

Persistencia de malezas gramíneas en cultivos de trigo del sudeste bonaerense

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires, Área Ciencias Agropecuarias

Andrés Nelson Martín

Ingeniero Agrónomo (UBA), 2009

Lugar de trabajo: Cátedra de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía UBA



FAUBA

Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano
Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires



COMITÉ CONSEJERO

Director de tesis
Julio A. Scursoni
Ing. Agr. UBA
Dr. en Ciencias Agropecuarias (UBA)

Co-director
Roberto Benech-Arnold
Ing. Agr. UBA
Ph.D. (University of Southampton (Inglaterra))

Consejero de estudios
Martín M. Vila-Aiub
Ing. Agr. UBA
Ph.D. (The University of Western Australia)

JURADO DE TESIS

JURADO
Ing. Agr. Dr. Horacio A. Acciaresi
Coordinador Area Producción Vegetal & Gestión Ambiental
EEA Inta Pergamino

JURADO
Ing. Agr. PhD. Diego J. Bentivegna
Investigador Adjunto
CERZOS (CONICET)

JURADO
Dr. José Luis González Andújar
Investigador Principal
Instituto de Agricultura Sostenible (CSIC),
Córdoba, España

Fecha de defensa de la tesis: 8 de marzo de 2017

A Salvador (y a los que pudieran venir después)

A Laura

A mis viejos, Betty y Nelson

Agradecimientos:

Una tesis de doctorado es un trabajo largo, y muchas veces difícil. Produce una gran satisfacción llegar al final de este camino. Durante todo este trayecto, he compartido cientos de horas con alumnos, compañeros y profesores. A todos ellos, mencionados o no, les quiero expresar mi más profundo agradecimiento. Y particularmente:

A Laura, por acompañarme en todo, en las fáciles y sobre todo en las difíciles

A mi familia y la de Laura, que cuidaron a mi hijo cuando lo necesité

A mi director Julio Scursoni, por el camino recorrido, y por introducirme en el mundo de las malezas

A Roberto Benech y Martín Vila-Aiub, mi co-director y mi consejero respectivamente

A Juan Quistre y Leonardo De Haro, con quienes disfruté largas horas haciendo experimentos

Al INTA Balcarce, por medio de María Inés Leaden, a quien agradezco especialmente por la valiosa ayuda logística brindada en la estación experimental

A los productores, a la Cooperativa General Necochea, a los asesores técnicos que brindaron su apoyo para que se puedan realizar los censos de malezas

A Ramón Gigón y Mario Vigna, quienes me han brindado información valiosa desde la experimental del INTA Bordenave cada vez que lo solicité

A Marta Divo, por prestar generosamente sus materiales cuando me faltó alguno

A Santiago Poggio, por sus sugerencias sobre comunidades de malezas

A los tesisistas de grado que han colaborado con los experimentos

A Mario Clozza y Ramiro Curti, con quienes compartí oficina

A los docentes de Producción Vegetal

A la Universidad de Buenos Aires y al CONICET, los cuáles apoyaron financieramente mis estudios de posgrado.

Declaro que el material incluido en esta tesis es, a mi mejor saber y entender, original producto de mi propio trabajo (salvo en la medida en que se identifique explícitamente las contribuciones de otros), y que este material no lo he presentado, en forma parcial o total, como una tesis en ésta u otra institución.

Publicaciones derivadas de la presente tesis

Del capítulo 2:

Scursoni JA, Gigón R, **Martín AN**, Vigna M, Leguizamón ES, Istilart C, López R. 2014. Changes in Weed Communities of Spring Wheat Crops of Buenos Aires Province of Argentina. *Weed Science* 62: 51–62.

En preparación:

Martin AN, Scursoni JA. 2017. *Avena fatua* L. escapes and delayed emergence in wheat (*Triticum aestivum* L.) crops of Argentina.

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|-----|
| Declaración | v |
| Índice de tablas | x |
| Índice de figuras | xii |
| Índice de fotografías | xv |
| Resumen | xvi |
| Capítulo 1. Introducción general | 1 |
| 1.1. Las malezas y su impacto | 2 |
| 1.2. Impacto a nivel de comunidad | 3 |
| 1.3. Regulación del momento de emergencia | 5 |
| 1.3.1. Germinación y emergencia como procesos clave | 5 |
| 1.3.2. Dormición | 5 |
| 1.3.3. Factores ambientales que gobiernan el proceso de dormición | 7 |
| 1.3.4. Dormición y emergencia como estrategias adaptativas | 7 |
| 1.4. Respuesta a los herbicidas | 8 |
| 1.4.1. Tolerancia y resistencia | 8 |
| 1.4.2. Factores que intervienen en la evolución de resistencia | 9 |
| 1.4.3. Diagnóstico de la tolerancia o la resistencia. Modelo de dosis respuesta | 11 |
| 1.4.4. Eficacia de los herbicidas | 13 |
| 1.5. Antecedentes | 14 |
| 1.5.1. Importancia de avena fatua y raigrás para la producción de cereales de invierno en la zona a estudiar | 14 |
| 1.5.2. Antecedentes de resistencia a herbicidas en <i>Avena fatua</i> y <i>Lolium multiflorum</i> | 15 |
| 1.5.3. Escapes de <i>Avena fatua</i> y <i>Lolium multiflorum</i> | 15 |
| 1.6. Hipótesis y Objetivos | 16 |
| 1.6.1. Hipótesis | 16 |
| 1.6.2. Objetivo General | 16 |
| 1.6.3. Objetivos Específicos | 16 |
| 1.7. Marco estructural de la tesis | 17 |
| Capítulo 2. Comunidad de malezas en dos momentos del ciclo del cultivo de trigo en el sudeste bonaerense | 18 |
| 2.1. Introducción | 19 |
| 2.1.1. Resumen de la comunidad: diferencias entre sudeste y sudoeste bonaerense | 19 |

| | |
|---|----|
| 2.1.2. Resumen de la comunidad: cambios en el tiempo | 20 |
| 2.1.3. Importancia de <i>Avena fatua</i> y <i>Lolium multiflorum</i> en cuanto a su constancia | 20 |
| 2.1.4. Hipótesis y Objetivos | 21 |
| 2.2. Materiales y Métodos | 22 |
| 2.2.1. Área de estudio | 22 |
| 2.2.2. Censos | 23 |
| 2.2.3. Análisis de los datos | 24 |
| 2.3. Resultados | 28 |
| 2.3.1. Relevancia de <i>Avena fatua</i> y <i>Lolium multiflorum</i> | 34 |
| 2.4. Discusión | 36 |
| 2.4.1. Atributos de las malezas persistentes | 36 |
| 2.4.2. Grupos florísticos | 37 |
| 2.4.3. <i>Avena fatua</i> y <i>Lolium multiflorum</i> | 38 |
| Capítulo 3. Escapes de <i>Avena fatua</i> L . en cultivos de trigo y cebada tratados con herbicidas | 40 |
| 3.1. Introducción | 41 |
| 3.2. Hipótesis y objetivos | 43 |
| 3.3. Materiales y métodos | 44 |
| 3.3.1. Cosecha del material experimental | 44 |
| 3.3.2. Respuesta al herbicida | 44 |
| 3.3.2.1. Preparación del material experimental | 44 |
| 3.3.2.2. Tratamientos y evaluaciones | 45 |
| 3.3.3. Dinámica de germinación en condiciones de laboratorio | 48 |
| 3.3.4. Dinámica de germinación a campo | 48 |
| 3.3.5. Dinámica de germinación de semillas procedentes de diferentes ambientes de maduración | 50 |
| 3.3.6 Análisis | 50 |
| 3.4. Resultados | 51 |
| 3.4.1. Experimentos de dosis respuesta | 51 |
| 3.4.2. Dinámica de germinación bajo condiciones controladas | 54 |
| 3.4.3. Dinámica de germinación a campo | 56 |
| 3.4.4. Dinámica de germinación en la progenie de semillas de diferente procedencia. | 58 |
| 3.5. Discusión | 60 |

| | |
|--|-----|
| Capítulo 4. Diferencias en la sensibilidad a herbicidas de <i>Lolium multiflorum</i> Lam. (Raigrás) | 62 |
| 4.1. Introducción | 63 |
| 4.1.1. Hipótesis y objetivos | 65 |
| 4.2. Materiales y Métodos | 66 |
| 4.2.1. Método experimental | 66 |
| 4.2.2. Experimentos de dosis respuesta | 69 |
| 4.2.2.1. Año 2011 | 69 |
| 4.2.2.2 Año 2012 | 70 |
| 4.2.2.3 Año 2013 | 71 |
| 4.2.2.4. Año 2014 | 71 |
| 4.2.3. Respuesta a la germinación de la población L6 y susceptible | 72 |
| 4.2.4. Análisis | 72 |
| 4.3. Resultados | 74 |
| 4.3.1. Respuesta al herbicida pyroxsulam de la población L6 | 74 |
| 4.3.2. Respuesta al herbicida pyroxsulam de la población L6 y su progenie (F1) | 77 |
| 4.3.3. Respuesta de la población L6 a otros herbicidas ALS | 80 |
| 4.3.3.1. Imazamox | 80 |
| 4.3.3.2. Flucarbazone | 81 |
| 4.3.4. Respuesta de la población L6 a herbicidas con otros modos de acción | 82 |
| 4.3.5. Atributos fenológicos y fisiológicos de la población de raigrás L6 | 84 |
| 4.4. Discusión | 87 |
| 4.4.1. El uso del fitness como variable respuesta | 87 |
| 4.4.2. Fenología de L6 | 88 |
| Capítulo 5. Discusión general | 92 |
| Bibliografía citada | 100 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1.1. Factores que influncian la evolución de resistencia a herbicidas en malezas. | 9 |
| Tabla 2.1. Precipitaciones anuales en milímetros de los partidos en los cuáles se realizaron los censos. | 22 |
| Tabla 2.2. Riqueza de especies hallada en los censos pre-control y cosecha. | 28 |
| Tabla 2.3. Comparaciones según el análisis MRPP para evaluar diferencias en la comunidad entre años, entre momentos de observación y entre manejos químicos utilizados. | 29 |
| Tabla 2.4. Atributos de la comunidad entre los momentos pre-control y cosecha cuantificado mediante el promedio de especies con un determinado atributo por lote. | 30 |
| Tabla 2.5. Constancia (%) de las especies en cada grupo florístico, en pre-control y en cosecha y estado fenológico en que la especie fue hallada en cosecha. Se muestran además los resultados del Análisis de Especie Indicadora, indicando el momento al cual se asoció la especie y su valor indicador. | 32 |
| Tabla 2.6. Resultados del relevamiento de 81 lotes en Pre-control en busca de <i>Avena fátua</i> o <i>Lolium multiflorum</i> . | 34 |
| Tabla 2.7. Formas de crecimiento de las malezas de diferentes comunidades sobre lotes de trigo. Los datos fueron analizados con la clasificación propuesta por (McIntyre <i>et al.</i> , 2005), a partir de los resultados de los censos de los cuales se informa la cita. | 37 |
| Tabla 3.1. Total de has. sembradas con trigo y con presencia de <i>Avena fátua</i> L. en distintas zonas del sur de Buenos Aires. | 42 |
| Tabla 3.2. Detalle de los experimentos de dosis respuesta con <i>Avena fátua</i> | 46 |
| Tabla 3.3. Herbicidas y dosis comerciales recomendadas utilizadas en los distintos experimentos | 48 |
| Tabla 3.4. Respuesta de poblaciones de <i>Avena fátua</i> L. a distintos herbicidas, y comparación entre plantas provenientes de condiciones cultivadas y condiciones no cultivadas. | 52 |

| | |
|---|----|
| Tabla 3.5. Respuesta de dos poblaciones de <i>Avena fatua</i> L. a distintos herbicidas a una dosis dos veces la comercial, con la comparación entre plantas provenientes de condiciones cultivadas y condiciones no cultivadas. Estas poblaciones registraron diferencias significativas ($p < 0,05$) a la dosis comercial. | 54 |
| Tabla 4.1. Listado con las fechas en que se llevaron a cabo las principales tareas de los experimentos con raigrás anual realizados durante el año 2011. | 70 |
| Tabla 4.2. Listado con las fechas en que se llevaron a cabo las principales tareas de los experimentos con raigrás anual realizados durante el año 2012. | 71 |
| Tabla 4.3. Listado con las fechas en que se llevaron a cabo las principales tareas de los experimentos con pyroxsulam y flucarbazone realizados durante el año 2014 | 71 |
| Tabla 4.4. Parámetros estimados con la variable supervivencia de los modelos de regresión log-logístico de dosis respuesta para las poblaciones L6 y susceptible en dos momentos de aplicación del herbicida pyroxsulam, 3 hojas expandidas y dos macollos. | 75 |
| Tabla 4.5. Parámetros estimados con la variable fitness de los modelos de regresión loglogístico de dosis respuesta para las poblaciones L6 y susceptible en dos momentos de aplicación del herbicida pyroxsulam, 3 hojas expandidas y dos macollos. | 76 |
| Tabla 4.6. Parámetros estimados de los modelos de regresión log-logístico de dosis respuesta de los experimentos con pyroxsulam del año 2014. | 78 |
| Tabla 4.7. Parámetros estimados con la variable fitness de los modelos de regresión log-logístico de dosis respuesta de los experimentos con pyroxsulam del año 2014. | 79 |
| Tabla 4.8. Parámetros estimados de los modelos de regresión log-logístico de dosis respuesta del experimento con el herbicida Imazamox para el 50% de las poblaciones de <i>Lolium multiflorum</i> L6 y susceptibles, en dos estados de crecimiento de la maleza, 3 hojas expandidas y dos macollos. . | 81 |
| Tabla 4.9. Respuesta al herbicida imazamox según la variable fitness estimada sobre los testigos, 35 y 70 g.p.a./Ha (dosis comercial) para las poblaciones L6 y susceptible en dos estados de crecimiento de la maleza. | 81 |
| Tabla 4.10. Parámetros estimados con la variable supervivencia de los modelos de regresión log-logística de 4 parámetros estimadas para las poblaciones L6, L6-F1 y el Susceptible para el herbicida flucarbazone. | 82 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1.1. Esquema simplificado de los filtros que conforman las reglas de ensamble, operando en las diferentes escalas. | 4 |
| Figura 1.2a. Modelo de predicción de germinación para una especie otoño invierno primaveral. | 6 |
| Figura 1.2b. Modelo de predicción de germinación para una especie primavera estival. | 6 |
| Figura 1.3. Modelo teórico de dosis-respuesta. | 12 |
| Figura 1.4. Modelo de dosis respuesta aplicado a un diagnóstico de resistencia. | 13 |
| Figura 2.1a. Temperatura media anual (serie 1996-2008) en la provincia de Buenos Aires y localización de los partidos estudiados | 23 |
| Figura 2.1b. Aptitud agrícola de uso de la tierra en la provincia de Buenos Aires, con la localización de los partidos estudiados. | 23 |
| Figura 2.2. Diagrama de ordenación de una análisis de componentes principales de las malezas con constancia mayor a 8%. Se muestran asimismo los grupos logrados mediante el análisis de clúster. | 33 |
| Figura 2.3. Resultados para <i>Avena fatua</i> (AVEFA) y <i>Lolium multiflorum</i> (LOLMU) sobre los 34 lotes censados en pre-control y en cosecha | 35 |
| Figura 3.1. Germinación acumulada final para 12 poblaciones de <i>Avena fatua</i> L. Las semillas fueron quitadas de sus cubiertas (glumelas) e incubadas a 12°C durante 20 días. Barras rojas representan a las subpoblaciones provenientes de condiciones cultivadas; las barras verdes representan a las subpoblaciones provenientes de condiciones no cultivadas. | 55 |
| Figura 3.2. Germinación acumulada final para 12 poblaciones de <i>Avena fatua</i> L.. Las semillas fueron quitadas de sus cubiertas (glumelas) e incubadas a 20°C durante 20 días. Barras rojas representan a las subpoblaciones provenientes de condiciones cultivadas; las barras verdes representan a las subpoblaciones provenientes de condiciones no cultivadas. | 55 |
| Figura 3.3. Germinación acumulada (%) del promedio de dos poblaciones representativas (La Gauchita y El Diez L6) procedentes de áreas no agrícolas y agrícolas, incubadas en dos regímenes térmicos (12°C y 20°C constantes) | 56 |

- Figura 3.4.** Germinación acumulada de dos poblaciones de *Avena fatua* L. durante el año 2011. Líneas rojas indican la procedencia de ambientes de cultivo; líneas verdes indican procedencia de situaciones no cultivadas. 57
- Figura 3.5.** Germinación acumulada de dos poblaciones de *Avena fatua* L. durante el año 2012. Líneas rojas indican la procedencia de ambientes de cultivo; líneas verdes indican procedencia de situaciones no cultivadas. . 58
- Figura 3.6.** Dinámica de germinación a campo de la progenie de individuos de *Avena fatua* L. que han crecido en ambiente no cultivado, provenientes de semillas recolectadas en ambientes cultivados y no cultivados. 59
- Figura 4.1a.** Temperatura y precipitaciones durante el año 2011 66
- Figura 4.1b.** Temperatura y precipitaciones durante el año 2012 67
- Figura 4.1c.** Temperatura y precipitaciones durante el año 2013 67
- Figura 4.1d.** Temperatura y precipitaciones durante el año 2014 67
- Figura 4.2.** Modelos de dosis respuesta para la variable supervivencia a los 60 días de las poblaciones L6 y Susceptible para dos momentos de aplicación del herbicida pyroxsulam según dos estados fenológicos de la maleza, 2 macollos y 3 hojas. 74
- Figura 4.3.** Modelos de dosis respuesta para la variable fitness (estimado como el producto de fecundidad/planta y porcentaje de supervivencia) de las poblaciones L6 y Susceptible para dos momentos de aplicación del herbicida pyroxsulam según dos estados fenológicos de la maleza, 2 macollos y 3 hojas. 76
- Figura 4.4.** Modelos de respuesta al herbicida pyroxsulam según la variable supervivencia de las poblaciones L6, su F1 y la población susceptible. 78
- Figura 4.5.** Respuesta al herbicida pyroxsulam según la variable fitness estimada sobre los testigos y dosis por encima de la dosis comercial para las poblaciones L6 y susceptible en dos estados de crecimiento de la maleza. 79
- Figura 4.6.** Respuesta al herbicida Imazamox según la variable supervivencia para las poblaciones L6 y susceptible en dos estados de crecimiento de la maleza, 3 hojas expandidas y 2 macollos. 80
- Figura 4.7.** Respuesta al herbicida flucarbazone según la variable supervivencia para las poblaciones L6, su F1 y la población susceptible. 82
- Figura 4.8.** Respuesta al herbicida pinoxaden según la variable fitness para las poblaciones L6 y susceptible en dos estados de crecimiento de la maleza, 3 hojas expandidas y 2 macollos. 83

- Figura 4.9.** Respuesta al herbicida glifosato según la variable biomasa para las poblaciones L6 y susceptible. 84
- Figura 4.10.** Tiempo térmico hasta floración para las poblaciones L6 (L6M), la F1 de L6 (L6H) y la población susceptible (Sus) calculadas durante los años 2013 y 2014. 84
- Figura 4.11.** Número de hojas aparecidas en función del tiempo térmico de las poblaciones de raigrás L6 y susceptible. 85
- Figura 4.12.** Germinación observada para la población L6 a tres temperaturas, 5°C, 12°C y 20°C. Símbolos vacíos representa a la población susceptible; símbolos llenos representa a la población L6. 86
- Figura 4.13.** Dosis letales para el 50% (DL50) de las poblaciones L6 y Susceptible estimadas para el herbicida pyroxsulam en función del tiempo térmico calculado entre el día de la aplicación del herbicida y 61 después de la aplicación (0-61 dat). 86
- Figura 5.1.** Partidos con reportes a la REM (Red de Conocimiento en Malezas Resistentes) de *Avena fatua* L. resistente o con sospechas de resistencia. 93
- Figura 5.2.** Partidos/departamentos con reportes a la REM (Red de Conocimiento en Malezas Resistentes) de *Lolium multiflorum* Lam. resistente o con sospechas de resistencia. 96
- Figura 5.3.** Ránking de especies resistentes a herbicidas según el número de sitios de acción afectados. Marcados con círculos las especies correspondientes al género *Lolium*. Imagen tomada de Heap, 2015. 96
- Figura 5.4.** Emergencia de *Lolium multiflorum* Lam. durante el año 2014 en las localidades de Bordenave y Balcarce. Gráfico tomado de Diez de Ulzurum *et al* 2015. 97

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

| | |
|--|----|
| Fotografías 3.1a) y b). Ambientes en el cuál se cosecharon las semillas en condiciones cultivadas (3.1a) y no cultivadas (3.1b). | 44 |
| Fotografía 3.2. Plantas de <i>Avena fatua</i> L. en estado de 3 a 4 hojas, al momento del tratamiento con herbicidas | 45 |
| Fotografías 3.3a), b) y c). Preparación de las bolsitas con las semillas y entierro de las mismas. | 49 |
| Fotografías 3.4a), b) y c). Conteo de las muestras con semillas germinadas y sin germinar. | 49 |
| Fotografías 3.5. a) y b) Vista del experimento de germinación a campo al 27/05/2011. | 57 |
| Fotografía 4.1. Tarjeta hidrosensible utilizada en un experimento en el año 2014. La cobertura es de 22,4%. | 68 |
| Fotografías 4.2.a) y b) Vista de los estados de tres hojas (a) y dos macollos (b) de las plantas en el día de aplicación en el año 2011. | 68 |
| Fotografías 4.3.a) y b) Respuesta de las poblaciones L6 (izquierda) y susceptible (derecha) al herbicida pyroxsulam a los 40 días de haber aplicado el tratamiento. | 77 |
| Fotografías 4.4.a), b) y c) Rebrotos detectados en la población L6 a los 30 días de aplicado el herbicida sobre plantas que inicialmente parecían senecidas por la acción del herbicida pyroxsulam. | 77 |

Resumen

En la presente tesis se estudió la persistencia de especies poáceas en cultivos de trigo del sudeste de Buenos Aires. En dicha región, *Avena fatua* L. y *Lolium multiflorum* Lam. son las malezas poáceas más importantes, tanto por la dificultad de control como por sus efectos competitivos sobre el cultivo. A los efectos de cuantificar la persistencia de dichas especies, se estudió la composición de la comunidad de malezas en dos momentos del ciclo: preaplicación de herbicidas y precosecha. Individuos de ambas malezas fueron registrados en ambos momentos como consecuencia de “escapes” al control realizado con herbicidas, siendo *A. fatua* más constante que *L. multiflorum*. Posteriormente, se estudiaron los procesos que definen la persistencia de ambas malezas. Los resultados obtenidos indican que el ajuste del momento de emergencia es jerárquicamente el factor más importante para explicar la persistencia de *A. fatua*. Se demostró que los modelos de germinación son diferentes según las semillas provengan de un lote agrícola o de una condición de no cultivo, siendo estas diferencias de naturaleza genética. Por otro lado, la variabilidad en la supervivencia a los herbicidas es el factor que mejor explica la persistencia de *L. multiflorum*, habiéndose documentado resistencia cruzada a los herbicidas inhibidores de la ALS, pyroxsulam, imazamox y flucarbazone, sin antecedentes previos en la región. Los índices de resistencia encontrados presentan variación con la temperatura ambiente en post-aplicación del herbicida, habiéndose registrado mayor resistencia con mayor temperatura. Además, se comprobó que los individuos resistentes presentan menor tiempo a floración que los susceptibles. Tal atributo puede significar una ventaja demográfica para dichas poblaciones. Queda así demostrada la persistencia de *A. fatua* y *L. multiflorum* durante el ciclo del cultivo más allá de las prácticas de control realizadas y la participación de dos procesos demográficos distintos (establecimiento y supervivencia) en dicha persistencia.

Palabras clave: *Avena fatua*, *Lolium multiflorum*, “weed shifts”, modelos de germinación/emergencia, resistencia a herbicidas

Abstract

In this thesis, the persistence of Poaceae species in wheat crops in southeastern Buenos Aires (Argentina) was studied. In that region, *Avena fatua* L. and *Lolium multiflorum* Lam. are the most important weed grasses, both because of their difficult control and their competitive effects on the crop. With the aim of studying the persistence of these species, the composition of the weed community in wheat crops was assessed in two stages of the cycle: before herbicide application and pre-harvest. Individuals of both weeds were identified at both time points as a result of "escape" to control done with herbicides, being *A. fatua* more constant than *L. multiflorum*. Further studies on the processes that define the persistence of both weed types indicate that emergence time is the most relevant factor to explain the persistence of *A. fatua*. Moreover, germination models were found different depending on whether the seeds were coming from agricultural fields or from uncultivated areas, being these differences based on the genetic nature of the seeds. On the other hand, variability in the survival to herbicide treatment is the process that better explains the persistence of *L. multiflorum*; the cross-resistance to inhibiting herbicides ALS, pyroxsulam, imazamox and flucarbazone was also documented. Resistance indices were found to vary with the temperature during and after application of the herbicide; greater resistance been recorded with higher temperature. In addition, it was found that individuals differing in sensitivity to the herbicides also differ in the rate of development, having less time to flowering in resistant than in susceptible biotypes. Such attribute may imply a demographic advantage for these populations. Thus, the persistence of *A. Fatua* and *L. Multiflorum* during the wheat crop cycle in the southeastern region of Buenos Aires has been demonstrated. This persistence was regulated by two different demographic processes, seedling establishment and survival of herbicides.

Keywords: *Avena fatua*, *Lolium multiflorum*, "weed shifts", germination and emergence models, herbicide resistance.

Capítulo 1

Introducción General

Capítulo 1

Introducción General

1.1. Las malezas y su impacto

Las malezas son especies vegetales que crecen en situaciones no deseadas por el hombre (Håkansson, 2003), razón por la cual se procura controlarlas. A pesar de los avances tecnológicos y la amplia disponibilidad de opciones para su control, las malezas no han dejado de ser un problema. El control de malezas con herbicidas es el rubro que implica mayores costos dentro del manejo de adversidades (Gressel & Valverde, 2009). Las malezas son especies exitosas debido a su íntima relación evolutiva con el hombre, los disturbios agrícolas y uso de la tierra (Ghersa & Roush, 1994). Estas especies ocupan los nichos que quedan vacantes luego de la transformación del ambiente natural en un ambiente agrícola. La diversidad genotípica y la amplitud fenotípica proveen las características que permiten colonizar, adaptarse y crecer en un amplio rango de estos ambientes (Dekker, 2003). Esta coevolución de las malezas junto a los sistemas agrícolas permite afirmar que la acción humana es el factor más importante que determina la ocurrencia y distribución de las malezas.

Mediante las diferentes prácticas de manejo se seleccionan características fisiológicas, fenológicas, morfológicas y demográficas, muchas veces convergentes con características de los cultivos (mímica del cultivo) (Martínez-Ghersa *et al.*, 2000). De este modo, el éxito de una maleza en un determinado sistema de producción será consecuencia del ajuste entre los procesos demográficos (establecimiento, supervivencia, fecundidad y dispersión) y el ambiente de cultivo en el que se establecen (Radosevich *et al.*, 2007; Neve *et al.*, 2009). Este proceso de adaptación evolutivo es continuo y para que ocurra es esencial que exista o se pueda generar suficiente variabilidad genética. Como la presión de selección ejercida mediante la intensidad de las prácticas agrícolas define las condiciones para la presencia de diferentes especies y biotipos de malezas (Neve *et al.*, 2009), puede enunciarse que el manejo de malezas consiste en el manejo de la presión de selección ejercida mediante las diferentes prácticas aplicadas (Dekker, 2003).

Los individuos que no han podido ser eliminados mediante la aplicación de herbicidas y consecuentemente son persistentes, se definen operativamente como "escapes" al control por herbicidas. La persistencia de individuos de malezas en situaciones con aplicación de herbicidas puede explicarse por mecanismos de tolerancia (tolerancia intrínseca), resistencia al herbicida, o estrategias demográficas que evitan temporalmente la acción del herbicida. A nivel de comunidad, los escapes pueden explicar los cambios de especies ("weed shifts") (Scursoni *et al.*, 2007b). A nivel poblacional, los escapes representan una estrategia adaptativa de las malezas ante el control por herbicidas mediante los mecanismos de tolerancia o escape antes mencionados (Mortimer, 1997). A nivel individual, para que se hagan efectivos esos escapes, ocurren diversos cambios fenológicos, fisiológicos y morfológicos. Las diferentes especies que escapan a la aplicación de herbicidas en sistemas de producción

podrían representar serios problemas para su manejo. En consecuencia, será necesario identificar los mecanismos causales de su persistencia.

1.2. Impacto a nivel de comunidad

Una comunidad es un conjunto de poblaciones de diferentes especies presentes en un lugar y momento determinado (Booth *et al.*, 2003). Esta definición de comunidad se utiliza principalmente para analizar y explicar las interacciones biológicas entre los organismos (Radosevich *et al.*, 2007) pero no necesariamente implica que todas estas especies interactúen entre sí (Crawley, 1997). Los límites de la comunidad se definen por razones prácticas o arbitrarias (Booth & Swanton, 2002) y es así que las comunidades de malezas suelen estar definidas por el cultivo y la región en que se encuentran. Las comunidades pueden describirse mediante sus atributos. Estos atributos pueden ser de carácter cualitativo, donde se describe la apariencia y funcionalidad, o bien pueden ser de carácter cuantitativo donde se describe la abundancia y riqueza de las especies que componen la comunidad. Esta descripción conforma lo que se denomina estructura de la comunidad.

Bajo la teoría del ensamble de comunidades, las comunidades de malezas se ordenan a partir de un conjunto de especies (flora regional) (Booth & Swanton, 2002). A lo largo de diferentes escalas, el proceso de ensamblado es definido por restricciones abióticas (i.e. clima, manejo), bióticas (i.e. competencia) y restricciones a la dispersión, denominadas filtros. Los filtros operan limitando la pertenencia a la comunidad ya que "filtran" especies del conjunto total o pool de especies a las que les falta alguna característica particular para superar esos filtros (figura 1.1). De esta forma, determinan la composición de la comunidad y su estructura (Lancaster & Belyea, 1999; Weiher & Keddy, 1999; Booth *et al.*, 2003; Poggio, 2012). Los filtros actúan sobre las características de las especies ("traits") más que sobre las especies en sí, es decir actúan sobre grupos funcionales del conjunto de especies. Por ello, es más ventajoso describir el ensamble de comunidades mediante grupos funcionales, así las predicciones derivadas de esta aproximación podrían extrapolarse a otras situaciones y regiones (Booth & Swanton, 2002; Smith, 2006; Ryan *et al.*, 2010).

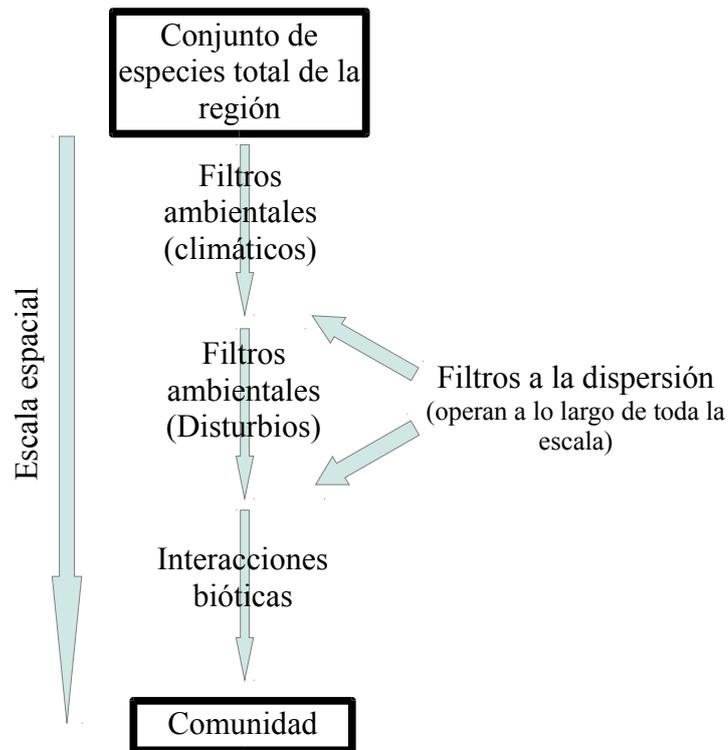


Figura 1.1. Esquema simplificado de los filtros que conforman las reglas de ensamble, operando en las diferentes escalas. Adaptado de (Díaz *et al.*, 1999; Lancaster & Belyea, 1999; Booth & Swanton, 2002; Poggio, 2012).

De acuerdo con lo comentado, el ambiente definido por el cultivo y el control de malezas mediante herbicidas constituyen filtros que intervienen en el ensamblado de la comunidad (Ryan *et al.*, 2010). Las comunidades de malezas estarán conformadas por especies y biotipos capaces de atravesar estos filtros y entonces poseerán respectivas adaptaciones a los distintos sistemas de producción. A lo largo del tiempo, en escala sucesional, se espera que la comunidad de malezas reduzca su diversidad y sean dominadas por pocas pero competitivas y adaptadas especies (Neve *et al.*, 2009).

La aplicación de herbicidas *per se* tiene un alto impacto en la composición de la comunidad de malezas, seleccionando aquellas especies o biotipos capaces de tolerar o evitar la acción del herbicida y favoreciendo la generación de resistencia genética (Hilgenfeld *et al.*, 2004b; Owen, 2008). A través de la mortandad de los individuos más susceptibles en la población o por reducción de la fecundidad, la aplicación de herbicidas es un factor de alta presión de selección y por lo tanto de alto potencial para el desarrollo de resistencia y prevalencia de especies tolerantes. Diferentes factores pueden incidir directamente en el tiempo para que se manifiesten estos eventos. No obstante, dos factores de importancia son: (i) la presión de selección realizada por la frecuencia de aplicación del herbicida y (ii) la adaptación (fitness) de los fenotipos tolerantes o resistentes. Los cambios que se produzcan en la composición de la comunidad, pueden indicar tanto la efectividad de una práctica de control o la emergencia de un potencial problema que requerirá medidas alternativas de manejo (Cousens & Mortimer, 1995).

1.3. Regulación del momento de emergencia

1.3.1. Germinación y emergencia como procesos clave

Dentro del ciclo de vida de la maleza el banco de semillas del suelo y los procesos de germinación y emergencia son estados y procesos demográficos relevantes a la hora de diseñar estrategias de manejo. El banco de semillas es el real indicador del tamaño de la población de la maleza. Los individuos que emergen son una fracción del mismo, quedando una reserva de individuos representando así una forma de persistencia a través del tiempo.

Los procesos de germinación y emergencia pueden brindar la posibilidad de "escapar" a la acción de los herbicidas y otras medidas de control (Mortimer, 1997). El grado de sincronización de la germinación y emergencia de las malezas respecto al cultivo es clave para explicar el éxito de muchas malezas, principalmente de ciclo anual (Martínez-Ghersa *et al.*, 2000; Neve *et al.*, 2009). Asimismo, la tasa de germinación y la longevidad de las semillas también explican este éxito (Gundel *et al.*, 2008). En ambientes naturales por ejemplo, la emergencia temprana representa una ventaja ya que garantiza una temprana captura de recursos y minimiza los efectos de la competencia interespecífica (Schutte *et al.*, 2012). Contrariamente, una emergencia tardía puede representar una ventaja en ambientes agrícolas, ya que de esa forma es posible evitar los métodos de control. Scursoni *et al.*, (2007b) en estudios realizados en Estados Unidos, concluyeron que la mayor parte de los escapes de malezas a la aplicación de glifosato se deben a flujos de germinación y emergencia que ocurren con posterioridad al momento del uso del herbicida. En tal sentido los modelos de predicción constituyen una herramienta de alta utilidad para la correcta decisión de aplicación de herbicidas.

1.3.2. Dormición

Tanto el momento de emergencia de la maleza como la persistencia del banco de semillas están estrictamente relacionados con el proceso de dormición (Benech-Arnold *et al.*, 2000; Batlla & Benech-Arnold, 2007). La dormición es una condición fisiológica interna de la semilla que impide la germinación bajo óptimas condiciones hídricas, térmicas y gaseosas (Benech-Arnold *et al.*, 2000). La dormición no se comporta como una condición absoluta, es decir, existe un continuo de niveles de dormición. El nivel de dormición se expresa mediante el rango de condiciones bajo la cual la población de semillas puede germinar (Allen *et al.*, 2007). A medida que una población de semillas se induce a dormición, el rango de condiciones permisivo para la germinación se reduce. Por el contrario durante la salida de dormición, el rango de condiciones se amplía hasta un máximo. De este modo, la germinación a campo ocurre cuando las condiciones de campo se superponen con el rango de condiciones bajo los cuales las semillas pueden germinar (Karssen, 1982; Benech-Arnold *et al.*, 2000). En especies cuya estación de crecimiento es otoño-invierno-primaveral, la salida de dormición se expresa por el aumento de la temperatura límite superior del rango térmico permisivo para la germinación. Por el contrario, la entrada a dormición se manifiesta a través de la disminución de la temperatura límite inferior (figuras 1.2a y 1.2b). En especies

primavero-estivales, la temperatura límite inferior del rango permisivo para la germinación desciende o aumenta ante la entrada o salida de dormición respectivamente.

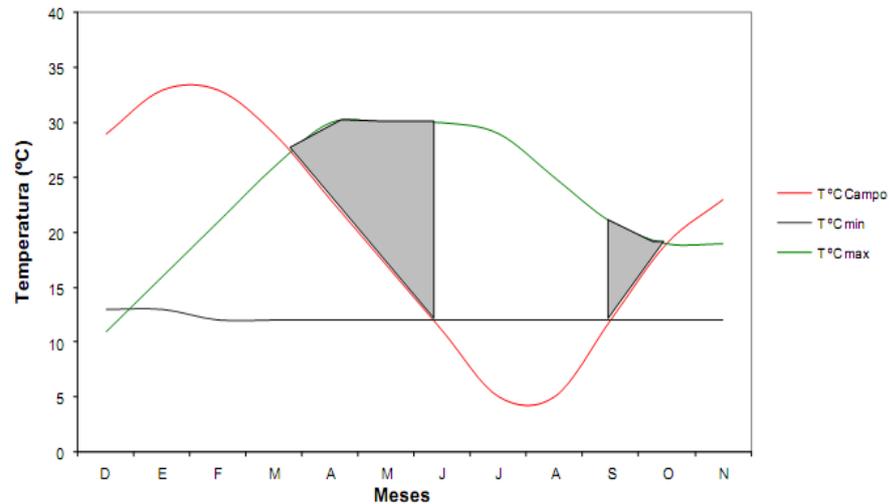


Figura 1.2a. Modelo de predicción de germinación para una especie otoño invierno primaveral. Adaptado de Benech-Arnold *et al* 2000. La región sombreada representa el período en el cual se predice la germinación a campo.

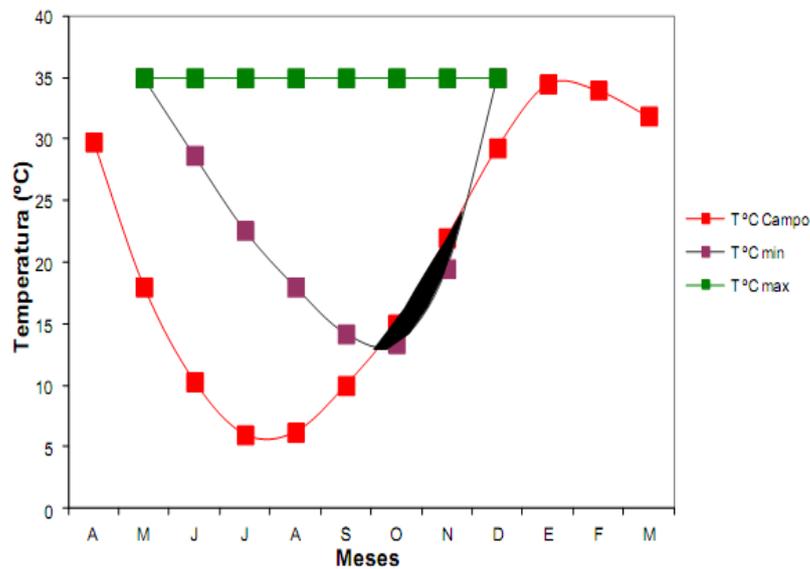


Figura 1.2b. Modelo de predicción de germinación para una especie primavera estival. Adaptado de Benech-Arnold *et al* 2000. La región sombreada representa el período en el cual se predice la germinación a campo.

El grado de dormición presente en una población de semillas de malezas es altamente variable, siendo causales de esta variabilidad la composición genética, las

condiciones ambientales en las cuales las semillas maduran (efecto materno) y los efectos de diferentes factores ambientales que gobiernan la dormición luego de dispersadas las semillas (Martínez-Ghersa *et al.*, 2000; Benech-Arnold *et al.*, 2000; Baskin & Baskin, 2006; Batlla & Benech-Arnold, 2007).

1.3.3. Factores ambientales que gobiernan el proceso de dormición

Entre los factores que gobiernan el nivel de dormición de una población de semillas se encuentra principalmente la temperatura del suelo. También interviene el estado hídrico de las semillas que está determinado por la humedad del suelo (Batlla & Benech-Arnold, 2010). Estos factores son los responsables de la variación estacional del nivel de dormición. En general, cuando las semillas son recientemente dispersadas poseen un nivel de dormición alto. A medida que transcurre la estación desfavorable el nivel de dormición desciende hasta el momento donde las condiciones son favorables y entonces puede ocurrir la germinación. Pero las semillas que no hubieron germinado en ese momento, pueden ser inducidas a entrar en dormición secundaria a medida que el tiempo siga transcurriendo y las condiciones se vuelvan desfavorables (Benech-Arnold *et al.*, 2000; Batlla & Benech-Arnold, 2007). En consecuencia, los cambios estacionales del nivel de dormición configuran ciclos que se relacionan con el momento de emergencia de la maleza.

En especies en las cuales la dormición no es impuesta por las cubiertas, en general, si son especies otoño-invierno-primaverales las temperaturas elevadas alivian la dormición (tal es el caso de *Avena fatua*), mientras que en especies primavero-estivales, las temperaturas bajas promueven la entrada en dormición. Existen muchas especies donde a pesar que las semillas alcanzan un nivel bajo de dormición, precisan de estímulos adicionales para germinar. Estos son los factores que terminan con la dormición. El significado ecológico de estos factores es que indican el momento preciso para que la planta pueda emerger exitosamente (Finch-Savage & Leubner-Metzger, 2006). Los factores más importantes que intervienen son la luz y las temperaturas alternadas. Existen evidencias de otros factores que pueden intervenir bajo condiciones específicas tales como nitratos, concentración de oxígeno, etc (Batlla & Benech-Arnold, 2007).

1.3.4. Dormición y emergencia como estrategias adaptativas

La dormición de las semillas es una característica adaptativa y por lo tanto sujeta a selección. Por ejemplo, los cultivos han sido seleccionados para que sus semillas no posean dormición. Prácticas agronómicas que modifican los ambientes pueden constituir presiones de selección para la dormición de semillas. En experimentos realizados con *Avena fatua*, se observó que la frecuencia relativa de biotipos con presencia de dormición se incrementó bajo una rotación con un año de descanso en comparación con una rotación de agricultura continua (Jana & Thai, 1987). En otro experimento realizado con la maleza *Ambrosia trifida*, se comprobó que las poblaciones que crecieron sobre ambientes agrícolas poseyeron niveles de dormición más altos en el embrión y emergieron a lo largo de toda la estación de crecimiento en distintas cohortes.

En cambio las poblaciones que crecieron en ambientes poco disturbados por el hombre emergieron sincronizadamente en la primavera temprana (Schutte *et al.*, 2012).

Las características germinativas y de emergencia pueden variar según la historia de aplicación de herbicidas, como consecuencia de costos adaptativos. Ghera *et al.*, (1994) encontraron que semillas de raigrás anual (*Lolium multiflorum* Lam.) resistentes al herbicida Diclofop-metil tuvieron mayor nivel de dormición y una emergencia retrasada respecto a las susceptibles. En otro trabajo realizado con la misma especie, Gundel *et al.*, (2008) encontraron diferente comportamiento en la dinámica de germinación de semillas con diferente historia de aplicación de herbicidas. Owen *et al.*, (2011) han hallado correlación entre niveles de resistencia y niveles de dormición en raigrás anual y han propuesto que el estatus de resistencia podría tener un rol como herramienta predictiva en la elaboración de modelos de dormición.

Con estos antecedentes y dado que *Avena fatua* posee amplia variabilidad genética y plasticidad fenotípica para la dormición de semillas (Jana & Thai, 1987), es factible que individuos que crecen en diferentes ambientes (aún perteneciendo a la misma población), posean un comportamiento germinativo y de emergencia diferente que resultarán en distintos modelos de dinámica de la emergencia.

1.4. Respuesta a los herbicidas

La gran mayoría de los herbicidas actúan inhibiendo alguna enzima específica de las plantas. La consecuencia es la inhibición del proceso metabólico mediado por la enzima inhibida. La enzima (o proteína) blanco del herbicida se denomina sitio de acción ("target site"). El proceso metabólico completo (bioquímico y fisiológico) por el cual el herbicida ejerce su actividad biológica se denomina mecanismo de acción y es una característica por la cual se clasifica a los herbicidas. La susceptibilidad es el grado de respuesta de la planta al herbicida en una dosis determinada, y puede variar desde la máxima respuesta (plantas susceptibles) hasta la mínima (plantas tolerantes o resistentes).

1.4.1. Tolerancia y resistencia

Si bien los términos tolerancia y resistencia a herbicidas suelen ser utilizados indistintamente, expresan dos definiciones bien diferenciadas. Según la Sociedad Americana de Malezas (WSSA - Weed Science Society of America) la tolerancia a herbicidas es la habilidad inherente de una especie a sobrevivir y reproducirse luego de un tratamiento de herbicidas. Esto implica que no hay selección o manipulación genética para hacer que la planta sea tolerante; es naturalmente tolerante. En tanto la resistencia a herbicidas es la habilidad adquirida por una planta para sobrevivir y reproducirse luego de ser expuesta a un tratamiento de herbicidas con una dosis a la cual normalmente es letal para el biotipo salvaje (Weed Science Society of America, 1998). A diferencia de la tolerancia, resistencia implica necesariamente que debe existir evolución y entonces también existe el biotipo susceptible para esa población. La

resistencia es un atributo del biotipo mientras que la tolerancia es un atributo de la especie (Albert Fischer¹, comunicación personal; Fischer & Valverde, 2010).

Como se señaló anteriormente, la resistencia a herbicidas es un proceso evolutivo. Para que tenga lugar tal proceso, debe existir variabilidad genética en la población y sobre esa población debe ocurrir una presión de selección. La tasa de evolución de resistencia es modulada por diversos factores, que pueden ser resumidos en la siguiente fórmula (Gressel & Segel, 1978):

$$N_n = N_0(1 + f \alpha/b)^n \quad \text{(fórmula 1.1)}$$

Donde N_n es la frecuencia final de individuos resistentes luego de transcurrido el tiempo n ; N_0 es la frecuencia inicial de individuos resistentes antes de la aplicación del herbicida; f es el costo de la resistencia; α es la presión de selección y b es la vida media del banco de semillas en el suelo. Powles & Yu, (2010) clasifican los distintos factores y enumeran otros que influyen en la evolución de resistencia a herbicidas. Los factores son clasificados en genéticos, biológicos, operacionales y propios del herbicida (Tabla 1.1). Los factores propios del herbicida, a veces son incluidos entre los operacionales.

Tabla 1.1. Factores que influyen la evolución de resistencia a herbicidas en malezas. Adaptado de Powles & Yu, (2010)

| Factores genéticos | Biología de las malezas |
|--|--|
| Frecuencia de los genes de resistencia | Alogamia vs. Autogamia |
| Número de genes de resistencia | Fecundidad |
| Capacidad de dispersión del polen y las semillas | Persistencia del banco de semillas |
| Dominancia de los genes de resistencia | |
| Costo adaptativo de los genes de resistencia | |
| Herbicida | Operacionales |
| Estructura química | Dosis del herbicida |
| Sitio de acción | Habilidad del operador (manejo de la deriva, momento de aplicación, etc) |
| Actividad residual | Otras prácticas de manejo (rotaciones, prácticas de control no químicas, manejo del cultivo, etc.) |

1.4.2. Factores que intervienen en la evolución de resistencia

La mayor fuente de variabilidad genética para susceptibilidad a los herbicidas en una población es la mutación de genes (Jasieniuk *et al.*, 1996). La mutación de cualquier gen es un evento muy poco probable, con una probabilidad de aproximadamente uno en un

1. Profesor UC Davis, ex presidente de la International Weed Science Society

millón (Gressel & Levy, 2006). La frecuencia de mutaciones para otorgar resistencia a algunos herbicidas es aún más baja. Sin embargo, la probabilidad de ocurrencia de al menos una planta mutante resistente puede llegar a ser importante dependiendo del tamaño de la población de malezas. En una especie alógama, si la frecuencia genética del mutante fuese de 10^{-6} y la densidad de la maleza de 1 planta/m², sería necesario tratar 100 has para seleccionarlo (Jasieniuk *et al.*, 1996). A medida que incrementa la densidad de malezas, el área a tratar disminuirá significativamente. Asimismo, la autogamia y la recesividad del alelo mutante disminuyen esta probabilidad. Por último, los herbicidas no generan mutaciones en las malezas por sí mismos, pero un estrés ocasionado por dosis subletales de herbicidas podría incrementar la tasa de mutaciones (Gressel, 2009).

La frecuencia inicial de alelos de resistencia es clave para determinar la tasa a la que puede evolucionar resistencia (Pavlovic *et al.*, 2008). Una alta frecuencia inicial de genes de resistencia a herbicidas en una población implica una tasa mayor de evolución de resistencia (Preston & Powles, 2002). Si bien pueden existir en la población individuos resistentes, generalmente la resistencia a herbicidas no se hace evidente hasta que al menos un 30% de la población sea resistente (Pavlovic *et al.*, 2008). Especies alógamas obligadas como el raigrás anual (*Lolium multiflorum* Lam.) permiten que los caracteres que confieren resistencia se puedan combinar más fácilmente y que la variabilidad genética pueda ser mayor.

El mayor determinante de la intensidad de la presión de selección es la dosis de herbicida utilizada (Manalil *et al.*, 2011). En una población susceptible, dosis letales de herbicidas ejercen una gran presión de selección eliminando a todos o a casi todos los individuos. Los individuos que logran sobrevivir, poseen alguna adaptación que involucra a uno o pocos genes con un gran efecto fenotípico (Lande, 1983; Macnair, 1991). En cambio, la aplicación de dosis subletales de herbicida, favorece la selección de caracteres de resistencia gobernada por muchos genes. La supervivencia a bajas dosis de herbicidas presenta un gradiente de variación dentro y entre poblaciones de malezas. Esta variación fenotípica continua es indicativa de control poligénico de la resistencia. La baja presión de selección dada por el empleo de dosis subletales, posibilita el intercambio de genes de bajo efecto fenotípico entre los individuos que han sobrevivido a la acción del herbicida. La progenie de estos individuos puede evolucionar resistencia al herbicida si estos genes menores poseen efecto aditivo (Lande, 1983; Neve & Powles, 2005; Busi & Powles, 2009; Manalil *et al.*, 2011).

La actividad residual del herbicida influye en la intensidad de la presión de selección. Herbicidas no persistentes ejercerán menor presión de selección que aquellos con actividad residual (Powles & Shaner, 2001). La frecuencia con la que el herbicida es aplicado también tiene influencia sobre la tasa de evolución del herbicida. Herbicidas poco residuales pero con gran frecuencia de uso, son susceptibles a evolución de resistencia; tal ha sido el caso del glifosato. Las características del herbicida, más precisamente la especificidad, pueden afectar la tasa de evolución de resistencia. Aquellos herbicidas con un solo sitio de acción muy específico son más proclives a evolucionar resistencia (Jasieniuk *et al.*, 1996).

Algunos grupos de herbicidas son más proclives en generar resistencia. Los herbicidas inhibidores de la enzima ALS (Aceto Lactato Sintasa, clave en la síntesis de aminoácidos) han generado el mayor número de casos de resistencia en el mundo (Heap, 2016). Poseen muy alta efectividad, amplio espectro y con actividad residual en muchos de ellos. La enzima blanco de estos herbicidas presenta variabilidad genética entre individuos de la misma especie y sobre todo muchos puntos de mutación posibles para adquirir resistencia (Tranel & Wright, 2002). Ejemplos de grupos químicos de herbicidas con este mecanismo de acción son las Sulfonilureas, las Imidazolinonas y Triazolpirimidinas, entre otras. Asimismo, diferentes herbicidas del mismo grupo químico (que poseen en común características químicas y la misma enzima blanco) son diferentes en cuanto a la probabilidad de hallar resistencia. Owen & Powles, (2009), en un estudio realizado en Australia encontraron que la mayor cantidad de poblaciones de *Avena fatua* L. resistentes lo era al herbicida Diclofop-metil (77%) mientras que solo un 3% lo era al herbicida Clodinafop, siendo que ambos herbicidas pertenecen al mismo grupo químico (ariloxifenoxipronatos o abreviado, fops).

El "fitness", entendido como el éxito relativo de un biotipo comparado a otro biotipo como resultado de la selección, puede ser diferente entre individuos susceptibles y resistentes (Powles & Shaner, 2001). Dado que los mutantes resistentes aparecen naturalmente a muy bajas frecuencias (en ausencia de herbicidas), es concebible que tuvieran menor fitness que el biotipo salvaje susceptible en ausencia de selección por herbicidas. Si existen alelos de resistencia en la población, ellos conferirán una ventaja adaptativa sobre los individuos que no poseen esos alelos ("wild type") en presencia del herbicida. No obstante, en ausencia del herbicida, efectos pleiotrópicos de los alelos de resistencia pueden otorgar un costo adaptativo negativo a los individuos que los poseen (Vila-Aiub *et al.*, 2011). El conocimiento de los costos adaptativos de los alelos de resistencia en ausencia y presencia del herbicida es de importancia, ya que se puede predecir la dinámica evolutiva y además sirve para diseñar estrategias de manejo donde se seleccione en contra de los alelos de resistencia (Vila-Aiub *et al.*, 2009).

1.4.3. Diagnóstico de la tolerancia o la resistencia. Modelo de dosis respuesta.

Los estudios de dosis respuesta, son de utilidad para evaluar la actividad de herbicidas, estudiar la variabilidad fenotípica de una especie hacia un herbicida, establecer las dosis letales (DL_{50} y DL_{90} , etc.) y diagnosticar resistencia a herbicidas (Seefeldt *et al.*, 1995; Knezevic *et al.*, 2007). Cualquier evaluación del efecto de la química del herbicida, variabilidad fenotípica, genotipo, ambiente y coadyuvantes en la respuesta de plantas a herbicidas, es en esencia una comparación entre dos o más curvas de dosis respuesta (Seefeldt *et al.*, 1995).

La curva de dosis respuesta típica es una función log-logística que describe alguna respuesta de las plantas (biomasa, actividad enzimática, supervivencia, etc.) en función de dosis crecientes de un herbicida (figura 1.3) (fórmula 1.2).

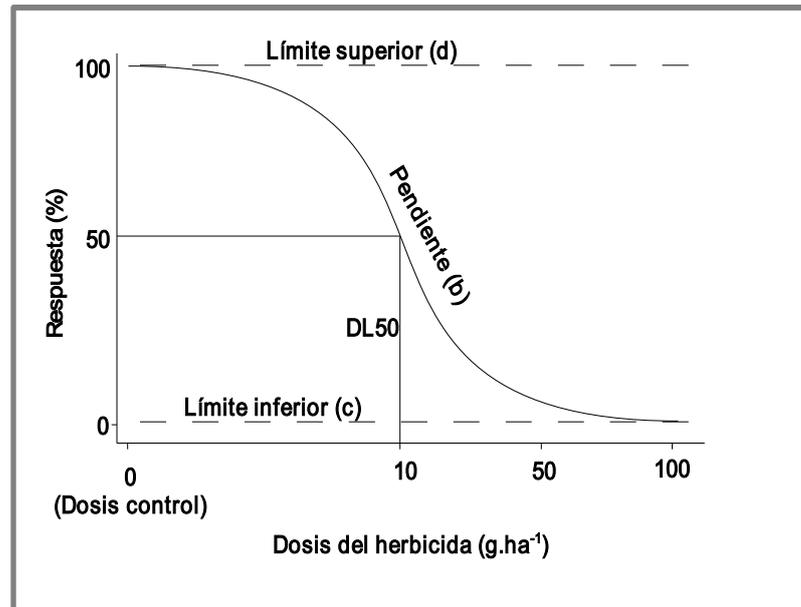


Figura 1.3. Modelo teórico de dosis-respuesta (extraído de Seefeldt *et al.*, 1995).

$$y = c + \frac{d - c}{1 + \exp[b(\log(x) - \log(DL50))]} \quad (\text{Seefeldt } et al., 1995) \text{ (fórmula 1.2)}$$

La ventaja que posee este modelo es que los parámetros que lo conforman poseen significado biológico. El límite superior (d) corresponde a la respuesta del tratamiento control. El límite inferior (c) es la respuesta media a dosis muy altas y no necesariamente tiene valor cero. El parámetro b es la pendiente de la curva cuando se controla el 50% de la población. La dosis letal 50 (DL50), también llamada dosis efectiva 50 (ED50) es la dosis a la cual se logra el 50% de la respuesta (normalmente 50% de daño). La ED50 permite la comparación con otras curvas que no tienen los mismos parámetros y es el parámetro más comúnmente utilizado para tal fin.

La evolución de resistencia se diagnostica cuando en una población ocurre un cambio en la curva de respuesta al herbicida resultando en un cambio en la ED50 (figura 1.4). Para el diagnóstico de resistencia se deben utilizar individuos susceptibles pero con el fondo genético similar a la población sospechosa. Como las dosis se expresan en escala logarítmica, el desplazamiento horizontal expresa un índice entre las dosis a la ED50. Este índice se usa comúnmente para caracterizar poblaciones resistentes y se lo denomina índice de resistencia.

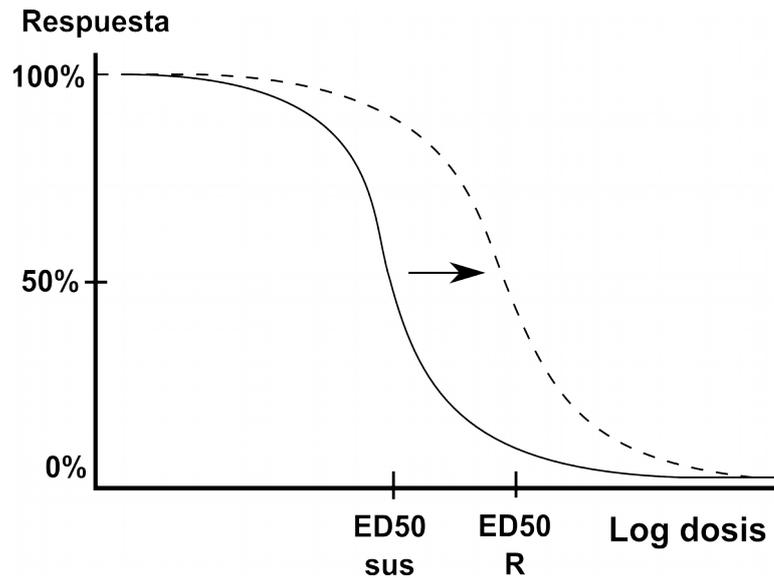


Figura 1.4. Modelo de dosis respuesta aplicado a un diagnóstico de resistencia (extraído de Seefeldt *et al.*, 1995).

1.4.4. Eficacia de los herbicidas

Para que un herbicida sea eficaz deberá poseer propiedades químicas que le hagan capaz de entrar a la planta (proceso de absorción), ser traslocado y finalmente alcanzar el sitio activo en una cantidad suficiente para ser letal (Cobb & Reade, 2010). Estos procesos están influenciados por la morfología y la anatomía de la planta así como también por procesos fisiológicos, bioquímicos y ambientales. El efecto de un herbicida específico resulta de la interacción de todos estos factores con el mismo herbicida (Monaco *et al.*, 2002). Poblaciones de malezas que difieren en alguno de estos factores dan como consecuencia diferencias en la susceptibilidad a herbicidas.

Varios trabajos han demostrado las diferencias en la susceptibilidad a herbicidas a causa de diferencias en la absorción y traslocación del herbicida en distintas especies (Kirkwood, 1999; Norsworthy *et al.*, 2001; Monquero *et al.*, 2004; Hatterman-Valenti *et al.*, 2011). Más aún, se han demostrado mecanismos de resistencia relacionados con diferencias metabólicas (Koger & Reddy, 2005; Vila-Aiub *et al.*, 2012) y el caso de Sorgo de Alepo resistente a glifosato en la Argentina presenta traslocación primaria reducida como principal mecanismo de resistencia. Asimismo, diferencias en el desarrollo y en el crecimiento también han sido relacionados con la diferente susceptibilidad a herbicidas (Harker & Blackshaw, 2003; Westhoven *et al.*, 2008). Biotipos de *Chenopodium album* L. con menor susceptibilidad a glifosato crecieron en altura, acumularon mayor área foliar y biomasa y el tiempo a iniciación floral fue menor con respecto a individuos completamente susceptibles (Westhoven *et al.*, 2008). Conocer las características fenológicas y demográficas que resulten en diferencias de fitness así como las vías de metabolización del herbicida, relacionadas con diferencias en la susceptibilidad puede contribuir al manejo de los escapes y consecuentemente disminuir la tasa de evolución de resistencia o de cambios hacia especies tolerantes.

1.5. Antecedentes

La región del sudeste de la Provincia de Buenos Aires, se encuentra aproximadamente entre los 36° y 39° S de latitud y entre los 58° y 62° O de longitud. Junto con la región sudoeste concentran aproximadamente el 30% de la superficie sembrada con trigo en la República Argentina. También en esta zona, es relevante el cultivo de cebada, concentrando más del 50% de la hectáreas sembradas en la Provincia de Buenos Aires (Ministerio de agricultura de la Nación, 2015). Las rotaciones más comunes en la región son cultivos de cereales de invierno (trigo o cebada) seguidos por girasol o soja. El control de malezas se realiza casi exclusivamente mediante herbicidas, sin aplicación de otras prácticas tales como densidad o fechas de siembra que tiendan a mejorar la eficacia de los mismos.

1.5.1. Importancia de avena fatua y raigrás para la producción de cereales de invierno en la zona a estudiar

Desde la década de 1980 se produjo un cambio significativo en el uso de los herbicidas para el control de especies latifoliadas, pasando de la prevalencia de los herbicidas fenólicos y derivados del ácido benzoico y picolínico (2,4D, MCPA, Dicamba, Picloram) a los pertenecientes a los grupos de las sulfonilureas (metsulfurón-metil). Estos herbicidas poseen mayor espectro de acción y presentan una ventana más amplia de aplicación durante el ciclo del cultivo (Scursoni *et al.*, 2007a). En cuanto a especies poáceas, se desarrollaron herbicidas como los ariloxi-fenoxi-propionatos (Fops), las ciclohexanodionas (Dims) y más recientemente las fenilpyrazolinas (pinoxaden), que proporcionan control en un amplio espectro de malezas gramíneas anuales. Además, en el caso de pinoxaden, es selectivo para su aplicación en trigo y cebada. Todos estos herbicidas tienen como mecanismo de acción la inhibición de la enzima Acetil-CoA-carboxilasa, que interviene en la ruta metabólica de la síntesis de lípidos.

Avena fatua L. y *Lolium multiflorum* son malezas cuyo control en Argentina es fuertemente dependiente de herbicidas (Scursoni *et al.*, 2011). Además, Scursoni *et al.*, (1999) determinaron pérdidas de rendimiento de 22% en trigo cuando la densidad de *Avena fatua* era de 60 pl/m². En un experimento de eficacia de herbicidas realizado en el sudeste bonaerense se determinó que 100g de biomasa de *A. fatua* causan pérdidas de un 20% en el rendimiento de trigo (Scursoni *et al.*, 2011). Además, la presencia de *A. fatua* y *L. multiflorum* afectan la eficiencia de cosecha y la calidad del grano cosechado. Esto es un aspecto importante ya que hay penalidades en el precio por la presencia de estas semillas.

Tradicionalmente, existe un buen control de las malezas latifoliadas, sin embargo el panorama es diferente cuando se trata de malezas gramíneas, ya que los graminicidas selectivos para trigo presentan un alto costo en comparación a los herbicidas para control de latifoliadas. El control de malezas gramíneas en cultivos de trigo representa aproximadamente el 15% de los costos totales de producción (Scursoni *et al.*, 2011). Además, estos herbicidas requieren buenas condiciones de humedad y temperatura así como un determinado estado de crecimiento de las malezas para

maximizar su eficacia. En los últimos años, se han desarrollado herbicidas a base de inhibidores de ALS (sulfonilureas, triazolpirimidinas, imidazolinonas) que se recomiendan tanto para el control de especies latifoliadas como poáceas. No obstante esta ventaja y también ser más económicos, su eficacia en control de poáceas suele ser menor a la registrada con inhibidores de ACCasa (Scursoni, comunicación personal).

1.5.2. Antecedentes de resistencia a herbicidas en *Avena fatua* y *Lolium multiflorum*

En regiones trigueras donde es frecuente el uso de herbicidas “fops”, se han registrado casos de resistencia tanto en *Avena fatua* L. como *Lolium multiflorum* (Espinoza N. & Zapata R., 2000; Heap, 2016). En Chile, se estima que un 25% de las has. sembradas con trigo tienen malezas resistentes a estos herbicidas (Díaz *et al.*, 2008). Asimismo se han registrado en diversas partes del mundo biotipos con resistencia múltiple tanto a inhibidores de ALS como de ACCasa, e incluso con resistencia a glifosato (Valverde, 2007). Una especie emparentada con las que se estudiaron en este proyecto, Raigrás perenne (*Lolium perenne* L.), ha sido identificada como resistente a glifosato en la región donde se realiza este proyecto (Yannicari, 2014; Heap, 2016).

Actualmente se han registrado mundialmente 21 biotipos de *Lolium multiflorum* resistentes a herbicidas inhibidores de la ALS de los cuáles 1 caso corresponde a la Argentina (Heap, 2016). Este caso corresponde a resistencia múltiple a herbicidas inhibidores de la ALS y Glicinas (Glifosato). En cuanto a inhibidores de ACCasa, se registró un caso en Argentina y 27 en el mundo. Por su parte para *Avena fatua* existen registrados 42 biotipos de 49 en total, resistentes a herbicidas inhibidores de la ALS y/o herbicidas inhibidores de la ACCasa de los cuáles 1 caso corresponde a la Argentina (Heap, 2016). Los casos de resistencia registrados en nuestro país para estas especies, se encuentran en la zona objeto de estudio.

1.5.3. Escapes de *Avena fatua* y *Lolium multiflorum*

En base a los antecedentes descriptos, surge la pregunta acerca de cuáles son los procesos que permiten a las malezas gramíneas *Avena fatua* y *Lolium multiflorum* "escapar" al control mediante herbicidas. Los dos principales procesos son el ajuste del momento de emergencia a campo y la tolerancia o resistencia a los herbicidas utilizados. Considerando que el ambiente que exploran las malezas dentro de un cultivo caracterizado por la aplicación de herbicidas, posee características contrastantes al ambiente que se establece en las condiciones no cultivadas (Sosnoskie *et al.*, 2007) y que las presiones de selección que operan en ambos ambientes son diferentes, es esperable que individuos de los diferentes ambientes (cultivado y no cultivado), difieran en sus adaptaciones (Nurse *et al.*, 2008). Por lo tanto, se puede profundizar el estudio de estos procesos, estableciendo comparaciones entre individuos de las distintas procedencias.

La siguiente pregunta es que adaptaciones de las plantas explican las posibles diferencias. En el caso de los escapes por ajuste del momento de emergencia se trata de

saber si: (i) es consecuencia de adaptaciones por selección de individuos con emergencia tardía (Jana & Thai, 1987; Mortimer, 1997; Martínez-Ghersa *et al.*, 2000) o (ii) es consecuencia de las condiciones en las que se desarrolla la semilla en la planta madre (ambiente materno) (Baskin & Baskin, 2006).

A partir del marco descripto, se plantean los hipótesis y objetivos.

1.6. Hipótesis y Objetivos

1.6.1. Hipótesis

1. *Avena fatua* L. y *Lolium multiflorum* Lam. son especies poáceas persistentes a lo largo del ciclo del cultivos de trigo, con aplicación de herbicidas para su control.
2. El ajuste del momento de emergencia es jerárquicamente el factor más importante para explicar la persistencia de *Avena fatua* L. en lotes de trigo donde se aplican herbicidas graminicidas. Como consecuencia, poblaciones de ambientes distintos al de lotes agrícolas presentarán distintos modelos de germinación.
3. Las diferencias en el comportamiento germinativo entre individuos de *A. fatua* de las poblaciones procedentes de diferentes ambientes, poseen base genética y se transfieren a la progenie.
4. La variabilidad en la respuesta a los herbicidas inhibidores de la enzima ALS es el factor que mejor explica la persistencia de *Lolium multiflorum* Lam. en lotes de trigo donde se aplican herbicidas inhibidores de ALS para su control.
5. Individuos que difieren en la sensibilidad a los herbicidas también difieren en: atributos fenológicos (por ej. tasa de desarrollo) y fisiológicos (por ej. germinabilidad de las semillas).

1.6.2. Objetivo general

Estudiar procesos de adaptación que permiten explicar la persistencia de las malezas poáceas anuales en cultivos de trigo caracterizados por la aplicación de herbicidas.

1.6.3. Objetivos específicos

1. Cuantificar la persistencia de especies maleza en cultivos de trigo tratados con herbicidas, particularmente corroborar la importancia de las malezas gramíneas *Avena fatua* L. y *Lolium Multiflorum* Lam.
2. Caracterizar la germinación de *Avena fatua* L., comparando poblaciones provenientes de distintos ambientes, cultivados y no cultivados.
3. Identificar si posibles diferencias en la dinámica de la germinación de *Avena fatua* L., se deben a características genéticas seleccionadas o son causadas por el ambiente materno.

4. Evaluar la respuesta de poblaciones de *Avena fatua* L. y *Lolium multiflorum* Lam. a distintos herbicidas comúnmente utilizados para su control.
5. Identificar y caracterizar atributos propios de los biotipos susceptibles y resistentes que se identificaran en *Avena fatua* L. y *Lolium multiflorum* Lam.

1.7. Marco estructural de la tesis

La presentación de la tesis se organiza en cinco capítulos. En este primer capítulo de introducción general, se realizó una revisión de antecedentes disponibles en la literatura abordando aspectos de la comunidad, aspectos fenológicos (germinación/emergencia) y de respuesta a los herbicidas, referidas particularmente a *Avena fatua* L. y *Lolium multiflorum* Lam., las dos especies en que se sostiene esta tesis.

En el capítulo dos, se describen los estudios realizados a nivel de comunidad de malezas en cultivos de trigo, en dos momentos del ciclo del cultivo: (i) antes de la aplicación de herbicidas (Z1.2 – Z1.4, Z2.1 según cada productor, Zadoks *et al.*, 1974) y (ii) en precosecha, poniendo especial énfasis en la persistencia de las diferentes especies y observando en particular los casos de *Avena fatua* L. y *Lolium multiflorum* Lam.

En el capítulo tres se ponen a prueba los procesos que explican la persistencia de *A. fatua* a lo largo del ciclo del cultivo. En particular, se ponen a prueba dos procesos: (i) supervivencia a herbicidas y (ii) dinámica de germinación y emergencia.

En el capítulo cuatro se ponen a prueba los mecanismos por los cuáles *Lolium multiflorum* es persistente, particularmente la respuesta a herbicidas.

Finalmente, en el capítulo 5 se desarrolla una discusión de carácter general sobre los diferentes aspectos abordados en la tesis, mostrando la coherencia lograda en los diferentes capítulos, constituyendo un trabajo integral sobre especies problemáticas en sistemas de producción de relevancia tal como la producción de trigo del sur de la Provincia de Buenos Aires. Además, se plantea el valor de los resultados obtenidos, su originalidad y su significado como aporte para futuras líneas de investigación.

Capítulo 2

Comunidad de malezas en dos momentos del ciclo de cultivos de trigo en el sudeste bonaerense.

Capítulo 2

Comunidad de malezas en dos momentos del ciclo de cultivos de trigo en el sudeste bonaerense.

2.1. Introducción

Las comunidades de malezas resultan modificadas por las prácticas agrícolas, que están orientadas a homogeneizar el ambiente para maximizar los rendimientos de los cultivos (Poggio, 2012). Los métodos de control de malezas actúan como filtros, principalmente en escala de lote, eliminando especies de determinadas características funcionales dentro de la comunidad. De este modo, las especies restantes se ensamblan en diferentes escalas, formando la estructura de la comunidad de malezas (Weiher & Keddy, 1999; Booth & Swanton, 2002). Debido a que los filtros actúan sobre las características funcionales (o "traits") más que sobre las especies, resulta útil la descripción de la comunidad en términos funcionales (Ryan *et al.*, 2010). La estructura de la comunidad, la importancia relativa de las especies presentes y los cambios que se van produciendo hacen posible la elaboración de un diagnóstico útil para establecer estrategias de manejo. Mediante los censos de malezas es posible evaluar estos atributos a escala de comunidad (Scursoni *et al.*, 2007a).

2.1.1. Resumen de la comunidad: diferencias entre sudeste y sudoeste bonaerense.

La comunidad de malezas en cultivos de trigo de la región Sudeste bonaerense ya fue descrita en trabajos publicados (Scursoni *et al.*, 2007a). En censos realizados entre los años 2004 y 2008, se contabilizó una riqueza de 70 especies. En los mismos censos se comparó esta región con la región Sudoeste Bonaerense, observándose que el total de especies en el Sudeste fue menor que en el Sudoeste donde se contabilizaron 85 especies. Asimismo en la región Sudeste Bonaerense se registró menor número de especies nativas (Scursoni *et al.*, 2014). Esta característica puede estar asociada a las diferencias en la actividad agropecuaria entre las dos regiones. En la región Sudeste hay mayor intensidad de la actividad agrícola que en la región Sudoeste, donde hay mayor presencia de pasturas y ganadería en las rotaciones (Cruzate *et al.*, 2008). En situaciones donde predomina la actividad agrícola, hay menor riqueza y equitatividad de especies, hay un dominio claro del cultivo en la comunidad y hay mayor presencia de especies exóticas y cosmopolitas (Martínez-Ghersa *et al.*, 2000).

En la comunidad del Sudeste bonaerense las especies más constantes fueron *Polygonum aviculare* L., *Stellaria media* L., *Avena fatua* L., *Polygonum convolvulus* L., *Ammi majus* L., todas ellas con presencia en más del 50% de los lotes censados. *Avena fatua* y *Lolium multiflorum* fueron halladas juntas en un lote en el 30% de los casos. En la región Sudoeste bonaerense, *Avena fatua* fue la especie más constante con un 63% (Scursoni *et al.*, 2014).

2.1.2. Resumen de la comunidad: cambios en el tiempo

El número total de especies en el sudeste de Buenos Aires, incrementó con respecto a censos realizados en el año 1982. Catullo *et al.*, (1983) registraron de 31 especies en 1982 a 47 especies en 2004/2005. Ghera *et al.*, (1998) describió una situación similar de aumento en el número de especies en el norte de la Provincia de Buenos Aires, desde el año 1930 hasta el año 1960, caracterizado por la intensificación de la agricultura y el notable aumento de la productividad. Además del número de especies en la comunidad, se observó un aumento de constancia en varias especies (Scursoni *et al.*, 2014). *Avena fatua* aumentó de un 39% en 1982 a un 65% en 2004/2005.

Los cambios más relevantes durante este período fueron el aumento del área dedicada a la agricultura junto con la adopción de la siembra directa como sistema de cultivo predominante y asociado a esto último, las prácticas de fertilización y uso de herbicidas para barbecho químico propios de este sistema. En los últimos 30 años hubo una expansión del área cultivada, en el marco de la intensificación de la agricultura. Con notable aumento de los cultivos anuales en detrimento de otros usos de la tierra, como la producción ganadera (INDEC, 1988, 2002; Scursoni *et al.*, 2007a). Se observa que aparecen en la comunidad, malezas asociadas a sistemas de siembra directa tales como *Taraxacum officinale*, *Centaurea solstitialis* (Légère & Samson, 2004) y *Sonchus oleraceus*. Esta última, al igual que *Taraxacum officinale*, posee semillas pequeñas, las cuáles emergen superficialmente y no cuando se encuentran enterradas en profundidad, tal como sucede en sistemas de labranza convencional. En consecuencia se ve favorecido su reclutamiento en sistemas de siembra directa (Chauhan *et al.*, 2006b). Otras malezas como *Viola arvensis*, a pesar que las labranzas estimulan su emergencia, está muy asociada a lotes bajo siembra directa (Degenhardt *et al.*, 2005).

2.1.3. Importancia de *Avena fatua* y *Lolium multiflorum* en cuanto a su constancia

De acuerdo con los antecedentes descriptos, la presencia de malezas ha incrementado en constancia y abundancia a pesar de disponer de tecnología altamente eficaz para su control. La presencia de *Avena fatua* en lotes cultivados con trigo y cebada cervecera aumentó de 27% en 1983 (Catullo *et al.*, 1983) a 43% en los años 2004/2005 (Scursoni *et al.*, 2007a). Por otro lado Gigón *et al.*, (2008) en la región sur-sudoeste de Buenos Aires registraron presencia de *Avena fatua* en el 62% de los lotes cultivados con trigo. En el mismo estudio *Lolium multiflorum* fue registrado en el 39% de los lotes.

No obstante lo descripto, no se dispone de suficiente información disponible acerca de los cambios ocurridos en un ciclo de cultivo como consecuencia de escapes al control por herbicidas. Derksen *et al.*, (1995) analizó el impacto de herbicidas postemergentes sobre la comunidad de malezas en cultivos de trigo, cebada y lino bajo diferentes sistemas de labranza. Para ello realizó dos evaluaciones, antes y después de aplicar los herbicidas. Las diferencias en la estructura de la comunidad entre sistemas de labranza desaparecieron luego del uso de herbicidas. Por lo cual se evidencia la mayor influencia de éstos comparado con los sistemas de labranza, o dicho de otro modo, los herbicidas representan un filtro más potente.

En la actualidad, no se dispone de trabajos realizados con este enfoque en la región del Sudeste bonaerense. Sin embargo, las malezas persistentes son conocidas entre los asesores y productores y en diversas oportunidades se sospecha de biotipos resistentes a diferentes herbicidas comúnmente utilizados para su control. En tal sentido, se han reportado casos de *Lolium multiflorum* y *Avena fatua* resistentes tanto a herbicidas inhibidores de la ACCasa y ALS (Heap, 2016).

2.1.4. Hipótesis y objetivos:

En el marco descripto se planteó como **hipótesis** de trabajo que ambas especies, *Lolium multiflorum* Lam. y *Avena fatua* L. son **persistentes** en la comunidad de malezas de cultivos de trigo donde se aplican herbicidas para su control.

De acuerdo a lo expuesto, se plantean los siguientes **objetivos** para este capítulo:

- i) Caracterizar la composición de la comunidad de malezas en cultivos de trigo tratados con herbicida en dos momentos del ciclo del cultivo (preaplicación de herbicidas y precosecha).
- ii) Cuantificar la persistencia de *Avena fatua* L. y *Lolium multiflorum* Lam., mediante el registro de su constancia en dos momentos del ciclo del cultivo (preaplicación de herbicidas y precosecha).

2.2. Materiales y Métodos

2.2.1. Área de estudio

Los censos de malezas fueron realizados en la región sudeste de la Provincia de Buenos Aires. El área en estudio incluye 1.793.057 hectáreas distribuidas en cuatro partidos: Coronel Dorrego, General Necochea, General Pueyrredón y Tres Arroyos. Estos tres partidos representan aproximadamente el 11% de la producción de trigo de la Provincia de Buenos Aires y el 6% de la producción nacional Argentina de la campaña 2014-2015. (*Ministerio de Agricultura, 2015*).

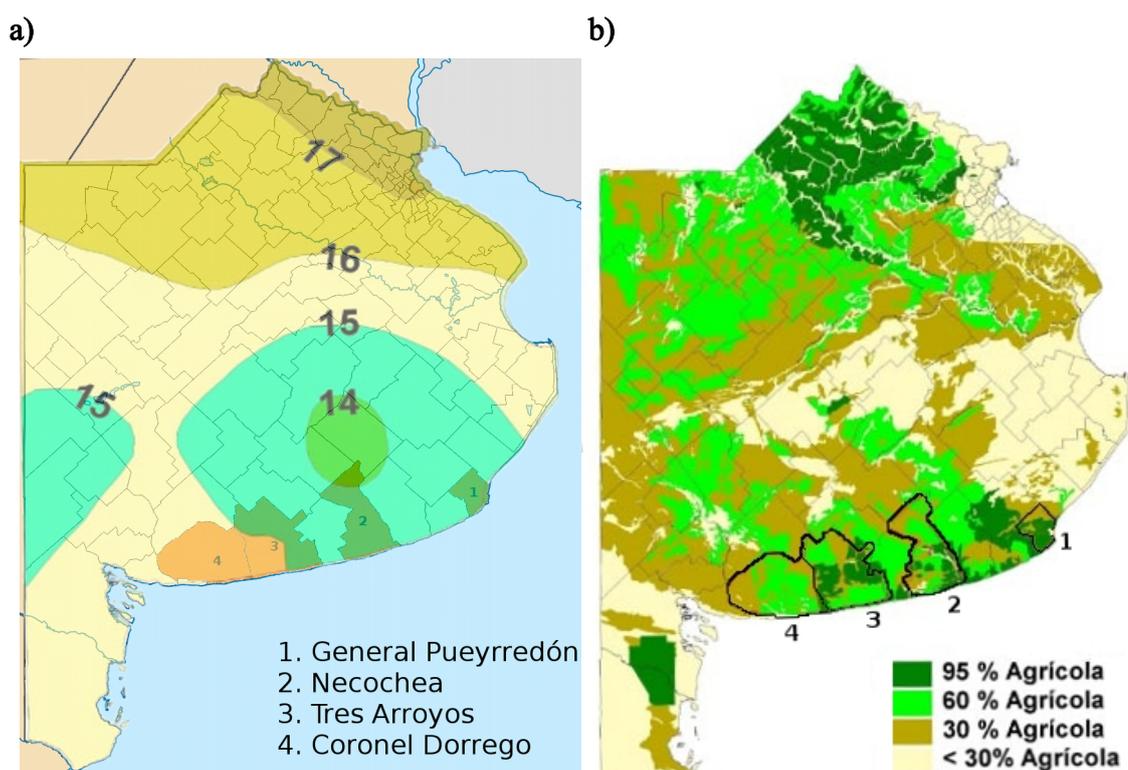
El clima es templado-húmedo con una temperatura media anual de 15° (figura 2.1a) y precipitaciones anuales de 800 mm para toda la región. El régimen anual de precipitaciones es isohigro, sin embargo en algunos años existen déficits de precipitaciones durante los meses de julio y agosto (Hall *et al.*, 1992). El detalle de las precipitaciones para los partidos en la región se muestra en la tabla 2.1. Predominan suelos argiudoles típicos con pocas limitaciones al crecimiento de cultivos (figura 2.1b) ((Cruzate *et al.*, 2008). Las principales rotaciones incluyen una secuencia de trigo o cebada / girasol o también trigo o cebada / soja o pasturas. El rendimiento promedio para el trigo es de 3600 kg/ha (*Ministerio de Agricultura, 2015*).

Tabla 2.1. Precipitaciones anuales en milímetros de los partidos en los cuáles se realizaron los censos.

| | Año 2007* | Año 2008* | Año 2009* | Histórico** |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-------------|
| Cnel. Dorrego | 580 | 312 | 481 | 629* |
| Gral. Pueyrredón | 929 | 618 | 550 | 941 |
| Necochea | 817,5 | 909,3 | 541,8 | 912 |
| Tres Arroyos | 723,2 | 892,8 | 738,5 | 850 |

* Datos extraídos de Proyecto RIAN, INTA. Agradecimiento a Ing. Agr. Marta Borda, INTA Barrow.

** (Merlotto & Piccolo, 2009).



Figuras 2.1a) Temperatura media anual (serie 1996-2008) en la provincia de Buenos Aires y localización de los partidos estudiados; **2.1b)** Aptitud agricola de uso de la tierra en la provincia de Buenos Aires, con la localización de los partidos estudiados. Adaptado de Cruzate *et al.*, (2008).

Las prácticas de siembra directa y la aplicación de fertilizantes son actualmente comunes en esta región. Para el control de malezas, frecuentemente se utilizan herbicidas, siendo los grupos más utilizados las sulfonilureas (grupo 2, inhibidores de la ALS) y las auxinas para el control de malezas dicotiledóneas. En malezas gramíneas, los inhibidores de la ACCasa son los más utilizados.

2.2.2. Censos

Durante las campañas agrícolas 2008/2009 y 2009/2010 se realizaron censos de malezas sobre 34 lotes ubicados en los partidos de General Necochea, General Pueyrredón y Tres Arroyos. Los lotes fueron seleccionados entre agricultores líderes, representativos de la zona, y su característica en común fue el uso de herbicidas como método para el control de malezas. La superficie total del lote fue considerada como área de muestreo siendo la superficie promedio por lote de aproximadamente 70 has (69,7 has \pm 25,5 has). Cada lote fue relevado dos veces durante la misma campaña: i) en post-emergencia del cultivo, previo a la aplicación de herbicidas, con el cultivo de trigo en 2/4 hojas (pre-control) (Z 22-24) (Zadoks *et al.*, 1974) y ii) previo a la cosecha del cultivo (cosecha). En cada lote, se realizó un recorrido previo para identificar las especies presentes y

luego se recorrió el lote en forma de W, cuidando de no acercarse a menos de 10 metros de los márgenes. En total se tomaron 35 muestras al azar de un metro cuadrado cada una y se registraron las especies presentes y su correspondiente estado fenológico. Asimismo, las especies que fueron observadas fuera de los muestreos también se registraron asignándoles una frecuencia igual a la mitad de la mínima.

Adicionalmente, se recorrieron en la etapa de pre-control, 81 lotes con el objeto de caracterizar particularmente la presencia de *Avena fatua* y *Lolium multiflorum*. Los lotes se ubicaron en los partidos de General Necochea, General Pueyrredón, Tres Arroyos y Coronel Dorrego.

2.2.3. Análisis de los datos

Para caracterizar la comunidad de malezas se calculó:

(i) la constancia de cada especie como:

$$C_i = \frac{n^\circ \text{ de lotes con la especie } i}{n^\circ \text{ total de lotes censados}} \quad (\text{fórmula 2.1})$$

(ii) la diversidad Gamma o diversidad regional como el n° total de especies presentes en cada momento de observación;

(iii) la diversidad alfa o diversidad local como el número promedio de especies presentes en cada lote; y:

(iv) la tasa de cambio espacial de riqueza de especies (diversidad Beta) como:

$$\text{Diversidad Beta} = \frac{\text{Diversidad Gamma}}{\text{Diversidad Alfa promedio}} \quad (\text{fórmula 2.2}) \quad (\text{Whittaker, 1975;}$$

Magurran, 1988)

Para calcular si las diferencias en la diversidad alfa son significativas se realizó una prueba t de Student apareada entre los momentos preaplicación y cosecha.

Se comparó la comunidad en diversos aspectos utilizando el análisis MRPP (procedimiento de permutación de respuestas múltiples). El mismo es un método multivariado no paramétrico que evalúa la hipótesis que no existen diferencias entre grupos definidos a priori (McCune & Mefford, 2011). Este método tiene la ventaja de no requerir supuestos (por ejemplo normalidad multivariada, homogeneidad de varianzas) por lo que es adecuado para trabajar con datos de comunidades de especies (Zimmerman *et al.*, 1985). En el presente trabajo se utilizó la distancia Euclídea y el cociente $n/\Sigma(n)$ para ponderar los grupos. El procedimiento calcula un estadístico estandarizado T donde para probar la hipótesis nula "no hay diferencia entre los grupos", se utilizan pruebas de permutaciones. La base de las mismas se sustenta en que, si la hipótesis nula es verdadera, los grupos originales en que se han separado a las observaciones no son diferentes entre sí. Por lo tanto cualquier observación puede asociarse a cualquier grupo. Se consideró que dos grupos son diferentes cuando los valores de significancia fueron menores a 0,05 (Sosnoskie *et al.*, 2006; McCune & Mefford, 2011).

Para realizar dicho análisis se agruparon los datos de los lotes según distintos criterios: el primero fue agrupar entre datos de 2008 y datos de 2009, para ver si se justifica unir los datos de ambos años. El segundo criterio fue agrupar entre datos de preaplicación y de cosecha. El tercer criterio fue agrupar entre lotes donde se aplicaron herbicidas post-emergentes latifolicidas y herbicidas post-emergentes latifolicidas + graminicidas. Estos análisis fueron realizados con el software PCORD v6 (McCune & Mefford, 2011).

La estructura de la comunidad fue analizada en términos de especies y grupos funcionales. Dentro de los grupos funcionales, para hábito de crecimiento se siguió la clasificación según McIntyre *et al.*, (2005). Esta clasificación sintetiza formas de crecimiento principales y morfotipo de la maleza (pastos o hierbas dicotiledóneas) y se resume en cinco formas de crecimiento: rizomatosas y/o estoloníferas, pastos, hierbas postradas, hierbas erectas y rosetas/semi-rosetas. Para el caso de pubescencia de hoja se utilizaron guías botánicas y guías de reconocimiento de malezas (Cabrera & Zardini, 1978; Faya de Falcón *et al.*, 1992; Molina, 2007). En cuanto a antecedentes de resistencia a herbicidas en el mundo, se utilizó la base de datos de International Survey of Herbicide Resistant Weeds (Heap, 2016). Además se caracterizaron las especies según la clasificación de Raunkiaer, (1934); para biomasa de semilla se utilizó la base de datos de LEDA (Kleyer *et al.*, 2008). Además, se consideró la estación de emergencia (sin tomar en cuenta que individuos aislados puedan emerger durante el resto del año) que da idea de las condiciones de temperatura bajo las cuales se desarrolla el ciclo de vida de la maleza y define también la probabilidad de emergencia tardía dentro del ciclo del cultivo de trigo. Los datos se obtuvieron de bibliografía de diferentes autores donde está tabulada esta característica (Faya de Falcón *et al.*, 1992; Vigna, 2008; Leguizamón, 2009).

Para el análisis de los atributos de la comunidad, correspondientes a las distintas categorías, entre los momentos pre-control y cosecha se utilizó el método de los modelos generales lineales y mixtos, mediante el software Infostat® (Di Rienzo *et al.*, 2015). La separación de medias se realizó mediante el test LDS Fisher ($\alpha = 0,05$). La riqueza (n.º especies por lote para cada atributo) fue la variable dependiente, en tanto los atributos y el momento de observación fueron las variables clasificatorias.

Los grupos florísticos fueron obtenidos mediante análisis de clúster de 2 vías. Se utilizó una matriz de datos presencia/ausencia de especies x sitio con aquellas que estuvieran presentes en al menos el 8% de los lotes. Para dicho análisis se empleó medida de distancia euclídea con el método de Ward. Luego se realizó con la misma matriz un análisis de componentes principales (PCA). Se identificaron dentro del gráfico de los componentes principales, los grupos obtenidos mediante el análisis de clúster. Para dichos análisis estadísticos se utilizó el software PCORD v6 (McCune & Mefford, 2011).

Se utilizó el análisis de especie indicadora (Dufrene & Legendre, 1997) para probar la asociación entre cada maleza y los momentos del ciclo del cultivo, pre-aplicación y cosecha. La especie indicadora es definida como la más representativa de un grupo particular de la clasificación presente en la mayoría de los sitios de ese grupo.

El valor indicador se calculó del siguiente modo:

$$\text{Valor Indicador} = S \times F \times 100 \quad (\text{fórmula 2.3})$$

donde S es una medida de la especificidad obtenida como el cociente entre la abundancia de las especies a lo largo de los sitios de un momento en particular y la sumatoria de la abundancia de las mismas especies para ambos momentos. F es una medida de "fidelidad" calculada como el cociente entre el número de sitios en que la especie está presente en un momento dado y el número total de sitios para ese momento. El índice es expresado como porcentaje. La significancia estadística del máximo valor indicador fue obtenido mediante el método de Montecarlo (1000 aleatorizaciones). Para este cálculo se utilizó el software PCORD v6 (McCune & Mefford, 2011).

Asimismo, se calculó la tasa de reemplazo de especies (TRE) por lote entre pre-control y precosecha utilizando la fórmula:

$$TRE = \frac{(b+c)}{(2a+b+c)} \quad (\text{fórmula 2.4})$$

Este método calcula la tasa de recambio en términos de especies "que se pierden" y "especies que se ganan" al cambiar de un momento (pre-control) al otro (cosecha). El término "b" corresponde a las especies presentes en pre-control y ausentes en cosecha (equivale a "las especies que se pierden"); el término "c" corresponde a las especies ausentes en pre-control pero presentes en cosecha (equivale a las especies "que se ganan"). Luego el término "a" corresponde a las especies presentes en ambos momentos, o sea las especies persistentes. Cuanto más elevado sea el valor de TRE, tanto más diferentes serán entre sí la composición de especies entre ambos momentos. A la vez, de esta fórmula se desprende el número de especies por lote que son persistentes. Esta fórmula es equivalente a la medida de diversidad Beta según Wilson & Shmida, (1984) reexpresada en Koleff *et al.*, (2003) y tiene el beneficio de cuantificar a las especies persistentes.

Se realizó una prueba t de Student de muestras apareadas para comparar la frecuencia dentro del lote entre los momentos de muestreo. Los valores fueron transformados previamente en arcoseno de la raíz cuadrada de la frecuencia. Asimismo se realizó un análisis de regresión con los mismos datos para averiguar si dichos valores están relacionados. El supuesto de homogeneidad de varianza fue probado mediante el gráfico de dispersión de los residuos estandarizados en función de los valores predichos. Para probar la normalidad de los datos se utilizó la técnica del Q-Q plot normal. Estos análisis se realizaron con el software Infostat ® (Di Rienzo *et al.*, 2015).

Para los resultados de constancia de *Avena fatua* y *Lolium multiflorum* en los lotes recorridos en pre-aplicación, se calcularon intervalos de confianza mediante el método exacto (Clopper & Pearson, 1934; Leemis & Trivedi, 1996). La fórmula empleada es:

$$\frac{1}{1 + \frac{n-y+1}{y F_{2y, 2(n-y+1), 1-\alpha/2}}} < p < \frac{1}{1 + \frac{n-y}{(y+1) F_{2(y+1), 2(n-y), \alpha/2}}} \quad (\text{fórmula 2.5})$$

donde “*n*” es el número total de lotes; “*y*” es el número de lotes donde la maleza está presente; *F* corresponde al valor de la distribución F de Snedecor correspondiente a sus respectivos parámetros. Este análisis se realizó con el software estadístico R (R Core Team, 2013) con el paquete Hmisc (Harrel, 2014).

2.3. Resultados

Entre los años 2008 y 2009 fueron registradas 58 especies pertenecientes a 19 familias botánicas. El número total de especies (diversidad Gamma) fue mayor en pre-control que en pre-cosecha (Tabla 2.2). Del mismo modo, la riqueza específica por lote (diversidad alfa) fue significativamente mayor ($p > 0,05$) en pre-control (8,9 \pm 1,2 especies por lote) que en cosecha (5,6 \pm 0,9 especies por lote). Sin embargo, la diversidad Beta (tasa de recambio de especies espacial) fue mayor en el momento de cosecha que en pre-control. El número de familias representadas fue el mismo en ambos momentos (Tabla 2.2). Del total de especies, 22 estuvieron presentes en ambos momentos, mientras 21 solo fueron encontradas en pre-control y 15 especies solo en cosecha.

Tabla 2.2. Riqueza de especies hallada en los censos pre-control y cosecha. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$)

| | Pre-control | Cosecha | % de especies halladas en floración en cosecha |
|------------------|-------------|---------|--|
| Diversidad Alfa | 8,9 a | 5,6 b | 75 |
| Diversidad Gamma | 43 | 37 | 62,1 |
| Diversidad Beta | 4,83 | 6,62 | |
| Familias | 14 | 14 | |

En el momento de cosecha fueron registradas 23 especies en estado reproductivo pertenecientes a 9 familias botánicas, las que representan el 62% de las especies presentes (tabla 2.2). El 75% de las especies halladas por lote en cosecha se encontraba en estado reproductivo (equivalente a diversidad alfa de 4.2 \pm 0.78 especies por lote), de lo cual se infiere que estas especies han compartido su ciclo de vida con el cultivo de trigo.

El análisis de la comunidad mediante MRPP dió como resultado que la comunidad no fue significativamente diferente entre años (tabla 2.3), lo cual justifica que se junten los datos de ambos años para el análisis. Al comparar la comunidad según los momentos de observación, se comprueba que es significativamente diferente entre preaplicación de herbicidas y cosecha del cultivo. Cuando se agrupan los datos según el manejo químico, se observó que no hubo diferencias significativas en el momento de cosecha entre latifolicidas vs graminicidas+latifolicidas, por lo que se descarta un efecto del manejo químico según esta clasificación sobre la comunidad, en un ciclo de cultivo (tabla 2.3). Tampoco hubo diferencias significativas entre ambos grupos en pre-aplicación de los herbicidas.

Tabla 2.3. Comparaciones según el análisis MRPP para evaluar diferencias en la comunidad entre años, entre momentos de observación y entre manejos químicos utilizados. Se consideró que valores p mayores a 0,05 indican que no hay diferencias significativas entre grupos.

| Comparaciones | Significancia (valor p) |
|---|-------------------------|
| - Entre años: | |
| 2008 vs 2009 | 0,08717283 |
| - Entre momentos de observación: | |
| Preaplicación vs Cosecha | ≈0,0 |
| - Entre manejos químicos utilizados: | |
| Latifolicida vs Graminocida+Latifolicida: | |
| Lotes en preaplicación | 0,65954729 |
| Lotes en cosecha | 0,10666655 |

Tanto a nivel de lote como entre estados el cultivo, se hallaron diferencias significativas entre los diferentes atributos (tabla 2.4). Las hierbas postradas y las especies de tipo roseta se hallaron en mayor número en pre-control y en cosecha, sin embargo en cosecha aumentó la proporción de especies del tipo gramíneas cespitosas (pastos). La totalidad de las especies de tipo roseta se hallaron en estado reproductivo en cosecha, mientras que para los de tipo pastos un 56% se halló en estado reproductivo. Las especies terófitas fueron dominantes tanto en pre-control como en cosecha. Se observa un predominio de especies con mayor amplitud del período de emergencia, en ambos momentos pre-control y en cosecha. Las especies otoño-invernales disminuyen significativamente su presencia en cosecha mientras aumenta la presencia de las especies estivales. En cuanto a las especies con citas de resistencia a herbicidas, disminuye en cosecha la proporción de especies no citadas por resistencia a herbicidas, mientras que aumenta proporcionalmente el número de especies con antecedentes de resistencia. No se encontró un predominio particular de alguna categoría de peso de la semilla.

Tabla 2.4. Atributos de la comunidad entre los momentos pre-control y cosecha cuantificado mediante el promedio de especies con un determinado atributo por lote. Se muestra asimismo la proporción que estaba en estado reproductivo en el momento de cosecha. Letras distintas muestran diferencias significativas para cada atributo en cada momento de observación de una misma categoría.

| Categoría de atributos | Atributos | Pre-control (promedio de especies por lote) | Cosecha (promedio de especies por lote) | Estado Reproductivo en cosecha (%) |
|---|--------------------------|--|--|---|
| Forma de crecimiento | Rizomatoso/Estolonífera | 0,03 g | 0,4 fg | 0,0 |
| | Pastos | 0,6 ef | 1,3 cd | 55,8 |
| | Hierbas erectas | 1,6 bc | 0,8 ef | 42,3 |
| | Hierbas postradas | 3,3 a | 1,0 de | 97,1 |
| | Rosetas/semirosetas | 3,4 a | 2,2 b | 100,0 |
| Pubescencia de la hoja | Glabras | 4,3 a | 3,0 b | 78,2 |
| | Ralas | 1,8 c | 1,6 cd | 83,3 |
| | Densas | 2,8 b | 1,0 d | 51,4 |
| Raunkiaer | Terófitas | 8,2 a | 4,6 b | 80,6 |
| | Hemicriptófitas | 0,6 c | 0,8 c | 39,3 |
| | Caméfitas | 0,1 c | 0,2 c | 85,7 |
| Antecedentes de Resistencia a herbicidas | Si | 4,1 b | 3,7 b | 74,2 |
| | No | 4,8 a | 1,9 c | 75,7 |
| Época de emergencia | Otoño-Invierno | 2,9 b | 0,9 d | 100,0 |
| | Otoño-Invierno-Primavera | 4,7 a | 3,0 b | 100,0 |
| | Primavera-Verano | 1,3 cd | 1,7 c | 18,6 |
| Peso de la semilla | < = 0.2 mg | 0,8 ef | 0,4 f | 21,4 |
| | 0.21 – 0.5 mg | 1,8 ab | 1,0 de | 85,7 |
| | 0.51 – 1 mg | 1,8 ab | 0,8 def | 71,4 |
| | 1.01 – 2 mg | 0,9 de | 0,5 f | 100,0 |
| | 2.01 – 10 mg | 2,2 a | 1,5 bc | 65,4 |
| | > 10 mg | 1,3 cd | 1,2 cde | 85,0 |

Según el análisis de clúster de dos vías, se obtuvieron dos grupos de lotes y cuatro grupos de especies. Los lotes fueron agrupados en general según el momento de observación, salvo algunas pocas excepciones. Por su parte, las especies fueron agrupadas según su constancia en pre-control y en cosecha. El diagrama de ordenación de componentes principales ofrece una buena representación de la importancia de los grupos florísticos (figura 2.2). La varianza acumulada de los dos primeros ejes fue de

36.81%. El eje 1 separó a las malezas según su presencia en los lotes de cultivo de trigo. Los grupos I y II tuvieron mayor presencia que los grupos III y IV. El segundo eje estuvo relacionado con la asociación de las especies al momento de cosecha.

Los cuatro grupos de especies fueron obtenidos a partir de especies con constancia mayor a 8% (tabla 2.5). El grupo I solo está formado por 2 especies, con alta constancia en pre-control (41% *A. fatua* y 50% *S. oleraceus*) y además son las especies con la constancia más elevada en cosecha (superior a 60% ambas). El grupo II está asociado a pre-control y corresponde a especies con alta constancia que luego disminuyen su presencia en el momento de cosecha. A excepción de *S. media* y *H. annuus* las especies se encuentran en estado reproductivo en cosecha. El grupo III posee 18 especies y se encuentra asociado principalmente al momento pre-control. La presencia en lotes en pre-control es menor a la de los grupos I y II. Las especies dominantes son *C. acanthoides*, *C. dydymus*, *V. arvensis* y *A. leptophyllum*. El grupo IV está representado principalmente por especies estivales como *E. cruss-galli*, *C. dactylon* y *D. sanguinalis*, a las que se suman especies rosetas otoño-invierno-primaverales como *B. campestris*, *Senecio* y *R. sativus*.

Tabla 2.5. Constancia (%) de las especies en cada grupo florístico, en pre-control y en cosecha y estado fenológico en que la especie fue hallada en cosecha. Los números romanos representan el grupo florístico. Se muestran además los resultados del Análisis de Especie Indicadora, indicando el momento al cual se asoció la especie y su valor indicador. Abr.: R: Estado reproductivo; Pl: estado de plántula o planta joven; V: estado vegetativo en una planta adulta (especies perennes). Test de Montecarlo para el valor indicador más alto: * $p > 0,05$; ** $p > 0,001$.

| Especie | Constancia [%] | | | Análisis de especie indicadora | |
|---|----------------|---------|------------------------------|--------------------------------|-----------------|
| | Pre-aplicación | Cosecha | Estado fenológico en cosecha | Asociación | Valor indicador |
| I <i>Sonchus oleraceus</i> L. | 50,0 | 64,7 | R | Cosecha | 36.5 |
| I <i>Avena fatua</i> L. | 41,2 | 61,8 | R | Cosecha | 37.1 |
| II <i>Polygonum aviculare</i> L. | 94,1 | 47,1 | R | Pre-Apl | 62.7** |
| II <i>Helianthus annuus</i> L. | 64,7 | 17,6 | Pl | Pre-Apl | 50.8** |
| II <i>Stellaria media</i> (L.) Vill. | 64,7 | 0,0 | --- | Pre-Apl | 64.7** |
| II <i>Polygonum convolvulus</i> L. | 61,8 | 44,1 | R | Pre-Apl | 36.0 |
| II <i>Chenopodium album</i> L. | 58,8 | 32,4 | R | Pre-Apl | 38.0 |
| II <i>Ammi majus</i> L. | 58,8 | 20,6 | R | Pre-Apl | 43.6* |
| III <i>Carduus acanthoides</i> L. | 35,3 | 2,9 | R | Pre-Apl | 35.3* |
| III <i>Coronopus didymus</i> (L.) Sm. | 29,4 | 0,0 | --- | Pre-Apl | 29.4** |
| III <i>Veronica arvensis</i> L. | 26,5 | 5,9 | R | Pre-Apl | 26.5* |
| III <i>Apium leptophyllum</i> (Pers.) F. Muell. ex Benth. | 26,5 | 0,0 | --- | Pre-Apl | 26.5* |
| III <i>Polygonum persicaria</i> L. | 23,5 | 0,0 | --- | Pre-Apl | 23.5* |
| III <i>Cirsium vulgare</i> (Savi) Ten. | 17,6 | 5,9 | R | Pre-Apl | 17.6* |
| III <i>Matricaria chamomilla</i> L. | 14,7 | 2,9 | R | Pre-Apl | 14.7 |
| III <i>Lamium amplexicaule</i> L. | 14,7 | 0,0 | --- | Pre-Apl | 14.7 |
| III <i>Viola arvensis</i> Murr. | 11,8 | 8,8 | R | Pre-Apl | 6.7 |
| III <i>Lolium multiflorum</i> Lam. | 11,8 | 5,9 | R | Pre-Apl | 11.8 |
| III <i>Anagallis arvensis</i> L. | 11,8 | 0,0 | --- | Pre-Apl | 11.8 |
| III <i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik. | 8,8 | 0,0 | --- | Pre-Apl | 8.8 |
| III <i>Cerastium glomeratum</i> Thuill. | 8,8 | 0,0 | --- | Pre-Apl | 8.8 |
| III <i>Cotula australis</i> (Sieber ex Spreng.) Hook. f. | 8,8 | 0,0 | --- | Pre-Apl | 8.8 |
| III <i>Rapistrum rugosum</i> (L.) All. | 2,9 | 8,8 | R | Cosecha | 8.8 |
| III <i>Eryngium</i> L. spec. | 0,0 | 14,7 | R | Cosecha | 11.8 |
| III <i>Euphorbia heterophylla</i> L. | 0,0 | 11,8 | V | Cosecha | 14.7 |
| III <i>Sorghum halepense</i> (L.) Pers. | 0,0 | 8,8 | V | Cosecha | 8.8 |

(Continúa en la página siguiente)

(Continúa de la página anterior)

| Especie | Constancia [%] | | Est. fenológico en cosecha | Análisis de especie indicadora | |
|--|----------------|---------|----------------------------|--------------------------------|-----------------|
| | Pre-aplicación | Cosecha | | Asociación | Valor indicador |
| IV <i>Brassica campestris</i> L. | 38,2 | 11,8 | R | Pre-Apl | 29.2* |
| IV <i>Senecio</i> L. spec. | 20,6 | 14,7 | R | Pre-Apl | 12.0 |
| IV <i>Raphanus sativus</i> L. | 17,6 | 38,2 | R | Cosecha | 26.2 |
| IV <i>Carduus nutans</i> L. | 8,8 | 11,8 | R | Cosecha | 6.7 |
| IV <i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) Beauv. | 0 | 29,4 | PI | Cosecha | 29.4** |
| IV <i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers. | 0,0 | 26,5 | V | Cosecha | 26.5* |
| IV <i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop. | 0,0 | 20,6 | PI | Cosecha | 20.6* |

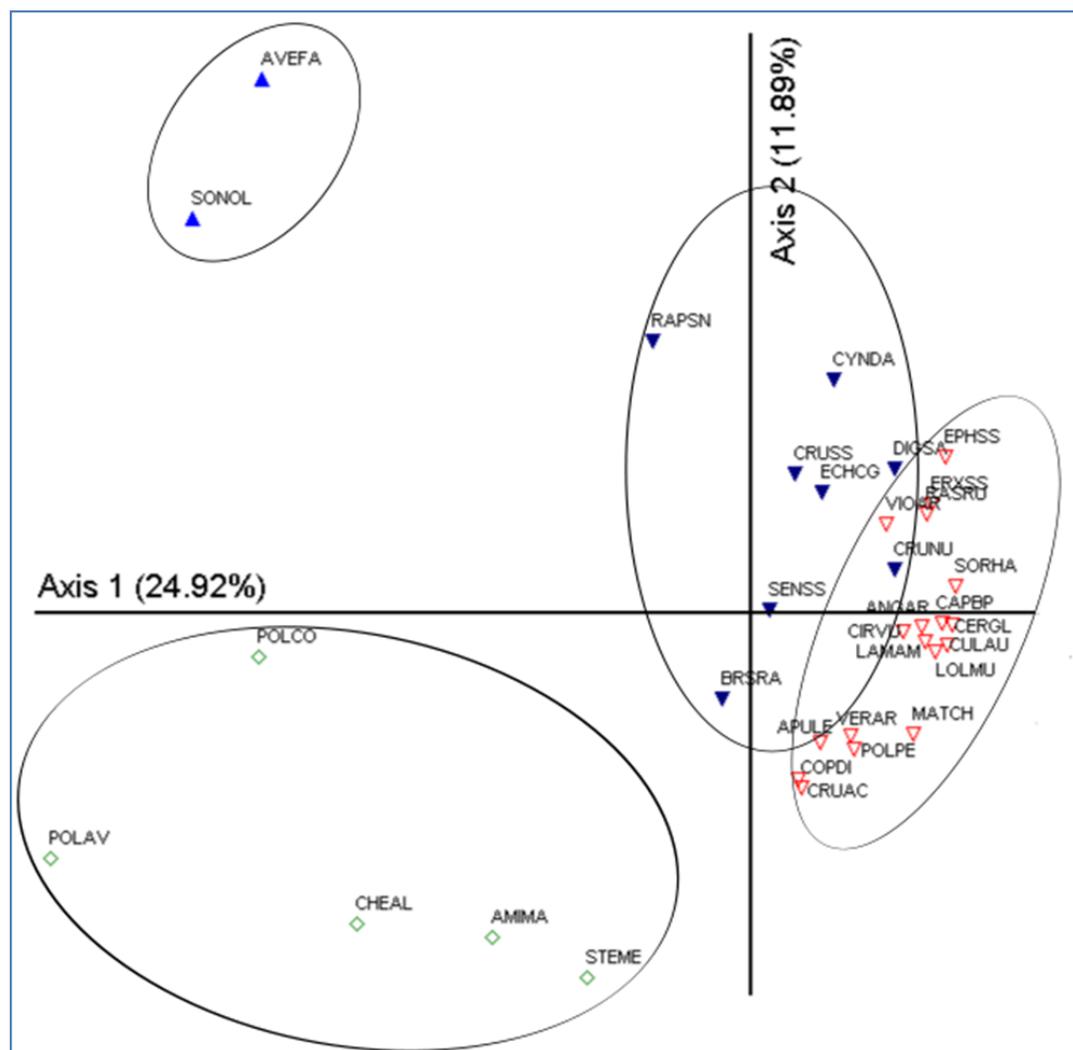


Figura 2.2. Diagrama de ordenación de una análisis de componentes principales de las malezas con constancia mayor a 8%. Se muestran asimismo los grupos logrados mediante el análisis de clúster.

La tasa de recambio temporal de especies fue de 0,66, donde un valor de 1 significa que el recambio de especies fue total. En promedio hubo 2,5 especies persistentes por lote (especies presentes en pre-control y en cosecha en el mismo lote). Sin embargo solo 5 especies son persistentes en al menos 10 lotes. Las especies persistentes en más lotes son *P. aviculare* (16 lotes), *P. convolvulus* (13 lotes), *S. oleraceus* (12 lotes), *A. fatua* (10 lotes) y *C. album* (10 lotes). Por su parte *A. majus* fue persistente en 5 lotes, *R. sativus* fue persistente en 3 lotes, mientras que *B. campestris* y *L. multiflorum* solo fueron halladas persistentes en un solo lote. Interesantemente, *S. oleraceus* y *Raphanus sativus* fueron registradas en cosecha aún en lotes en que no habían sido registradas en pre-aplicación representando en ambos el 29,4 % de los lotes. Contrariamente las especies del género *Polygonum* solo estuvieron presentes en cosecha en el 3% de los lotes en promedio de ambas especies.

La frecuencia de cada maleza dentro del lote disminuye significativamente (prueba t muestras apareadas, $p < 0,01$) entre los momentos pre-control (frecuencia media = 0,138) y cosecha (frecuencia media = 0,043). Sin embargo, la frecuencia hallada en cosecha en un lote para cualquier maleza no estuvo relacionada con la frecuencia con que se hallaba en pre-control (datos no presentados).

2.3.1. Relevancia de *Avena fatua* y *Lolium multiflorum*

Sobre 81 lotes relevados sólo considerando *Avena fatua* o *Lolium multiflorum*, fue posible hallar alguna de estas especies en casi 1 de cada 2 lotes (tabla 2.6). Sin embargo, sólo en el 12% de los lotes estas especies se hallaron juntas. La constancia de *Avena fatua* fue mayor (42%) que la constancia de *Lolium multiflorum* (18,5%).

Tabla 2.6. Resultados del relevamiento de 81 lotes en Pre-control en busca de *Avena fatua* o *Lolium multiflorum*. Los límites inferior y superior del intervalo de confianza fueron estimados mediante el método exacto (Clopper & Pearson, 1934; Leemis & Trivedi, 1996).

| | % | LI (%) | LS (%) |
|---|------|--------|--------|
| Constancia <i>Avena fatua</i> | 42,0 | 31,1 | 53,5 |
| Constancia <i>Lolium multiflorum</i> | 18,5 | 10,8 | 28,7 |
| Lotes con ambas malezas presentes | 12,3 | 6,1 | 21,5 |
| Probabilidad de hallar <i>Avena fatua</i> o <i>Lolium multiflorum</i> en un solo lote | 48,1 | 36,9 | 59,5 |

En los 34 lotes censados durante pre-control y cosecha, *Avena fatua* fue hallada en el 73,5% de los lotes, sin importar el momento en que fue hallada. Mientras que *Lolium multiflorum* solo fue hallada en el 14,7% de los lotes. En el 29,4% de los lotes *Avena fatua* L. estuvo presente durante ambos momentos y en un porcentaje similar estuvo ausente en pre-control y presente en cosecha; solo fue hallada durante pre-

control exclusivamente en el 11,8% de los lotes. En *Lolium multiflorum* se pudo constatar presencia en ambos momentos en el 3% de los lotes, mientras que en el 9% de los lotes la especie fue hallada en pre-control pero no se encontró solo en cosecha (Figura 2.3).

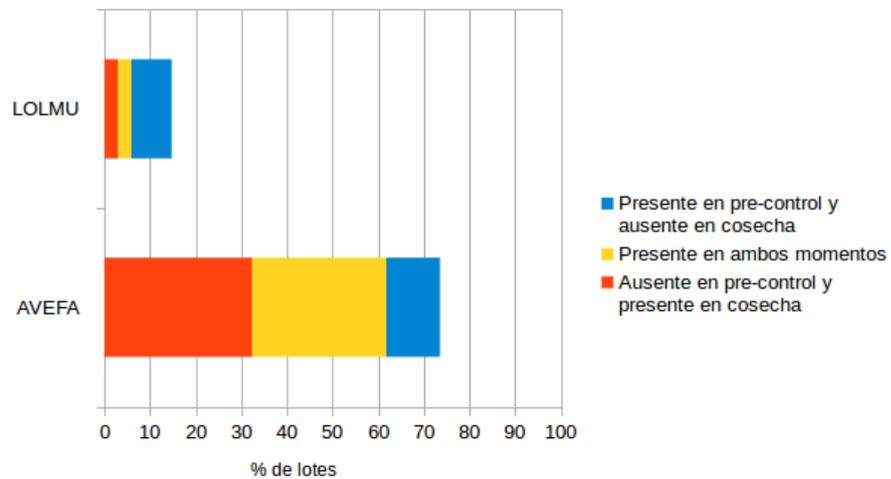


Figura 2.3. Resultados para *Avena fatua* (AVEFA) y *Lolium multiflorum* (LOLMU) sobre los 34 lotes censados en pre-control y en cosecha.

2.4. Discusión

La comunidad de malezas en cultivos de trigo evidencia diferentes características según sea descrita antes de la aplicación de herbicidas o al momento de cosecha, sin haberse observado diferencias según los herbicidas aplicados. La riqueza local (diversidad alfa) disminuye significativamente en precosecha, respecto a lo registrado en pre-aplicación de herbicidas. Esto es esperable en cuanto a que la acción de filtro del herbicida se basa en reducir el stand de malezas presentes, ejerciendo su efecto no sólo en términos de la abundancia de cada especie sino también sobre el número de especies presentes. La tasa recambio especial de especies (diversidad beta) fue mayor en precosecha que en pre-aplicación y el número total de especial (diversidad gamma) disminuyó desde pre-aplicación a precosecha de 43 a 37 especies.

Cuando se observa el estado fenológico de las especies registradas en cosecha, el 62% (23 especies) se encontraba en estado reproductivo. Esto significa que compartieron su ciclo de vida junto al cultivo. No obstante, pudieron haber emergido antes de la aplicación del herbicida o inmediatamente después de la aplicación del mismo, indicando dos posibles diferentes procesos de persistencia; tolerancia al herbicida o escape mediante la dinámica de emergencia. En consecuencia la reducción del número de malezas propiamente de cereales de invierno podría considerarse de 43 a 23 especies. Este resultado coincide con el obtenido por Derksen *et al.*, (1995), quienes registraron efectos del herbicida tanto sobre la abundancia de las malezas como sobre el número de especies.

La tasa de reemplazo de especies (TRE) entre pre-control y cosecha fue de 0,66, es decir que en promedio, dos de cada tres especies por cada lote difieren entre un momento y otro, registrándose un promedio de 2,5 especies son persistentes por lote. Las especies persistentes y que producen semillas durante el ciclo del cultivo reabastecen al banco de semillas y consecuentemente pueden incrementar el tamaño poblacional. En este sentido, conocer los procesos que explican la persistencia durante el ciclo del cultivo resulta necesario para el diseño de estrategias de manejo exitosas. Más aún, debe abordarse el estudio de la fecundidad y dispersión de dichas especies. En este sentido, Scursoni *et al.*, (1999) demostraron que el adelanto de cosecha en cultivos de trigo, resultaba una práctica eficaz para disminuir el ingreso de semillas al banco del suelo.

2.4.1. Atributos de las malezas persistentes

Se observaron cambios en determinadas características de la comunidad, evidenciando un predominio de especies terófitas, anuales, tal como sucede en todas las comunidades de malezas de cultivos anuales. En cuanto a la extensión del ciclo de vida, decrecen significativamente las especies con ciclo invierno-primaverales, predominando las especies otoño-inverno-primaverales. Además, los ciclos de emergencia extendidos en el tiempo, representan una estrategia exitosa para evitar el momento de aplicación de herbicidas (Mortimer, 1997; Scursoni *et al.*, 2007b). En cuanto a peso de la semilla no se observa ningún patrón significativo.

Las formas de crecimiento de tipo roseta/roseta parcial fueron dominantes en ambos momentos. El predominio de las formas de crecimiento de tipo roseta/roseta parcial es frecuente en cultivos de trigo. Los datos registrados por Poggio, 2005; Ulber *et al.*, 2009; Fried *et al.*, 2012; Scursioni *et al.*, 2014, fueron reelaborados utilizando la misma clasificación de formas de crecimiento que se usa en el presente análisis (tabla 2.7) y coincidentemente hay una mayor proporción de esta característica en diferentes situaciones y momentos del año. Las formas de crecimiento de tipo roseta/semi-roseta se caracterizan por tener una etapa vegetativa durante la cual desarrollan y crecen numerosas hojas agrupadas rodeando a una base, con entrenudos muy cortos y casi siempre a nivel del suelo. Luego, en la etapa reproductiva, se elongan los entrenudos y exponen los órganos reproductivos a una altura que puede ser superior a la del canopeo del cultivo, facilitando el proceso de dispersión de semillas.

Tabla 2.7. Formas de crecimiento de las malezas de diferentes comunidades sobre lotes de trigo. Los datos fueron reelaborados con la clasificación propuesta por (McIntyre *et al.*, 2005), a partir de los resultados de los censos de los cuales se informa la cita. Se incluye además el número total de especies censadas (*n*).

| Traits | Proporción de especies [%] | | | |
|-----------------------------|--|------------------------------|--|--|
| | Fried <i>et al</i> 2012 <i>n</i> = 39 | Poggio 2005 <i>n</i> = 63 | Scursioni <i>et al</i> 2014 <i>n</i> = 47 | Ulber <i>et al</i> 2009 <i>n</i> = 74 |
| Rosetas/semirosetas | 46,1 | 28,6 | 44,7 | 40,5 |
| Hierbas postradas | 23,1 | 27,0 | 29,8 | 18,9 |
| Hierbas erectas | 10,3 | 22,2 | 17,0 | 20,3 |
| Pastos | 15,4 | 14,3 | 6,4 | 16,2 |
| Rizomatosa/ Estolonífera | 0 | 7,9 | 2,1 | 4,0 |

Las especies de tipo pastos, aumentan su proporción en cosecha, aún si sólo se consideraran las especies en estado reproductivo. Por razones económicas, el uso de herbicidas específicos tales como los inhibidores de la ACCasa es menor que otros menos eficaces tales como los inhibidores de la ALS. Asimismo estas especies presentan patrón fenológico de desarrollo similar a los cultivos en los que se encuentran. En consecuencia, la comunidad tiende a enriquecerse de malezas con mayor mimetización con el cultivo (Martinez-Ghersa *et al.*, 2000; Radosevich *et al.*, 2007).

2.4.2. Grupos florísticos

Los grupos florísticos I y II corresponden a especies con alta presencia en los lotes. El grupo I está integrado por dos especies con alta persistencia, *Avena fatua* L. y *Sonchus oleraceus* L.. Ambas especies poseen alta constancia en pre-control y también en cosecha. *S. oleraceus* se relaciona con los sistemas de siembra directa (Chauhan *et al.*, 2006a). Su germinación es estimulada por la luz, por lo que la emergencia es mayor

cuando se encuentra en la superficie del suelo. En cultivos de trigo, ha sido reportada con alta constancia (Poggio, 2005; Scursoni *et al.*, 2014) y también ha sido reportada en barbechos (Leguizamón, 2009). Sin embargo, su constancia era significativamente menor en sistemas de producción con laboreo (Catullo *et al.*, 1983). El caso de *Avena fatua* se discutirá particularmente en el capítulo 3.

El grupo II esta conformado por especies asociadas fundamentalmente a alta presencia en pre-control decreciendo su constancia en el momento de cosecha. *Polygonum aviculare* L. y *Polygonum convolvulus* L. son especies ya reportadas con alta constancia en la zona en 1981. *Helianthus annuus* (girasol guacho) es un caso particular dado que como la rotación trigo-girasol es habitual en la zona, emergen individuos procedentes de semillas de cultivos de girasol antecesor. Sin embargo, su baja constancia en precosecha sugiere escasos atributos que superen al filtro ejercido por los herbicidas. Otro caso similar es el de *Stellaria media* (L.) Vill.(caapiquí), frecuente en pre-control, y no en el momento de cosecha. En el caso de girasol, su presencia en pre-control se explica por la alternancia trigo-girasol. En cambio, para el caso de las demás especies puede explicarse la alta presencia en pre-control por procesos de fecundidad y dispersión, pese a que pocos individuos persistan durante el ciclo.

El grupo III está compuesto por especies como *Veronica arvensis* (Veronica), *Carduus acanthoides*, *Cirsium vulgare*, *Viola arevensis*, las cuales se reportan como escapes en algunas campañas. La mayoría de estas pueden presentar déficit de control con los herbicidas usados habitualmente (metsulfurón metil+dicamba). El raigrás anual (*Lolium multiflorum*) integra este grupo, si bien es una maleza importante esto no fue reflejado cuantitativamente en los censos realizados. No obstante, la constancia en precosecha es el 50% de la registrada en pre-control (tabla 2.5). Sobre esta especie se discutirá en el capítulo 4.

Finalmente en el grupo IV están representadas las especies de ciclo estival como *Echinochloa crus-galli*, *Cynodon dactylon* y *Digitaria sanguinalis* registradas en estado vegetativo y malezas crucíferas como *Raphanus sativus* y *Brassica campestris* que presentan un período de emergencia extendido en el tiempo, desde otoño hasta principios de verano.

2.4.3. *Avena fatua* y *Lolium multiflorum*.

La *Avena fatua* es históricamente la maleza más importante en cereales de invierno en el S-SO de la Provincia de Buenos Aires tanto por el daño cuantitativo y cualitativo al cultivo así como por el costo de control (Vigna *et al.*, 2013). En relevamientos realizados sobre muestras de trigo a comercializar realizado por SENASA (Heit *et al.*, 2012), se encontró *Avena fatua* en el 80% de las muestras. En el presente trabajo, esta maleza fue hallada en el 61,8% de los lotes en el momento de cosecha. Aproximadamente en la mitad de esos lotes (29,4%), la maleza estuvo presente en ambos momentos. Este desglose de la constancia calculada al momento de cosecha indica que la maleza fue persistente en casi un 50% de estos lotes. Las causas de dicha

persistencia pueden obedecer a: (i) supervivencia a la acción de los herbicidas, por aparición de resistencia o (ii) dinámica de emergencia luego de aplicado el herbicida y evitando la acción del mismo. Estos puntos se pondrán a prueba en el capítulo 3.

En cuanto a raigrás anual, no fue registrado con una amplia distribución en la región estudiada. Su constancia fue de 11,8% y 5,9% en pre-control y cosecha, respectivamente. Estos datos son menores que los registrados por (Poggio *et al.*, 2004) quienes reportan un 35% de constancia en censos realizados durante los meses de octubre y noviembre. Asimismo, Scursoni *et al.*, (2014) en la región sudeste registro un 30% de lotes con raigrás anual. En INTA Barrow, Gigón (comunicación personal) estimó que un 30% de los lotes del área de influencia de la experimental presentaron raigrás anual durante el año 2014. Finalmente se reportó que el 19% de las muestras de trigo para exportación de los puertos de Argentina presentaron raigrás anual como maleza (Heit *et al.*, 2012).

Mas allá de la baja constancia registrada, es interesante destacar que aproximadamente 30% de los lotes en los que había presencia en pre-control también fue registrada en precosecha. La dinámica de emergencia de raigrás es menos extendida que el caso de *Avena fatua* L., lográndose prácticamente el 100% de la emergencia en pleno invierno (Diez de Ulzurrun *et al.*, 2015) (ver figura 5.4). En este sentido, la resistencia a herbicidas podría representar el principal mecanismo asociado a la presencia de esta maleza en sistemas de producción de cereales de invierno.

De acuerdo con los resultados obtenidos, se **acepta parcialmente** la hipótesis de trabajo: *Avena fatua* fue hallada con una alta persistencia en los lotes de trigo y *Lolium multiflorum* fue hallada con una baja persistencia.

Capítulo 3

Escapes de *Avena fatua* L. en cultivos de trigo tratados con herbicidas.

Capítulo 3

Escapes de *Avena fatua* L. en cultivos de trigo tratados con herbicidas.

3.1. Introducción

Avena fatua L. es una especie perteneciente a las Angiospermas, de la clase Monocotiledóneas, orden Poales, familia Poáceas (antiguamente *Graminae*). Su ciclo es anual y su período de crecimiento es otoño-inverno-primaveral. Su presencia se reporta en casi todos los lugares del mundo donde se realizan cultivos de cereales invierno-primaverales. El centro de origen de diferentes especies del género *Avena* es la región del Mediterráneo occidental (Loskutov, 2007), habiéndose introducido en la mayor parte de las regiones templadas del mundo (Beckie *et al.*, 2012a). Se la conoce en nuestro país como avena negra, cebadilla o avena loca y constituye un serio problema en regiones con niveles de precipitación anual que van de 350 mm a más de 800 mm.

Es considerada una de las diez especies maleza más importante del mundo, tanto por su amplia distribución como por los daños cuantitativos y cualitativos que produce. Se reporta su presencia en más de 50 países y es la especie maleza de mayor importancia en cultivos de trigo, cebada, arroz y lino (Simpson, 1990). En los Estados Unidos, se estimó su presencia en aproximadamente 11.000.000 hectáreas, generando pérdidas superiores al billón de dólares (Evans *et al.*, 1991). En el oeste de Australia, el 24% de muestras de trigo, cebada y lupino contenían semillas de *Avena fatua* L. (Michael *et al.*, 2010). Asimismo, *Avena fatua* L. siempre fue la principal especie maleza en cereales de invierno en el Reino Unido (Wilson *et al.*, 1990). En China, es también una de las malezas más importantes de cultivos de trigo, considerando su presencia en alrededor de 5 millones de has cultivadas, lo que se traduce en una pérdida de 1.750.000 ton anuales (Li *et al.*, 2007).

En Argentina, Scursoni (1995) registró presencia de *Avena fatua* L. en más del 80 % de los lotes de producción de cebada en los Partidos de Coronel Dorrego y Puán. En cultivos de trigo, Catullo y otros (1983) registraron una constancia (% de lotes con presencia de la maleza) de 40% en promedio, en el sudeste de Buenos Aires. Interesantemente, Scursoni *et al* (2007a, 2014) registraron un incremento de 24% respecto a los relevamientos realizados por Catullo en 1983. A partir de esta información, se cuantificó la cantidad de hectáreas sembradas con trigo y con presencia de *Avena fatua* L. en distintos partidos del sudeste bonaerense (tabla 3.1).

Tabla 3.1. Total de hectáreas sembradas con trigo y con presencia de *Avena fatua* L. en distintos partidos del sudeste de la Provincia de Buenos Aires en el año 1981 y 2006/2007.

| Partido | Hectáreas con Trigo | | Hectáreas con trigo c/presencia de <i>Avena fatua</i> | |
|----------------------------|---------------------|--------|---|--------|
| | 2006-07 | 1981 | 2006-07 | 1981 |
| Cnel. Dorrego-Tres Arroyos | 423500 | 313400 | 301000 | 204680 |
| Necochea | 135556 | 99000 | 101667 | 5940 |
| San Cayetano | 102609 | 61000 | 44121 | 16470 |
| Tandil/azul | 90862 | 56536 | 40887 | 22049 |

*Fuente:Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca (2015)

Respecto a las pérdidas de rendimiento en nuestros sistemas de producción, Catullo y otros (1983) registraron pérdidas de rendimiento entre 12 y 23% con densidades de la maleza de 100 plantas/m², en cultivos de trigo sin y con aplicación de nitrógeno, respectivamente. Scursoni y Benech-Arnold, (1998), registraron pérdidas de rendimiento de aproximadamente 25% en cebada y trigo con densidades de 60 plantas/m² de la maleza. Scursoni & Satorre (2005) reportaron similar pérdida de rendimiento en cultivos de cebada con densidades de *Avena fatua* de 70 plantas/m². Scursoni *et al.*, (2011) registraron una reducción de 20% de rendimiento de trigo por cada 100 g/m² de *Avena fatua*, lo cual representa en promedio 100 plantas/m² (Scursoni *et al.*, 1999). En el caso de cultivos de cebada, la importancia de *Avena fatua* no sólo se relaciona con su efecto sobre el rendimiento, sino también con la contaminación de partidas destinadas a la industria maltera, lo cual genera importantes costos adicionales de limpieza debido a las exigencias de la industria. Más allá de los diferentes resultados reportados, debe considerarse que diferentes factores tales como el momento de emergencia de la maleza respecto al cultivo, la densidad relativa cultivo/maleza, el genotipo, la aplicación de fertilizantes, la dispersión espacial de la maleza, etc., regulan los efectos de competencia (Scursoni, 2009).

La práctica más comúnmente utilizada para el control de *Avena fatua* en cultivos tanto de trigo como de cebada, es la aplicación de herbicidas postemergentes, primero los inhibidores de la ACCasa y más recientemente también con aplicación de inhibidores de ALS. La práctica de uso de herbicidas con el mismo modo de acción es un potente factor de selección a favor de malezas resistentes. Para que el proceso evolutivo de resistencia ocurra es necesaria la existencia de variabilidad genética en la población. El herbicida actúa seleccionando fenotipos con genes de resistencia, acelerándose este proceso en la medida que aumenta la presión de selección (Scursoni & Vila-Aiub, 2016). Más allá de los resultados exitosos que pueden lograrse mediante la aplicación de herbicidas, debe considerarse que la presión de selección que estos

ejercen a favor de la selección de biotipos resistentes, es una consecuencia negativa del mal uso de los mismos.

En el capítulo anterior, se ha mostrado la importancia de *Avena fatua* en la comunidad de malezas del sudeste bonaerense. También se evidenció la importancia de esta especie por la persistencia que presenta en los lotes a pesar de ser una maleza objetivo en los controles de malezas. En el presente capítulo, se pretende identificar qué mecanismo es jerárquicamente más importante en la persistencia de esta maleza, y en consecuencia el que mejor explica los escapes al control por herbicidas en sistemas de producción de trigo y cebada.

3.2. Hipótesis y objetivos

En el marco conceptual planteado, se proponen las siguientes **hipótesis**:

i) Poblaciones de individuos que provienen de sitios bajo condiciones de cultivo poseen menor sensibilidad a los herbicidas habitualmente utilizados para su control en comparación con las poblaciones provenientes de sitios no cultivados.

ii) Semillas provenientes de individuos creciendo en condiciones de cultivo poseen niveles de dormición y patrones de germinación diferente a las semillas provenientes de individuos de sitios no cultivados.

iii) Las diferencias en los patrones de dormición según las procedencias de las semillas (agrícola y no agrícola) poseen base genética y son heredables.

En consecuencia los **objetivos** del presente capítulo fueron:

i) Estudiar la respuesta de un número representativo de poblaciones de *Avena fatua* L. del sudeste bonaerense, a distintos herbicidas habitualmente utilizados para su control.

ii) Estudiar el estado fisiológico y la dinámica de germinación en el campo de semillas de *Avena fatua* L., cosechadas de individuos presentes en precosecha de cultivos de trigo del sudeste bonaerense en contraste con semillas provenientes de individuos presentes en sitios no cultivados.

iii) Identificar las posibles causas asociadas a la dinámica de germinación.

3.3. Materiales y métodos

3.3.1. Cosecha del material experimental

Durante los años 2008 y 2012 se realizaron relevamientos en el campo (analizados en el capítulo 2) en los partidos de Necochea, General Pueyrredón y Tres Arroyos, situados en el sudeste bonaerense. Adicionalmente se obtuvo semillas de una población situada en el partido de Azul. En los lotes relevados, se cosecharon semillas de *Avena fatua* L. de individuos presentes en sitios no cultivados y de individuos presentes dentro de los lotes de cultivos donde se había aplicado herbicida (individuos provenientes de condiciones de cultivo) (fotografías 3.1a y 3.1b). Las semillas fueron agrupadas según poblaciones (de acuerdo al lugar geográfico) y dentro de cada población, por su procedencia (condiciones de cultivo o de condiciones no cultivadas). Desde la cosecha hasta su posterior procesamiento, las semillas fueron conservadas secas a temperatura ambiente.

3.1a)



3.1b)



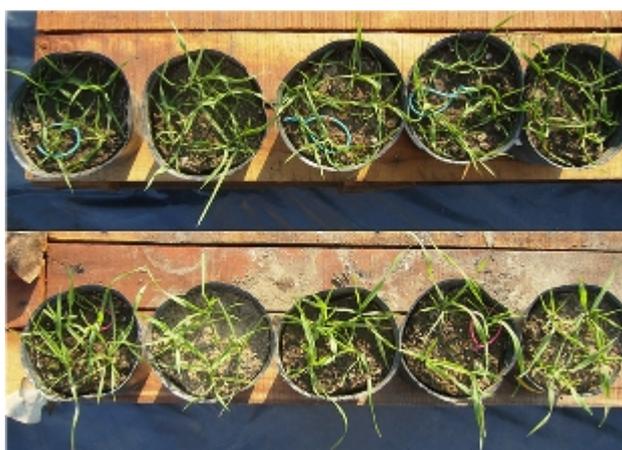
Fotografías 3.1a) y b). Ambientes en el cuál se cosecharon las semillas en condiciones cultivadas (a) y no cultivadas (b).

3.3.2. Respuesta al herbicida

3.3.2.1. Preparación del material experimental

Durante los años 2009 y hasta el año 2012 inclusive, se llevaron a cabo 57 experimentos de respuesta a herbicidas sobre 18 poblaciones de *Avena fatua*, utilizando 7 herbicidas de uso frecuente para el control de la misma. Todos los experimentos se realizaron en el campo experimental de la FAUBA, utilizándose macetas de 14 cm de diámetro y 2,1 litros. El sustrato utilizado consistió de una mezcla homogénea de 45% de tierra negra con turba y abono comercial, 45% de arena y 10% de perlita. Se fertilizó con 0,1539g de fosfato diamónico y 0,1847g de urea por cada maceta, equivalentes a una fertilización de 100 kg/ha de fosfato diamónico y 120 kg/ha de urea. Los fertilizantes se incorporaron al sustrato durante el momento de la mezcla del mismo.

Las plántulas se obtuvieron a partir de semillas germinadas en cámaras a 12°C constantes. La implantación de las mismas se realizó cuando la plúmula alcanzó los 2 cm de largo. Para asegurar la implantación se mantuvieron en invernáculo durante 8 a 10 días y luego se colocaron en campo. Las plantas se regaron a lo largo de todo su ciclo cuidando que siempre se encuentren a capacidad de campo. La aplicación de los herbicidas se realizó cuando las plantas tuvieron 3 hojas expandidas (fotografía 3.2) y se utilizó equipo de mochila accionada a dióxido de carbono marca Fuminor (R) con botallón de 1,5m. La presión de trabajo fue de 40 lb/pulg² constantes (2,7579 bares) y el caudal de aplicación se aproximó en todos los experimentos a 120 l/ha, ajustando la velocidad del aplicador cuando fue necesario. La cantidad de impactos en promedio fue de 40 gotas/cm². En todos los casos, las aplicaciones se realizaron a partir de la media mañana para evitar problemas con la humedad del rocío nocturno, y se procuró que los días de aplicación fueran calmos en cuanto a la velocidad del viento.



Fotografía 3.2. Plantas de *Avena fátua* L. en estado de 3 a 4 hojas, al momento del tratamiento con herbicidas (Fecha: 07/09/2011).

Si bien no se registró incidencia de enfermedades fúngicas que afecten más del 5% del área foliar, se aplicó preventivamente fungicida azoxistrobina al 25% p/v (Amistar ®) en un equivalente de 300 cm³/ha. No se registró ataque masivo de insectos, pero ante la aparición de pulgones se aplicó dimetoato (37,6% p/v) (Mamboretá D ®) y ante la aparición de otros insectos se utilizó cipermetrina al 25% p/v (diversas marcas).

3.3.2.2. Tratamientos y evaluaciones

Se utilizaron herbicidas del grupo de las imidazolinonas (Imazamox), sulfonilureas (Iodosulfurón + metsulfurón metil, Iodosulfurón + mesosulfurón + metsulfurón-metil) y del grupo triazol-pirimidinas (pyroxulam), todos inhibidores de la enzima ALS. También se utilizaron herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa del grupo "fops" (ariloxi-fenoxi-propionatos) como diclofop-metil y fenoxaprop-p-etil y del grupo fenilpyrazolinas como pinoxadén. En todos los experimentos se estudió la respuesta de

las poblaciones provenientes de condiciones cultivadas con su contraparte (testigo) proveniente de condiciones no cultivadas (fotografías 3.1a y 3.1b).

El rango de dosis probados fue diferente en cada experimento pero siempre hubo una dosis testigo ("0x de la dosis comercial", sin aplicación de herbicidas) y tres o más dosis incluyendo siempre la dosis comercial (1x) y dosis superiores e inferiores a la misma. En cada dosis se utilizaron 5 repeticiones (donde cada repetición -maceta- es la unidad experimental) con 4 plantas cada una. La respuesta a los herbicidas se evaluó mediante el peso seco por individuo a los 30 días luego de la aplicación del herbicida. Los detalles de población, herbicida y fecha de aplicación se muestran en la tabla 3.2. Los detalles de la formulación de cada herbicida se encuentran en la tabla 3.3.

Tabla 3.2. Detalle de los experimentos de dosis respuesta con *Avena fatua*.

| n.º Exp. | Población | Herbicida | Fecha de aplicación |
|----------|-------------------|----------------|---------------------|
| 1 | El Porvenir | Fenoxaprop | 26/11/09 |
| 2 | Médano Seco | Fenoxaprop | 26/11/09 |
| 3 | Azul | Diclofop-metil | 01/07/10 |
| 4 | El Diez L4 | Diclofop-metil | 01/07/10 |
| 5 | El Diez L6 | Diclofop-metil | 01/07/10 |
| 6 | La Gauchita | Diclofop-metil | 17/08/10 |
| 7 | El Porvenir | Diclofop-metil | 30/09/10 |
| 8 | Médano Seco | Fenoxaprop | 26/10/10 |
| 9 | Azul | Imazamox | 28/11/10 |
| 10 | El Diez L4 | Imazamox | 28/11/10 |
| 11 | El Diez L6 | Imazamox | 28/11/10 |
| 12 | Azul | Mesosulfurón | 28/11/10 |
| 13 | El Diez L4 | Mesosulfurón | 28/11/10 |
| 14 | El Diez L6 | Mesosulfurón | 28/11/10 |
| 15 | Azul | Pinoxaden | 28/11/10 |
| 16 | El Diez L4 | Pinoxaden | 28/11/10 |
| 17 | El Diez L6 | Pinoxaden | 28/11/10 |
| 18 | Huincahué | Fenoxaprop | 10/06/11 |
| 19 | La Legua | Fenoxaprop | 10/06/11 |
| 20 | Pailche Izquierdo | Fenoxaprop | 10/06/11 |
| 21 | Pailche Izquierdo | Imazamox | 10/06/11 |
| 22 | Adelante MS | Iodosulfurón | 10/06/11 |
| 23 | CosMalal | Iodosulfurón | 10/06/11 |
| 24 | Tupungato | Iodosulfurón | 10/06/11 |
| 25 | Don Luis | Pinoxaden | 10/06/11 |

(Continúa en la página siguiente)

(Continúa de la página anterior)

| n.º Exp. | Población | Herbicida | Fecha de aplicación |
|-----------------|-------------------|------------------|----------------------------|
| 26 | Enfrente | Pinoxaden | 10/06/11 |
| 27 | Médano Seco | Pinoxaden | 10/06/11 |
| 28 | Tupungato | Pinoxaden | 10/06/11 |
| 29 | Pailche Izquierdo | Pyroxulam | 10/06/11 |
| 30 | Sacomano | Iodosulfurón | 22/08/11 |
| 31 | Sacomano | Mesosulfurón | 22/08/11 |
| 32 | Sacomano | Pyroxulam | 22/08/11 |
| 33 | El Diez L6 | Fenoxaprop | 02/09/11 |
| 34 | El Diez L6 | Iodosulfurón | 02/09/11 |
| 35 | El Diez L6 | Pyroxulam | 02/09/11 |
| 36 | Avenida Grande | Imazamox | 01/08/12 |
| 37 | Azul | Imazamox | 01/08/12 |
| 38 | Avenida Grande | Pyroxulam | 01/08/12 |
| 39 | Azul | Pyroxulam | 01/08/12 |
| 40 | CosMalal | Imazamox | 04/08/12 |
| 41 | Km 17 | Imazamox | 04/08/12 |
| 42 | San José | Imazamox | 04/08/12 |
| 43 | CosMalal | Pinoxaden | 04/08/12 |
| 44 | Km 17 | Pinoxaden | 04/08/12 |
| 45 | San José | Pinoxaden | 04/08/12 |
| 46 | CosMalal | Pyroxulam | 04/08/12 |
| 47 | Km 17 | Pyroxulam | 04/08/12 |
| 48 | San José | Pyroxulam | 04/08/12 |
| 49 | La Gauchita | Imazamox | 10/08/12 |
| 50 | Médano Seco | Imazamox | 10/08/12 |
| 51 | Tupungato | Imazamox | 10/08/12 |
| 52 | La Gauchita | Mesosulfurón | 10/08/12 |
| 53 | Médano Seco | Mesosulfurón | 10/08/12 |
| 54 | Tupungato | Mesosulfurón | 10/08/12 |
| 55 | La Gauchita | Pyroxulam | 10/08/12 |
| 56 | Médano Seco | Pyroxulam | 10/08/12 |
| 57 | Tupungato | Pyroxulam | 10/08/12 |

Tabla 3.3. Herbicidas y dosis comerciales recomendadas utilizadas en los distintos experimentos.

| Herbicida | Dosis recomendada | Otros componentes en la mezcla del tanque | Coadyuvantes |
|-----------------------------|-----------------------------------|---|---|
| Diclofop-metil | 568 (g.p.a./Ha) | - | - |
| Fenoxaprop | 69 (g.p.a./Ha) | - | - |
| Imazamox | 70 (g.p.a./Ha) | - | Clatrato (250 g/Ha) |
| Iodosulfuron | 7,5 (g.p.a./Ha) | Metsulfuron-metil (3 g.p.a./Ha) | Alcohol alcoxilado (0,2% v/v) |
| Iodosulfuron + mesosulfuron | 12 (g.p.a./Ha) + 1,87 (g.p.a./Ha) | Metsulfuron-metil (3 g.p.a./Ha) | Alcohol alcoxilado (0,2% v/v) |
| Pyroxulam | 18 (g.p.a./Ha) | Cloquintocet-mexyl (36 g.p.a./Ha) + Metsulfuron-metil (4 g.p.a./Ha) | Uptake* (0,5% v/v) + Sulfato de amonio (2% v/v) |
| Pinoxaden | 40 (g.p.a./Ha) | Cloquintocet mexyl (10 g.p.a./Ha) | - |

* marca de coadyuvante de Dow Agroscience, aceite vegetal metilado. No menciona la composición exacta en el marbete.

3.3.3. Dinámica de germinación en condiciones de laboratorio

Debido a la necesidad de disminuir el nivel de dormición de las semillas para obtener plántulas para utilizar en los experimentos de dosis respuesta, se realizó en primer lugar un tratamiento de posmaduración. Para ello se quitaron las glumelas de las semillas y se las colocó en seco en incubadora a 25°C constantes durante 10 días. Luego, las semillas fueron incubadas a 12°C y a 20°C constantes, en cajas de petri con 20 semillas cada una en un medio de agua destilada sobre papel de filtro. Se utilizaron tres repeticiones por cada tratamiento. Se contabilizó la germinación de forma diaria por un período mínimo de 30 días, siendo el criterio para decidir si una semilla estaba germinada o no la emergencia de la radícula. De este modo, se logra obtener la tasa de germinación para diferentes fracciones de la población y por extrapolación identificar al valor de temperatura base (Bradford, 1995).

Sobre 3 poblaciones de *Avena fatua*, se realizaron experimentos de dinámica de germinación con similar método que el descrito. No obstante, no se quitaron las coberturas ni se realizó tratamiento de posmaduración previo a la incubación de las semillas de *Avena fatua*. Luego se siguió con los mismos protocolos, siendo las temperaturas de incubación 5°C y 20°C. Las semillas no germinadas fueron analizadas mediante test de viabilidad para lo cual se cortaron dichas semillas y fueron incubadas en una solución de Cloruro de Tetrazolio al 0,1% v/v durante 24 horas a 30° en oscuridad (Copeland & McDonald, 2012). Aquellas semillas que adquirieron color rojo o rosado en su embrión, fueron consideradas viables.

3.3.4. Dinámica de germinación a campo

Durante los años 2011 y 2012 se llevaron a cabo experimentos de dinámica de germinación de semillas a campo con 6 poblaciones de *Avena fatua*. Cada población se evaluó con sus dos procedencias de semillas, esto es condiciones de cultivo (CC) y no

cultivadas (NC). Se colocaron 50 semillas en bolsitas preparadas de tela permeable al aire y humedad, rellenas con arena. Las mismas fueron enterradas superficialmente (1-2 cm de profundidad) dentro de macetas de 14 cm de diámetro y 2,1 litros; luego cada maceta se enterró a ras del suelo en el sitio experimental a principios del verano, simulando el ingreso de las semillas al banco del suelo (fotografías 3.3a, b y c). Desde el mes de abril y a intervalos regulares de aproximadamente 45-60 días se desenterraron las bolsitas y se contabilizaron las semillas que habían germinado, cuantificándose el porcentaje de germinación (fotografías 3.4a, b y c). Cada tratamiento (población x condición) tuvo 3 repeticiones para cada fecha de desentierro. El ultimo desentierro se realizó durante la primavera. El número de desentierros a lo largo del año fue de 5 (15 bolsitas por tratamiento), con la excepción de la población San Joaquín en el año 2012, en la cual por falta de semillas se realizaron 3 desentierros (9 bolsitas por tratamiento) en el sitio experimental de la FAUBA.

Durante el año 2011 las poblaciones probadas fueron Km 17 y Azul. En ambos años los experimentos se realizaron en el campo experimental de la FAUBA. Durante el año 2012 las poblaciones probadas fueron San Joaquín y Stella Maris y los experimentos se realizaron simultáneamente en el predio de la EEA INTA Balcarce y en el campo experimental de la FAUBA. Ambos sitios experimentales contaron con instrumentos de registros climáticos para conocer la temperatura media diaria. Las poblaciones fueron seleccionadas debido a la abundancia de material experimental (semillas) recolectadas. En todos los casos, para aquellas semillas no germinadas al final del experimento se analizó la viabilidad mediante test de cloruro de tetrazolio.



Fotografías 3.3a), b) y c). Preparación de las bolsitas con las semillas y entierro de las mismas.



Fotografías 3.4a), b) y c). Conteo de las muestras con semillas germinadas y sin germinar.

3.3.5. Dinámica de germinación de semillas procedentes de diferentes ambientes de maduración

El experimento se llevó a cabo en el campo experimental de FAUBA. En el año 2012, se implantaron individuos de *Avena fatua* de la población Km 17 de ambas procedencias, ambiente de cultivo y ambiente no cultivado, en forma aleatoria sobre un ambiente de condición no cultivada. El logro de las plántulas siguió el mismo protocolo que el descrito en apartados anteriores. Estos individuos se cosecharon al final de su ciclo y con esas semillas se realizó un experimento de dinámica de germinación a campo similar al descrito en el punto anterior (3.3.4). En el mes de enero de 2013, se enterraron las semillas y los tratamientos en este caso fueron: i) Condiciones de cultivo - progenie en Condiciones no cultivadas (CC a NC) y ii) Condiciones no cultivadas – progenie en Condiciones no cultivadas (NC a NC). Se desenterraron las semillas en 3 oportunidades a lo largo del año y se registró porcentualmente las semillas que habían germinado de cada tratamiento. En todos los casos, para aquellas semillas no germinadas al final del experimento se analizó la viabilidad mediante test de cloruro de tetrazolio.

3.3.6 Análisis

Para el análisis de los experimentos de respuesta al herbicida, se realizó análisis de varianza utilizando como variable respuesta el porcentaje de peso seco individual respecto al peso seco del testigo no tratado. Los valores fueron transformados previamente mediante arcoseno de la raíz cuadrada de x, comparando las procedencias (cultivados vs no cultivado) para cada población. Para la comparación entre herbicidas se realizó la prueba de Kruskal Wallis. Para los análisis y las gráficas de las dinámicas de germinación y emergencia se utilizó el programa Infostat[®] (Di Rienzo *et al.*, 2015) y Graphpad 5.0[®] (Graphpad Prism, 2010).

El tiempo térmico se calculó como la suma de las temperaturas diarias desde el entierro de las semillas hasta el momento de cada desentierro, suponiendo una temperatura base de 0°C (Cousens *et al.*, 1992).

3.4. Resultados

3.4.1. Experimentos de dosis respuesta

En el total de experimentos realizados, sólo se registraron 2 casos de diferencias significativas ($P < 0,05$) entre individuos provenientes de condiciones cultivadas (CC) y no cultivadas (NC). En el caso de la población El Diez L6 con el herbicida Pyroxsulam, fue más tolerante la procedencia CC. La misma población con el herbicida fenoxaprop-*p*-etil tuvo diferencias significativas ($p < 0,05$) pero a favor de las plantas NC (Tabla 3.4). Sin embargo, con la dosis 2x (dos veces la dosis recomendada) no se registraron diferencias significativas entre las procedencias CC y NC para ninguno de los herbicidas (Tabla 3.5).

El herbicida con el que se logró la mayor eficacia en términos de reducción de biomasa de *Avena fatua* fue pinoxaden. En promedio, la reducción de biomasa fue del orden del 90,2% respecto al testigo no tratado. Además, se registró la menor variabilidad en la respuesta entre poblaciones. Por el contrario, el herbicida diclofop-metil fue el de peor performance, con una reducción promedio de la biomasa de *Avena* de 69,6% respecto al testigo no tratado. Además, se registró mayor variabilidad en la respuesta entre las diferentes poblaciones. El mayor control con este herbicida fue de un 70% (29,97% de la biomasa del testigo no tratado) mientras que el más bajo fue de un 7% (93,07% de la biomasa del testigo no tratado) (Tabla 3.4). Otros herbicidas con alta variabilidad en la respuesta fueron fenoxaprop y pyroxsulam. Mientras que ciertas poblaciones fueron controladas satisfactoriamente por fenoxaprop (valores de biomasa menores a un 15% del testigo no tratado), se registraron dos poblaciones que solo fueron controladas en un 40 a 50% (Médano Seco y El Porvenir) (Tabla 3.4). En promedio de todas las condiciones, la reducción de biomasa lograda con los herbicidas inhibidores de ACCasa fue de 76,7%, excluyendo diclofop-metil; en tanto con los inhibidores de ALS, la eficacia promedio fue de 81,6%.

Tabla 3.4. Respuesta de poblaciones de *Avena fatua* a distintos herbicidas, y comparación entre plantas provenientes de condiciones cultivadas y condiciones no cultivadas. La variable medida fue peso seco respecto al testigo, expresado en %. El valor de significancia corresponde al análisis de varianza entre la procedencia de Condición Cultivada (CC) y su respectivo No Cultivado (NC) de cada experimento.

| Población | Herbicida | Fecha de aplicación | % respecto al testigo a la dosis comercial | | Diferencias CC vs NC (valor-p) |
|----------------|----------------------------------|---------------------|--|---------------------------|--------------------------------|
| | | | Condiciones Cultivadas | Condiciones No Cultivadas | |
| Adelante MS | Iodosulfurón + metsulfuron-metil | 10/06/11 | 22,47 | 16,22 | 0,1394 |
| Avenida Grande | Imazamox | 01/08/12 | 20,28 | 21,21 | 0,7584 |
| Avenida Grande | pyroxsulam | 01/08/12 | 52,46 | 21,55 | 0,0644 |
| CosMalal | Imazamox | 04/08/12 | 15,31 | 21,2 | 0,8491 |
| CosMalal | Iodosulfurón + metsulfuron-metil | 10/06/11 | 34,5 | 16,22 | 0,1394 |
| CosMalal | Pinoxaden | 04/08/12 | 13,12 | 1,01 | 0,8348 |
| CosMalal | pyroxsulam | 04/08/12 | 21,43 | 21,55 | 0,252 |
| Don Luis | Pinoxaden | 10/06/11 | 4,74 | 19,31 | 0,3354 |
| El Diez L4 | Diclofop-metil | 01/07/10 | 87,63 | 73,04 | 0,6214 |
| El Diez L4 | Imazamox | 28/11/10 | 18,77 | 24,75 | 0,1613 |
| El Diez L4 | Mesosulfurón + metsulfuron-metil | 28/11/10 | 25,03 | 19,75 | 0,0614 |
| El Diez L4 | Pinoxaden | 28/11/10 | 9,75 | 12,12 | 0,2394 |
| El Diez L6 | Diclofop-metil | 01/07/10 | 77,2 | 73,04 | 0,6214 |
| El Diez L6 | Fenoxaprop | 02/09/11 | 0 | 9,45 | 0,0452 |
| El Diez L6 | Imazamox | 28/11/10 | 6,07 | 24,75 | 0,1613 |
| El Diez L6 | Iodosulfurón + metsulfuron-metil | 02/09/11 | 7,66 | 6,47 | 0,7138 |
| El Diez L6 | Mesosulfurón + metsulfuron-metil | 28/11/10 | 8,53 | 19,75 | 0,0614 |
| El Diez L6 | Pinoxaden | 28/11/10 | 5,78 | 12,12 | 0,2394 |
| El Diez L6 | pyroxsulam | 02/09/11 | 6,46 | 0,87 | 0,0226 |
| El Porvenir | Diclofop-metil | 30/09/10 | 29,97 | 52,1 | 0,192 |
| El Porvenir | Fenoxaprop | 26/11/09 | 62,16 | 52,4 | 0,5117 |
| Enfrente | Pinoxaden | 10/06/11 | 1,79 | 19,31 | 0,3354 |
| Fittipaldi | Diclofop-metil | 01/07/10 | 50,84 | 75,39 | 0,0676 |
| Fittipaldi | Imazamox | 28/11/10 | 42,21 | 14,37 | 0,4681 |
| Fittipaldi | Imazamox | 01/08/12 | 16,93 | 21,21 | 0,7584 |
| Fittipaldi | Mesosulfurón + metsulfuron-metil | 28/11/10 | 11,06 | 5,89 | 0,3172 |

(continúa)

| <i>(continuación)</i> | | | % respecto al testigo a la dosis comercial | | Diferencias CC vs NC (valor-p) |
|-----------------------|----------------------------------|---------------------|--|---------------------------|--------------------------------|
| Población | Herbicida | Fecha de aplicación | Condiciones Cultivadas | Condiciones No Cultivadas | |
| Fittipaldi | Pinoxaden | 28/11/10 | 12,32 | 6,8 | 0,4845 |
| Fittipaldi | pyroxsulam | 01/08/12 | 35,49 | 21,55 | 0,0644 |
| Huincahué | Fenoxaprop | 10/06/11 | 1,09 | 10,91 | 0,5943 |
| Km 17 | Imazamox | 04/08/12 | 31,24 | 21,2 | 0,8491 |
| Km 17 | Pinoxaden | 04/08/12 | 8,05 | 1,01 | 0,8348 |
| Km 17 | pyroxsulam | 04/08/12 | 15,11 | 21,55 | 0,252 |
| La Gauchita | Diclofop-metil | 17/08/10 | 93,07 | 84,26 | 0,1027 |
| La Gauchita | Imazamox | 10/08/12 | 24,48 | 17,54 | 0,0619 |
| La Gauchita | Mesosulfurón + metsulfuron-metil | 10/08/12 | 18,14 | 13,03 | 0,0791 |
| La Gauchita | pyroxsulam | 10/08/12 | 32,1 | 17,82 | 0,15 |
| La Legua | Fenoxaprop | 10/06/11 | 4,15 | 10,91 | 0,5943 |
| Médano Seco | Fenoxaprop | 26/11/09 | 66,32 | 52,4 | 0,1946 |
| Médano Seco | Fenoxaprop | 26/10/10 | 34,71 | 48,48 | 0,193 |
| Médano Seco | Imazamox | 10/08/12 | 19,75 | 17,54 | 0,0619 |
| Médano Seco | Mesosulfurón + metsulfuron-metil | 10/08/12 | 15,31 | 13,03 | 0,0791 |
| Médano Seco | Pinoxaden | 10/06/11 | 5,29 | 19,31 | 0,3354 |
| Médano Seco | pyroxsulam | 10/08/12 | 25,94 | 17,82 | 0,15 |
| Pailche Izquierdo | Fenoxaprop | 10/06/11 | 10,99 | 15,85 | 0,4021 |
| Pailche Izquierdo | Imazamox | 10/06/11 | 10,5 | 12,93 | 0,829 |
| Pailche Izquierdo | pyroxsulam | 10/06/11 | 19,39 | 20,64 | 0,7799 |
| Sacomano | Iodosulfurón + metsulfuron-metil | 22/08/11 | 15,4 | 16,22 | 0,7986 |
| Sacomano | Mesosulfurón + metsulfuron-metil | 22/08/11 | 13,13 | 13,28 | 0,966 |
| Sacomano | pyroxsulam | 22/08/11 | 10,7 | 11,25 | 0,86 |
| San José | Imazamox | 04/08/12 | 20,27 | 21,2 | 0,8491 |
| San José | Pinoxaden | 04/08/12 | 17,13 | 1,01 | 0,8348 |
| San José | pyroxsulam | 04/08/12 | 6,19 | 21,55 | 0,252 |
| Tupungato | Imazamox | 10/08/12 | 31,39 | 17,54 | 0,0619 |
| Tupungato | Iodosulfurón + metsulfuron-metil | 10/06/11 | 29,79 | 16,22 | 0,1394 |

(continúa)

| (continuación) | | | % respecto al testigo a la dosis comercial | | Diferencias CC vs NC (valor-p) |
|----------------|----------------------------------|---------------------|--|---------------------------|--------------------------------|
| Población | Herbicida | Fecha de aplicación | Condiciones Cultivadas | Condiciones No Cultivadas | |
| Tupungato | Mesosulfurón + metsulfuron-metil | 10/08/12 | 28,58 | 13,03 | 0,0791 |
| Tupungato | Pinoxaden | 10/06/11 | 6,41 | 19,31 | 0,3354 |
| Tupungato | pyroxsulam | 10/08/12 | 9,26 | 17,82 | 0,15 |

Tabla 3.5. Respuesta de dos poblaciones de *Avena fatua* L. a distintos herbicidas a una dosis dos veces la comercial, con la comparación entre plantas provenientes de condiciones cultivadas y condiciones no cultivadas. Estas poblaciones registraron diferencias significativas ($p < 0,05$) a la dosis comercial. La variable medida fue peso seco. El valor de significancia corresponde al análisis de varianza entre la procedencia de Condición Cultivada y su respectivo No Cultivado de cada experimento.

| | | | % respecto al testigo a 2 veces la dosis comercial | | Diferencias CC vs NC (valor-p) |
|------------|------------|---------------------|--|---------------------------|--------------------------------|
| Población | Herbicida | Fecha de aplicación | Condiciones Cultivadas | Condiciones No Cultivadas | |
| El Diez L6 | Fenoxaprop | 02/09/11 | 3,29 | 7,98 | 0,1572 |
| El Diez L6 | pyroxsulam | 02/09/11 | 5,12 | 1,29 | 0,1673 |

3.4.2. Dinámica de germinación bajo condiciones controladas

Cuando previo a la incubación se eliminan las cubiertas de las semillas y además fueron posmaduradas, se observaron diferencias en la dinámica de germinación entre las semillas provenientes de condiciones cultivadas y las provenientes de condiciones no cultivadas (NC). Cuando son incubadas a 12° constantes, en el 58% (7 de 12 poblaciones) la germinación acumulada final es similar (Figura 3.1). En otras tres poblaciones, semillas provenientes de condiciones no cultivadas alcanzan mayores porcentajes de germinación y en dos poblaciones las semillas provenientes de condiciones cultivadas germinan en mayor cantidad. Interesantemente, estas dos poblaciones fueron las que mostraron menor porcentaje de germinación. Cuando la temperatura de incubación fue de 20° constantes, en el 75% de las poblaciones (8 sobre 12 en total) las semillas provenientes de condiciones no cultivadas poseen mayor porcentaje de germinación final que las provenientes de condiciones cultivadas. En promedio, la germinación final fue menor que la registrada cuando se incubaron a 12°C (Figura 3.2). La estimación de la temperatura base, considerando la relación entre tasa de germinación y temperatura de incubación varió en un rango entre 3,65°C y 6,03°C.

Interesantemente, cuando se realizaron pruebas de germinación con poblaciones sin extracción de glumelas, no se observaron diferencias entre las distintas

procedencias. La germinación obtenida a 20°C fue similar a la lograda con las semillas posmaduradas y peladas (datos no presentados).

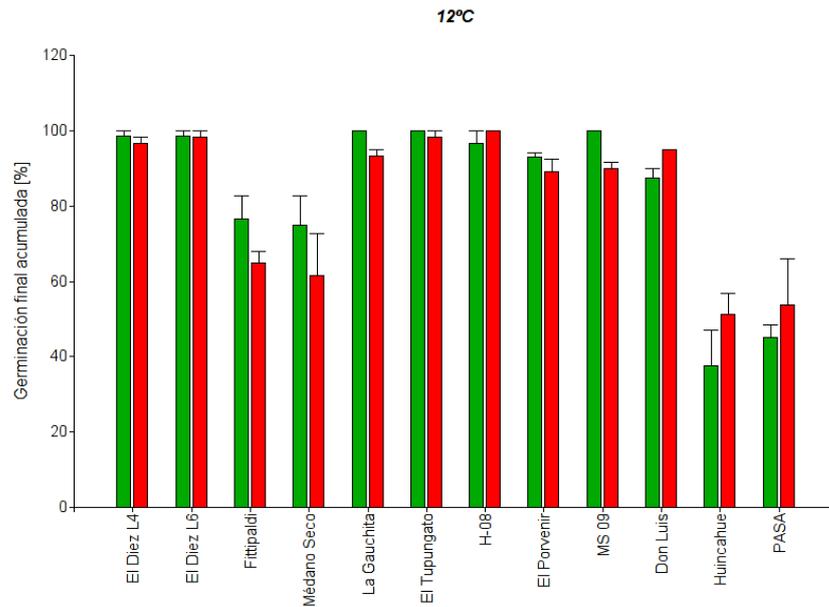


Figura 3.1. Germinación acumulada final para 12 poblaciones de *Avena fatua* L. Las semillas fueron quitadas de sus cubiertas (glumelas) e incubadas a 12°C durante 20 días. Barras rojas representan a las subpoblaciones provenientes de condiciones cultivadas; las barras verdes representan a las subpoblaciones provenientes de condiciones no cultivadas. Las barras de error corresponden al error estándar para cada tratamiento.

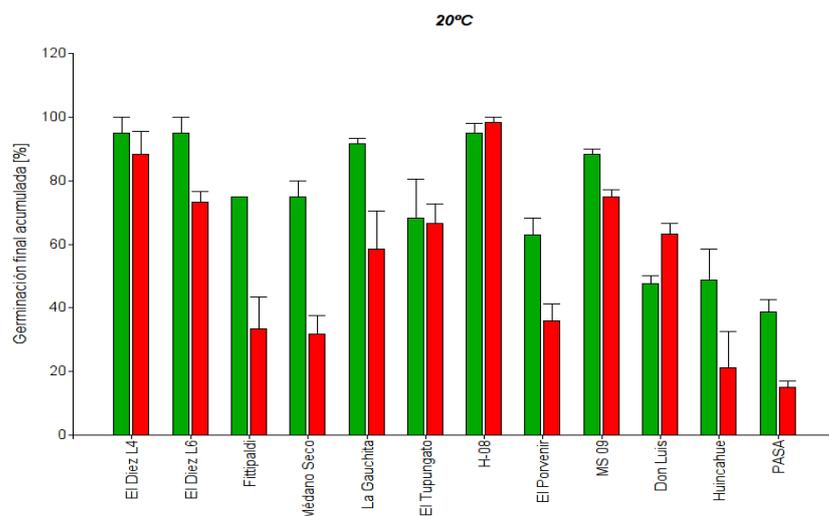


Figura 3.2. Germinación acumulada final para 12 poblaciones de *Avena fatua* L.. Las semillas fueron quitadas de sus cubiertas (glumelas) e incubadas a 20°C durante 20 días. Barras rojas representan a las subpoblaciones provenientes de condiciones cultivadas; las barras verdes representan a las subpoblaciones provenientes de condiciones no cultivadas. Las barras de error corresponden al error estándar para cada tratamiento.

En concordancia con los resultados anteriores, cuando se cuantificó la marcha diaria de la germinación en promedio de dos poblaciones procedentes de ambas condiciones, se registraron diferencias entre poblaciones sólo cuando fueron incubadas a 20°C (figura 3.3).

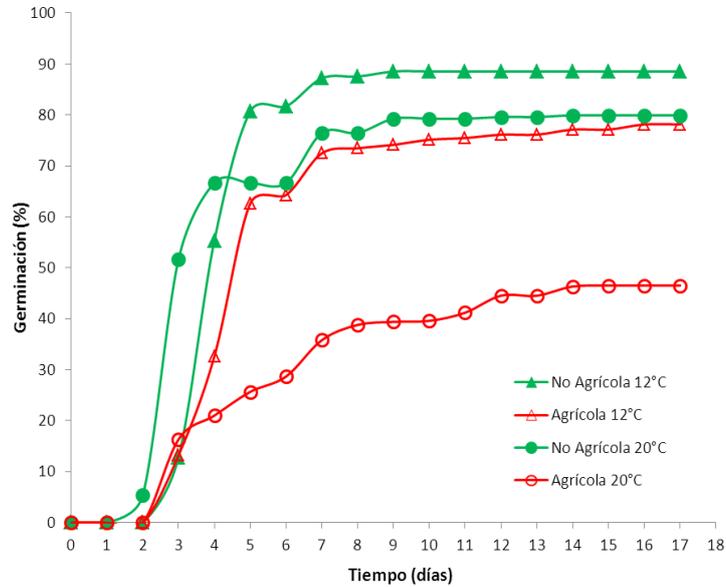


Figura 3.3. Germinación acumulada (%) del promedio de dos poblaciones representativas (La Gauchita y El Diez L6) procedentes de áreas no agrícolas y agrícolas, incubadas en dos regímenes térmicos (12°C y 20°C constantes).

3.4.3. Dinámica de germinación a campo

Las semillas procedentes de condiciones no cultivadas (NC) germinaron y emergieron anticipadamente y en mayor cantidad que las provenientes de condiciones cultivadas (CC). Durante el año 2011 las semillas NC registraron, a comienzos del otoño, flujos de emergencia superiores a semillas CC (figura 3.4) (fotografías 3.5 a y b). En la población Km 17 esta diferencia fue mayor que en la población Fittipaldi. Se registraron nuevas cohortes de semillas NC a mediados del otoño, en el segundo desentierro, pero también las semillas CC comenzaron a emerger en ese período. Los flujos de germinación cuantitativamente importantes continúan hasta fines del invierno, y luego a comienzos de la primavera estos flujos son marginales. En ambas poblaciones las semillas NC germinaron en mayor proporción que las semillas CC.

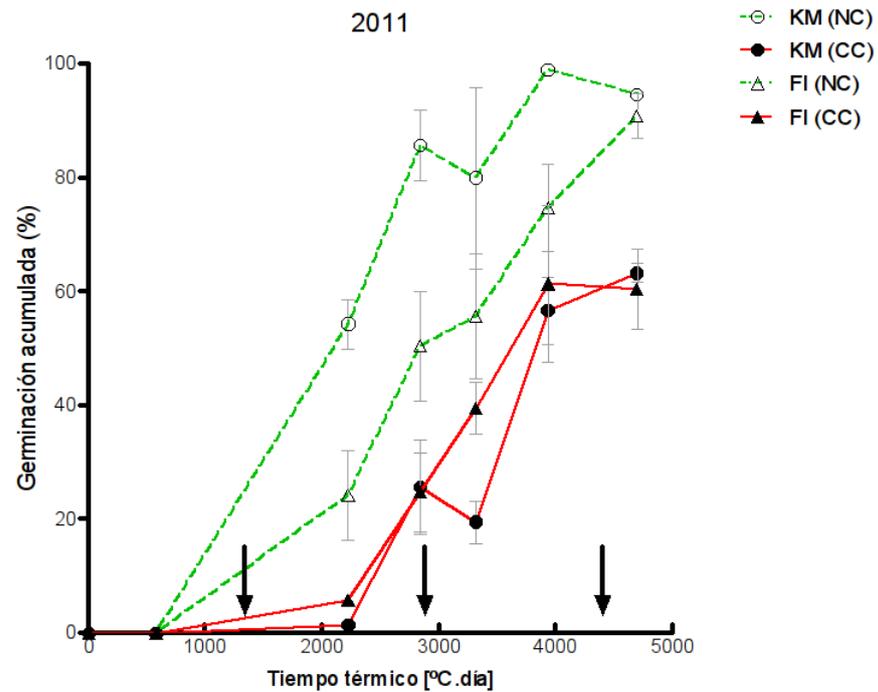


Figura 3.4. Germinación acumulada de dos poblaciones de *Avena fatua* L. durante el año 2011. Líneas rojas indican la procedencia de ambientes de cultivo; líneas verdes indican procedencia de situaciones no cultivadas. Las flechas marcan el comienzo del otoño, invierno y primavera respectivamente. KM: población Km.17; FI: población Fittipaldi. Las barras de error representan el error estándar.



Fotografías 3.5. a) y b) Vista del experimento de germinación a campo al 27/05/2011. Banderillas verdes indican procedencias de sitios no cultivados y banderillas rojas indican procedencias de sitio cultivados. Nótese las plantas de avena emergidas en las banderillas verdes.

Durante el año 2012 el patrón de germinación registrado fue similar al de 2011. No obstante se registró germinación de semillas de lote (CC) desde el primer desentierro, aunque nunca superando el 20%, mientras las semillas NC ya habían superado el 50% en ese momento (Figura 3.5). Las semillas NC de la población Stella Maris parecen tener dos flujos de germinación en dos momentos diferentes, una a comienzos del otoño y otro a mediados del invierno. Las semillas NC siempre germinaron más que las semillas CC, y este patrón se registró independientemente del sitio de entierro de las semillas.

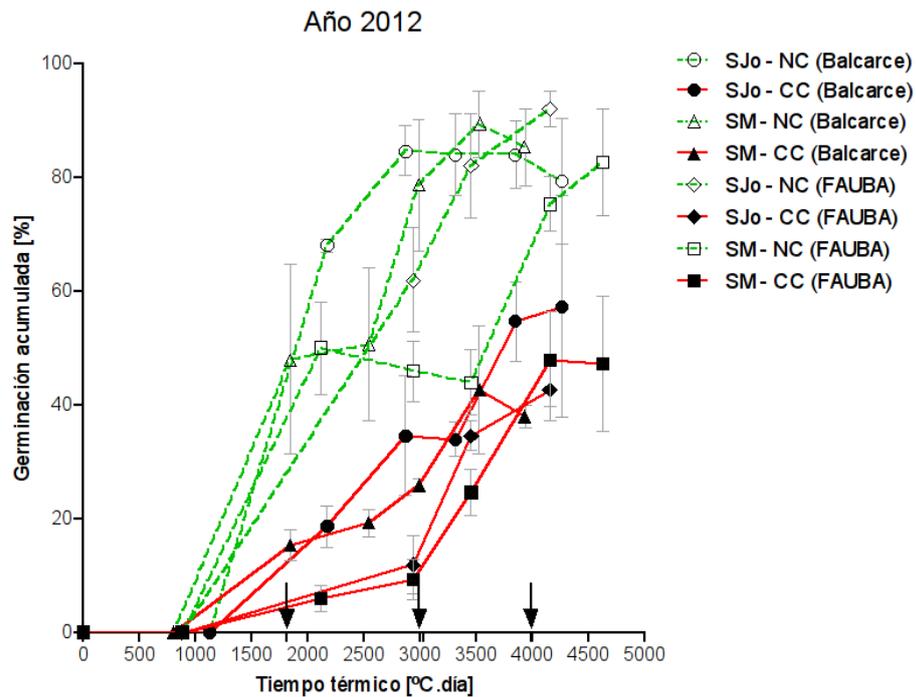


Figura 3.5. Germinación acumulada de dos poblaciones de *Avena fatua* L. durante el año 2012. Líneas rojas indican la procedencia de ambientes de cultivo; líneas verdes indican procedencia de situaciones no cultivadas. Las flechas marcan el comienzo del otoño, invierno y primavera respectivamente. Sjo y SM: poblaciones de avena fatua. Las barras de error representan el error estándar.

3.4.4. Dinámica de germinación en la progenie de semillas de diferente procedencia.

La progenie de individuos que habían crecido en condiciones sin cultivo, generó semillas con mayor germinabilidad que la progenie de individuos que habían crecido en condiciones con cultivo. El ambiente de maduración simuló condiciones sin cultivo (NC) y fue similar para ambos procedencias. (figura 3.6). Esto se puede observar en el primer desentierro, con un 78,6% de germinación para las semillas hijas de semillas NC versus un 54,6% de las semillas hijas de semillas CC. El mayor flujo de germinación se observó en el primer desentierro. Posteriormente, las semillas hijas de semillas CC tienen flujos de germinación menores a un 10% observados en el segundo y tercer desentierro. Las semillas hijas de semillas NC presentan otro flujo de germinación en el tercer desentierro de sólo 8%.

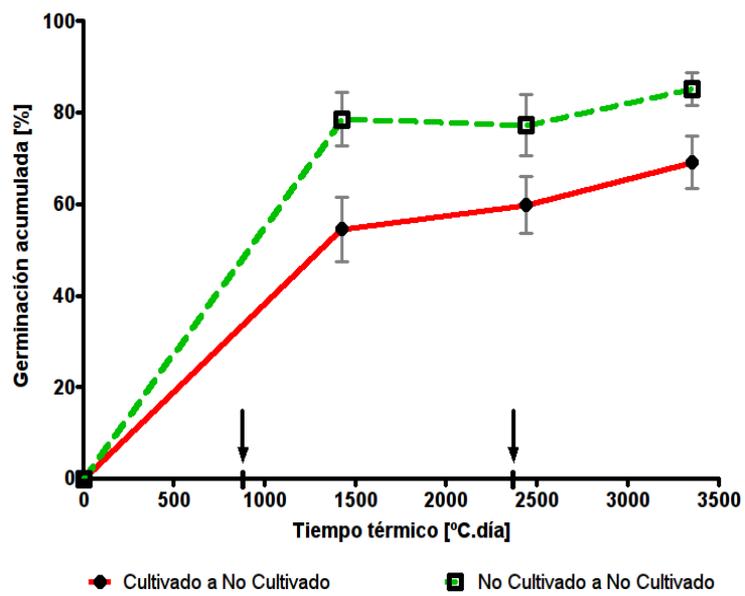


Figura 3.6. Dinámica de germinación a campo de la progenie de individuos de *Avena fatua* L. que han crecido en ambiente no cultivado, provenientes de semillas recolectadas en ambientes cultivados (líneas rojas) y no cultivados (líneas verdes). Las barras de error representan el error estándar.

3.5. Discusión

En el presente capítulo quedó evidenciado que ninguna de las poblaciones de *Avena fatua* L. estudiada en su respuesta a los herbicidas que se había utilizado para su control mostró sensibilidad diferente a otras que no habían sido tratadas por herbicidas (tabla 3.3), comprobándose de este modo que dichas poblaciones no pueden considerarse resistentes a ninguno de los herbicidas probados. En consecuencia, la evidencia experimental permite **rechazar la primer hipótesis** planteada, concluyendo que en este caso la mayor supervivencia a herbicidas no es el proceso demográfico que explica la persistencia de individuos de *Avena fatua* en cultivos de trigo y cebada del sur de Buenos Aires.

Trabajos metodológicamente similares pero a mayor escala, fueron realizados en Australia (Owen & Powles, 2009). Estos autores encontraron que el herbicida con mayor cantidad de poblaciones resistentes fue Diclofop-metil, con 103 lotes sobre 150 probados. Fenoxaprop y Sethoxydim también mostraron casos de resistencia, aunque en menor proporción, con aproximadamente un 23% de los lotes para ambos herbicidas. No se registró resistencia a glifosato ni a herbicidas inhibidores de la enzima ALS. Mas allá que los casos de resistencia fueron sobre herbicidas inhibidores de la ACCasa, la resistencia al herbicida pinoxaden fue muy escasa, registrándose en solo 4 poblaciones sobre 147 lotes (Owen & Powles, 2009). Coincidentemente, en los resultados obtenidos en la presente tesis, el herbicida pinoxaden fue el que mejor controló las poblaciones de *A. fatua* y tampoco se registraron casos de resistencia a herbicidas inhibidores de la ALS. En el año 2010 se declaró en el Partido de Cnel. Dorrego, un caso de *A. fatua* resistente a herbicidas inhibidores de la enzima ACCasa en cultivos de trigo y cebada (Vigna *et al.*, 2011; Heap, 2016). La resistencia cruzada se halló con los herbicidas clodinafop-propargyl, diclofop-methyl, y fenoxaprop-P-ethyl. No obstante, este no fue el caso en las poblaciones estudiadas pertenecientes al partido de Azul, Necochea, Gral. Pueyrredón y Tres Arroyos.

Tal como se describió anteriormente, la presencia de individuos de *Avena fatua* en precosecha de cultivos de trigo, se explica entonces mediante otro proceso demográfico distinto a la supervivencia a herbicidas. En el caso particular del presente trabajo, las semillas producidas en condiciones sin cultivo presentan menor nivel de dormición, representado en un mayor porcentaje de germinación en ambos regímenes térmicos estudiados, respecto a las semillas producidas en condiciones de cultivo. La dormición es una característica cuantitativa en escala poblacional. Cuanto más amplio es el rango de condiciones en las que la germinación ocurre, menor es el estado de dormición de la población y viceversa. Por lo tanto, los cambios en el nivel de dormición pueden ser cuantificados a través de la determinación del rango de condiciones ambientales que permiten la germinación de las semillas (Benech-Arnold *et al.*, 2000).

La diferencia de dormición entre las distintas procedencias quedó evidenciada en los estudios realizados a campo, en el cual se registraron diferencias en el tiempo térmico para alcanzar niveles de germinación del 50 %. Coincidentemente con los

resultados presentados, Hilgenfeld *et al.*, (2004a,b) y Scursioni *et al.*, (2007b) probaron que la dinámica de emergencia de individuos de *Chenopodium album*, *Ipomoea spp* y *Amaranthus sp.* en cultivos de soja, fue lo que explicó su presencia en precosecha del cultivo. Más allá de la diferencia entre germinación y emergencia, el patrón temporal de dichos procesos es lo que define el mayor éxito en términos de escape al herbicida. Es decir que estos casos podrían interpretarse como selectividad funcional al herbicida mediada por atributos fenológicos.

El ambiente de las condiciones no cultivadas es de mayor diversidad de especies, alta competencia y menor disponibilidad de sitios para el establecimiento de nuevos individuos. Se puede especular que el bajo nivel de dormición de las semillas en dichos ambientes es una estrategia que garantiza exitosamente el establecimiento. En cambio, un ambiente de cultivo está caracterizado por disturbios ocasionados por labores y manejo que suelen ser repetidos año tras año, sobre todo en lotes donde no se practica la rotación de cultivos. El período de barbecho, el cultivo elegido, la fecha de siembra, la oportunidad y tipo de labores y el control con herbicidas suelen ser decisiones que se repiten en el mismo momento o similares lo largo del tiempo. De este modo, se puede interpretar como una estrategia conveniente el ajuste del momento de la germinación/emergencia para que una maleza se establezca exitosamente en condiciones de cultivo.

Interesantemente, cuando semillas procedentes de áreas cultivadas fueron establecidas y crecieron en áreas sin cultivo, las diferencias siguieron manteniéndose (figura 3.6). Estos resultados demuestran que el efecto materno, entendido como la incidencia del ambiente de maduración de las semillas en la dormición primaria (Fenner, 1991), tuvo menos relevancia que la base inherente a la composición genética de las diferentes poblaciones (No cultivado y Condición cultivada).

En síntesis, a partir de los resultados obtenidos en los experimentos de germinación, tanto en condiciones controladas como de campo, se **aceptan ambas hipótesis (ii) y (iii)** concluyendo que en *Avena fatua*, el estado fisiológico de las semillas expresado en el nivel de dormición de las mismas fue jerárquicamente más importante que la supervivencia a herbicidas para favorecer la persistencia de la especie en sistemas de cultivos de trigo, interpretándose como un mecanismo funcional ecológico de supervivencia, sin selección mediante herbicidas en áreas cultivadas y posiblemente heredable.

Capítulo 4

Diferencias en la sensibilidad a herbicidas de *Lolium multiflorum*

Lam. (Raigrás)

Capítulo 4

Diferencias en la sensibilidad a herbicidas de *Lolium multiflorum* Lam. (Raigrás)

4.1. Introducción

El raigrás anual (*Lolium multiflorum* Lam.) es una especie de la familia de las poáceas (antiguamente graminæ). Es originaria de las zonas templadas de Asia, Europa y norte de África (Cabrera & Zardini, 1978). En la Argentina comenzó a difundirse como especie forrajera a principios de siglo XX (Maddaloni & Ferrari, 2001).

Gracias a su plasticidad y comportamiento como especie colonizadora, en el SO y Sur de Buenos Aires puede establecerse en distintos tipos de manejo del suelo (Cabrera & Zardini, 1978), incluyendo siembra convencional, siembra directa o bien pasturas cultivadas o naturales ('Instituto de Botánica Darwinion', 2015; Marzocca, 1976). La gran aptitud forrajera hizo que tradicionalmente no se la considere como un problema para la agricultura en los sistemas mixtos. Los productores antiguamente agregaban en la sembradora junto con el trigo pequeñas cantidades de semillas obtenidas de la limpieza de la cosecha del año anterior, para asegurar en el rastrojo del próximo año la disponibilidad de pasto espontáneo. A lo largo de los años se han introducido cultivares comerciales de raigrás desde el extranjero, además de la histórica inclusión de *Lolium perenne* en pasturas polifíticas (Vigna *et al.*, 2013).

En el SO-S de Buenos Aires, el cambio en la visión de *Lolium multiflorum* de especie benéfica a maleza, comenzó a medida que se incrementó la actividad agrícola en los sistemas productivos. La agricultura en esta región está basada preponderantemente en el cultivo de trigo, registrándose un crecimiento sostenido en la superficie de cebada cervecera desde mediados de la década de 1980 (Vigna, 2008). Como maleza, está frecuentemente asociada a los cultivos de trigo y cebada cervecera (Catullo *et al.*, 1983). También puede ser una complicación en los barbechos para siembras tempranas de cultivos de verano, sobre todo si se registran fallas con los herbicidas aplicados. (Scursoni *et al.*, 2012) registraron pérdidas del 20% del rendimiento en cultivos de trigo cuando la densidad del raigrás fue de 100 pl/m². Asimismo, en Estados Unidos se han calculado pérdidas del orden del 5% cuando la densidad es de 10 plantas/m² (Bailey & Wilson, 2003).

Los herbicidas post-emergentes utilizados frecuentemente para el control de raigrás en trigo y cebada cervecera pertenecen a dos mecanismos de acción: inhibidores de la enzima ACCasa e inhibidores de la enzima ALS. Dentro del primer grupo actualmente se utiliza el pinoxaden mientras que dentro del segundo grupo Iodosulfuron+mesosulfuron, pyroxsulam+metsulfuron y flucarbazone, este último solo en cultivos de trigo. Además de los mencionados puede utilizarse el imazamox, inhibidor de la enzima ALS, en trigos tolerantes a este grupo de herbicidas (Imidazolinonas). Además de la presencia en cultivos, esta especie resulta problemática en el período de barbecho, debido al registro de diferentes casos con resistencia a glifosato. En estas condiciones, el control más frecuente se realiza con cletodim y en

menor escala con haloxyfop-metil, ambos inhibidores de la ACCasa (López *et al.*, 2008).

El raigrás anual es la especie más importante a nivel mundial, considerando el total de casos de resistencia registrados. Según Heap (2016) se ha registrado resistencia a 12 y 7 sitios de acción en *Lolium rigidum* y *Lolium multiflorum*, respectivamente. En esta última, se encuentran registrados un total de 58 casos en 12 países, correspondiendo aproximadamente el 50% a los Estados Unidos. En la Argentina se registraron 3 casos de resistencia: a glifosato, a inhibidores de la ACCasa y múltiple (glifosato e inhibidores de la ALS). Diez de Ulzurum y otros en el año 2007 registró poblaciones resistentes a glifosato en el sur de Buenos Aires (Heap, 2016). En el año 2009, Vigna registró poblaciones con resistencia a inhibidores de la ACCasa y por último en el año 2010 Diez de Ulzurum *et al* registraron poblaciones con resistencia múltiple (Heap 2016). En el sur de la Provincia de Buenos Aires los problemas de poblaciones de raigrás (*Lolium* spp.) con baja sensibilidad a glifosato han concentrado la atención de los productores agropecuarios y los profesionales del área (Vigna *et al.*, 2011, 2013; Istilart *et al.*, 2015). En los censos realizados en el presente estudio, se identificó una población de raigrás persistente en un establecimiento del partido de Necochea (Figura 2.3). Dicha persistencia a lo largo del ciclo del cultivo, podría explicarse por (i) supervivencia a los herbicidas o (ii) emergencia posterior al momento de aplicación de los mismos.

El fitness o adaptabilidad ecológica (supervivencia x fecundidad) (Sou Sheng *et al.*, 2015) es un atributo ecológico importante debido a que establece no solo la proporción de individuos que sobreviven a la acción del herbicida, sino también la contribución de estos individuos a la siguiente generación (Neve *et al.*, 2009). La extensa mayoría de los trabajos revisados basan sus estimaciones en variables de supervivencia (DL50), crecimiento (ED50 o GR50) o actividad enzimática (I50). Estas variables son una medida fisiológica de la resistencia y proveen conocimiento acerca del efecto inmediato del herbicida (Neve *et al.*, 2009). No obstante, a pesar de su importancia en la evolución de la resistencia pocos trabajos en la literatura reportan la producción de semillas en la respuesta a herbicidas (Beckie & Morrison, 1993a,b; Wang *et al.*, 2010; Sou Sheng *et al.*, 2015).

Respecto a estudios fenológicos comparando biotipos con distinta respuesta a herbicidas, existen antecedentes que muestran menor tiempo a floración ligados a casos de resistencia. *Setaria viridis* resistente al herbicida sethoxydim (inhibidor de la ACCasa), creciendo en competencia con la población susceptible, mostró menor tiempo a floración, mayor número de macollos y plantas de mayor altura (Wang & Darmency, 1997). Esto otorgó mejor fitness a través de una mayor fecundidad, hecho que no sucede en otras especies que poseen la misma mutación (Wang *et al.*, 2010). En otro trabajo, poblaciones de *Chenopodium album* con bajos niveles de resistencia a glifosato (IR < 2), registraron menor tiempo a floración comparado con la población susceptible (Westhoven *et al.*, 2008). Resultados similares se registraron en *Conyza canadiensis*, donde el genotipo resistente a glifosato mostró una mayor tasa de desarrollo que el genotipo susceptible a pesar que ambos alcanzaron el estado de roseta al mismo tiempo (Shrestha *et al.*, 2010). El conocimiento de la fenología de las malezas y particularmente

de biotipos resistentes, es un campo a explorar y que podría aportar fundamentos para el manejo de los mismos incorporando prácticas agronómicas que se combinen con el uso de herbicidas.

4.1.1. Hipótesis y objetivos

En este marco se plantearon las siguientes **hipótesis**:

- i) Individuos provenientes de semillas obtenidas en precosecha del cultivo (condiciones de cultivo) poseen menor sensibilidad a los herbicidas habitualmente utilizados para su control.
- ii) Individuos que difieren en la sensibilidad a los herbicidas difieren en atributos fenológicos tales como desarrollo morfológico (filocrono y número de hojas) y desarrollo fásico (tiempo a floración) así como en el estado fisiológico de las semillas (germinabilidad).

De acuerdo con las hipótesis descriptas se plantearon los siguientes **objetivos**:

- i) Evaluar supervivencia y fecundidad de la población persistente de *Lolium multiflorum* Lam. a herbicidas habitualmente utilizados para su control contrastándola con una población de reconocida susceptibilidad.
- ii) Evaluar la fecundidad de la población persistente en comparación con una población conocida como susceptible.
- iii) Estudiar los procesos de germinación, desarrollo morfológico (filocrono) y desarrollo fásico de la población persistente en comparación con una población conocida como susceptible.

4.2. Materiales y Métodos

4.2.1. Método experimental

Se utilizó una población de raigrás anual (*Lolium multiflorum*) proveniente de un lote de trigo ubicado en el partido de Necochea. En dicho lote había sido identificada durante los censos una población persistente de raigrás (ver capítulo 2). Particularmente, la frecuencia de esta maleza dentro de ese lote fue del 33% en pre-aplicación de herbicidas y del 60% en cosecha. En pos-emergencia se había aplicado el herbicida prosulfurón 7,5 g.p.a./Ha + triasulfurón 7,5 g.p.a./Ha + dicamba 87,5 g.p.a./Ha (sulfonilureas más reguladores del crecimiento) (marca comercial Peak Pack). El anterior cultivo en la rotación también había sido trigo, tratado con herbicidas del grupo de las sulfonilureas (inhibidores de la ALS).

Como referencia se utilizó una población de raigrás anual recolectada de un sitio vecino, de ambiente no cultivado, que mostró en ensayos previos poseer sensibilidad a los herbicidas glifosato, inhibidores de la ALS e inhibidores de la ACCasa.

Las semillas se incubaron en cámara en un régimen de temperaturas alternadas (20-30°C), en cajas germinadoras de plástico transparente con papel de filtro en su interior y sin limitación de agua, hasta obtener plántulas con una plúmula de aproximadamente 2 cm de largo. Luego, las mismas fueron implantadas en macetas de 2,3 litros y 14 cm de diámetro, en una mezcla 1:1 de tierra negra y arena fina más un 10% (volumen) de perlita. La fertilización fue incorporada a la mezcla del sustrato, y consistió en el equivalente a 100 kg/Ha de fosfato diamónico (PDA) y 120 kg/Ha de urea granulada. Durante los primeros diez días las macetas estuvieron dentro de invernáculo, con el objeto de asegurar el éxito de la implantación. Al onceavo día se colocaron en el sitio definitivo al aire libre por el resto del experimento.

Se detallan las condiciones de temperatura y precipitación que exploraron las plantas para cada año en las figuras 4.1a, b, c y d.

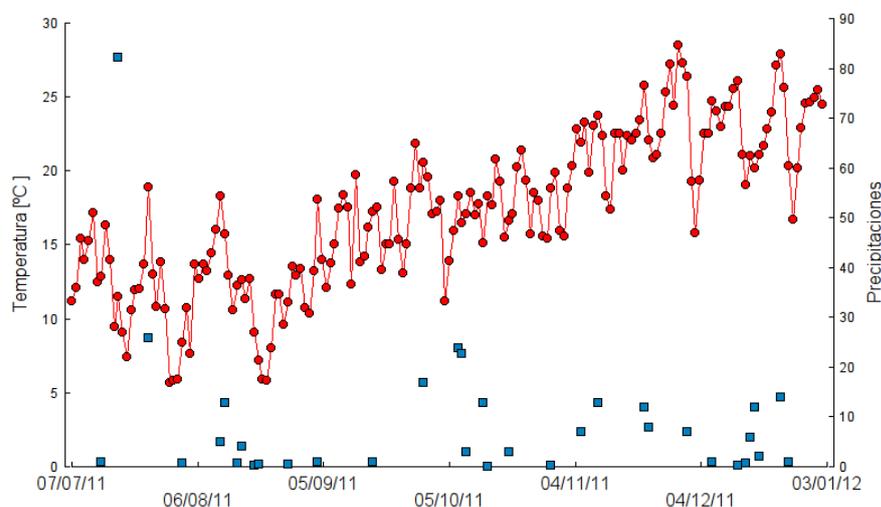


Figura 4.1a) Temperatura (rojo) y precipitaciones (azul) durante el año 2011

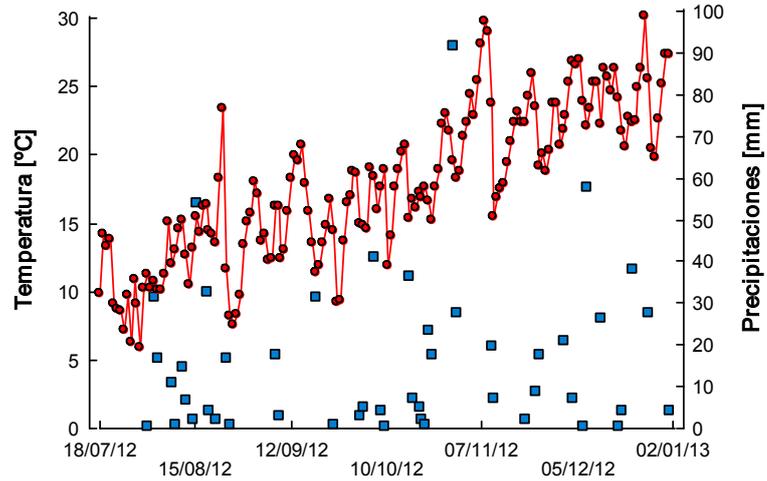


Figura 4.1.b) Temperatura (rojo) y precipitaciones (azul) durante el año 2012

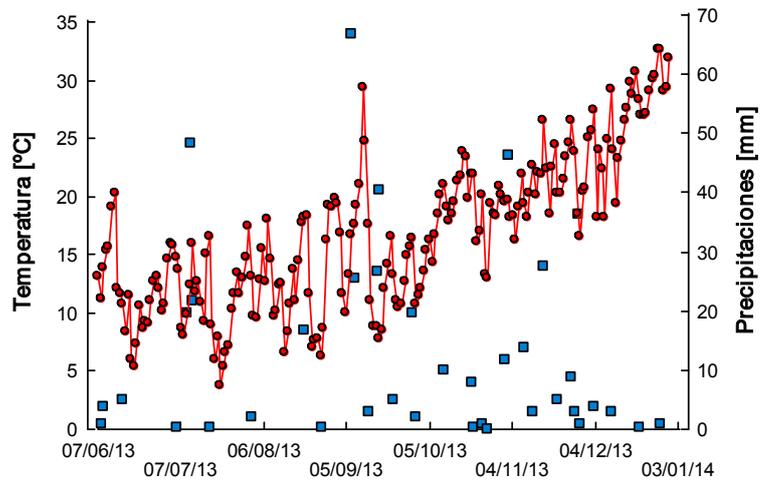


Figura 4.1.c) Temperatura (rojo) y precipitaciones (azul) durante el año 2013

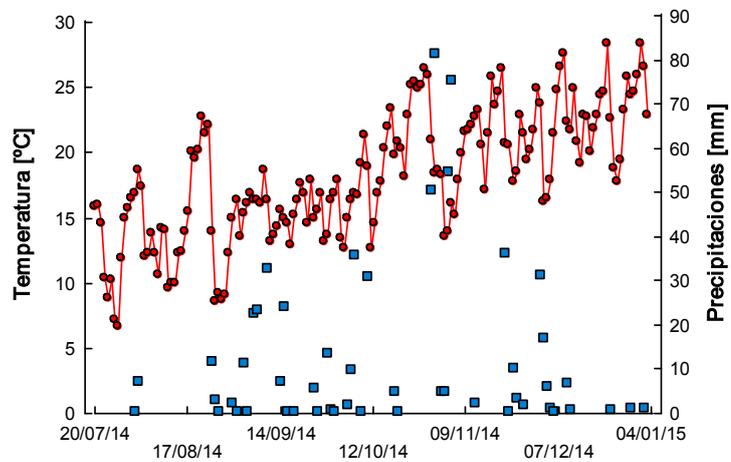
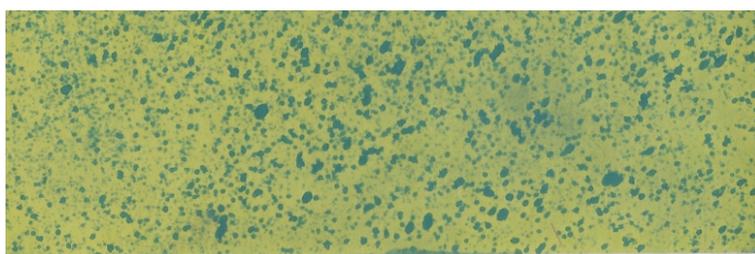


Figura 4.1.d) Temperatura (rojo) y precipitaciones (azul) durante el año 2014

Las aplicaciones de los herbicidas se realizaron con equipo de mochila de CO₂ a presión constante, marca Fuminor (R) cuyo botalón posee 4 picos. Se utilizaron pastillas de abanico plano marca TeeJet (R) n° 80015, obteniendo una cobertura aproximada de 20-30% (fotografía 4.1). La presión de trabajo fue de 40 lb/pulg² constantes (2,7579 bares) y el caudal de aplicación se aproximó en todos los experimentos a 120 l/ha, ajustando la velocidad del aplicador cuando fue necesario. El número de impactos fue aproximadamente de 40 gotas/cm². En todos los casos, las aplicaciones se realizaron a partir de la media mañana para evitar problemas con la humedad del rocío nocturno, y se procuró que los días de aplicación fueran calmos en cuanto a la velocidad del viento. Los herbicidas se aplicaron en el estado de tres hojas expandidas de la maleza (Z13, Zadocks et al 1974), salvo en 2011 donde también se aplicó en el estado de dos macollos (Z22) (fotografías 4.2.a. y b).



Fotografía 4.1: Tarjeta hidrosensible utilizada en un experimento en el año 2014. La cobertura es de 22,4%.



Fotografías 4.2.a. y b. Vista de los estados de tres hojas (a) y dos macollos (b) de las plantas en el día de aplicación en el año 2011.

En todos los experimentos se aplicó en forma preventiva, fungicida azoxistrobina al 25% p/v (Amistar ®) en un equivalente de 0,3 litros/ha. Ante la aparición de pulgones se aplicó insecticida dimetoato al 37,6% p/v (Mamboretá D ®). Ante la aparición de cualquier otro insecto se aplicó cipermetrina al 25% p/v (marca genérica). En ningún caso se vió afectada el área foliar en más de un 5%.

Para la evaluación de supervivencia, se consideró la proporción de plantas dentro de cada maceta que se encontraban vivas, considerando como viva a toda aquella planta que presentó parte de tejido verde. Por el contrario, aquellas que presentaron total biomasa seca fueron consideradas muertas. Para la medición del peso seco, se cortó al

ras del suelo una planta viva de cada maceta, y se dejó secar en estufa durante 48 horas. En las macetas donde no hubo plantas vivas, el peso seco se registró con el valor de 0 gramos/planta. Para la medición de la fecundidad, se cosecharon las plantas al final de su ciclo, estableciendo el peso de 100 semillas y obteniendo luego en relación al peso cosechado el total de semillas presentes.

Para la caracterización del filocrono, se seleccionaron 10 individuos de cada procedencia. El filocrono es el tiempo térmico (TT) transcurrido entre la aparición de dos hojas consecutivas. Se consideró aparecida a aquella hoja que estuviera totalmente expandida, es decir, presentara lígula visible. Se registró la temperatura media diaria con la estación meteorológica presente en el campo experimental de FAUBA. Con la acumulación de las mismas se obtuvo el tiempo térmico según la fórmula 4.1.

$$TT = \sum (T_m - T_b) \times n \quad (\text{fórmula 4.1})$$

Donde TT es el tiempo térmico, T_m es la temperatura media diaria, T_b es la temperatura base y n es el número de días transcurridos.

El tiempo térmico a floración se calculó con la fórmula 4.1, desde el momento de implantación hasta la floración, considerando una temperatura base de 0°C. Asimismo, para cuantificar el efecto de la temperatura post-aplicación en la respuesta al herbicida se cuantificó el tiempo térmico durante 61 días posteriores a la aplicación.

4.2.2. Experimentos de dosis respuesta

4.2.2.1 Año 2011

Se aplicaron los herbicidas pyroxsulam (marca comercial Merit ®, Dow Agrosiences), imazamox (marca comercial Trigol ®, Basf), y pinoxaden (marca comercial Axial ®, Syngenta). Se aplicaron sobre dos estados de crecimiento de la maleza, tres hojas y dos macollos (fotografías 4.2.a. y b.). Las dosis de pyroxsulam fueron 0, 9, 13,5, 18 y 27 g.p.a./ha equivalentes a un rango de entre 0 y 1,5 veces la dosis comercial. Las dosis de imazamox fueron 0, 35, 52,5, 70 y 105 g.p.a/ha, equivalentes a un rango de entre 0 y 1,5 veces la dosis comercial. Las dosis de pinoxaden fueron 0, 20, 30, 40 y 60 g.p.a/ha, equivalentes a un rango de entre 0 y 1,5 veces la dosis comercial. Por cada dosis hubo 5 repeticiones y cada repetición contó con 4 plantas.

Al momento de floración, las plantas se colocaron dentro de protecciones de polietileno, agrupadas por tratamientos, para asegurar que el cruzamiento sea entre plantas de la misma población y dosis, y evitar a su vez el flujo de polen con plantas de raigrás anual silvestre. Las macetas se retiraron de los aislamientos a medida que fueron fructificando. Se cosecharon las semillas al final de su ciclo y las sobrevivientes al tratamiento con pyroxsulam aplicado sobre tres hojas, se clasificaron según la dosis: (i) dosis testigo (las cosechadas de las dosis cero), (ii) dosis subletales (las cosechadas de la dosis de 9 y 13,5 g.p.a/ha) y (iii) dosis altas (las cosechadas de las dosis de 18 y 27 g.p.a./ha).

Se midieron las variables supervivencia y fecundidad. Las fechas en que fueron realizadas las tareas experimentales se detallan en la tabla 4.1.

Tabla 4.1. Listado con las fechas en que se llevaron a cabo las principales tareas de los experimentos con raigrás anual realizados durante el año 2011.

| Tarea | Fecha |
|--|---------------------|
| Incubación de semillas para 2 macollos | 22/06/2011 |
| Implantación para 2 macollos | 01/07/2011 |
| Colocación en campo para 2 macollos | 07/07/2011 |
| Incubación de semillas para 3 hojas | 13/07/2011 |
| Implantación para 3 hojas | 21/07/2011 |
| Colocación en campo para 3 hojas | 28/07/2011 |
| Aplicación de herbicidas | 15/08/2011 |
| Cosecha | Noviembre-Diciembre |

4.2.2.2. Año 2012

Se realizaron dos experimentos. En el primero se aplicó glifosato (marca comercial Panzer Gold®, Dow AgroSciences) en el rango de dosis de 0 - 240 - 480 - 960 - 1920 gramos de equivalente ácido/ha, que representa entre 0 y 2 veces la dosis comercial. Para cada dosis, se utilizaron cinco repeticiones y en cada repetición (maceta) hubo 4 plantas. La variable registrada fue peso seco, a los 30 días de la aplicación del herbicida.

En el segundo experimento se aplicó nuevamente pyroxsulam. La fecha de aplicación del herbicida fue más tardía que lo habitual para la zona (fecha 04/10/2012). Las dosis aplicadas fueron 0-4,5-9-18-36-54-72-144 g.p.a./ha, equivalentes a un rango de entre 0 y 8 veces la dosis comercial. Por cada dosis se emplearon cinco repeticiones y en cada repetición (maceta) hubo sólo dos plantas. Las fechas en que fueron realizadas las principales tareas se detallan en la tabla 4.2.

Tabla 4.2. Listado con las fechas en que se llevaron a cabo las principales tareas de los experimentos con raigrás anual realizados durante el año 2012.

| Tareas | Fechas 1° experimento | Fechas 2° experimento |
|-------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Incubación de semillas | 28/06/2012 | 29/08/2012 |
| Implantación | 07/07/2012 | 08/09/2012 |
| Plantas a campo | 18/07/2012 | 19/09/2012 |
| Aplicación de herbicidas | 11/08/2012 | 04/10/2012 |
| Muestreo (peso seco, supervivencia) | 10/09/2012 | 03/12/2012 |
| Cosecha | No | No |

4.2.2.3. Año 2013

Se utilizaron individuos de otro experimento realizado durante el año 2013 para registrar la fecha de floración de cada planta de las poblaciones L6 y Susceptible. Dichas plantas no recibieron aplicación de herbicidas. La fecha de implantación fue el 28/05/2013 y las plantas estuvieron a campo a partir del 07/06/2013.

4.2.2.4. Año 2014

Se realizaron dos experimentos con los herbicidas pyroxsulam y flucarbazone. Además de las poblaciones L6 y susceptible, se utilizaron las semillas cosechadas de L6 correspondientes a las dosis altas de pyroxsulam del año 2011 (en adelante L6-F1). Los herbicidas fueron aplicados en el estado de tres hojas expandidas. Las dosis de pyroxsulam aplicadas fueron 0, 4,5, 9, 18, 36, 72 y 180 g.p.a./ha, equivalentes a un rango de dosis de entre 0 y 10 veces la dosis comercial. Las dosis de flucarbazone fueron 0, 17,5, 35, 70, 140 g.p.a./ha equivalentes a un rango de dosis de entre 0 y 2 veces la dosis comercial. Para cada dosis se utilizaron cinco repeticiones y cada repetición contuvo 4 plantas. Se midió fecundidad y supervivencia y se registró la fecha de floración de cada planta. Las fechas en que fueron realizadas las tareas se detallan en la tabla 4.3.

Tabla 4.3. Listado con las fechas en que se llevaron a cabo las principales tareas de los experimentos con pyroxsulam y flucarbazone realizados durante el año 2014.

| Tareas | Fecha |
|--------------------------|---------------------|
| Incubación | 01/07/2014 |
| Implantación | 10/07/2014 |
| Colocación a campo | 20/07/2014 |
| Aplicación de herbicidas | 11/08/2014 |
| Cosecha | Noviembre-Diciembre |

4.2.3. Respuesta a la germinación de la población L6 y susceptible

Se probó la respuesta en germinación de las dos poblaciones, L6 y susceptible. Se utilizaron 20 semillas por caja de Petri con papel filtro, con 3 repeticiones por tratamiento en un diseño completamente aleatorizado. Las temperaturas utilizadas para la incubación fueron 5°C, 12°C y 20°C y durante 30 días se registró la germinación. A todas las semillas que no germinaron se les realizó test de viabilidad mediante reacción con Cloruro de Tetrazolio.

4.2.4. Análisis

A partir de los resultados de supervivencia y fecundidad individual, se calculó el fitness como el producto entre ambos (Sou Sheng *et al.*, 2015). La supervivencia, fecundidad individual y el fitness en la dosis testigo (o dosis cero: no aplicación de herbicida) se promediaron y se utilizaron como valor de referencia para relativizar el resto de los valores.

Para la estimación de las dosis letales (DL50, estimadas con la variable supervivencia) o efectivas (ED50, estimadas con cualquier otra variable que no sea supervivencia) para el 50% de la población, se construyeron modelos de dosis respuesta mediante regresiones no lineales con cuatro parámetros. La expresión matemática de dichos modelos de respuesta y a una dosis x fue descrita en el capítulo 1 en la fórmula 1.2 (Seefeldt *et al.*, 1995).

Cuando la variable utilizada fue supervivencia, el modelo se ajustó con el valor 100 como límite superior (equivale a admitir que no puede existir una supervivencia mayor al 100%) y el valor 0 como límite inferior (equivale a admitir que no puede haber supervivencia a dosis excesivamente altas). Para la variable fitness, los datos fueron relativizados solo para realizar la gráfica. Con cada modelo calculado se realizó una prueba de bondad de ajuste (lack-of-fit test), que consiste en comparar el modelo log-logístico de dosis respuesta con un análisis de varianza más general mediante un f-test aproximado para corroborar que describen adecuadamente los datos.

Los datos de fitness con el herbicida Imazamox se analizaron mediante un análisis de varianza entre los tratamientos (poblaciones) para cada dosis: 0, 35 y 70 g.p.a./Ha respectivamente. Esto debido a datos incompletos de fecundidad para el resto de las dosis.

Se calculo el índice de selectividad (SI), también llamado índice de resistencia (IR) como el cociente entre las dosis efectivas 50 de dos curvas de dosis respuesta que se comparan. Su expresión matemática es:

$$SI(x,y) = \frac{ED_x}{ED_y} \quad (\text{fórmula 4.2})$$

donde ED_x y ED_y son las dosis efectivas de las poblaciones x e y que se comparan. Para establecer si hubo diferencias significativas o no entre las curvas se probó la hipótesis nula que dicho índice fuera igual a 1 (ambas dosis efectivas son iguales); un

valor de probabilidad menor a 0,05 descarta esa hipótesis y establece que las diferencias son significativas y que también el SI (o IR) es válido.

Para establecer las diferencias entre los tiempos térmicos a floración entre las distintas poblaciones, se realizó un análisis de varianza completamente aleatorizado. Como prueba de separación de medias se realizó un test de Tukey.

Para estimar el filocrono y compararlo se realizó un análisis de regresión lineal mediante el software GraphPad Prism v.5 (GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com).

Los análisis se realizaron con el software estadístico R (R Core Team, 2013) con los paquetes drc (Ritz & Streibig, 2005) (construcción de los modelos de dosis respuesta), ggplot2 (gráficos) (Wickham, 2009) y agricolae (otros análisis) (Mendiburu, 2015).

4.3. Resultados

4.3.1. Respuesta al herbicida pyroxsulam de la población L6

En el primer experimento, realizado en el año 2011, la población de raigrás L6 fue significativamente menos sensible al herbicida pyroxsulam que la población susceptible, considerando la variable supervivencia (figura 4.2; tabla 4.4). El índice de selectividad en la DL50 fue de 2,14 cuando se aplicó sobre tres hojas de la maleza y 2,44 cuando se aplicó en inicio de macollaje (Z22) (Zadoks *et al.*, 1974). A su vez la población L6 fue menos sensible al herbicida cuando se aplicó sobre dos macollos respecto a la aplicación sobre tres hojas de la maleza. Sin embargo no hubo diferencias entre los momentos de aplicación en la población susceptible.

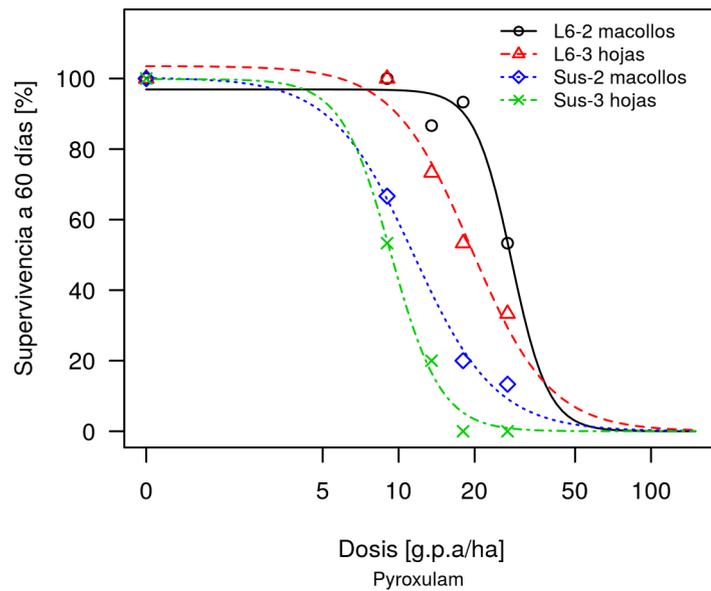


Figura 4.2. Modelos de dosis respuesta para la variable supervivencia a los 60 días de las poblaciones L6 y Susceptible para dos momentos de aplicación del herbicida pyroxsulam según dos estados fenológicos de la maleza, 2 macollos y 3 hojas.

Tabla 4.4. Parámetros estimados con la variable supervivencia de los modelos de regresión log-logístico de dosis respuesta para las poblaciones L6 y susceptible en dos momentos de aplicación del herbicida pyroxsulam, 3 hojas expandidas y dos macollos. DL50 es la dosis letal para el 50% de la población; el error estándar es el de la dosis letal estimada por el modelo; Dif. Signif. 50/50 indica si hay diferencias significativas ($p < 0,05$) según cociente estimado entre las DL50 de las diferentes poblaciones; b es un parámetro estimado del modelo con su correspondiente error estándar entre paréntesis (ver fórmula 1.2).

| | b | DL50 (g.p.a/Ha) | Error estándar | Dif. signif. 50/50 |
|-------------------------|--------------------|--------------------|----------------|-----------------------|
| L6 – 2 macollos | 4,48($\pm 1,05$) | 28,06 | 2,86 | a |
| L6 – 3 hojas | 2,94($\pm 0,81$) | 19,99 | 1,90 | b |
| Susceptible- 2 macollos | 2,68($\pm 0,88$) | 11,49 | 1,44 | c |
| Susceptible – 3 hojas | 4,40($\pm 1,57$) | 9,35 | 0,78 | c |

La fecundidad por planta en el promedio de todas las condiciones para la población L6 disminuyó en función del incremento de la dosis. Sin embargo, dicha reducción fue mayor en las plantas tratadas en tres hojas que en las tratadas en dos macollos. A las dosis de 27 g.p.a./Ha (equivalente a 1,5 veces la dosis comercial) la fecundidad se reduce a valores de un 60% y un 20% respecto al testigo, según sea sobre dos macollos o sobre 3 hojas. La fecundidad en promedio para L6 en la dosis testigo fue de 738 semillas/planta, y disminuyó en función del incremento de la dosis hasta 373 semillas/planta para la aplicación sobre 2 macollos y 213 semillas/planta para la aplicación sobre 3 hojas. La población susceptible solamente generó semillas a la mitad de la dosis comercial, habiéndose reducido respecto al testigo en un 60% y 68% para las aplicaciones en dos macollos y tres hojas respectivamente.

Considerando el fitness como la asociación entre los atributos reproductivos y la supervivencia, el índice de selectividad fue 2,94 para la aplicación sobre dos macollos. En la aplicación sobre 3 hojas el índice de selectividad para la población L6 fue de 1,66 y estadísticamente significativo ($p < 0,05$). El valor de ED50 para L6 fue de 13 g.p.a./Ha, inferior a la dosis comercial (tabla 4.5; figura 4.3). Sin embargo, la ED90 para las poblaciones L6 y susceptibles cuando se aplicó sobre tres hojas fue de 24,58 y 9,3 g.p.a./ha, respectivamente. Cuando se aplicó en dos macollos la ED90 de la población L6 fue de 33,25 g.p.a/ha y 9,57 g.p.a/ha para la población susceptible.

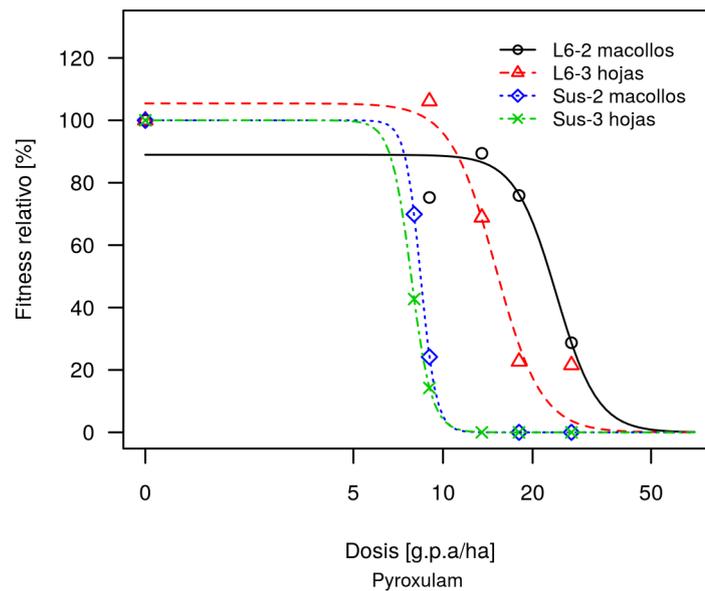


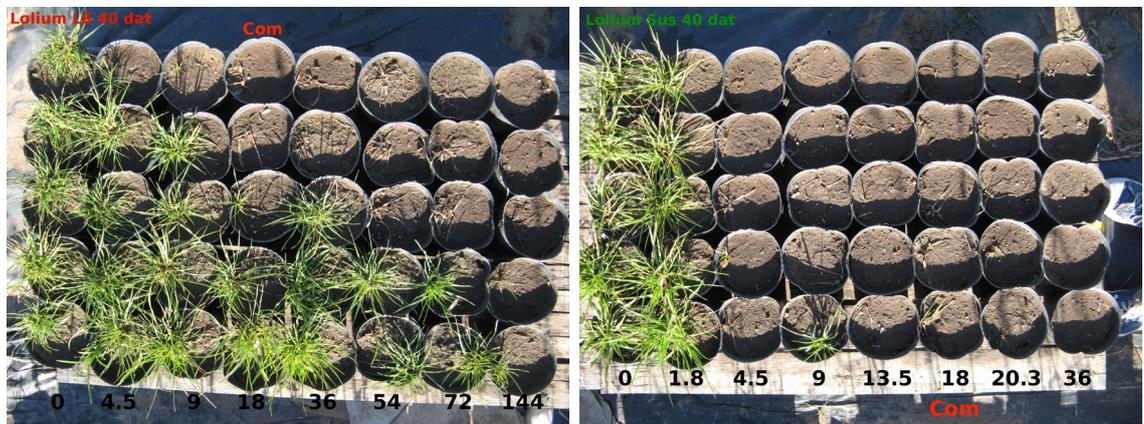
Figura 4.3. Modelos de dosis respuesta para la variable fitness (estimado como el producto de fecundidad/planta y porcentaje de supervivencia) de las poblaciones L6 y Susceptible para dos momentos de aplicación del herbicida pyroxulam según dos estados fenológicos de la maleza, 2 macollos y 3 hojas. Los valores estimados figuran en la tabla 4.5.

Tabla 4.5. Parámetros estimados con la variable fitness de los modelos de regresión log-logístico de dosis respuesta para las poblaciones L6 y susceptible en dos momentos de aplicación del herbicida pyroxulam, 3 hojas expandidas y dos macollos. ED50 es la dosis efectiva para el 50% de la población; el error estándar corresponde a la dosis estimada por el modelo; Dif. Signif. 50/50 indica si hay diferencias significativas ($p < 0,05$) según cociente estimado entre las ED50 de las diferentes poblaciones; b y d son parámetros de los modelos con sus respectivos errores estándar entre paréntesis (ver fórmula 1.2).

| | b | d | ED50 (g.p.a./Ha) | Error estándar | Dif. Signif. 50/50 |
|-------------------------|--------------|-----------------|---------------------|-------------------|-----------------------|
| L6 – 2 macollos | 7,27(±4,24) | 560,98(±44,95) | 24,58 | 2,18 | a |
| L6 – 3 hojas | 3,46(±0,97) | 899,57(±71,55) | 13,00 | 1,12 | b |
| Susceptible- 2 macollos | 16,30(±1,75) | 551,20(±114,99) | 8,37 | 0,52 | c |
| Susceptible – 3 hojas | 12,84(±1,29) | 700,69(±81,31) | 7,84 | 0,70 | c |

En el experimento realizado al año siguiente, cuyo día de aplicación fue el 04/10/2012, no se encontraron diferencias significativas en la variable biomasa medida a los 14 días después del tratamiento (datos no presentados). El índice de selectividad calculado con esta variable fue de 1,43 (valor- $p=0,43$). Esto indica que en este momento no se aprecian los efectos del tratamiento. Sin embargo cuando se evaluó a los 30 días,

se detectaron individuos que inicialmente eran contabilizados como muertos pero que habían generado rebrotes (fotografías 4.4.a, b y c). A los 40 días luego de la aplicación hubo diferencias significativas ($p < 0,05$) en la supervivencia con la población susceptible (fotografías 4.3.a y b). La DL50 estimada para L6 fue de 49,21 g.p.a./ha (error estándar de 18,15) y de 2,96 g.p.a./ha (error estándar de 0,69) para la población susceptible. El índice de selectividad calculado fue de 16,64 (valor- $p=0,0343$).



Fotografías 4.3.a y b. Respuesta de las poblaciones L6 (izquierda) y susceptible (derecha) al herbicida pyroxsulam a los 40 días de haber aplicado el tratamiento. En negrita están marcadas las dosis expresadas en gramos de principio activo / hectárea (g.p.a./ha); Com: indica las macetas correspondientes a la dosis comercial del herbicida.



Fotografías 4.4.a, b y c. Rebrotos detectados en la población L6 a los 30 días de aplicado el herbicida sobre plantas que inicialmente parecían senecidas por la acción del herbicida pyroxsulam.

4.3.2. Respuesta al herbicida pyroxsulam de la población L6 y su progenie (F1)

La F1 obtenida con las semillas de los individuos sobrevivientes de L6 a dosis altas, mostró menor sensibilidad al herbicida pyroxsulam que la población L6 progenitora (fig. 4.4). La dosis letal para el 50% de la población L6-F1 fue de 62,03 g.p.a./Ha para la F1, representando un incremento en 2,57 veces con respecto a la L6 progenitora (tabla 4.6). Cuando la comparación es respecto al susceptible, este resultado arroja un índice de resistencia de 9,76. La L6 progenitora también mostró diferencias en la DL50

con la población susceptible, con una DL50 de 24,09 g.p.a./Ha, en consonancia con los primeros experimentos. No hay individuos sobrevivientes a la dosis de 10 veces la comercial.

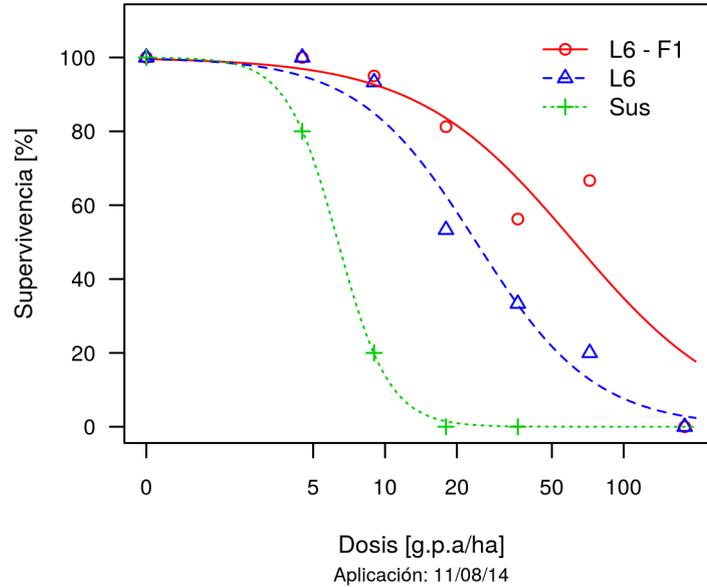


Figura 4.4. Modelos de respuesta al herbicida pyroxsulam según la variable supervivencia de las poblaciones L6, su F1 (L6-F1) y la población susceptible (Sus). La dosis comercial del herbicida pyroxsulam equivale a 18 g.p.a./ha.

Tabla 4.6. Parámetros estimados de los modelos de regresión log-logístico de dosis respuesta de los experimentos con pyroxsulam del año 2014. El error estándar es el de la dosis estimada por el modelo. Dif. Signif. 50/50 indica si hay diferencias significativas ($p < 0,05$) según cociente estimado entre las ED50 o DL50 de las diferentes poblaciones o tratamientos.

| Poblaciones | b | DL50 (g.p.a./Ha) | Error estándar | Dif. Signif. 50/50 |
|-------------|-------------|---------------------|----------------|-----------------------|
| L6 - F1 | 1,31(±0,33) | 62,03 | 13,82 | a |
| L6 | 1,75(±0,38) | 24,09 | 3,49 | b |
| Susceptible | 4,04(±1,13) | 6,36 | 0,64 | c |

Las poblaciones L6 y L6-F1 no difirieron en la fecundidad con la población susceptible en la dosis de 9 g.p.a./ha (equivalente a la mitad de la dosis comercial). En dosis superiores no se registraron individuos susceptibles sobrevivientes. La fecundidad de L6 y L6-F1 solo fue diferente cuando la dosis fue de 72 g.p.a./ha (equivalente a cuatro veces la dosis comercial).

La fecundidad promedio de L6 y de L6-F1 solo disminuye a partir de la dosis de 36 g.p.a./ha (2 veces la dosis comercial). La producción de semillas para L6 fue de 533 semillas/planta en la dosis testigo y solo 35 semillas/planta en la dosis más alta. La población L6-F1 produjo en promedio 651 semillas/planta en la dosis testigo y luego a 72 g.p.a./ha disminuye a 380 semillas/planta.

Las dosis efectivas para el 50% de la población estimadas con la variable fitness fueron asimismo diferentes entre las poblaciones aunque menores que las estimadas con la variable supervivencia (figura 4.5). El índice de selectividad para la F1 fue 10,8, con 46,7 g.p.a./ha de pyroxsulam, que representa aproximadamente 2,6 veces la dosis comercial (tabla 4.7).

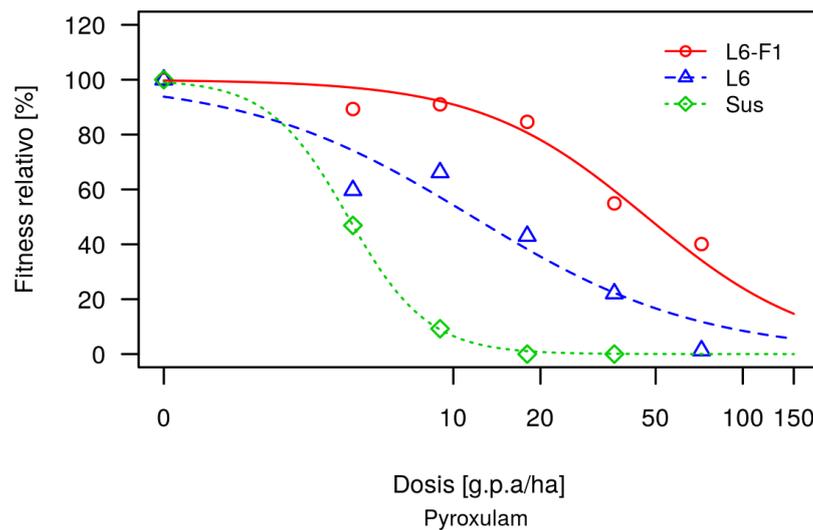


Figura 4.5. Respuesta al herbicida pyroxsulam según la variable fitness estimada sobre los testigos y dosis por encima de la dosis comercial para las poblaciones L6 y susceptible. La dosis comercial de pyroxsulam es de 18 g.p.a./Ha.

Tabla 4.7. Parámetros estimados con la variable fitness de los modelos de regresión log-logístico de dosis respuesta de los experimentos con pyroxsulam del año 2014. ED50 es la dosis efectiva para el 50% de la población; el error estándar corresponde a la dosis estimada por el modelo; Dif. Signif. 50/50 indica si hay diferencias significativas ($p < 0,05$) según cociente estimado entre las ED50 de las diferentes poblaciones; b y d son parámetros de los modelos con sus respectivos errores estándar entre paréntesis (ver fórmula 1.2).

| Poblaciones | b | d | ED50 (g.p.a./Ha) | Error estándar | Dif. Signif. 50/50 |
|-------------|-------------|----------------|---------------------|-------------------|-----------------------|
| L6 - F1 | 1,56(±0,51) | 132,72(±10,62) | 46,73 | 10,02 | a |
| L6 | 1,58(±0,50) | 89,70(±5,43) | 14,50 | 2,88 | b |
| Susceptible | 3,17(±1,95) | 66,32(±3,56) | 4,33 | 0,64 | c |

El resultado para L6 fue similar al hallado en el experimento de 2011 (tabla 4.7), con una dosis efectiva de 14,5 g.p.a./ha. El fitness relativo fue cercano a cero a la dosis de 72 g.p.a./ha. Sin embargo la población susceptible fue controlada con una dosis más baja que en 2011, con una ED50 de 4,33 g.p.a./ha. La población susceptible tuvo cerca de un 20% de supervivencia a la mitad de la dosis comercial, pero considerando también la fecundidad, el fitness fue menor al 10% de la dosis testigo.

Las diferencias de fitness registradas entre L6-F1 y L6 se explican tanto por diferencias en supervivencia (Fig 4.4 y tabla 4.6) así como, por diferencias de fecundidad. La cantidad de semillas registrada en individuos de la población L6 a la dosis 2X fue 18% menor que las registradas en L6-F1. Cuando la dosis fue 4X dicha diferencia fue del 55,6%.

4.3.3. Respuesta de la población L6 a otros herbicidas ALS

4.3.3.1. Imazamox

La población L6 mostró diferencias significativas en la variable supervivencia con la población susceptible en ambos momentos de aplicación del herbicida Imazamox (figura 4.6; tabla 4.8). El índice de selectividad fue 2,11 cuando la aplicación se realizó sobre 2 macollos; mientras que cuando la aplicación se realizó sobre individuos de 3 hojas, el índice de selectividad se redujo a 1,68.

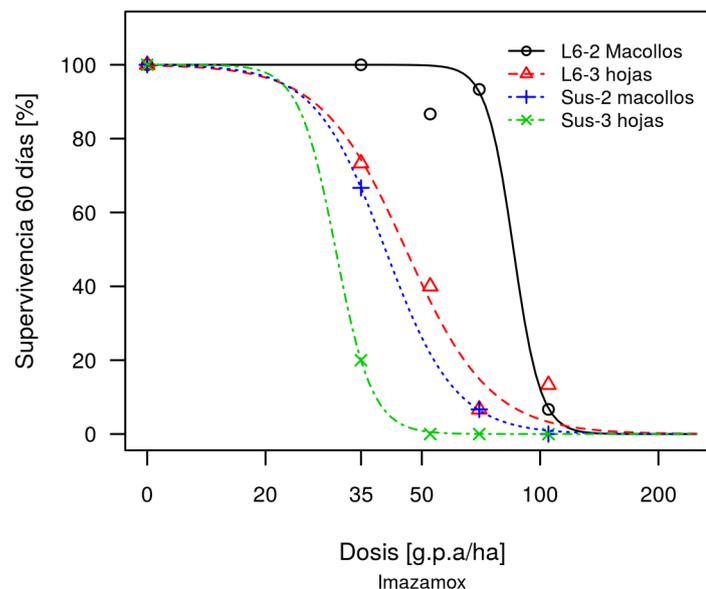


Figura 4.6. Respuesta al herbicida Imazamox según la variable supervivencia para las poblaciones L6 y susceptible en dos estados de crecimiento de la maleza, 3 hojas expandidas y 2 macollos.

Tabla 4.8. Parámetros estimados de los modelos de regresión log-logístico de dosis respuesta del experimento con el herbicida Imazamox para el 50% de las poblaciones de *Lolium multiflorum* L6 y susceptibles, en dos estados de crecimiento de la maleza, 3 hojas expandidas y dos macollos. La dosis comercial del herbicida es 70 g.p.a./ha. DL50 es la dosis letal para el 50% de la población; el error estándar corresponde a la dosis estimada por el modelo; Dif. Signif. 50/50 indica si hay diferencias significativas ($p < 0,05$) según cociente estimado entre las DL50 de las diferentes poblaciones y/o tratamientos; b es el valor estimado de la pendiente en el valor de la DL50 (ver fórmula 1.2).

| Poblaciones | Variable: Supervivencia | | | |
|--------------------------|-------------------------|---------------------|----------------|-----------------------|
| | b | DL50 (g.p.a./Ha) | Error estándar | Dif. signif. 50/50 |
| L6 – 2 macollos | 12,64(±4,37) | 85,54 | 5,55 | a |
| L6 – 3 hojas | 4,05(±1,01) | 45,54 | 2,78 | b |
| Susceptible – 2 macollos | 4,86(±1,87) | 40,37 | 3,18 | bc |
| Susceptible – 3 hojas | 6,54(±1,28) | 27,18 | 4,74 | c |

El fitness de la población L6 cuando fue aplicado el herbicida Imazamox, solo fue significativamente diferente ($p < 0,05$) con la población susceptible cuando fue aplicada sobre dos macollos y a la dosis de 70 g.p.a./ha (tabla 4.9). No hubo diferencias entre tratamientos a la dosis de 35 g.p.a./ha. En la dosis de 105 g.p.a./ha no hubo fecundidad, por lo que el fitness fue cero para todos los tratamientos.

Tabla 4.9. Respuesta al herbicida imazamox según la variable fitness estimada sobre los testigos, 35 y 70 g.p.a./Ha (dosis comercial) para las poblaciones L6 y susceptible en dos estados de crecimiento de la maleza. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) en los valores del fitness dentro de cada dosis.

| Poblaciones \ Dosis Imazamox | Fitness (supervivencia x fecundidad) | | |
|------------------------------|--------------------------------------|----------------|----------------|
| | 0 (g.p.a./Ha) | 35 (g.p.a./Ha) | 70 (g.p.a./Ha) |
| L6 – 2 macollos | 546,1 a | 483,5 a | 472,6 a |
| L6 – 3 hojas | 698,3 a | 389,4 a | 91,5 b |
| Susceptible – 2 macollos | 543,9 a | 305,6 a | 0 b |
| Susceptible – 3 hojas | 960,5 a | 71,9 a | 0 b |

4.3.3.2. Flucarbazone

Si bien hay individuos sobrevivientes de la población L6 a la dosis comercial, las diferencias en las dosis letales del herbicida flucarbazone con la población susceptible no fueron significativas (valor-p = 0,0889) (figura 4.7). Sin embargo, su progenie F1

(seleccionada previamente con el herbicida pyroxsulam) mostró diferencias significativas con L6. La DL50 de la F1 fue de 60,35 g.p.a./Ha (tabla 4.10), aproximadamente 2 veces superior a la población L6 progenitora. El índice de selectividad calculado con la población susceptible fue 3,53.

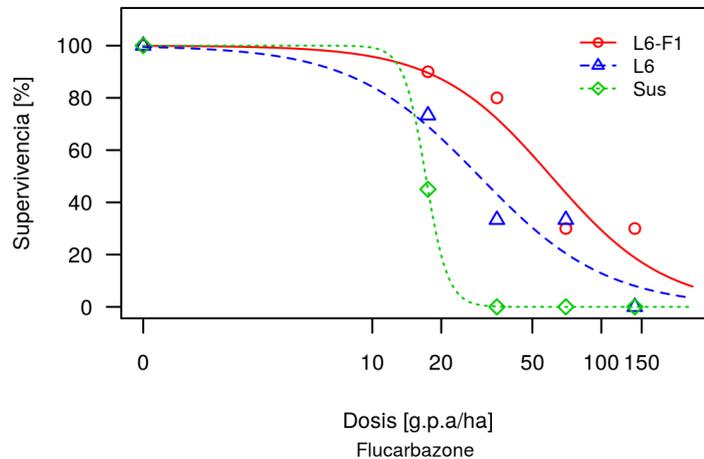


Figura 4.7. Respuesta al herbicida flucarbazono según la variable supervivencia para las poblaciones L6, su F1 (L6-F1) y la población susceptible (Sus). La dosis comercial del herbicida flucarbazono equivale a 70 g.p.a./ha.

Tabla 4.10. Parámetros estimados con la variable supervivencia de los modelos de regresión log-logística de 4 parámetros estimadas para las poblaciones L6, L6-F1 y el Susceptible para el herbicida flucarbazono. La dosis comercial del herbicida es 70 g.p.a./ha. DL50 es la dosis letal para el 50% de la población; el error estándar es el de la dosis estimada por el modelo; Dif. Signif. 50/50 indica si hay diferencias significativas ($p < 0,05$) según cociente estimado entre las DL50 de las diferentes poblaciones o tratamientos; b es un parámetro estimado del modelo (ver fórmula 1.2).

| | Variable: Supervivencia | | | |
|-------------|-------------------------|------------------|----------------|--------------------|
| | <i>b</i> | DL50 (g.p.a./Ha) | Error estándar | Dif. signif. 50/50 |
| L6 – F1 | 1,74(±0,49) | 60,35 | 9,31 | a |
| L6 | 1,56(±0,43) | 29,32 | 4,93 | b |
| Susceptible | 9,07(±1,06) | 17,11 | 2,96 | b |

4.3.4. Respuesta de la población L6 a herbicidas con otros modos de acción

El herbicida inhibidor de la enzima ACCasa pinoxaden, no registró fecundidad por encima de la dosis de 30 g.p.a./Ha. Aplicado sobre L6 en el estado de 2 macollos presenta algunos sobrevivientes en la dosis comercial, pero incapaces de producir semillas debido al daño que presentan. A la dosis de 20 g.p.a./Ha, equivalente a la mitad de la dosis comercial, hay una pequeña diferencia de fitness estimado debido a que si

bien ambas poblaciones presentan algunos sobrevivientes, en la población susceptible no produjeron semillas y por lo tanto su fitness fue cero (figura 4.8). La fecundidad por planta promedio de los sobrevivientes de L6 en dicha dosis fue de 673 semillas/planta. No fue posible converger los resultados en un modelo de dosis respuesta debido a que las diferencias se hallan probablemente en dosis mucho mas bajas que las probadas.

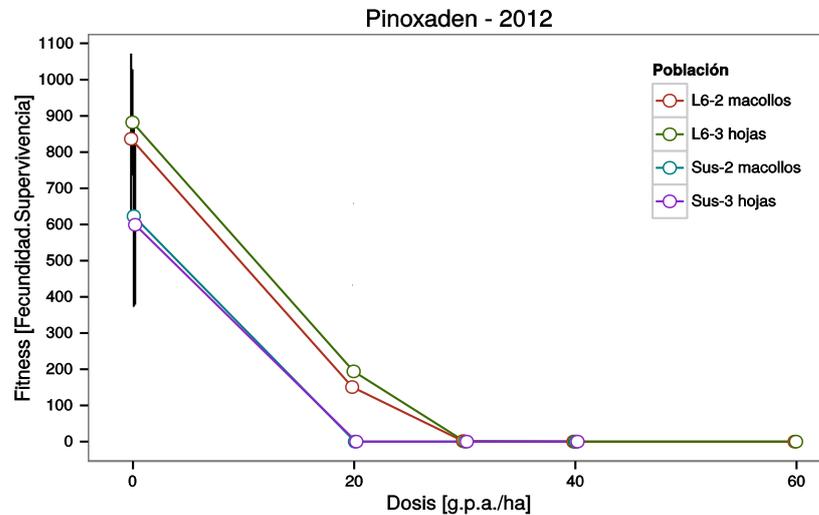


Figura 4.8. Respuesta al herbicida pinoxaden según la variable fitness para las poblaciones L6 y susceptible en dos estados de crecimiento de la maleza, 3 hojas expandidas y 2 macollos. La dosis comercial es de 40 g.p.a./Ha. Las barras de error indican el error estándar.

El herbicida glifosato no dió diferencias en la respuesta entre las poblaciones L6 y susceptible (figura 4.9). La dosis efectiva estimada para la población L6 con la variable biomasa a los 30 días luego de la aplicación fue de $235 \pm 23,5$ g.p.a./Ha, representando aproximadamente una cuarta parte de la dosis comercial. Debido a este resultado, no fue necesario medir ningún atributo demográfico.

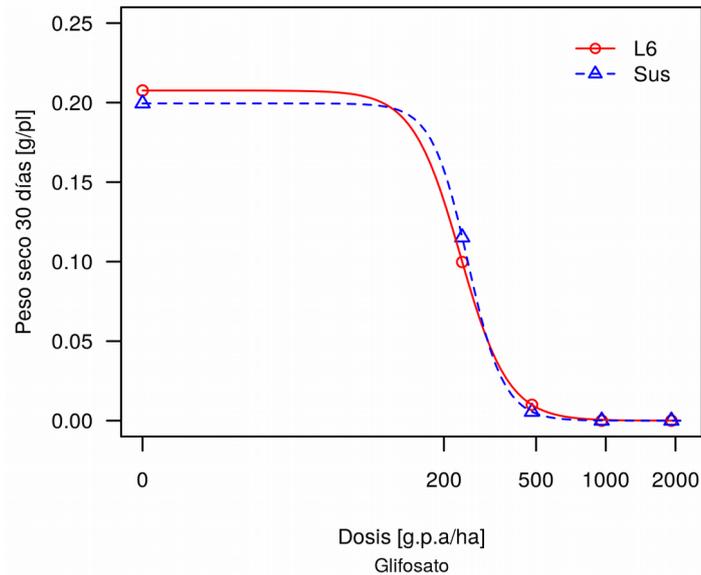


Figura 4.9. Respuesta al herbicida glifosato según la variable biomasa para las poblaciones L6 y susceptible. La fecha de aplicación del herbicida fue el 11/08/2012.

4.3.5. Atributos fenológicos y fisiológicos de la población de raigrás L6

La población L6 presentó menor tiempo térmico que la población susceptible (fig 4.10). En el año 2013, la población L6 dió inicio a la floración a los 140,4 días después de implantada mientras que la población susceptible lo hizo en 151,8 días. En el año 2014, la población L6 inició la floración en 111,9 días y la susceptible en 126,6 días luego de ser implantada. Pero además, la población F1 inició floración antes que su progenitora L6, en 105,3 días. No hubo diferencias en la cantidad de días a inicio de floración entre los tratamientos testigo (sin herbicidas) y los tratamientos con distintas dosis de herbicidas.

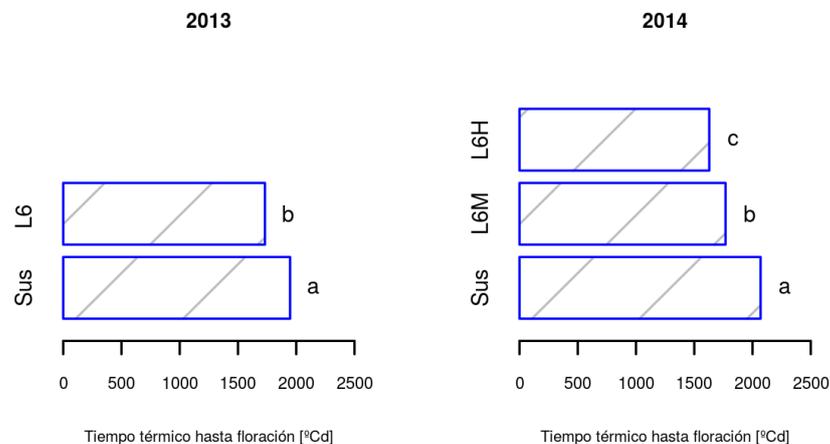


Figura 4.10. Tiempo térmico hasta floración para las poblaciones L6 (L6M), la F1 de L6 (L6H) y la población susceptible (Sus) calculadas durante los años 2013 y 2014. Letras distintas indican diferencias significativas ($p < 0,05$) dentro de cada año.

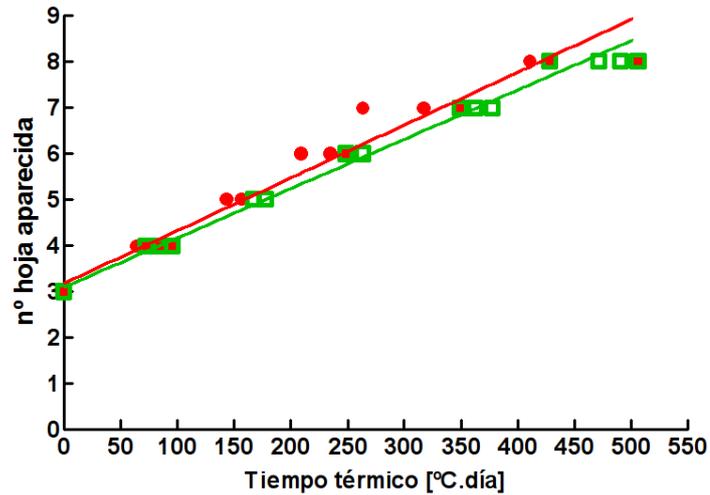


Figura 4.11. Número de hojas aparecidas en función del tiempo térmico de las poblaciones de raigrás L6 (color rojo) y susceptible (color verde). Las mediciones fueron realizadas durante el año 2012. El valor del filocrono surge de la inversa de la pendiente. Filocrono de L6: 87,02 °C.día/hoja; filocrono de susceptible: 93,21 °C.día/hoja. Ajuste R^2 para L6: 0,97; R^2 para susceptible: 0,99. Parámetros de la función $a+\beta x$: i) para L6: $a = 3,181 \pm 0,09772$; $\beta = 0,01149 \pm 0,0004203$; ii) para Sus: $a = 3,103 \pm 0,05904$; $\beta = 0,01073 \pm 0,0002156$.

El filocrono de la población L6 no fue diferente a la de la población susceptible ($p < 0.05$) (figura 4.11). El filocrono de la población L6 fue de 79,18 °C.día/hoja mientras que el de la población susceptible fue de 89,36 °C.día/hoja.

En cuanto al estado fisiológico de las semillas, se encontraron diferencias en la germinación alcanzada por las distintas poblaciones (Figura 4.12). Las semillas de la población susceptible germinaron en un 98% mientras que las semillas de la población L6 lo hicieron en aproximadamente un 77%. El porcentaje final de germinación alcanzado para las tres temperaturas fue el mismo, si bien la tasa de germinación fue, como era esperable, diferente entre temperaturas. El análisis de viabilidad del conjunto de estas semillas fue de 90% sin diferencias entre las procedencias.

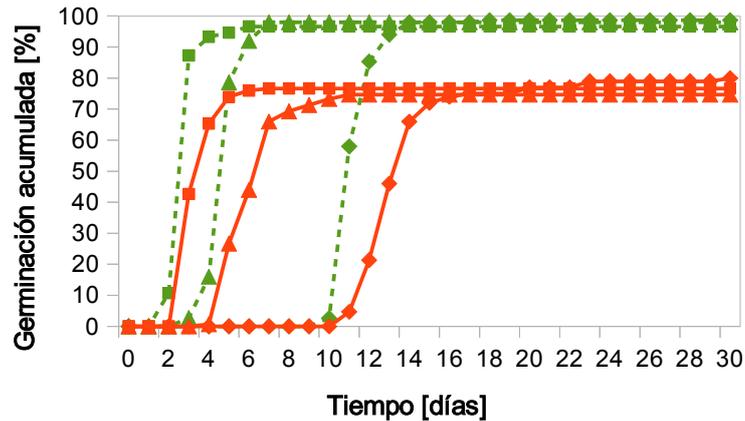


Figura 4.12. Germinación observada para la población L6 y la población susceptible a tres temperaturas, 5°C, 12°C y 20°C. Líneas punteadas y verdes representan a la población susceptible; líneas continuas y rojas representan a la población L6. Símbolos de igual forma representan una misma temperatura. Cuadrados: 5°C; triángulos: 12°C y rombos: 20°C.

Con las dosis letales (DL50) estimadas de las tres aplicaciones realizadas con el herbicida pyroxsulam, se decidió indagar acerca del ambiente que exploraron las plantas desde el día de la aplicación del herbicida hasta 61 días después de la misma (figura 4.13). Se observó que si el tiempo térmico transcurrido fue mayor, la dosis estimada para controlar al 50% (DL50) de la población L6 también fue mayor. Por el contrario, la población susceptible tuvo una DL50 mas baja a medida que el tiempo térmico fue mayor. Dado que el resultado es la suma térmica en una cantidad fija de días calendario, la diferencia entre éstos se debe sólo a la temperatura. En consecuencia, cuando el ambiente durante el período pos-aplicación fue más cálido, la dosis letal estimada fue mayor para la población L6 pero menor para la población susceptible.

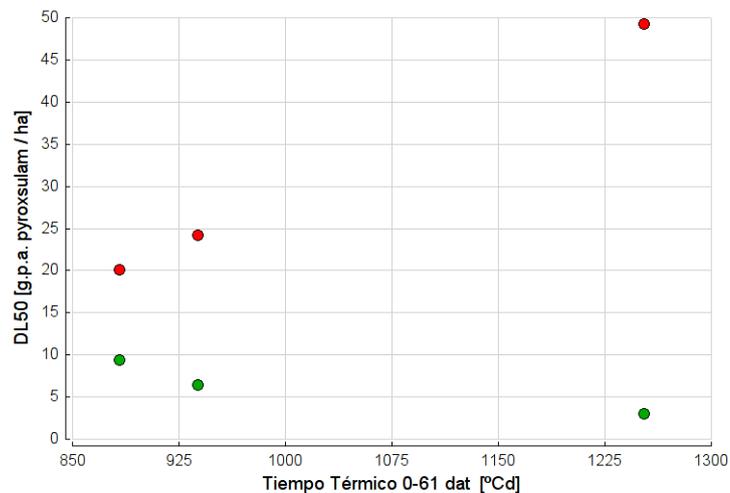


Figura 4.13. Dosis letales para el 50% (DL50) de las poblaciones L6 (círculos rojos) y Susceptible (círculos verdes) estimadas para el herbicida pyroxsulam en función del tiempo térmico calculado entre el día de la aplicación del herbicida y 61 días después de la aplicación (0-61 dat). Para las fechas y condiciones térmicas en que fueron realizadas las aplicaciones ver tablas 4.1, 4.2 y 4.3 y las figuras 4.1a, b, c y d.

4.4. Discusión

En el presente capítulo se abordó el estudio del proceso que explica la persistencia de raigrás a lo largo del ciclo del cultivo más allá de haber aplicado herbicidas para su control. Particularmente se registró resistencia cruzada a los herbicidas pyroxsulam, flucarbazone e Imazamox (inhibidores de la ALS). Sin embargo, mostró total sensibilidad a inhibidores de la ACCasa (pinoxadén) e inhibidores de la EPSPS (glifosato). En la actualidad no hay registro en la Argentina según Heap, (2016) de *Lolium multiflorum* con resistencia cruzada sólo a estos herbicidas. El caso de raigrás registrado con resistencia a inhibidores de la ALS también lo es a otros sitios de acción (Heap, 2016).

La población de raigrás L6 evidenció moderada resistencia al herbicida pyroxsulam. La convención actual establece que a partir de un índice de resistencia de 2 se considera resistente, siendo este valor 2 de carácter arbitrario (Burgos *et al.*, 2013). Un valor entre 1 y 2 se considera como variabilidad natural o etapa inicial en la evolución de resistencia, mientras que valores entre 2 y 3 son poco percibidos a campo (Valverde, 2009). Generalmente, cuando los índices de resistencia son entre 2 y 4, los productores comienzan a reportar tales casos (Valverde, 2009; Mennan *et al.*, 2011; Burgos *et al.*, 2013) y el porcentaje de individuos resistentes suele ser superior al 35% (Gressel & Segel, 1978; Pavlovic *et al.*, 2008; Burgos *et al.*, 2013). Durante los experimentos del año 2011 el IR estimado con la variable supervivencia para la aplicación sobre 3 hojas supera levemente el valor 2. En los experimentos de 2014 este índice aumenta a 3,8 principalmente por una mayor sensibilidad de la población susceptible (figura 4.13). Si la variable considerada es el fitness, el IR es menor a 2 durante el año 2011, y ascendió a 3,4 en 2014. Sin embargo, a mayor estado de crecimiento aumenta la dosis necesaria para el control de la población resistente y consecuentemente aumenta el IR. Esto ha sido documentado en otras especies (Vila-Aiub *et al.*, 2012).

De acuerdo a estos resultados, se **acepta** la hipótesis que los individuos de raigrás provenientes de las semillas cosechadas en precosecha del cultivo, poseen menor sensibilidad a herbicidas inhibidores de la ALS que pueden ser utilizados para su control.

4.4.1. El uso del fitness como variable respuesta

En el presente estudio de respuesta a herbicidas, se estimó el fitness de la población L6 con aplicación del herbicida pyroxsulam. Establecer el fitness de la población resistente ante la aplicación del herbicida permite estimar la intensidad de selección (Gressel & Segel, 1978). Así se podría estimar el cambio de la frecuencia de los genes de resistencia bajo la presión de selección del herbicida (Jasieniuk *et al.*, 1996). Pero para poder estimar los costos adaptativos debido a la resistencia (fitness cost) se necesita además un testigo susceptible que posea el mismo fondo (background) genético que el resistente, donde las únicas diferencias sean en las mutaciones que confieren resistencia (Vila-Aiub *et al.*, 2009). En este trabajo no se utilizó un testigo con el mismo

background genético, por lo que no es válido hablar de costo adaptativo al analizar los resultados. Pero si es válido para establecer las características de esta población.

Cuando se utiliza la supervivencia como variable respuesta, los valores de dosis letales son más elevados que cuando se utiliza el fitness como variable. Dado que es importante para la producción del cultivo eliminar la competencia por parte de las malezas, la supervivencia aporta información sobre el efecto del herbicida en la campaña actual. Sin embargo, puede que los individuos sobrevivientes produzcan menor descendencia, por lo que demográficamente el banco de semillas de una campaña a la otra no necesariamente aumenta como consecuencia de una mayor supervivencia. En tal sentido, el fitness aporta información sobre el efecto del herbicida en la campaña actual, pero sobre todo informa acerca de lo que puede suceder en las siguientes campañas. Por lo tanto es apropiado, medir la fecundidad y calcular el fitness siempre que ello sea posible.

4.4.2. Fenología de L6

Los individuos con menor sensibilidad al herbicida pyroxsulam, presentaron una mayor tasa de desarrollo, alcanzando la floración en menor tiempo que la población susceptible. Dado que no se observaron diferencias en el filocrono entre ambas poblaciones, el menor tiempo a floración se debe a un menor número final de hojas. En este sentido debe destacarse que en un determinado rango de fotoperíodos pueden observarse diferencias que variarán según la sensibilidad fotoperiódica, umbral fotoperiódico y otras características genéticas vinculadas a este tipo de respuesta. Estas diferencias obtenidas en la fenología deben considerarse sólo correspondientes a las latitudes a las cuáles fueron realizadas los experimentos dado que es conocida la respuesta fotoperiódica cuantitativa de las especies otoño-inverno-primaverales como el caso de *Lolium multiflorum*. No obstante, estas diferencias en especies malezas pueden considerarse un atributo que favorezca la producción de semillas anticipadamente respecto a los cultivos en que se encuentran presente (trigo y cebada) asegurando de este modo el ingreso al banco de semillas.

El entendimiento de estos procesos demográficos y fenológicos en las malezas es de utilidad para recomendar prácticas agronómicas tales como el momento de cosecha que contribuyan a disminuir la llegada de semillas al banco del suelo. En este sentido, Scursoni *et al.*, (1999) considerando el efecto de la aplicación de los herbicidas, registraron menor tasa de maduración en semillas de *Avena fatua*, resaltando la importancia de no demorar el momento de cosecha.

Otro atributo fisiológico en el cuál se registraron diferencias entre ambas poblaciones fue en la germinabilidad evaluada a tres regímenes térmicos diferentes. En todos los casos la germinación fue mayor en la población susceptible, sin haberse registrado diferencias de viabilidad en las semillas no germinadas de ambas poblaciones (figura 4.12).

Estos resultados permiten, si bien no se registraron diferencias a nivel de

filocrono, **aceptar parcialmente la hipótesis 2** referida a diferencias en atributos fenológicos tales como desarrollo morfológico (filocrono y número de hojas) y desarrollo fásico (tiempo a floración) así como en el estado fisiológico de las semillas (germinabilidad).

La población L6 aumenta el índice de resistencia respecto a la población susceptible cuando la temperatura ambiental durante el período posterior a la aplicación del herbicida es más elevada. El aumento proviene de una disminución en la sensibilidad de la población L6 y un aumento de sensibilidad en la población susceptible.

Los herbicidas generan mejor efecto cuando las temperaturas son más elevadas, pero no excesivas. Una de las causas es que se favorece la absorción de sustancias liposolubles debido a que las ceras cuticulares de las hojas se hacen más fluidas. Asimismo, aumenta la tasa metabólica de la planta y la actividad fisiológica, mejorando la traslocación del herbicida. Sin embargo la humedad ambiente no debe ser baja, sino las cutículas de las hojas se engrosan y dificultan la absorción del herbicida; además de incrementar las pérdidas por volatilización (Zimdahl, 2007; Cobb & Reade, 2010). A campo, cuando las temperaturas son bajas, el efecto del herbicida se visualiza en un mayor tiempo. De este modo se justifica el aumento de sensibilidad de la población susceptible ante temperaturas del ambiente mayores.

Hay pocos antecedentes a la fecha acerca de interacción entre temperatura y resistencia a herbicidas inhibidores de la ALS. En estudios cuyo objetivo fue hallar costos adaptativos se observó que las diferencias entre los biotipos resistentes y los susceptibles fueron apenas perceptibles (Tranel & Wright, 2002; Yu *et al.*, 2010; Yu & Powles, 2014). Tampoco se observaron penalidades significativas a nivel de la enzima ALS (Yu & Powles, 2014). Esto significa que en ausencia del herbicida, los individuos resistentes permanecerán en la población sin disminuir su frecuencia.

Sin embargo el efecto de la temperatura sobre la resistencia a herbicidas ha sido demostrada en glifosato sobre *Conyza canadensis* (Ge *et al.*, 2011), *Lolium multiflorum* y *Sorghum halepense* (Vila-Aiub *et al.*, 2012) y *Echinochloa colona* (Nguyen *et al.*, 2015). En estos ejemplos, se observa un aumento de la resistencia al herbicida a temperaturas más elevadas. El costo adaptativo para los biotipos resistentes se manifiestan en presencia del herbicida con temperaturas sub-óptimas. Los mecanismos de resistencia involucrados son del tipo no-sitio activo (non target site) salvo en *Echinochloa colona* que se encontró una mutación en el gen que codifica la enzima EPSPS; sin embargo en este caso también se encontró que la absorción del glifosato era mayor a la temperatura de 20°C que a la temperatura de 30°C (Nguyen *et al.*, 2015).

En los experimentos correspondientes a la presente tesis, el biotipo susceptible no comparte el mismo fondo genético que la población resistente, por consiguiente no es posible afirmar la presencia de un costo adaptativo (Vila-Aiub *et al.*, 2011; Sou Sheng *et al.*, 2015). Sin embargo los niveles de resistencia guardaron relación con la temperatura a campo (figura 4.13). El control de esta población se incrementa cuando las temperaturas ambientales fueron más bajas. Dado que las temperaturas medias

durante los meses en que se aplican los herbicidas en el sudeste de Buenos Aires son de 8,5°C aproximadamente (servicio meteorológico nacional), se puede suponer esta característica como una causa de los bajos niveles de resistencia.

En los experimentos del año 2012 se encontró que plantas que habían sido marcadas como muertas por el herbicida rebrotaban desde meristemas presentes bajo la superficie (fotografías 4.4a, b y c). Esto puede llevar a resultados erróneos en la medición de la respuesta al herbicida si se hace en un tiempo breve luego de la aplicación. Gressel (2009) llamó a este fenómeno "Ave Fénix" en referencia al ave de la mitología griega que renacía de las cenizas. Como causa posible se apunta a la traslocación reducida o directamente bloqueada (Gressel, 2009) que hace que el herbicida sistémico ya no lo sea, y que los meristemas alejados del lugar de absorción del herbicida no sean alcanzados por el mismo (Gressel, 2009; Shaner, 2009). Estos mecanismos de resistencia son importantes en la resistencia a glifosato, tal como fue demostrado en varias especies (*Conyza bonaerensis*, *Conyza canadiensis*, *Lolium multiflorum*, *Lolium rigidum*) (Shaner, 2009). Sin embargo no está demostrado hasta ahora que existan mecanismos de traslocación asociados a la resistencia a herbicidas ALS (Yu & Powles, 2014), siendo el aumento de la capacidad de metabolizar el herbicida (resistencia metabólica) el mecanismo más importante en la resistencia fuera de sitio a herbicidas inhibidores de enzima ALS (Beckie *et al.*, 2012b; Yu & Powles, 2014).

Capítulo 5

Discusión General

Capítulo 5

Discusión general

En la presente tesis doctoral se abordó el estudio de la persistencia de las malezas *Avena fatua* L. y *Lolium multiflorum* Lam. en cultivos de trigo del sudeste de la Provincia de Buenos Aires. Para ello se han desarrollado estudios en diferentes escalas: (i) Nivel de comunidad, donde se estudió la comunidad antes de aplicar herbicidas y en precosecha del cultivo, registrándose los cambios ("weed shifts") generados por el manejo mediante herbicidas. (ii) Nivel poblacional, poniendo énfasis en *Avena fatua* y *Lolium multiflorum*, dada su importancia en aspectos cuantitativos de la producción, abordando procesos demográficos tales como la dinámica de la emergencia, la supervivencia (resistencia a herbicidas) y la fecundidad.

En el primer capítulo se realizó una profunda reseña sobre conceptos de impacto de las malezas en sistemas de producción, comunidades de malezas, establecimiento y respuesta a los herbicidas.

En el segundo capítulo, referido a los estudios de comunidad se presentaron resultados originales concernientes no sólo a la estructura de la comunidad en un determinado momento sino también a la dinámica de la misma a lo largo del ciclo del cultivo. Considerando los objetivos planteados en dicho capítulo, es posible afirmar que la comunidad de malezas en pre-aplicación de herbicidas de cultivos de trigo del Sudeste de Buenos Aires, fue similar a la descrita en trabajos anteriores (Scursoni *et al.*, 2014). Sin embargo el estudio de la comunidad en el momento de cosecha evidenció diferencias respecto a la comunidad en pre-aplicación de herbicidas.

De acuerdo con los resultados presentados en el capítulo 2, los cambios en la estructura de la comunidad estuvieron vinculados a la ausencia de 20 especies invierno-primaverales y a la incorporación de 14 especies primavera-estivales. Con respecto a preaplicación, 23 de 43 especies invierno-primaverales están presentes en cosecha en estado reproductivo. Esto implica la importancia de otros procesos demográficos tales como la longevidad del banco de semillas o la inmigración (dispersión) en el re-establecimiento de aquellas especies que no fueron registradas hacia el final del ciclo del cultivo, las cuáles son frecuentes en preaplicación (Scursoni *et al.*, 2014). No obstante, el presente trabajo no tuvo como objetivo discriminar si el efecto supresor sobre determinadas especies obedece a la presencia del cultivo o a la aplicación de los herbicidas. Interesantemente, los resultados muestran que *Avena fatua* es junto con *Sonchus oleraceus*, la especie más persistente durante el ciclo del cultivo de trigo, indicando que ni la aplicación de herbicidas ni la presencia del cultivo resultaron filtros eficaces para disminuir la persistencia de estas especies en estos sistemas de producción. De este modo, **se acepta parcialmente la hipótesis general (1) en el sentido de considerar a *Avena fatua* L. como una especie altamente persistente.**

La presencia de *Avena fatua* en precosecha de cultivos de trigo es muy frecuentemente observada en distintos lotes del sur de la provincia de Buenos Aires. En

los últimos años se ha difundido la sospecha de casos de resistencia a herbicidas a partir de consultas a técnicos referentes ('REM - Red de Conocimiento en Malezas Resistentes', www.aapresid.gov.ar/rem) no necesariamente probadas mediante método experimental (figura 5.1). En el presente trabajo quedó evidenciado que la presencia de individuos de *Avena fatua* en cosecha no necesariamente se explica por la presencia de biotipos resistentes, tal como sugiere la afirmación comentada anteriormente. En este sentido la validación de dichos casos adquiere importancia tecnológica dado que al no estar sostenidos en pruebas experimentales, tales resultados pueden conducir a decisiones agronómicas erróneas.

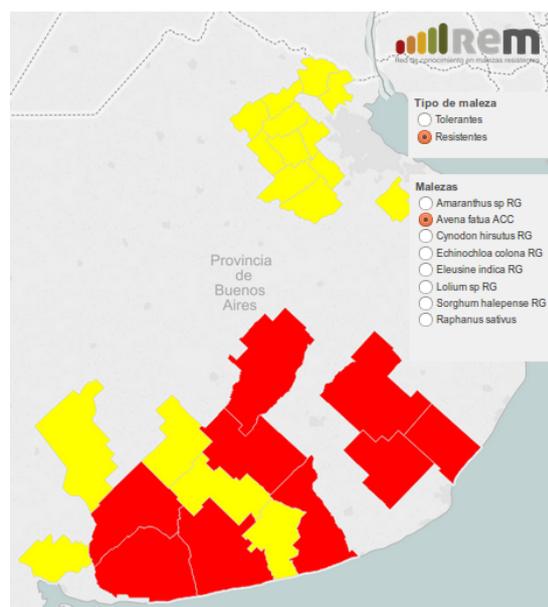


Figura 5.1. Partidos con reportes a la REM (Red de Conocimiento en Malezas Resistentes) de *Avena fatua* resistente (rojo) o con sospechas de resistencia (amarillo). Fuente: REM (accedido: abril de 2016)

En el presente estudio, la presencia de *Avena fatua* en precosecha de los cultivos no fue explicada por menor sensibilidad a los diferentes herbicidas probados, correspondientes a diferentes mecanismos de acción. En todos los casos se logró un control satisfactorio a las dosis de uso recomendadas, excepto el caso de diclofop-metil, para el cual fue necesario incrementar la dosis de aplicación. No obstante, hace varios años que este herbicida prácticamente no se utiliza en la zona. Un aspecto interesante es la mayor eficacia de pinoxaden (inhibidor de la enzima ACCasa) respecto a los demás herbicidas. Estos resultados coinciden con lo observado a campo por Scursioni *et al.*, (2011) donde el estado de crecimiento de la maleza resultó un factor muy importante en la menor eficacia de los herbicidas inhibidores de la ALS, siendo éstos más exigentes en el tamaño de la *Avena fatua* al momento de la aplicación que los inhibidores de la ACCasa.

La “resistencia funcional” (Owen, Michael comunicación personal) puede ser explicada como los mecanismos demográficos mediante los cuales determinados individuos poseen capacidad para evitar el efecto del herbicida. Esto ha sido documentado en otras especies (Hilgenfeld *et al.*, 2004a; Scursoni *et al.*, 2007b) abordando el proceso de germinación y emergencia. Durante varios años, Moschini *et al.*, (2009) y más recientemente Diez de Ulzurrun *et al.*, (2015) realizaron estudios de dinámica de emergencia a campo que muestran un patrón otoño-invernal, presentando un remanente de emergencia durante comienzo de la primavera. Sin embargo estos estudios fueron realizados con poblaciones homogéneas sin diferenciar entre procedencias con o sin historia agrícola. En la presente tesis quedó demostrado que la dinámica de germinación de la *Avena fatua* difiere según el ambiente en el que se cosecharon las semillas. Esto implica diferentes ambientes durante el cual maduraron las semillas, habiéndose registrado menor nivel de dormición en aquellas semillas procedentes de sitios no cultivados respecto a las obtenidas de lotes de producción agrícola. Este resultado no coincide con el propuesto por Scursoni *et al.*, (1999) en el cual semillas obtenidas de individuos procedentes de parcelas tratadas con herbicidas presentaban menor nivel de dormición. Sin embargo, estos resultados aparentemente contrastantes, sugerirían que las semillas obtenidas de plantas de los lotes de producción no tuvieron contacto previo con el herbicida. Es decir, la dinámica de emergencia es por sí misma suficientemente eficaz para evitar la acción del herbicida (Beckie *et al.*, 2012b). De este modo, tal como enunciado en el capítulo correspondiente, se **acepta la hipótesis general (2)** concluyendo que en *Avena fatua*, el estado fisiológico de las semillas expresado en el **nivel de dormición de las mismas fue jerárquicamente más relevante que la supervivencia a herbicidas para favorecer la persistencia de la especie** en sistemas de producción de trigo del sudeste bonaerense.

La dinámica de emergencia a campo está directamente relacionada al nivel de dormición de las semillas y la interacción con factores ambientales que regulan la salida de la dormición de la población (Benech-Arnold *et al.*, 2000). La dormición primaria de las semillas de *Avena fatua* ha sido estudiada durante mucho tiempo por diversos autores. Considerando el efecto materno como los efectos del ambiente durante la maduración en el estado fisiológico de las semillas (Fenner, 1991), Sawhney & Naylor, (1979) registraron menor nivel de dormición en aquellas semillas de *Avena fatua* que maduraron con temperaturas más cálidas. Los mismos autores registraron menor nivel de dormición en aquellas semillas que maduraron en ambientes más secos. Se podría inferir que las semillas obtenidas de lotes de producción maduraron en ambientes más húmedos y menos cálidos que aquellas de los sitios no cultivados, por encontrarse por debajo del canopeo. Esto también fue sugerido por Scursoni *et al.* (1999) como causa de la menor dispersión de semillas en precosecha de lotes tratadas con herbicidas. Estos resultados coinciden con lo registrado en el presente trabajo en el cuál las semillas procedentes de los lotes mostraron mayor nivel de dormición que las de sitios no cultivados.

Un aspecto interesante es discernir si el efecto ambiental es más importante que la constitución genética de los individuos. Los resultados de esta tesis permiten **aceptar**

la hipótesis general (3) que expresa que **el efecto materno tuvo menos relevancia que la base inherente a la composición genética** de las diferentes poblaciones (No cultivado y Condición cultivada).

Las poblaciones de *Avena fatua* que escapen a la acción del herbicida continuarán generando semillas y consecuentemente incrementando el tamaño poblacional en tanto y en cuanto se incremente la práctica de monocultivo (Jana & Thai, 1987). Esto demuestra la importancia de aplicar diversas prácticas agronómicas fundamentadas en el conocimiento de la ecología de la maleza por sobre la mera elección de herbicidas eficaces para su control.

Contrariamente a lo expresado para *Avena fatua* L. (capítulo 3), *Lolium multiflorum* Lam. (capítulo 4) fue una especie de baja persistencia y consecuentemente de baja representatividad en las especies presentes en cosecha del cultivo. En los resultados sobre los censos realizados presentados en el capítulo 2 se ha visto que solo en el 2,9% de los lotes fue hallada esta maleza antes y después de la aplicación de herbicidas. Sin embargo, en los últimos años ha incrementado significativamente el área de raigrás con biotipos resistentes a herbicidas. Más allá de la crítica metodología ya expresada anteriormente, en la figura 5.2 puede observarse la magnitud de la distribución de raigrás resistente en el área pampeana. Debe considerarse también, que a diferencia de *Avena fatua*, su biología reproductiva alógama más la potencial fecundidad y la dispersión de polen y semillas de esta especie la convierte en la especie con mayor probabilidad de generación de resistencia (Figura 5.3) (Heap & LeBaron, 2001; Heap, 2016).

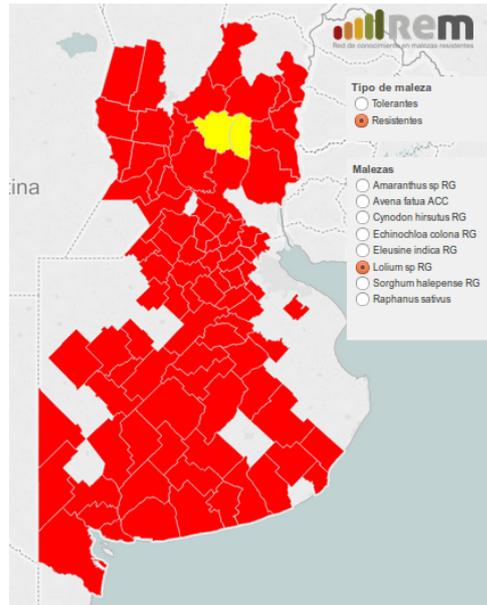


Figura 5.2. Partidos/departamentos con reportes a la REM (Red de Conocimiento en Malezas Resistentes) de *Lolium multiflorum* resistente (rojo) o con sospechas de resistencia (amarillo). Fuente REM (accedido: abril de 2016)



Figura 5.3. Ránking de especies resistentes a herbicidas según el número de sitios de acción afectados. Marcados con círculos las especies correspondientes al género *Lolium*. Imagen tomada de Heap, accedida en el año 2015.

La dinámica de emergencia de raigrás es menos extendida que el caso de *A. fatua*, lográndose prácticamente el 100% de la emergencia en pleno invierno (figura 5.4) (Diez de Ulzurrun *et al.*, 2015), de modo que no es considerada la dinámica de

emergencia como una estrategia eficaz de escape a los herbicidas, contrariamente a la estrategia de resistencia a los herbicidas.

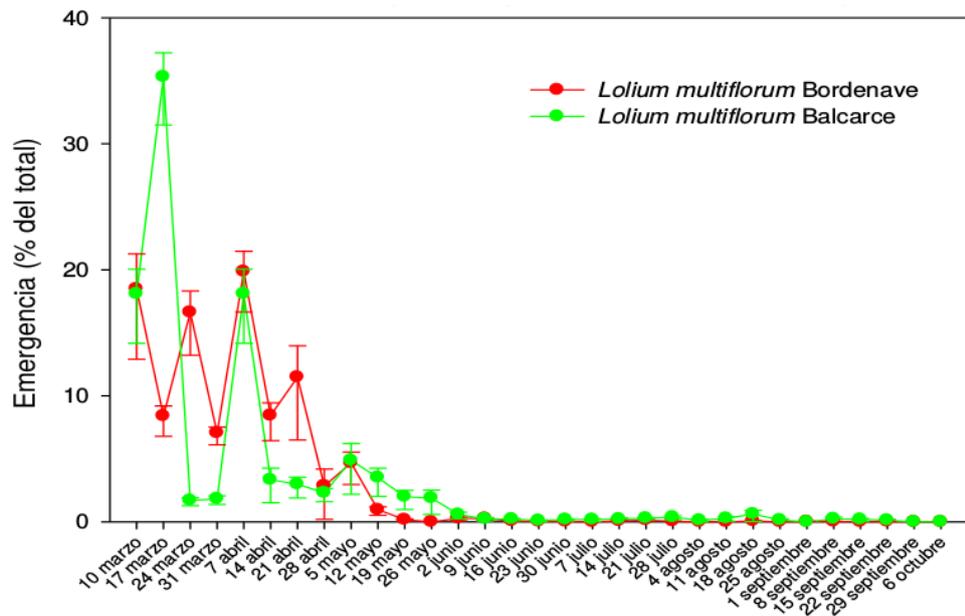


Figura 5.4. Emergencia de *Lolium multiflorum* Lam. durante el año 2014 en las localidades de Bordenave y Balcarce. Gráfico tomado de Diez de Ulzurum *et al* 2015.

La población L6 estudiada en la presente tesis presenta una resistencia moderada al herbicida pyroxsulam. Además presenta niveles moderados de resistencia cruzada a otros herbicidas inhibidores de la enzima ALS como flucarbazone e imazamox. Esto representa una situación de etapas tempranas en la evolución de resistencia a estos herbicidas (Burgos *et al.*, 2013) en la cual, no siempre el productor percibe esta situación (Pavlovic *et al.*, 2008). Se demostró asimismo que solo una generación de cruzamiento alcanza para incrementar significativamente los niveles de resistencia, lo que da una idea de la velocidad con que este problema avanza si no se toman medidas de manejo de malezas adecuadas. Sin embargo no presenta resistencia múltiple, al menos no con glifosato (del grupo de las glicinas) y con pinoxaden (del grupo de inhibidores de la ACCasa). De este modo se **acepta la hipótesis general (4)** que expresa que **la respuesta a los herbicidas inhibidores de la enzima ALS es el factor que mejor explica la persistencia de *Lolium multiflorum* Lam.** en lotes de trigo donde se aplican herbicidas inhibidores de ALS para su control.

El primer caso de raigrás resistente a herbicidas en Argentina fue registrado por Vigna en el año 2007 para el herbicida glifosato (López *et al.*, 2008; Heap, 2016). En este caso se trató de poblaciones situadas en los partidos de Coronel Pringles y Coronel Dorrego (Pcia. de Buenos Aires). Posteriormente se registró raigrás resistente a inhibidores de la ACCasa (Diclofop-metil) (Heap, 2016) también en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires. En el sudeste bonaerense fueron reportados biotipos de raigrás con resistencia múltiple a glifosato, herbicidas inhibidores de la ALS e

inhibidores de la ACCasa (Diez De Ulzurrun & Leaden, 2012). En particular, uno de los herbicidas probados fue pyroxsulam, donde se reportó un IR superior al hallado para la población L6, de 26,1. Otro herbicida inhibidor de la ALS probado fue Iodosulfurón, pero el IR fue de 2,2.

La población L6 difiere del biotipo probado por Diez de Ulzurrun debido a que no posee resistencia múltiple a glifosato ni tampoco posee resistencia a inhibidores de la ACCasa (figuras 4.8 y 4.9). La particularidad fue que los experimentos de Diez de Ulzurrun fueron realizados mediante test sobre semillas, en cajas de petri y las condiciones ambientales fueron impuestas mediante cámara de crecimiento, dejando planteado en la discusión que serían necesarios experimentos a campo para profundizar su estudio.

En Chile, hay reportes de raigrás resistente a herbicidas inhibidores de la ALS, en cultivos de trigo. (Díaz *et al.*, 2008) sobre 27 poblaciones de raigrás (de las especies *Lolium multiflorum* y *Lolium rigidum*) en cultivos de trigo, detectaron 11 poblaciones resistentes al herbicida Iodosulfurón y 14 poblaciones resistentes al herbicida flucarbazone. De las poblaciones resistentes a Iodosulfurón, una población tuvo resistencia cruzada con el herbicida flucarbazone y ocho poblaciones tuvieron resistencia múltiple con herbicidas inhibidores de la ACCasa. De las poblaciones resistentes a flucarbazone solo una presentó resistencia simple, mientras que las restantes presentaron resistencia múltiple con herbicidas inhibidores de la ACCasa y también el caso con resistencia cruzada a Iodosulfurón. Los índices de resistencia variaron entre 3,4 y 9,5 con Iodosulfurón y con flucarbazone variaron en un rango de 2,2 hasta 80. Todos los experimentos fueron realizados a campo (Díaz *et al.*, 2008). Los autores destacan que el origen de este problema estaría relacionado con el manejo habitual en los últimos años, el monocultivo de trigo y el uso cada vez más difundido de la labranza cero, que se basa en la aplicación de herbicidas.

En la presente tesis se evidenció la necesidad de un incremento de dosis a medida que aumenta el estado de crecimiento de la maleza. Si bien esto no es novedoso, si lo es la diferencia de incremento de dosis entre la población L6 y la población susceptible, lo cual genera un incremento del IR. Es posible entonces que la población L6 reciba en condiciones de campo dosis que no son suficientes para su control (subdosis). El caso de raigrás es un ejemplo particularmente significativo de generación de resistencia por efecto de la subdosificación de herbicidas (Neve & Powles, 2005; Manalil *et al.*, 2011; Busi & Powles, 2011). Esto es, individuos que poseen determinado nivel de tolerancia al herbicida se cruzan entre sí generando acumulación de genes menores de efecto cuantitativo que generan en pocas generaciones resistencia a las dosis recomendadas de uso. El corolario entonces es que debe evitarse la aplicación de subdosis de herbicidas, tanto por reducción de las dosis aplicadas como por aplicaciones tardías en términos de estados de crecimiento de la maleza.

Un aspecto interesante del estudio realizado en raigrás es la diferencia de ciertos atributos fenológicos entre poblaciones resistentes y susceptibles que representan una ventaja adaptativa, en este caso, para la población resistente. Esto es, individuos con

resistencia a herbicidas cumplen su ciclo más rápidamente y dispersarán semillas durante el ciclo del cultivo. Asimismo las semillas de la población L6 resistente presentan mayor grado de dormición, lo cual representa una estrategia favorable dado una mayor amplitud en el rango de emergencia/establecimiento. De ahí la importancia de aplicar prácticas de manejo que reduzcan fundamentalmente la fecundidad de la maleza. Estas prácticas pueden ir desde el incremento de la densidad de siembra (Scursoni, 2009), arreglo espacial del cultivo o inclusive prácticas químicas que tiendan a disminuir la viabilidad de las semillas, maximizando el objetivo de disminuir el reingreso de semillas al banco (Walsh *et al.*, 2013; Walsh & Powles, 2014). En la presente tesis se **acepta la hipótesis general (5)** que expresa que **la población que difiere en la sensibilidad a los herbicidas difiere además en el tiempo a floración y en la germinabilidad de las semillas.**

En el conjunto de los estudios realizados en la presente tesis queda demostrada la necesidad de integrar prácticas de manejo que contribuyan al manejo sustentable de los recursos y también de una tecnología altamente eficaz tal como es la aplicación de herbicidas. En lo económico hay suficiente evidencia del incremento de costos que ha significado la aparición de biotipos resistentes (Orson, 1999; Powles & Shaner, 2001; Marsh *et al.*, 2006; Beltran *et al.*, 2012; REM, 2014). Es posible que en los próximos años se disponga no de nuevos sitios de acción sino de cultivos con resistencia a herbicidas ya conocidos. En este sentido debe capitalizarse la mala experiencia referente a los casos de resistencia a glifosato, debiéndose enfatizar la necesidad del manejo proactivo de todos los eventos tecnológicos por encima de las prácticas reactivas una vez instalado el problema.

Los resultados obtenidos abren nuevos interrogantes que pueden desarrollarse en futuras líneas de investigación. A nivel de comunidad será de interés discriminar los efectos del cultivo y el herbicida como filtros ecológicos. Caracterizar su jerarquía e inclusive contrastar con diferentes genotipos o cultivos. Respecto al caso de *Avena fatua* L., se propone investigar los mecanismos fisiológicos determinantes de los distintos niveles de dormición entre procedencias (condición agrícola o no agrícola). Más aún, estas diferencias justificarían considerar a esta variable en los modelos de predicción de emergencia. Debe considerarse que el mayor reingreso de semillas al banco provendrá de aquellos individuos que emergieron más tarde durante el ciclo del cultivo y que según quedó demostrado poseen mayor nivel de dormición. Por último, en cuanto a los resultados obtenidos en los estudios sobre raigrás, sería conveniente indagar los mecanismos causales de la resistencia cruzada a inhibidores de la enzima ALS así como también desarrollar estudios apropiados con individuos que posean el mismo background genético (Vila-Aiub *et al.*, 2015), para identificar la capacidad adaptativa diferencial ligada a la resistencia a herbicidas, de los biotipos resistentes respecto a los biotipos susceptibles.

Bibliografía citada

- Allen P, Benech-Arnold RL, Batlla D, Bradford K. 2007.** Modeling of seed dormancy. Seed development, dormancy and germination. United Kingdom, Blackwell publishing.
- Bailey WA, Wilson HP. 2003.** Control of Italian Ryegrass (*Lolium multiflorum*) in Wheat (*Triticum aestivum*) with Postemergence Herbicides1. *Weed Technology* **17**: 534–542.
- Baskin CC, Baskin JM. 2006.** The natural history of soil seed banks of arable land. *Weed Science* **54**: 549–557.
- Batlla D, Benech-Arnold RL. 2007.** Predicting changes in dormancy level in weed seed soil banks: Implications for weed management. *Crop Protection* **26**: 189–197.
- Batlla D, Benech-Arnold RL. 2010.** Predicting changes in dormancy level in natural seed soil banks. *Plant Molecular Biology* **73**: 3–13.
- Beckie HJ, Morrison IN. 1993a.** Effect of Ethalfluralin and Other Herbicides on Trifluralin-Resistant Green Foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Technology* **7**: 6–14.
- Beckie HJ, Morrison IN. 1993b.** Effective Kill of Trifluralin-Susceptible and -Resistant Green Foxtail (*Setaria viridis*). *Weed Technology* **7**: 15–22.
- Beckie HJ, Francis A, Hall LM. 2012a.** The Biology of Canadian Weeds. 27. *Avena fatua* L. (updated). *Canadian Journal of Plant Science* **92**: 1329–1357.
- Beckie HJ, Warwick SI, Sauder CA. 2012b.** Basis for Herbicide Resistance in Canadian Populations of Wild Oat (*Avena fatua*). *Weed Science* **60**: 10–18.
- Beltran JC, Pannell DJ, Doole GJ. 2012.** Economic implications of herbicide resistance and high labour costs for management of annual barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Philippine rice farming systems. *Crop Protection* **31**: 31–39.
- Benech-Arnold RL, Sánchez RA, Forcella F, Kruk BC, Ghera CM. 2000.** Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research* **67**: 105–122.
- Booth BD, Swanton CJ. 2002.** 50th Anniversary—Invited Article Assembly theory applied to weed communities. *Weed Science* **50**: 2–13.
- Booth BD, Murphy SD, Swanton CJ. 2003.** *Weed Ecology in Natural and Agricultural Systems*. Wallingford, UK: CAB International.
- Bradford K. 1995.** Water relations in seed germination. Seed development and germination, by J. Kigel and G. Galili. Marcel Dekker Inc., 351–396.
- Burgos NR, Tranel PJ, Streibig JC, Davis VM, Shaner D, Norsworthy JK, Ritz C. 2013.** Review: Confirmation of Resistance to Herbicides and Evaluation of Resistance Levels. *Weed Science* **61**: 4–20.
- Busi R, Powles SB. 2009.** Evolution of glyphosate resistance in a *Lolium rigidum* population by glyphosate selection at sublethal doses. *Heredity* **103**: 318–325.
- Busi R, Powles SB. 2011.** Reduced sensitivity to paraquat evolves under selection with low glyphosate doses in *Lolium rigidum*. *Agronomy for Sustainable Development* **31**: 525–531.
- Cabrera A, Zardini E. 1978.** Manual de la flora de los alrededores de Buenos Aires. Ed. ACME, 756 pág.
- Catullo J, Valletti O, Rodríguez M, Sosa C. 1983.** Relevamiento de malezas en cultivos comerciales de trigo y girasol en el centro sur bonaerense. Actas de IX Reunión Argentina sobre la Maleza y su control, Santa Fe agosto de 1982. 204–235.
- Chauhan BS, Gill G, Preston C. 2006a.** Factors affecting seed germination of annual sowthistle (*Sonchus oleraceus*) in southern Australia. *Weed Science* **54**: 854–860.
- Chauhan BS, Gill G, Preston C. 2006b.** Seedling recruitment pattern and depth of recruitment of 10 weed species in minimum tillage and no-till seeding systems. *Weed Science* **54**: 658–668.

- Clopper CJ, Pearson ES. 1934.** The use of confidence or fiducial limits illustrated in the case of the binomial. *Biometrika* **26**: 404–413.
- Cobb A, Reade J. 2010.** *Herbicides and Plant Physiology*. John Wiley & Sons Ltd.
- Copeland L, McDonald M. 2012.** Principles of seed science and technology. Springer.
- Cousens R, Mortimer M. 1995.** Dynamics of weed populations. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Cousens R, Weaver S, Porter J, Rooney J, Butler D, Johnson M. 1992.** Growth and development of *Avena fatua* (wild-oat) in the field. *Annals of Applied Biology* **120**: 339–351.
- Crawley MJ. 1997.** The Structure of Plant Community. Plant Ecology. Cambridge, UK: Blackwell Science, 475–531.
- Cruzate G, Panigatti J, Moscatelli G. 2008.** Suelos y ambiente de Buenos Aires. INTA ediciones, Buenos Aires.
- Degenhardt RF, Spaner D, Harker K, McGregor W, Hall L. 2005.** Effect of herbicides on field violet (*Viola arvensis*) in direct-seeded spring wheat. *Weed Technology* **19**: 359–371.
- Dekker J. 2003.** The foxtail (*Setaria*) species-group. *Weed Science* **51**: 641–656.
- Derksen DA, Thomas AG, Lafond GP, Loepky HA, Swanton CJ. 1995.** Impact of post-emergence herbicides on weed community diversity within conservation-tillage systems. *Weed Research* **35**: 311–320.
- Díaz S, Cabido M, Casanoves F. 1999.** Functional implications of trait–environment linkages in plant communities. Weiher & Keddy Eds. Ecological assembly rules. Perspectives, advances, retreats. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 338–362.
- Díaz J, Espinoza N, Galdames R, Ruiz E, De Prado R. 2008.** Curvas de dosis-respuesta en ballicas (*Lolium multiflorum* y *L. rigidum*) resistentes a herbicidas inhibidores de ACCasa y ALS. XIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Malezas. Ouro Preto, Brasil.
- Diez De Ulzurrun P, Leaden MI. 2012.** Sensitivity analysis of *Lolium multiflorum* biotypes to Glyphosate, ACCase and ALS-inhibiting herbicides. *Planta Daninha* **30**: 667–673.
- Diez de Ulzurrun P, Vigna M, Leaden MI, Martino C. 2015.** Patrones de emergencia de *Avena fatua* (L.) y *Lolium multiflorum* (Lam.) en el sudeste y sudoeste de la provincia de Buenos Aires. XXII Congreso Latinoamericano de Malezas (ALAM) y I Congreso Argentino de Malezas (ASACIM), En actas Vol. BE.EP.15. Buenos Aires. <http://www.asacim.com.ar/congreso/trabajos.php>.
- Dufrene M, Legendre P. 1997.** Species assemblages and indicator species: the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecological Monographs*: 345–366.
- Espinoza N. N, Zapata R. M. 2000.** Resistencia de ballica anual (*Lolium rigidum*) y avenilla (*Avena fatua* L.) a herbicidas raminicidas en las zonas centro-sur y sur de Chile. *Agricultura Técnica* **60**: 3–13.
- Evans R, Thill D, Tapia L, Shafill B, Lish J. 1991.** Wild oat (*Avena fatua*) & spring barley (*Hordeum vulgare*) density affect spring barley grain yield. *Weed Technology* **5**: 33–39.
- Faya de Falcón, Pieri L, Rodríguez. 1992.** *Malezas, reconocimiento de semillas y plántulas*. INTA San Juan: Agro de Cuyo manuales.
- Fenner M. 1991.** The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research* **1**: 75–84.
- Finch-Savage WE, Leubner-Metzger G. 2006.** Seed dormancy and the control of germination. *New Phytologist* **171**: 501–523.
- Fischer AJ, Valverde BE. 2010.** Resistencia a herbicidas en malezas asociadas con arroz. In: Degiovanni, Martínez & Motta Eds. Producción eco-eficiente del arroz en América Latina.

- Fried G, Kazakou E, Gaba S. 2012.** Trajectories of weed communities explained by traits associated with species' response to management practices. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **158**: 147–155.
- Ge X, d' Avignon DA, Ackerman JJ, Duncan B, Spaur MB, Sammons RD. 2011.** Glyphosate-resistant horseweed made sensitive to glyphosate: low-temperature suppression of glyphosate vacuolar sequestration revealed by ³¹P NMR. *Pest Management Science* **67**: 1215–1221.
- Ghersa CM, Martínez-Ghersa M., Brewer MA, Roush M. 1994.** Selection pressures for diclofop-methyl resistance and germination time of Italian ryegrass. *Agronomy Journal* **86**: 823–828.
- Ghersa CM, Martínez-Ghersa MA, León RJC. 1998.** Cambios en el paisaje pampeano y sus efectos sobre los sistemas de soporte de vida (p.38-68). Hacia una agricultura productiva y sostenible en la pampa (Solbrig y Vaineman, compiladores). Harvard Univers.-David Rockefeller Center for Latin American Studies-Consejo Profesional de Ing. Agronómica, 272.
- Ghersa CM, Roush ML. 1994.** Coevolution of agroecosystems and weed management. *Bioscience* **44**: 85–94.
- Gigón R, Labarthe F, Lageyre L, Vigna M, López R, Vergara MF, Varela PE. 2008.** Comunidades de malezas en cultivos de trigo en el sur y sudoeste de la Provincia de Buenos Aires. VII Congreso Nacional de Trigo. Santa Rosa, Argentina.
- Graphpad Prism. 2010.** Graphpad Software Inc. GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com
- Gressel J. 2009.** Evolving understanding of the evolution of herbicide resistance. *Pest Management Science* **65**: 1164–1173.
- Gressel J, Levy AA. 2006.** Agriculture: The selector of improbable mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**: 12215–12216.
- Gressel J, Segel LA. 1978.** The paucity of plants evolving genetic resistance to herbicides: Possible reasons and implications. *Journal of Theoretical Biology* **75**: 349–371.
- Gressel J, Valverde BE. 2009.** The other, ignored HIV — highly invasive vegetation. *Food Security* **1**: 463–478.
- Gundel PE, Martínez-Ghersa MA, Ghersa CM. 2008.** Dormancy, germination and ageing of *Lolium multiflorum* seeds following contrasting herbicide selection regimes. *European Journal of Agronomy* **28**: 606–613.
- Håkansson S. 2003.** Weeds and Weed Management on Arable Land - An Ecological Approach. Wallingford, United Kingdom: CABI Publishing. 288 p.
- Hall A, Rebella C, Ghersa CM, Culot J. 1992.** Field crop systems of the Pampas. Ecosystems of the World 18: Field crops ecosystems. New York, USA: Elsevier, 413–449.
- Harker KN, Blackshaw RE. 2003.** Leaf extension rate may help determine when low wild oat herbicide rates will be effective. *Weed Technology* **17**: 829–835.
- Harrel FE, with contributions from Charles Dupont and many others. 2014.** *Hmisc package; Harrel miscelaneus*. Department of Biostatistics - Vanderbilt University.
- Hatterman-Valenti H, Pitty A, Owen M. 2011.** Environmental effects on velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) epicuticular wax deposition and herbicide absorption. *Weed Science* **59**: 14–21.
- Heap I. 2016.** International Survey of Herbicide Resistant Weeds. <http://www.weedscience.org/>
- Heap I, LeBaron H. 2001.** Chapter 1: Introduction and overview of resistance. Herbicide resistance and world grains. Baton Rouge: CRC Press, 14–33.

- Heit G, Galussi A, Falico L, Veloz P, Cortese P. 2012.** Guía de reconocimiento online de diseminulos de malezas contaminantes durante la postcosecha de cereales y oleaginosas. En actas XIV Jornadas Fitosanitarias Argentinas, 3 al 5 de octubre, Potrero de los Funes, Pcia. San Luis, Argentina.
- Hilgenfeld KL, Martin AR, Mortensen D, Mason S. 2004a.** Weed Management in Glyphosate Resistant Soybean: Weed Emergence Patterns in Relation to Glyphosate Treatment Timing1. *Weed Technology* **18**: 277–283.
- Hilgenfeld KL, Martin AR, Mortensen D, Mason S. 2004b.** Weed management in a glyphosate resistant soybean system:weed species shifts. *Weed Technology* **18**: 284–291.
- INDEC. 1988.** *Censo Nacional Agropecuario*. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos de la República Argentina.
- INDEC. 2002.** *Censo Nacional Agropecuario*. Instituto Nacional de Estadísticas y Censos de la República Argentina.
- Instituto de Botánica Darwinion.** <http://www.darwin.edu.ar/> Accedido octubre 2016.
- Istilart C, Yannicari M, Gigón R. 2015.** La evolución del ryegrass resistente a glifosato en la región. *INTA : Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria*.
- Jana S, Thai KM. 1987.** Patterns of changes of dormant genotypes in *Avena fatua* populations under different agricultural conditions. *Can. J. Bot.* **65**: 1741–1745.
- Jasieniuk M, Brúlé-Babel AL, Morrison IN. 1996.** The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds. *Weed Science* **44**: 176–193.
- Karssen CM. 1982.** Seasonal patterns of dormancy in weed seeds. The physiology and biochemistry of seed development, dormancy and germination. Amsterdam: Elsevier Biomedical Press, 243–270.
- Kirkwood RC. 1999.** Recent developments in our understanding of the plant cuticle as a barrier to the foliar uptake of pesticides. *Pesticide Science* **55**: 69–77.
- Kleyer M, Bekker R m., Knevel I c., Bakker J p., Thompson K, Sonnenschein M, Poschlod P, Van Groenendael J m., Klimeš L, Klimešová J, et al. 2008.** The LEDA Traitbase: a database of life-history traits of the Northwest European flora. *Journal of Ecology* **96**: 1266–1274.
- Knezevic SZ, Streibig JC, Ritz C. 2007.** Utilizing R software package for dose-response studies: the concept and data analysis. *Weed Technology* **21**: 840–848.
- Koger CH, Reddy KN. 2005.** Role of absorption and translocation in the mechanism of glyphosate resistance in horseweed (*Conyza canadensis*). *Weed Science* **53**: 84–89.
- Koleff P, Gaston KJ, Lennon JJ. 2003.** Measuring beta diversity for presence–absence data. *Journal of Animal Ecology* **72**: 367–382.
- Lancaster J, Belyea LR. 1999.** Assembly rules within a contingent ecology. *Oikos* **86**: 402–416.
- Lande R. 1983.** The response to selection on major and minor mutations affecting a metrical trait. *Heredity* **50**: 47–65.
- Leemis LM, Trivedi KS. 1996.** A comparison of approximate interval estimators for the bernoulli parameter. *The American Statistician* **50**: 63–68.
- Légère A, Samson N. 2004.** Symposium Tillage and weed management effects on weeds in barley–red clover cropping systems. *Weed Science* **52**: 881–885.
- Leguizamón E. 2009.** Las malezas del barbecho. *Revista Agromensajes - Facultad de Ciencias Agrarias UNR*.
- Li R, Wang S, Duan L, Li Z, Christoffers M, Mengistu L. 2007.** Genetic diversity of wild oat (*Avena fatua*) populations from China and the United States. *Weed Science* **55**:95–101.

- López R, Vigna M, Gigón R. 2008.** Evaluación de herbicidas para el control de *Lolium multiflorum* Lam. en barbecho para cereales de invierno. En actas Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas, Ouro Preto, MG, Brasil, 4 al 8 de mayo de 2008.
- Loskutov IG. 2007.** On evolutionary pathways of *Avena* species. *Genetic Resources and Crop Evolution* **55**: 211–220.
- Macnair MR. 1991.** Why the evolution of resistance to anthropogenic toxins normally involves major gene changes: the limits to natural selection. *Genetica* **84**: 213–219.
- Maddaloni J, Ferrari L. 2001.** *Forrajeras y pasturas del ecosistema templado húmedo de la Argentina*. Universidad Nacional de Lomas de Zamora.
- Magurran AE. 1988.** A variety of diversities. *Ecological Diversity and its Measurement*. Princeton NJ: Princeton Univ. Press, 81–99.
- Manalil S, Busi R, Renton M, Powles SB. 2011.** Rapid Evolution of Herbicide Resistance by Low Herbicide Dosages. *Weed Science* **59**: 210–217.
- Marsh SP, Llewellyn RS, Powles SB. 2006.** Social cost of herbicide resistance: the case of resistance to glyphosate. Gold Coast, Australia, .
- Martinez-Ghersa MA, Claudio M. Ghersa, Roberto L. Benech-Arnold, Rafael Mac Donough, Rodolfo A. Sanchez. 2000.** Adaptive traits regulating dormancy and germination of invasive species. *Plant Species Biology* **15**: 127–137.
- Martínez-Ghersa MA, Ghersa CM, Satorre EH. 2000.** Coevolution of agricultural systems and their weed companions: implications for research. *Field Crops Research* **67**: 181–190.
- Marzocca A. 1976.** *Manual de malezas*. Ed. Hemisferio Sur, Buenos Aires.
- McCune B, Mefford MJ. 2011.** *PCORD*. Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.: MjM Software.
- McIntyre S, Martin TG, Heard KM, Kinloch J. 2005.** Plant traits predict impact of invading species: an analysis of herbaceous vegetation in the subtropics. *Australian Journal of Botany*. **53**: 757–770.
- Mendiburu F de. 2015.** *agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research*. R package version 1.2. <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>
- Mennan H, Streibig JC, Ngouajio M, Kaya E. 2011.** Tolerance of two Bifora radians Bieb populations to ALS inhibitors in winter wheat. *Pest Management Science* **68**: 116–122.
- Merlotto A, Piccolo MC. 2009.** Tendencia climática de Necochea-Quequén (1956-2006), Argentina. *Investigaciones Geográficas* **50**: 143–167.
- Michael PJ, Owen MJ, Powles SB. 2010.** Herbicide-Resistant Weed Seeds Contaminate Grain Sown in the Western Australian Grainbelt. *Weed Science* **58**: 466–472.
- Ministerio de Agricultura. 2015.** <http://www.agroindustria.gob.ar> Accedido noviembre 2015
- Molina A. 2007.** *Malezas Argentinas*. Aníbal Molina Ed. Buenos Aires, Argentina.
- Monaco T, Weller SC, Ashton F. 2002.** *Weed Science: principles and practices*. John Wiley & Sons Inc.
- Monquero PA, Christoffoleti PJ, Osuna MD, De Prado RA. 2004.** Absorção, translocação e metabolismo do glyphosate por plantas tolerantes e suscetíveis a este herbicida. *Planta Daninha* **22**: 445–451.
- Mortimer AM. 1997.** Phenological adaptation in weeds—an evolutionary response to the use of herbicides? *Pesticide Science* **51**: 299–304.
- Moschini R., Lopez R, Vigna M, Damiano F. 2009.** Modelos basados en tiempo térmico e hidrotérmico para predecir la emergencia de avena fatua en lotes con y sin labranza estival, en argentina. En actas XII Congresso da SEMh/XIX Congresso da ALAM/II Congresso da IBCM, Lisboa, Portugal: ISA Press.

- Neve P, Powles S. 2005.** Recurrent selection with reduced herbicide rates results in the rapid evolution of herbicide resistance in *Lolium rigidum*. *TAG Theoretical and Applied Genetics* **110**: 1154–1166.
- Neve P, Vila-Aiub M, Roux F. 2009.** Evolutionary-thinking in agricultural weed management. *New Phytologist* **184**: 783–793.
- Nguyen TH, Malone JM, Boutsalis P, Shirley N, Preston C. 2015.** Temperature influences the level of glyphosate resistance in barnyardgrass (*Echinochloa colona*).
- Norsworthy JK, Burgos NR, Oliver LR. 2001.** Differences in Weed Tolerance to Glyphosate Involve Different Mechanisms¹. *Weed Technology* **15**: 725–731.
- Nurse RE, Bosveld KE, Weaver SE. 2008.** Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) Response to Glyphosate on the Field Edge. *Weed Science* **56**: 464–468.
- Orson JH. 1999.** The cost to the farmer of herbicide resistance. *Weed Technology* **13**:607–611.
- Owen MDK. 2008.** Weed species shifts in glyphosate-resistant crops. *Pest Management Science* **64**: 377–387.
- Owen MJ, Michael PJ, Renton M, Steadman KJ, Powles SB. 2011.** Towards large-scale prediction of *Lolium rigidum* emergence. II. Correlation between dormancy and herbicide resistance levels suggests an impact of cropping systems. *Weed Research* **51**: 133–141.
- Owen MJ, Powles SB. 2009.** Distribution and frequency of herbicide-resistant wild oat (*Avena* spp.) across the Western Australian grain belt. *Crop. Pasture Sci.* **60**: 25–31.
- Pavlovic D, Vrbnicanin S, Bozic D, Fischer AJ. 2008.** Morphophysiological traits and atrazine sensitivity in *Chenopodium album* L. *Pest Management Science* **64**: 101–107.
- Poggio SL. 2005.** Structure of weed communities occurring in monoculture and intercropping of field pea and barley. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **109**: 48–58.
- Poggio SL. 2012.** Cambios florísticos en comunidades de malezas: un marco conceptual basado en reglas de ensamblaje. *Ecología Austral* **22**: 150–158.
- Poggio SL, Satorre EH, Fuente EB de la. 2004.** Structure of weed communities occurring in pea and wheat crops in the Rolling Pampa (Argentina). *Agriculture, Ecosystems & Environment* **103**: 225–235.
- Powles S, Shaner D. 2001.** *Herbicide resistance and world grains*. Baton Rouge: CRC Press.
- Powles SB, Yu Q. 2010.** Evolution in Action: Plants Resistant to Herbicides. *Annual Review of Plant Biology* **61**: 317–347.
- Preston C, Powles SB. 2002.** Evolution of herbicide resistance in weeds: initial frequency of target site-based resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in *Lolium rigidum*. *Heredity* **88**:8-13.
- Radosevich S, Holt J, Ghersa CM. 2007.** *Ecology of weeds and invasive plants: relationship to agriculture and natural resource management*. Hoboken, New Jersey, USA: John Wiley & Sons Inc.
- Raunkiaer C. 1934.** *The Lifeforms of Plants and Statistical*. Oxford, UK.
- R Core Team. 2013.** *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- REM. 2014.** Incremento de costos a causa de malezas resistentes y tolerantes. *Red de Conocimiento en Malezas Resistentes*. <http://www.aapresid.org.ar/wp-content/uploads/2014/09/Incremento-de-costos->
- REM - Red de Conocimiento en Malezas Resistentes.** <http://www.aapresid.org.ar/rem/>
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González M, Tablada E, Robledo CW. 2015.** *Infostat*. Grupo Infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.

- Ritz C, Streibig JC. 2005. Bioassay analysis using r. *Journal of statistical software* 12:1–22.
- Ryan MR, Smith RG, Mirsky SB, Mortensen DA, Seidel R. 2010. Management filters and species traits: weed community assembly in long-term organic and conventional systems. *Weed Science* 58: 265–277.
- Sawhney R, Naylor JM. 1979. Dormancy studies in seed of *Avena fatua*. 9. Demonstration of genetic variability affecting the response to temperature during seed development. *Canadian Journal of Botany* 57: 59–63.
- Schutte BJ, Regnier EE, Harrison SK. 2012. Seed Dormancy and Adaptive Seedling Emergence Timing in Giant Ragweed (*Ambrosia trifida*). *Weed Science* 60: 19–26.
- Scursoni JA. 1995. Relevamiento de malezas en cultivos de cebada (*Hordeum vulgare* L.) en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía de La Plata* 71: 235–243.
- Scursoni JA. 2009. *Malezas: concepto, identificación y manejo en sistemas cultivados*. Editorial Facultad de Agronomía, UBA.
- Scursoni JA, Benech-Arnold R. 1998. Rendimiento de cultivos de trigo y cebada y crecimiento de *Avena fatua* en distintas condiciones de fertilización nitrogenada. IV Congreso Nacional de Trigo y II Simposio Nacional de Cereales de Siembra Otoño-Invernal. Mar del Plata, 3–48.
- Scursoni J, Benech-Arnold R, Hirschoren H. 1999. Demography of Wild Oat in Barley Crops: Effect of Crop, Sowing Rate, and Herbicide Treatment. *Agron J* 91: 478–485.
- Scursoni JA, Delfino D, Gutierrez A, Quiroga F. 2007a. Cambios en la composición de la comunidad de malezas en cultivos de trigo en el sur-sureste bonaerense durante dos décadas (1981-2005). *Rev. Facultad de Agronomía UBA* 27: 251–261.
- Scursoni JA, Forcella F, Gunsolus J. 2007b. Weed escapes and delayed weed emergence in glyphosate-resistant soybean. *Crop Protection* 26: 212–218.
- Scursoni JA, Gigón R, Martín AN, Vigna M, Leguizamón ES, Istilart C, López R. 2014. Changes in Weed Communities of Spring Wheat Crops of Buenos Aires Province of Argentina. *Weed Science* 62: 51–62.
- Scursoni JA, Martín A, Catanzaro MP, Quiroga J, Goldar F. 2011. Evaluation of post-emergence herbicides for the control of wild oat (*Avena fatua* L.) in wheat and barley in Argentina. *Crop Protection* 30: 18–23.
- Scursoni JA, Palmano M, De Notta A, Delfino D. 2012. Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) density and N fertilization on wheat (*Triticum aestivum* L.) yield in Argentina. *Crop Protection* 32: 36–40.
- Scursoni JA, Satorre EH. 2005. Barley (*Hordeum vulgare*) and Wild Oat (*Avena fatua*) Competition Is Affected by Crop and Weed Density. *Weed Technology* 19: 790–795.
- Scursoni J, Vila-Aiub MM. 2016. Resistencia de las malezas a los herbicidas. Bases y herramientas para el manejo de malezas. Buenos Aires: EFA, 108 pag.
- Seefeldt SS, Jensen JE, Fuerst EP. 1995. Log-Logistic Analysis of Herbicide Dose-Response Relationships. *Weed Technology* 9: 218–227.
- Shaner DL. 2009. Role of translocation as a mechanism of resistance to glyphosate. *Weed Science* 57: 118–123.
- Shrestha A, Hanson BD, Fidelibus MW, Alcorta M. 2010. Growth, Phenology, and Intraspecific Competition between Glyphosate-Resistant and Glyphosate-Susceptible Horseweeds (*Conyza canadensis*) in the San Joaquin Valley of California. *Weed Science* 58: 147–153.
- Simpson GM. 1990. *Seed dormancy in grasses*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.

- Smith RG. 2006.** Timing of tillage is an important filter on the assembly of weed communities. *Weed Science* **54**: 705–712.
- Sosnoskie LM, Herms CP, Cardina J. 2006.** Weed seedbank community composition in a 35-yr-old tillage and rotation experiment. *Weed Science* **54**: 263–273.
- Sosnoskie LM, Luschei EC, Fanning MA. 2007.** Field margin weed-species diversity in relation to landscape attributes and adjacent land use. *Weed Science* **55**: 129–136.
- Sou Sheng G, Vila-Aiub MM, Busi R, Powles SB. 2015.** Glyphosate resistance in *Echinochloa colona*: phenotypic characterization and quantification of selection intensity. *Pest Management Science*: 72:67-73. First published: 08/04/2015
- Tranel PJ, Wright TR. 2002.** Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? *Weed Science* **50**: 700–712.
- Ulber L, Steinmann H-H, Klimek S, Isselstein J. 2009.** An on-farm approach to investigate the impact of diversified crop rotations on weed species richness and composition in winter wheat. *Weed Research* **49**: 534–543.
- Valverde BE. 2007.** Status and Management of Grass-weed Herbicide Resistance in Latin America. *Weed Technology* **21**: 310–323.
- Valverde B. 2009.** Bioanálisis en la ciencia de las malezas: conceptos importantes y experiencia práctica. *El Malezólogo*. Venezuela: Sociedad Venezolana para el combate de malezas, 52–76.
- Vigna M. 2008.** Manejo y control de malezas en trigo. Taller de protección vegetal del cultivo de trigo, INTA Bordenave, octubre de 2008.
- Vigna M, López R, Gigón R. 2011.** Resistencia de *Lolium multiflorum* l. a diclofop-metil en el so de Buenos Aires, Argentina. XX Congreso de la ALAM. Viña del Mar, Chile.
- Vigna M, López R, Gigón R. 2013.** Situación de la problemática y propuesta de manejo para lolium y avena fatua resistentes a herbicidas en el sur de buenos aires. INTA, <http://inta.gob.ar/documentos/situacion-de-la-problematica-y-propuesta-de-manejo-para-lolium-y-avena-fatua-resistentes-a-herbicidas-en-el-sur-de-buenos-aires>
- Vila-Aiub MM, Balbi MC, Distéfano AJ, Fernández L, Hopp E, Yu Q, Powles SB. 2012.** Glyphosate resistance in perennial *Sorghum halepense* (Johnsongrass), endowed by reduced glyphosate translocation and leaf uptake. *Pest Management Science* **68**: 430–436.
- Vila-Aiub MM, Gundel PE, Preston C. 2015.** Experimental methods for estimation of plant fitness costs associated with herbicide-resistance genes. *Weed Science* **63**: 203–216.
- Vila-Aiub MM, Neve P, Powles SB. 2009.** Fitness costs associated with evolved herbicide resistance alleles in plants. *New Phytologist* **184**: 751–767.
- Vila-Aiub MM, Neve P, Roux F. 2011.** A unified approach to the estimation and interpretation of resistance costs in plants. *Heredity*: 1–9.
- Walsh M, Newman P, Powles S. 2013.** Targeting weed seeds in-crop: a new weed control paradigm for global agriculture. *Weed Technology* **27**: 431–436.
- Walsh M, Powles S. 2014.** High seed retention at maturity of annual weeds infesting crop fields highlights the potential for harvest weed seed control. *Weed Technology* **28**:486–493.
- Wang T, Darmency H. 1997.** Inheritance of sethoxydim resistance in foxtail millet, *Setaria italica* (L.) Beauv. *Euphytica* **94**: 69–73.
- Wang T, Picard JC, Tian X, Darmency H. 2010.** A herbicide-resistant ACCase 1781 *Setaria* mutant shows higher fitness than wild type. *Heredity* **105**: 394–400.
- Weed Science Society of America. 1998.** Technology Notes. *Weed Technology* **12**: 789–790.
- Weihher E, Keddy P. 1999.** *Ecological assembly rules: Perspectives, advances, retreats*. United Kingdom: Cambridge University Press.

- Westhoven AM, Kruger GR, Gerber CK, Stachler JM, Loux MM, Johnson WG. 2008.** Characterization of Selected Common Lambsquarters (*Chenopodium album*) Biotypes with Tolerance to Glyphosate. *Weed Science* **56**: 685–691.
- Whittaker R. 1975.** *Communities and ecosystems*. New York, USA: McMillan Publishing.
- Wickham H. 2009.** *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Springer New York.
- Wilson BJ, Cousens R, Wright KJ. 1990.** The response of spring barley and winter wheat to *Avena fatua* population density. *Annals of Applied Biology* **116**: 601–609.
- Wilson MV, Shmida A. 1984.** Measuring Beta Diversity with Presence-Absence Data. *Journal of Ecology* **72**: 1055–1064.
- Yannicari M. 2014.** Estudio fisiológico y genético de biotipos de *Lolium perenne* L. resistentes a glifosato. Tesis doctoral, Universidad Nacional de La Plata.
- Yu Q, Han H, Vila-Aiub MM, Powles SB. 2010.** AHAS herbicide resistance endowing mutations: effect on AHAS functionality and plant growth. *Journal of Experimental Botany* **61** (14): 3925-3934.
- Yu Q, Powles SB. 2014.** Resistance to AHAS inhibitor herbicides: current understanding. *Pest Management Science* **70**: 1340–1350.
- Zadoks JC, Chang TT, Konzak CF. 1974.** A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* **14**: 415–421.
- Zimdahl RL. 2007.** *Fundamentals of weed science, 3^o edition*. Academic Press, USA.
- Zimmerman GM, Goetz H, Mielke PW. 1985.** Use of an improved statistical method for group comparisons to study effects of prairie fire. *Ecology* **66**: 606–611.