90-102.
- Kurzman, M. H. & Hemsley, A. R. 1999. The Evolution of Plant Architecture. 1st ed. Kew: Royal Botanical Garden. 491 p.
- Lallana, M. d. C., Billard, C. E., Elizalde, J. H. & Lallana, V. H. 2006. Breve revisión sobre características de la cutícula vegetal y penetración de herbicidas. *Ciencia, docencia y tecnología*: 229-241.
- Lauri, P. E. & 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. *Canadian Journal of Botany* 69: 2095-2112.

- Lee, T. T. 1981. Effects of glyphosate on synthesis and degradation of chlorophyll in soybean and tobacco cells. *Weed Research* 21: 161-164.
- Légère, A., Stevenson, F. C. & Benoit, D. L. 2005. Diversity and assembly of weed communities: contrasting responses across cropping systems. *Weed Research* 45: 303-315.
- Leiss, K. A. & Müller-Schärer, H. 2001. Adaptation of *Senecio vulgaris* (Asteraceae) to ruderal and agricultural habitats. *American Journal of Botany* 88: 1593-1599.
- Leonti, M., Sticher, O. & Heinrich, M. 2002. Medicinal plants of the Popoluca, México: organoleptic properties as indigenous selection criteria. *Journal of Ethnopharmacology* 81: 307-315.
- Leyser, O. 2009. The control of shoot branching: an example of plant information processing. *Plant, Cell & Environment* 32: 694-703.
- Lovell, P. H. & Lovell, P. J. 1985. The importance of plant form as a determining factor in competition and habitat exploitation. Pp. 209-222 en J. White, ed. *Studies on Plant Demography*. London: Academic Press.
- Lyson, T. A. 2002. Advanced agricultural biotechnologies and sustainable agriculture. *Trends in Biotechnology* 20: 193-196.
- Madsen, K. H., Heitholt, J. J., Duke, S. O., Smeda, R. J. & Streibig, J. C. 1995. Photosynthetic parameters in glyphosate-treated sugarbeet (*Beta vulgaris* L.). *Weed Research* 35: 81-88.
- Malpassi, R. 2004. Efecto de la aplicación de herbicidas sobre la morfología y anatomía de *Eleusine indica* (L.) Gaertner y *Portulaca oleracea* L. Tesis Doctorado en Ciencias Biológicas. Río Cuarto (Córdoba): Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC). 133 p.
- Markestijn, L. 2002. Seed rain and soil seed bank along a chronosequence of tropical lowland rain forests in Chiapas, Southern Mexico. . MSc. thesis MSc thesis Tropical Landuse-WU. Wageningen Wageningen University.
- Marshall, E. J. P., Brown, V. K., Boatman, N. D., Lutman, P. J. W., Squire, G. R. & Ward, L. K. 2003. The role of weeds in supporting biological diversity within crop fields. *Weed Research* 43: 77-89.
- Martínez-Ghersa, M. A., Ghersa, C. M. & Satorre, E. H. 2000. Coevolution of agricultural systems and their weed companions: implications for research. *Field Crops Research* 67: 181-190.
- Mas, M. T., Verdú, A. M. C., Kruk, B. C., De Abelleira, D., Guglielmini, A. C. & Satorre, E. H. 2010. Weed communities of transgenic glyphosate-tolerant soybean crops in ex-pasture land in the southern Mesopotamic Pampas of Argentina. *Weed Research* 50: 320-330.
- Mauricio, R. 2000. Natural selection and the joint evolution of tolerance and resistance as plant defenses. *Evolutionary Ecology* 14: 491-507.
- McAfee, K. 2003. Neoliberalism on the molecular scale. Economic and genetic reductionism in biotechnology battles. *Geoforum* 34: 203-219.
- McArdle, B. H. 1988. The structural relationship – regression in biology. *Canadian Journal of Zoology* 66: 2229-2239.
- Mennan, H. & Ngouajio, M. 2006. Seasonal cycles in germination and seedling emergence of summer and winter populations of catchweed bedstraw (*Galium aparine*) and wild mustard (*Brassica kaber*). *Weed Science* 54: 114-120.
- Meusel, H., Jäger, E. & Mörchen, G. 1977. The study of growth-forms of higher plants in relation to application of biocide. *Vegetation Science and Environmental Protection*: 71-76.

- Michel, B. E. 1983. Evaluation of the water potentials of solutions of polyethylene glycol 8000 both in the absence and presence of other solutes. *Plant Physiology* 72: 66-70.
- Milla, R., Giménez-Benavides, L. & Montserrat-Martí, G. 2008. Replacement of species along altitude gradients: the role of branch architecture. *Annals of Botany* 102: 953-966.
- Mithila, J., Swanton, C. J., Blackshaw, R. E., Cathcart, R. J. & Hall, J. C. 2008. Physiological basis for reduced glyphosate efficacy on weeds grown under low soil nitrogen. *Weed Science* 56: 12-17.
- Mohler, C. L. 2001a. Weed evolution and community structure. Pp. 444 - 493 en M. Liebman, C. L. Mohler & C. P. Staver, eds. *Ecological Management of Agricultural Weeds*. Cambridge Cambridge University Press.
- Mohler, C. L. 2001b. Weed life history: identifying vulnerabilities. Pp. 40 - 88 en M. Liebman, C. L. Mohler & C. P. Staver, eds. *Ecological Management of Agricultural Weeds*. Cambridge Cambridge University Press.
- Monquero, P. A. 2003. Dinámica populacional e mecanismos de tolerancia de espécies de plantas daninhas ao herbicida glyphosate. Tese Doutorado em Fitotecnia. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura. 99 p.
- Mueller, T. C., Mitchell, P. D., Young, B. G. & Culpepper, A. S. 2005. Proactive versus reactive management of glyphosate-resistant or -tolerant weeds. *Weed Technology* 19: 924-933.
- Müller, I., Schmid, B. & Weiner, J. 2000. The effect of nutrient availability on biomass allocation patterns in 27 species of herbaceous plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 3: 115-127.
- Müller, K. & Borsch, T. 2005. Phylogenetics of Amaranthaceae based on matK/trnK sequence data-Evidence from parsimony, likelihood, and bayesian analyses. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 92: 66-102.
- Muñoz-Rueda, A., Gonzalez-Murua, C., Becerril, J. M. & 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*. *Physiologia Plantarum* 66: 63-68.
- Nakamura, I. & Hossain, M. A. 2009. Factors affecting the seed germination and seedling emergence of redflower ragleaf (*Crassocephalum crepidioides*). *Weed Biology and Management* 9: 315-322.
- Nicolini, E. 1997. Aproche morphologique du développement du Hêtre *Fagus sylvatica* L. Thèse de Doctorat. Montpellier: USTL. 185 p.
- Niklas, K. J. 1994. *Plant Allometry - The Scaling of Form and Process* Chicago: Chicago University Press. 395 p.
- Nisensohn, L., Tuesca, D., Angelotti, P. & Bonifazi, S. 2007. *Portulaca gilliesii* Hook y *Gomphrena perennis* L: especies con tolerancia al herbicida glifosato. *Agromensajes* 21: 18-19.
- Nisensohn, L., Tuesca, D., Faccini, D., Puricelli, E. & Vitta, J. 2011. Factores biológicos que determinan la competencia de *Commelina erecta* con otras malezas en sistemas de cultivo. *Planta Daninha* 29: 97-106.
- Norsworthy, J. K. & Oliveira, M. J. 2005. Coffee senna (*Cassia occidentalis*) germination and emergence is affected by environmental factors and seeding depth. *Weed Science* 53: 657-662.
- Oldeman, R. R. A. 1974. L'architecture de la forêt guyanaise. Mémorie n° 73. Paris: O.R.S.T.O.M. 204 p.

- Oliveira, M. J. & Norsworthy, J. K. 2006. Pitted morningglory (*Ipomoea lacunosa*) germination and emergence as affected by environmental factors and seeding depth. *Weed Science* 54: 910-916.
- Onofri, A., Carbonell, E. A., Piepho, H. P., Mortimer, A. M. & Cousens, R. D. 2010. Current statistical issues in Weed Research. *Weed Research* 50: 5-24.
- Ortuño, T., Beck, S. G. & Borsch, T. 2010. Sistemática, Evolución y Biogeografía del genero *Gomphrena* (Amaranthaceae) en Proceedings of the X Congreso Latinoamericano de Botánica. La Serena, Chile: Asociación Latinoamericana de Botánica.
- Ortuño, T. & Borsch, T. 2005. Dos nuevas especies de *Gomphrena* (Amaranthaceae; Gomphrenoideae) de los Valles Secos de Bolivia. *Novon* 15: 180-189.
- Ortuño, T. & Borsch, T. 2006. A further new species of *Gomphrena* (Amaranthaceae; Gomphrenoideae) from the Dry Valleys of Bolivia. *Kew Bulletin* 61: 565-568.
- Palmer, J. 1998. A taxonomic revision of *Gomphrena* (Amaranthaceae) in Australia. *Australian Systematic Botany* 11: 73-151.
- Panigo, E. S., Dellaferrera, I. M., Acosta, J. M., Bender, A. G., Garetto, J. I. & Perreta, M. G. 2012. Glyphosate-induced structural variations in *Commelina erecta* L. (Commelinaceae). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 76:135-142.
- Papa, J. C. & Felizia, J. C. 2001. *Iresine diffusa*, malezas tolerantes a herbicidas. *SOJA. Serie Para mejorar la producción* 18: 111-113.
- Papa, J. C., Puricelli, E. & Felizia, J. C. 2002. Malezas tolerantes a herbicidas en soja. *Revista IDIAXXI* 2: 64-67.
- Pastorino, M. J., Ghirardi, S., Grosfeld, J., Gallo, L. A. & Puntieri, J. G. 2010. Genetic variation in architectural seedling traits of Patagonian cypress natural populations from the extremes of a precipitation range. *Annals of Forest Science* 67.
- Patterson, D. T. 1985. Comparative ecophysiology of weeds and crops. Pp. 101-130 en S. O. Duke, ed. *Weed Physiology Vol I. Reproduction and Ecophysiology*. Boca Raton, Florida: CRC Press.
- Payne, S. A. & Oliver, L. R. 2000. Weed control programs in drilled glyphosate-resistant soybean. *Weed Technology* 14: 413-422.
- Pedersen, T. M. 1976. Estudios sobre Amaranthaceae sudamericanas II. *Darwiniana* 20: 269-303.
- Pedersen, T. M. 1987. Amaranthaceae. Pp. 160-203 en A. Burkart, ed. *Flora Ilustrada de Entre Ríos (Parte IV)*. Buenos Aires: INTA.
- Pedersen, T. M. 1990. Studies in South American Amaranthaceae III (including one amphi-Atlantic species). *Adansonia* 1: 69-97.
- Pedersen, T. M. 1999. Amaranthaceae. Pp. 16-41 en F. Zuloaga & O. Morrone, eds. *Catálogo de las Plantas Vasculares de la República Argentina II*. St. Louis, Missouri: Missouri Botanical Garden Press.
- Perreta, M. G. 2004. Caracterización de los patrones de desarrollo en *Melica* L. (Meliceae - POACEAE): análisis arquitectural. Tesis de Doctorado en Biología. Santa Fe, Argentina: Universidad Nacional del Litoral. 185 p.
- Perreta, M. G. & Vegetti, A. C. 2005. Patrones estructurales en las plantas vasculares: una revisión. *Gayana Botanica* 62: 9-19.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S. & Sarkar, D. 2011. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R Development Core Team. R package version 3.1-101.
- Pomilio, A. B., Buschi, C. A., Tomes, C. N. & Viale, A. A. 1992. Antimicrobial constituents of *Gomphrena martiana* and *Gomphrena boliviana*. *Journal of Ethnopharmacology* 36: 155-161.

- Pomilio, A. B., Ruty Solá, G. A., Mayer, A. M. S. & Rumi, L. S. 1994. Antitumor and cytotoxic screen of 5,6,7-trisubstituted flavones from *Gomphrena martiana*. *Journal of Ethnopharmacology* 44: 25-33.
- Pons, T. L. 1986. Response of *Plantago major* seeds to the red/far-red ratio as influenced by other environmental factors. *Physiologia Plantarum* 68: 252-258.
- Pons, T. L. 2000. Seed Responses to Light. Pp. 237-260 en M. Fenner, ed. *Seeds: the ecology of regeneration in plant communities*. Wallingford, UK: CAB International.
- Powles, S. B. & Preston, C. 2006. Evolved glyphosate resistance in plants: biochemical and genetic basis of resistance. *Weed Technology* 20: 282-289.
- Pradal, C., Dufour-Kowalski, S., Boudon, F., Fournier, C. & Godin, C. 2008. OpenAlea: a visual programming and component-based software platform for plant modelling. *Functional Plant Biology* 35: 751-760.
- Puntieri, J. G., Barthélémy, D., De Reffye, P., Blaise, F. & Brion, C. 1995. Análisis, modelización y simulación de la arquitectura de las plantas. Avances y aplicaciones en la región Andino-Patagónica. Pp 547-573 en *Proceedings of the IV Jornadas Forestales Patagónicas*. San Martín de los Andes, Argentina.
- Puntieri, J. G. & Pyšek, P. 1998. Branching and competitive hierarchies in populations of *Galium aparine*. *Canadian Journal of Botany* 76: 63-74.
- Puricelli, E. & 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.
- Puricelli, E., Faccini, D. & Nisensohn, L. 2008. Malezas Tolerantes a Glifosato en Argentina. Pp 61-70 en *Proceedings of the Seminario Internacional "Viabilidad del Glifosato en Sistemas Productivos Sustentables"*. La Estanzuela, Uruguay: INIA.
- Putwain, P. D., Scott, K. R. & Holliday, R. J. 1982. The nature of resistance to triazine herbicides: case histories of phenology and population studies. Pp. 99-115 en H. M. LeBaron & J. Gressel, eds. *Herbicide resistance in plants*. New York, USA: John Wiley and Sons.
- Radosevich, S. R. 1998. Weed Ecology and Ethics. *Weed Science* 46: 642-646.
- Radosevich, S. R. & Ghersa, C. M. 1992. Weeds, crops and herbicides: a modern-day "neckriddle". *Weed Technology* 6: 788-795.
- Radosevich, S. R., Holt, J. S. & Ghersa, C. M. 2007. *Ecology of Weeds and Invasive Plants: Relationship to Agriculture and Natural Resource Management* Hoboken, NJ: John Wiley & Sons. 454 p.
- Rainero, H. 2008. Problemática del manejo de malezas en sistemas productivos actuales. Manfredi: INTA. 1-20 p.
- Ransom, C. V., Kells, J. J., Wax, L. M. & Orfanedes, M. S. 1998. Morphological variation among hemp dogbane (*Apocynum cannabinum*) populations. *Weed Science* 46: 71-75.
- Ratcliffe, O. J., Amaya, I., Vincent, C. A., Rothstein, S., Carpenter, R., Coen, E. S. & Bradley, D. J. 1998. A common mechanism controls the life cycle and architecture of plants. *Development* 125: 1609-1615.
- Reddy, K. N. 2001. Glyphosate-resistant soybean as a weed management tool: Opportunities and challenges. *Weed Biology and Management* 1: 193-202.
- Renobales, G., de Diego, E., López-Quintana, A. J. & Domínguez, J. B. 1999. Vegetative morphology in the genus *Gentiana* L.: Architectural models. Pp. 123-133 en M. H. Kurmman & A. R. Hemsley, eds. *The evolution of plant architecture*. Kew: Royal Botanic Gardens.

- Renton, M., Guedon, Y., Godin, C. & Costes, E. 2006. Similarities and gradients in growth unit branching patterns during ontogeny in 'Fuji' apple trees: a stochastic approach. *J. Exp. Bot.* 57: 3131-3143.
- Ritz, C. 2010. Toward a unified approach to dose-response modeling in ecotoxicology. *Environmental Toxicology and Chemistry* 29: 220-229.
- Ritz, C. & Streibig, J. C. 2005. Bioassay analysis using R. *Journal of Statistical Software* 12: 1-22.
- Ritz, C. & Streibig, J. C. 2008. *Nonlinear Regression with R*. New York: Springer-Verlag. 143 p.
- Robertson, K. R. 1981. The genera of Amaranthaceae in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum* 62: 267-314.
- Rodriguez, N. 2004. Avances en el estudio de malezas. *Disherbología*. Available at <http://www.inta.gov.ar/manfredi/actividad/publimale.htm>. Acceso: September 30, 2010.
- Roff, R. J. 2008. Preempting to nothing: neoliberalism and the fight to de/re-regulate agricultural biotechnology. *Geoforum* 39: 1423-1438.
- Rosenstein, S., Faccinini, D., Montero, G., Lietti, M., Puricelli, E. C., Tuesca, D. H., Nisensohn, L. & Vignaroli, L. 2007. Estrategias productivas, prácticas de control y diversidad biológica. un análisis desde los sistemas de conocimiento. *Production strategies, control methods and biological diversity. an analysis from knowledge systems. Revista FAVE - Ciencias Agrarias* 5-6: 41-61.
- Salleh, A. 2006. "Organised irresponsibility": Contradictions in the Australian government's strategy for GM regulation. *Environmental Politics* 15: 399-416.
- Sanchez del Pino, I., Borsch, T. & Motley, T. J. 2009. trnL-F and rpl16 sequence data and dense taxon sampling reveal monophyly of unilocular anthered gomphrenoideae (Amaranthaceae) and an improved picture of their internal relationships. *Systematic Botany* 34: 57-67.
- Sanchez del Pino, I., Flores Olvera, H. & Valdés, J. 1999. La familia Amaranthaceae en la flora halófila y gipsófila de México. *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Botánica* 70: 29-135.
- Sattler, R. & Rutishauser, R. 1997. The fundamental relevance of morphology and morphogenesis to plant research. *Annals of Botany* 80: 571-582.
- Scursoni, J., Forcella, F., Gunsolus, J., Owen, M., Oliver, R., Smeda, R. & Vidrine, R. 2006. Weed diversity and soybean yield with glyphosate management along a north-south transect in the United States. *Weed Science* 54: 713-719.
- Scursoni, J. A., Forcella, F. & Gunsolus, J. 2007. Weed escapes and delayed weed emergence in glyphosate-resistant soybean. *Crop Protection* 26: 212-218.
- Schreiber, L. 2005. Polar paths of diffusion across plant cuticles: new evidence for an old hypothesis. *Annals of Botany* 95: 1069-1073.
- Segura, V., Cilas, C. & Costes, E. 2008. Dissecting apple tree architecture into genetic, ontogenetic and environmental effects: mixed linear modelling of repeated spatial and temporal measures. *New Phytologist* 178: 302-314.
- Segura, V., Durel, C.-E. & Costes, E. 2009. Dissecting apple tree architecture into genetic, ontogenetic and environmental effects: QTL mapping. *Tree Genetics & Genomes* 5: 165-179.
- Seleznayova, A. N., Thorp, T. G., Barnett, A. M. & Costes, E. 2002. Quantitative analysis of shoot development and branching patterns in *Actinidia*. *Annals of Botany* 89: 471-482.
- Seleznayova, A. N., Thorp, T. G., White, M., Tustin, S. & Costes, E. 2003. Application of architectural analysis and AMAPmod methodology to study dwarfing

- phenomenon: the branch structure of 'Royal Gala' apple grafted on dwarfing and non-dwarfing rootstock/interstock combinations. *Annals of Botany* 91: 665-672.
- Sell, Y. 1969. Les complexes inflorescentiels de quelques Acanthacees. Etude particuliere des phenomenes de condensation, de racemisation, d'homogeneisation et de troncation. *Ann. Sci. Nat., Bot.* 10: 225-300.
- Sellers, B. A., Pollard, J. M. & Smeda, R. J. 2004. Comparative biology of glyphosate-resistant and glyphosate-susceptible common ragweed. Pp 54 en Proceedings of the North Central Weed Science Society.
- Shaner, D. L. 2000. The impact of glyphosate-tolerant crops on the use of other herbicides and on resistance management. *Pest Management Science* 56: 320-326.
- Shaner, D. L. 2009. Role of translocation as a mechanism of resistance to glyphosate. *Weed Science* 57: 118-123.
- Shaw, D. R., Mack, R. E. & Smith, C. A. 1991. Redvine (*Brunnichia ovata*) Germination and Emergence. *Weed Science* 39: 33-36.
- SIIA [Sistema Integrado de Información Agropecuaria]. 2011. Estimaciones Agrícolas: Soja. MAGyP, Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación Argentina. Available at <http://www.sii.gov.ar/index.php/series-portema/agricultura>. Acceso: 06 feb, 2011.
- Silvertown, J. 1991. Modularity, reproductive thresholds and plant population dynamics. *Functional Ecology* 5: 577-580.
- Siqueira, J. S. J. 1992. O gênero *Gomphrena* L. (Amaranthaceae) no Brasil. *Pesquisa Botânica* 43: 5-197.
- SMN [Sistema Meteorológico Nacional]. 2000. Valores Medios de Temperatura y Precipitación. Available at <http://www.smn.gov.ar/?mod=bdatos&id=1>. Acceso: 08 mar, 2011.
- Snaydon, R. W. 1971. An analysis of competition between plants of *Trifolium repens* L. populations collected from contrasting soils. *Journal of Applied Ecology* 8: 687-697.
- Sobey, D. G. 1987. Differences in seed production between *Stellaria media* populations from different habitat types. *Annals of Botany* 59: 543-549.
- Soriano, A. 1975. Gloria y miseria de las malezas de los cultivos. *Academia Nacional de Agronomía y Veterinaria. República Argentina. XXIX*: 1-34.
- Sprinkle, P., Meggitt, W. F. & Penner, D. 1975. Absorption, action and translocation of glyphosate. *Weed Science* 23: 235-240.
- Standley, P. C. 1922. Amaranthaceae. Trees and shrubs of Mexico. *Contributions of the United States National Herbarium* 23: 254-259.
- Standley, P. C. 1937. Amaranthaceae. Pp. 478-518 en J. F. Macbride, ed. *Flora del Perú, Parte II, n°2: Field Museum of Natural History Publications in Botany*
- Stecconi, M. 2006. Variabilidad arquitectural de especies nativas de *Nothofagus* de la Patagonia (*N. antarctica*, *N. pumilio*, *N. dombeyi*) Tesis de Doctorado en Biología. Bariloche: Universidad Nacional del Comahue, Argentina.
- Steel, R. G. D. & Torrie, J. H. 1988. *Bioestadística: principios y procedimientos*. 2 ed. México: McGraw-Hill. 622 p.
- Storkey, J. 2004. Modelling seedling growth rates of 18 temperate arable weed species as a function of the environment and plant traits. *Annals of Botany* 93: 681-689.
- Storkey, J. 2006. A functional group approach to the management of UK arable weeds to support biological diversity. *Weed Research* 46: 513-522.

- Streibig, J. C., Rudemo, M. & Jensen, J. E. 1993. Dose-response curves and statistical models. Pp. 29-55 en J. C. Streibig & P. Kudsk, eds. *Herbicide Bioassays*. Boca Raton, Florida, USA: CRC Press.
- Suarez, S. A., de la Fuente, E. B., Ghersa, C. M. & Leon, R. J. C. 2001. Weed community as an indicator of summer crop yield and site quality. *Agronomy Journal* 93: 524-530.
- Suessenguth, K. 1934. Neue un kritische Amarantaceen aus Süd und Mittelamerika. *Feddes Repertorium* 39: 1-14.
- Susko, D. J. & Hussein, Y. 2008. Factors affecting germination and emergence of dame's rocket (*Hesperis matronalis*). *Weed Science* 56: 389-393.
- Sussex, I. M. & Kerk, N. M. 2001. The evolution of plant architecture. *Current Opinion in Plant Biology* 4: 33-37.
- Tardif, F. J., Rajcan, I. & Costea, M. 2006. A mutation in the herbicide target site acetohydroxyacid synthase produces morphological and structural alterations and reduces fitness in *Amaranthus powellii*. *New Phytologist* 169: 251-264.
- Tasrif, A., Juraimi, A. S., Kadir, J., Napis, S. & 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.
- Thompson, K., Grime, J. P. & Mason, G. 1977. Seed germination in response to diurnal fluctuations of temperature. *Nature* 267: 147-149.
- Toledo, M. & Salick, J. 2006. Secondary succession and indigenous management in semideciduous forest fallows of the Amazon basin. *Biotropica* 38: 161-170.
- Tomlinson, P. B. 1982. Chance and design in the construction of plants. Pp. 162-183 en R. Sattler, ed. *Axioms and principles of plant construction*. The Hague: Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers.
- Tomlinson, P. B. 1987. Branching is a process, not a concept. *Taxon* 36: 54-57.
- Toole, E. H., Toole, V. K., Borthwick, H. A. & Hendricks, S. B. 1955. Interaction of temperature and light in germination of seeds. *Plant Physiol.* 30: 473-478.
- Tourn, M., Barthélémy, D. & Grosfeld, J. 1999. Una aproximación a la arquitectura vegetal: conceptos, objetivos y metodología. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 34: 85-99.
- Tremmel, D. C. & Bazzaz, F. A. 1995. Plant architecture and allocation in different neighborhoods: implications for competitive success. *Ecology* 76: 262-271.
- Troll, W. 1937. *Vergleichende morphologie der höheren pflanzen* Berlin: Koenigstein-Taunus. 987 p.
- Tuesca, D. & 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.
- Tuesca, D., Puricelli, E. & Papa, J. C. 2001. A long-term study of weed flora shifts in different tillage systems. *Weed Research* 41: 369-382.
- UNL [Universidad Nacional del Litoral]. 2010. Informe acerca del grado de toxicidad del glifosato. Available at <http://www.unl.edu.ar/noticias/media/docs/Informe%20Glifosato%20UNL.pdf>. Acceso: octubre 20, 2011.
- Van Acker, R. C. 2009. Weed biology serves practical weed management. *Weed Research* 49: 1-5.
- Vanlieshout, L. A. & Loux, M. M. 2000. Interactions of glyphosate with residual herbicides in no-till soybean (*Glycine max*) production. *Weed Technology* 14: 480-487.

- Vila-Aiub, M. M. & Ghersa, C. M. 2005. Building up resistance by recurrently exposing target plants to sublethal doses of herbicide. *European Journal of Agronomy* 22: 195-207.
- Vila-Aiub, M. M., Neve, P. & Powles, S. B. 2009. Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytologist* 184: 751-767.
- Vitta, J. I. & Quintanilla, C. F. 1996. Canopy measurements as predictors of weed-crop competition. *Weed Science* 44: 511-516.
- Vitta, J. I. & Satorre, E. H. 1999. Validation of a weed:crop competition model. *Weed Research* 39: 259-269.
- Vitta, J. I., Faccini, D. E. & Nisensohn, L. A. 2000. Control of *Amaranthus quitensis* in soybean crops in Argentina: an alternative to reduce herbicide use. *Crop Protection* 19: 511-513.
- Vitta, J. I., Tuesca, D. H., Puricelli, E. C., Nisensohn, L. A. & Faccini, D. E. 2002. El empleo de la información ecológica en el manejo de malezas. *Ecología Austral* 12: 83-87.
- Vitta, J., Faccini, D., Leguizamón, E., Nisensohn, L., Papa, J. C., Puricelli, E. & Tuesca, D. 2004a. *Herbicidas: características y fundamentos de su actividad*. 1er ed. Rosario: UNR Editora. 86 p.
- Vitta, J. I., Tuesca, D. & Puricelli, E. 2004b. Widespread use of glyphosate tolerant soybean and weed community richness in Argentina. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 103: 621-624.
- Wang, Y. & Li, J. 2006. Genes controlling plant architecture. *Current Opinion in Biotechnology* 17: 123-129.
- Wang, Y. & Li, J. 2008. Molecular basis of plant architecture. *Annual Review of Plant Biology* 59: 253-79.
- Warton, D. I., Wright, I. J., Falster, D. S. & Westoby, M. 2006. Bivariate line-fitting methods for allometry. *Biological Reviews* 81: 259-291.
- Washitani, I. 1985. Field fate of *Amaranthus patulus* seeds subjected to leaf-canopy inhibition of germination. *Oecologia* 66: 338-342.
- Watkinson, A. R., Freckleton, R. P., Robinson, R. A. & Sutherland, W. J. 2000. Predictions of biodiversity response to genetically modified herbicide-tolerant crops. *Science* 289: 1554-1557.
- Webb, D. M., Smith, C. W. & Schulz-Schaeffer, J. 1987. Amaranth seedling emergence as affected by seeding depth and temperature on a thermogradient plate. *Agronomy Journal* 79: 23-26.
- Wei, S., Zhang, C., Li, X., Cui, H., Huang, H., Sui, B., Meng, Q. & Zhang, H. 2009. Factors affecting buffalobur (*Solanum rostratum*) seed germination and seedling emergence. *Weed Science* 57: 521-525.
- Weiner, J., Campbell, L. G., Pino, J. & Echarte, L. 2009. The allometry of reproduction within plant populations. *Journal of Ecology* 97: 1220-1233.
- Westhoven, A. M., Kruger, G. R., Gerber, C. K., Stachler, J. M., Loux, M. M. & Johnson, W. G. 2008. Characterization of selected common lambsquarters (*Chenopodium album*) biotypes with tolerance to glyphosate. *Weed Science* 56: 685-691.
- White, J. 1979. The plant as a metapopulation. *Annual Review of Ecology and Systematics* 10: 109-145.
- Williams, J., Auge, H. & Maron, J. 2008. Different gardens, different results: native and introduced populations exhibit contrasting phenotypes across common gardens. *Oecologia* 157: 239-248.

- Wolfenbarger, L. L. & Phifer, P. R. 2000. The ecological risks and benefits of genetically engineered plants. *Science* 290: 2088-2093.
- Wright, T. R., Shan, G., Walsh, T. A., Lira, J. M., Cui, C., Song, P., Zhuang, M., Arnold, N. L., Lin, G., Yau, K., Russell, S. M., Cicchillo, R. M., Peterson, M. A., Simpson, D. M., Zhou, N., Ponsamuel, J. & Zhang, Z. 2010. Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107: 20240-20245.
- WSSA [Weed Science Society of America]. 1998. Technology Notes. *Weed Technology* 12: 789-790.